

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades

Atena
Editora
Ano 2023

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades


Atena
Editora
Ano 2023

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



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

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

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

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 Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto

Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
 Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
 Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
 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 Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
 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 Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
 Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
 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 Delta do Parnaíba – UFDP
 Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
 Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
 Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
 Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
 Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
 Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
 Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio
 Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
 Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal 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 Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
 Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
 Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria
 Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
 Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
 Profª Drª Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências biológicas: tendências temáticas, realidades e virtualidades

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Soellen de Britto
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
C569	<p>Ciências biológicas: tendências temáticas, realidades e virtualidades / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-0955-7 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.557231601</p> <p>1. Ciências biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

As Ciências Biológicas é o campo do conhecimento que estuda a vida sob seus diferentes aspectos, como a fauna, a flora e outros seres vivos — inclusive o ser humano — além da forma como ela interage com o meio ambiente no planeta como um todo. As pesquisas realizadas por décadas abordando essa área nos forneceu dados para discutirmos a origem, a evolução, a adaptação e o funcionamento das espécies, bem como as relações dos organismos entre si, o que é extremamente importante para a implementação de políticas de conservação dos recursos naturais e de manutenção de espécies ameaçadas em extinção. Por outro lado, as Ciências Biológicas consegue interagir em nível científico com áreas como a indústria, a tecnologia farmacêutica, a pesquisa de base, a educação, a biomedicina, a medicina etc.

Na obra aqui apresentada, “Ciências Biológicas: Tendências temáticas, realidades e virtualidades”, é proposta uma discussão sobre implementação de novas tecnologias, educação e conservação através de seus 10 capítulos, compostos por artigos científicos originais e revisões bibliográficas atuais, baseadas em trabalhos de pesquisa realizados em universidades e importantes centros de pesquisa. Por apresentar uma diversidade de temas bastante ampla em seu conteúdo, esta obra se torna perfeita para trazer ao seu leitor um olhar diferenciado, apresentando diferentes áreas profissionais se conectando e usando as Ciências Biológicas como fio condutor, agregando conhecimento atual e aplicado.

A Atena Editora, prezando pela qualidade, conta com um corpo editorial formado por mestres e doutores formados nas melhores universidades do Brasil para revisar suas obras; isto garante que você terá uma obra relevante e qualidade em suas mãos. Esperamos que você aproveite. Boa leitura!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

CAPÍTULO 1 1

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO COM PORTA ESTENDIDA (EGFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDA DE PACIENTES RENAIAS CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Sergio Henrique Fernandes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316011>

CAPÍTULO 227

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSE DE ANIMAIS DE COMPANHIA (CÃES E GATOS)

Leonardo Carlos Wendhausen de Oliveira

Andréa Gonçalves Trentin

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316012>

CAPÍTULO 338

ANÁLISE DE COMBUSTÍVEIS DE MOTORES CICLO OTTO NO BRASIL, NA ARGENTINA E NO PARAGUAI

Julia Proença Reis

Victória Guimarães Matos Santos

Gisel Chenard Díaz

Yordanka Reyes Cruz

Donato Alexandre Gomes Aranda

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316013>

CAPÍTULO 459

ANÁLISE ACERCA DA RELAÇÃO ENTRE A AGRICULTURA E A CRISE HÍDRICA NO BRASIL

Maria Jassiele Rodrigues Ferreira

Lucas Santos de Sousa

Joselita Brandão de Sant'Anna

Raphael da Silva Affonso

Larissa Leite Barbosa

Eleuza Rodrigues Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316014>

CAPÍTULO 579

EPICARPO DE FRUTA DO CONDE (*Annona squamosa*) COM ATIVIDADE INSETICIDA: UMA ALTERNATIVA NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*

Kevyn Danuway Oliveira Alves

Ismael Vinicius de Oliveira

Ana Carolyn Diógenes Bezerra

Rita de Cassia Aquino

Douglas Arenhart França

Pedro Lucas Soares

Hilgarde Ferreira Pessoa

Ana Karolinne de Alencar França
 Yandra Thais Rocha da Mota
 Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316015>

CAPÍTULO 686

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* Linn.
 CULTIVADA *in vitro* SOB DIFERENTES QUALIDADES DE LUZES

Herbert Cristian de Souza
 Luís Cláudio Kellner Filho
 Wanderson Zuza Cosme
 Nicoli Dias Oliveira
 Iara Silva Squarisi
 Lizandra Guidi Magalhães
 Denise Crispim Tavares
 Márcio Luís Andrade e Silva
 Wilson Roberto Cunha
 Patrícia Mendonça Pauletti
 Fabiano Guimarães Silva
 Ester Gonçalves de Jesus
 Mario Ferreira Conceição Santos
 Ana Helena Januário

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316016>

CAPÍTULO 7 108

IMPORTÂNCIA DO PROFISSIONAL DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PARA A
 PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DO BRASIL

Larissa Batista Pereira
 Lucas Santos de Sousa
 Joselita Brandão de Sant'Anna
 Raphael da Silva Affonso
 Larissa Leite Barbosa
 Eleuza Rodrigues Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316017>

CAPÍTULO 8 135

NOTAS SOBRE LA CONDUCTA *XYLOCOPA (NEOXYLOCOPA) AUGUSTI*
 LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, UNA ESPECIE NO NATIVA EN CHILE
 CENTRAL. ADEMÁS DOCUMENTAMOS LA PRESENCIA DE LA ESPECIE
 DEL GÉNERO *AGAPOSTEMON* EN SANTIAGO, CHILE

Alejandro Correa Rueda
 Javier Rendoll Cárcamo
 Ricardo Rozzi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316018>

CAPÍTULO 9 149

PROTEOMICA COMPARATIVA DE FOLHAS DE MARACUJÁ TRATADAS COM

METIL JASMONATO

Viviane Abrantes Perdizio
 Jucélia da Silva Araújo
 Olga Lima Tavares Machado
 Joelma Saldanha
 Jonas Perales
 Vanildo Silveira
 Tânia Jacinto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316019>

CAPÍTULO 10..... 164**INSÉTARIO VIRTUAL: UTILIZANDO AS REDES SOCIAIS NO ENSINO SOBRE OS INSETOS**

Fabiana Lazzerini da Fonseca Barros
 Eduarda Alves da Silva
 Nágila Aguiar Marques
 Luidi Eric Guimarães Antunes
 Eléia Righi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.55723160110>

SOBRE A ORGANIZADORA 174**ÍNDICE REMISSIVO..... 175**

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO COM PORTA ESTENDIDA (EGFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDA DE PACIENTES RENAI CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Data de aceite: 02/01/2023

Sergio Henrique Fernandes

Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR), Campo Mourão -
Paraná

RESUMO: O trabalho a ser apresentado é o resultado da pesquisa sobre o transistor de efeito de campo com porta estendida (EGFET) que contribuiu para a avaliação do processo de hemodiálise no tratamento para pacientes renais crônicos. Trata-se de uma inovação, que permitirá ao médico nefrologista o controle do nível de fósforo no organismo do paciente renal crônico, e portanto um passo a mais na ciência médica com a contribuição do dispositivo EGFET fabricado. Substâncias em excesso como o fósforo são prejudiciais ao organismo, e o controle do nível sérico no paciente renal crônico, durante a hemodiálise, representa um desafio aos nefrologistas. O nível de fósforo no sangue acima do normal (hiperfosfatemia) está associado a casos de óbitos de pacientes renais crônicos. A partir desse problema então, foi desenvolvido um transistor de efeito de campo com porta estendida (EGFET) para ser utilizado na quantificação da massa de fósforo

no dialisato total final extraída durante o processo de hemodiálise. Inicialmente para a fabricação do EGFET foi projetado um dispositivo eletrólito-isolante-semicondutor (EIS), composto por um filme fino de óxido de alumínio (Al_2O_3) depositado sobre uma estrutura composta de uma camada fina de óxido de silício (SiO_2) sobre o substrato de silício. O dispositivo EIS foi conectado à porta (*gate*) de um MOSFET comercial para formar o EGFET. Além disso, foi fabricado um eletrodo de referência contendo uma membrana íon-seletiva a base de poli álcool vinílico com inserção de ionóforo para o íon fosfato, para ser utilizado no EGFET. Os resultados obtidos das curvas da corrente de saturação I_{DS} e das curvas de V_{GS} em função da concentração de fosfato medida no intervalo de zero a 7 mg/dL no dialisato total final (DTF), e sensibilidade de 97 mV/(mg/dL), mostraram que o EGFET fabricado é uma solução inovadora nas medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real, e com a contribuição da quantificação da massa de fósforo que é removida do paciente renal crônico durante a sessão de hemodiálise. Isso permitirá ao médico nefrologista o controle do nível de fósforo no organismo do paciente renal crônico, e assim, evitando a hiperfosfatemia. Um

circuito condicionador do sinal de resposta do EGFET foi fabricado a fim de possibilitar a leitura das medidas da concentração de fosfato no DTF que são realizadas em tempo real. Com o circuito condicionador do sinal do EGFET foi obtida uma sensibilidade de 694 mV/(mg/dL), com uma margem de erro de 6%, e com leitura mínima na medida da concentração de fosfato de 0,4 mg/dL. Para comprovação do experimento, foi realizado teste do EGFET em amostra do DTF fornecida pelo Departamento de Clínica Médica (Nefrologia) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, e o resultado obtido foi comparado com o realizado em laboratório, e que o resultado obtido com o EGFET apresentou inicialmente uma margem de erro de aproximadamente 15%. Essa diferença foi reduzida para aproximadamente 4,4% ajustando a tensão no eletrodo de referência do EGFET. Portanto, a metodologia proposta, o dispositivo sensor fabricado e o circuito obtido, possibilitaram uma solução inovadora na análise em tempo real da concentração do íon fosfato em pacientes nas sessões de hemodiálise.

PALAVRAS-CHAVE: Transistor de efeito de campo, óxido de alumínio, hemodiálise, fosfato, filmes finos.

ABSTRACT: The work to be presented is the result of research on the extended gate field effect transistor (EGFET) that contributed to the evaluation of the hemodialysis process in the treatment for chronic renal patients. It is an innovation that will allow the nephrologist to control the level of phosphorus in the body of the chronic kidney patient and therefore a further step in medical science with the contribution of the manufactured EGFET device. Excessive substances such as phosphorus are harmful to the body, and the control of serum levels in chronic renal patients during hemodialysis represents a challenge for nephrologists. The level of phosphorus in the blood above normal (hyperphosphatemia) is associated with cases of death in chronic renal patients. From this problem, an extended field effect transistor (EGFET) was developed to be used in the quantification of the phosphorus mass in the final total dialysate extracted during the hemodialysis process. Initially for the manufacture of EGFET, designed electrolyte-insulating-semiconductor (EIS) devices, composed of thin film of aluminum oxide (Al_2O_3) deposited on a structure composed of a thin layer of silicon oxide (SiO_2) on the silicon substrate were used. EIS device was connected to the gate of a commercial MOSFET to form the EGFET. In addition, a reference electrode was manufactured containing an ion-selective membrane based on polyvinyl alcohol with ionophore insertion for the phosphate ion, to be used in EGFET. The results obtained from the curves of the I_{DS} saturation current and the V_{GS} curves as a function of the phosphate concentration measured in the range of zero to 7 mg/dL in the final total dialysate (FTD), and sensitivity of 97 mV/(mg/dL), showed that EGFET manufactured is an innovative solution in the measurement of phosphate concentration in FTD in real time, and with the contribution of quantification of the phosphorus mass that is removed from the chronic renal patient during the hemodialysis session. This will allow the nephrologist to control the level of phosphorus in the body of the chronic kidney patient, and thus avoid hyperphosphatemia. A conditioner circuit of the EGFET response signal was manufactured and connected to an Arduino, in order to allow the reading of the phosphate concentration measurements in the FTD that are performed in real time, in which in this conditioner circuit of the EGFET signal was obtained a sensitivity of 694 mV/(mg/dL), with a margin of error of 6%, and with a minimum reading in the measurement of the phosphate concentration of 0,4

mg/dL. To prove the experiment, an EGFET test was performed on a FTD sample provided by the Department of Clinical Medicine (Nephrology) at the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas, and the result obtained was compared with that performed in the laboratory, and that the result obtained with EGFET presented an error margin of approximately 15%. This difference was reduced to approximately 4.4% by adjusting the voltage at the EGFET reference electrode. Therefore, the proposed methodology, the sensor device manufactured and the circuit obtained, allowed an innovative solution in the real-time analysis of the concentration of phosphate ion in patients in hemodialysis sessions.

KEYWORDS: Field effect transistor, aluminum oxide, hemodialysis, phosphate, thin films.

1 | INTRODUÇÃO

O estudo e o desenvolvimento de sensores químicos, atualmente tem se intensificado com diversas aplicações nos campos industrial, ambiental e biomédico [1]. Muitos trabalhos destacam-se pela constante procura de aperfeiçoamento e inovação nessa ampla área de atuação, incluindo o transistor de efeito de campo sensível a íons (ISFET) (acrônimo de *Ion-Sensitive Field Effect Transistor*), [2]. Esta tecnologia permite a produção em massa dos dispositivos, tornando-os de baixo custo [3]. No campo dos sensores de estado sólido, destacam-se aqueles construídos com tecnologia microeletrônica [4]. O ISFET é um dos mais investigados sensores químicos baseado no transistor de efeito de campo com estrutura metal-óxido-semicondutor (MOSFET) (acrônimo de *Metal-Oxide-Semiconductor Field Effect Transistor*), inventado em 1970 [5], [6], em que sua principal característica é a ausência do contato metálico da porta como em um transistor de efeito de campo convencional. A Figura 1 ilustra essa diferença e apresenta uma configuração elétrica comum para ambos os dispositivos.

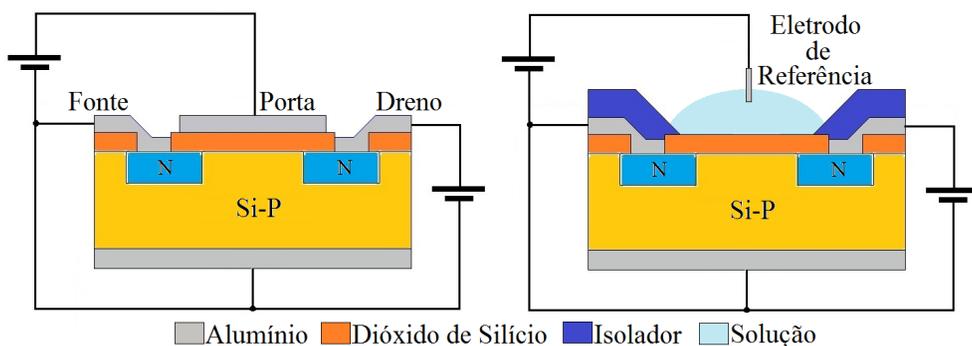


Figura-1: Ilustra a diferença entre o MOSFET e o ISFET e apresenta uma configuração elétrica comum para ambos os dispositivos.

Assim, na Figura 1 podemos notar as regiões de fonte e dreno e os contatos de porta, fonte, dreno e substrato para o transistor convencional, e a substituição do contato

de porta pelo eletrodo de referência no ISFET.

Mais recentemente surgiu um novo dispositivo similar ao ISFET, o transistor de efeito de campo com porta estendida (EGFET - *Extended Gate Field Effect Transistor*) [7]. Nesse dispositivo, um sensor liga-se eletricamente ao terminal de um transistor de efeito de campo (MOSFET), como ilustra a Figura 2. Garantindo ao EGFET flexibilidade, uma vez que o eletrodo de referência pode ser substituído outro, e os transistores usados são acessíveis e reutilizáveis, tornando-se um ótimo sensor.

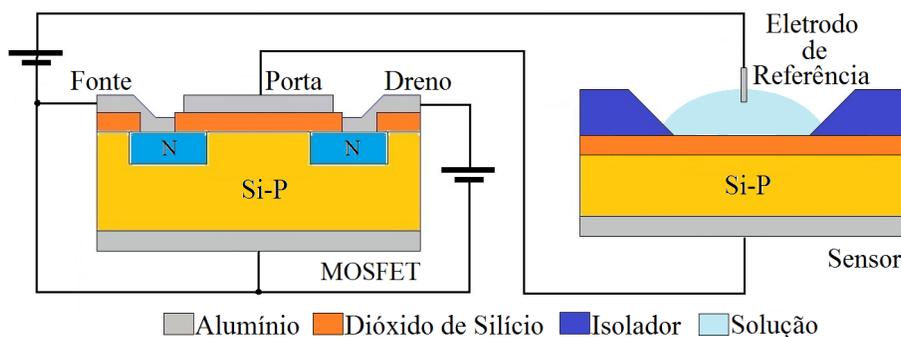


Figura-2: Ilustra o dispositivo EGFET, composto por um MOSFET conectado a um sensor.

Quando o sensor é colocado em contato com a solução, os íons presentes na solução interagem com a superfície sensível do sensor sendo adsorvidas. O potencial gerado pelos íons adsorvidos modula a tensão na porta do transistor e, desta maneira, pode-se determinar a concentração dos íons presentes na solução de acordo com a magnitude da resposta do transistor [8].

2 | OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de um transistor de efeito de campo com porta estendida (EGFET - *Extended Gate Field Effect Transistor*), com a aplicação inédita de ser capaz de medir em tempo real a concentração de íon fosfato em líquido pós-hemodiálise (líquido esse drenado da máquina de hemodiálise chamado de dialisato total final).

Como parte integrante do objetivo, foi desenvolvido um dispositivo EIS (Eletrólito-Isolante-Semicondutor) sensível ao íon fosfato para ser conectado à porta do EGFET, e como eletrodo de referência do dispositivo EIS, foi desenvolvido um eletrodo íon-seletivo para o fosfato.

Também é objetivo deste trabalho, o projeto de circuitos eletrônicos para o condicionamento do sinal de saída para o dispositivo EGFET de baixo custo. Este dispositivo pode ser conectado à máquina de hemodiálise e permitir a leitura da medida

da concentração de fosfato no dialisato total final, em tempo real, e assim, possibilitar ao médico nefrologista quantificar a massa de fósforo que é removida do paciente renal crônico durante a sessão de hemodiálise.

A importância da realização desse trabalho, é que o controle do nível sérico de fósforo do paciente renal crônico representa um desafio para o médico nefrologista, e atualmente a quantificação da massa de fósforo que é removida do paciente renal crônico na sessão de hemodiálise, não é realizada em todas as sessões de hemodiálise, e quando é feita, se faz através de análise laboratorial de amostra do dialisato total final. E esta análise é grande importância o monitoramento do nível de fósforo do paciente por parte do médico. Pois o nível elevado de fósforo (hiperfosfatemia) promove, a deposição de cristais de fosfato de cálcio em tecidos moles, particularmente nas paredes de vasos. Evidência epidemiológica demonstra associação entre níveis elevados de fósforo e aumento de mortalidade [9].

O elemento fósforo constitui 1% do peso corporal total e é o sexto elemento mais prevalente no organismo, principalmente na forma de fosfato, sendo 85% no esqueleto, 15% no intracelular e 0,1% no fluido extracelular [10]. O íon fosfato é um ânion predominantemente intracelular e é encontrado na forma inorgânica ou como componente de numerosos compostos. Além de ser essencial para integridade do esqueleto, o fósforo também participa de inúmeras reações bioquímicas, incluindo transmissão de impulsos nervosos, metabolismo energético e atividades enzimáticas [10], [11].

O rim exerce um papel fundamental na regulação da homeostase do fósforo. A maior parte do fósforo inorgânico no plasma (90 a 95%) é filtrável nos glomérulos (células de filtração do rim). Aproximadamente 80 a 90% da carga filtrada são reabsorvidas nos túbulos renais e o remanescente excretado na urina. A manutenção de níveis séricos adequados de fósforo é um desafio constante para os profissionais da saúde ligados à nefrologia tanto quanto para os pacientes. Retenção de fósforo e hiperfosfatemia (nível de fósforo no sangue acima do normal) são comumente presentes nos pacientes renais crônicos e são fatores envolvidos na calcificação extra óssea [12]-[14]. Níveis elevados de fósforo também são associados à maior mortalidade nos pacientes em diálise [15]. Logo o processo de hemodiálise remove o fósforo por difusão e convecção, mas em geral de forma insuficiente para manter um balanço neutro do nível sérico de fósforo [16], [17]. A limitação para a remoção do excesso de fósforo durante o procedimento dialítico se deve principalmente à sua cinética entre os compartimentos intracelular e extracelular.

Na hemodiálise, o sangue, carregado de toxinas é desviado do paciente para um aparelho, um dialisador, que por difusão, retira as toxinas, que em seguida é devolvido ao paciente [18]. O líquido pós-diálise contendo toxinas retiradas do sangue é drenado e descartado (dialisato total final).

A Figura 3 mostra a representação da remoção das toxinas do sangue através do dialisador em um ciclo.

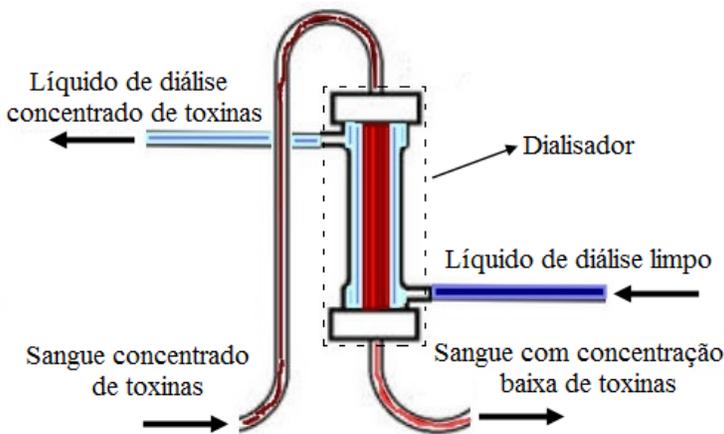


Figura-3: Ilustração do ciclo de filtração do sangue através do dialisador.

O ciclo de filtração do sangue que ocorre no dialisador, como mostrado na Figura 3, é um processo de difusão entre o sangue e o dialisato, ou seja, a concentração de toxinas sendo maior no sangue do que no dialisato, é difundida para o dialisato, que será drenado da máquina de hemodiálise.

A remoção de fósforo ocorre principalmente entre 60 a 90 minutos da sessão de hemodiálise, decaindo a seguir [19]. Isto se deve ao fato de o fósforo estar presente em grande quantidade no compartimento intracelular e, à medida que o fósforo é removido do sangue para o dialisato, há uma transferência de fósforo do intracelular para o compartimento sanguíneo, no entanto de forma mais lenta do que sua remoção pela diálise [20].

O principal fator determinante da quantidade de fósforo removido é o seu nível sérico no início da hemodiálise [21]. No entanto, outros fatores podem influenciar a sua remoção, como fatores hormonais e o estado de remodelação óssea. A remodelação óssea, estimulada pelo hormônio da paratireóide (PTH), também afeta a remoção de fósforo. Níveis mais elevados do hormônio da paratireóide (PTH) estão associados com maior remoção de fósforo [22].

A Figura 4 mostra a localização das glândulas paratireóides no corpo humano.

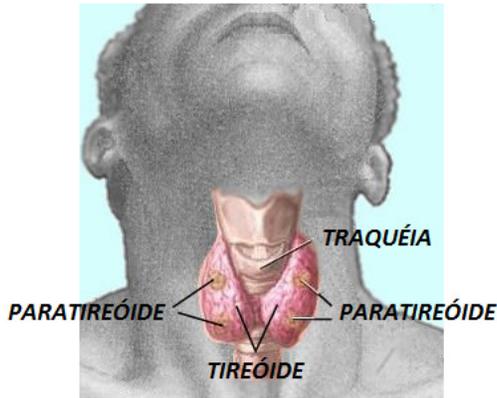


Figura-4: Ilustração da localização das glândulas paratireóides.

O hormônio produzido pelas paratireóides, Figura 4, é responsável pelo controle dos níveis sanguíneos de cálcio, fósforo e vitamina D.

O hormônio da paratireóide (PTH) age retirando cálcio dos ossos, aumentando a eliminação renal de fósforo e estimulando a produção renal de vitamina D ativada. A falta de vitamina D ativada e o excesso de fósforo no sangue que ocorrem na insuficiência renal estimulam a produção de PTH. O problema é que, com rins doentes, por mais que haja PTH, não há como produzir vitamina D ou excretar fósforo na urina. A única ação que o PTH consegue exercer é retirar o cálcio do osso. Ou seja, a remodelação óssea influencia na remoção de fósforo durante a diálise.

Dessa forma percebe-se que a remodelação óssea deve ser levada em consideração nos futuros modelos de cálculo da cinética do fósforo, assim como na escolha da solução do dialisato mais apropriada para cada paciente em tratamento hemodialítico. A remoção de fósforo durante a diálise afeta o equilíbrio do metabolismo mineral. Por hipótese o metabolismo mineral e ósseo pode, por sua vez, afetar a cinética do íon durante a diálise [23].

O método comumente empregado para a determinação da quantidade de fosfato removido de pacientes renais crônicos é através de análise química da solução do dialisato total final. Amostras do dialisato total final para dosagem de fósforo são coletadas após drenagem no início e no final da sessão de hemodiálise. A Figura 5 ilustra o ponto de coleta após drenagem.

A determinação da remoção de fósforo durante a hemodiálise [24] segue essa fórmula:

$$M_p = \frac{C_p}{10} \times V_{DIF} \quad (1)$$

Onde,

M_p representa a massa de fósforo removida em mg;
 C_p representa a concentração de fósforo em mg/dL;
 V_{DTF} representa o volume do dialisato total final em L.

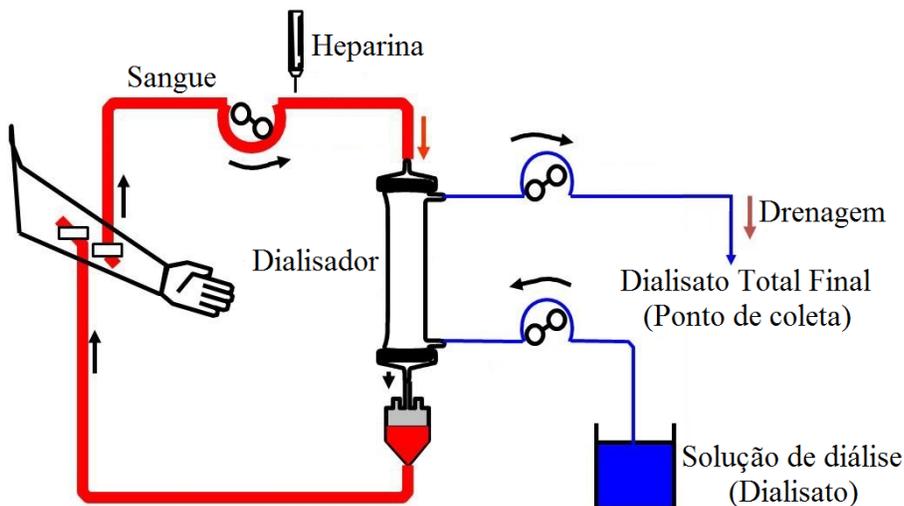


Figura-5: Ilustração do ponto de coleta das amostras do dialisato total final para dosagem de fósforo.

Na Figura 5 notamos dois circuitos de fluidos, o do sangue que é circuito fechado, e do dialisato que é um circuito aberto, onde nesse há renovação do dialisato que alimenta o dialisador, e que o sangue e o dialisato se movimentam em sentidos opostos no dialisador. O líquido que é descartado (drenado) da máquina de hemodiálise é chamado de dialisato total final (DTF).

Esse processo de avaliação da massa extraída de fósforo durante a hemodiálise geralmente só é realizado em pesquisas clínicas, contudo o médico precisa quantificar a massa de fósforo removida através do líquido pós-díalise drenado do paciente para se conhecer a concentração do íon fósforo no sangue do paciente após a sessão de hemodiálise. Sendo essa análise necessária, pois a medida da depuração da ureia calculada pela ureia sérica pode não refletir a remoção total de outros solutos com diferentes pesos moleculares e cinéticas, tal como o fósforo [21]. A cinética da ureia é bicompartmental e apresenta uma remoção constante no curso da sessão de hemodiálise, enquanto o fósforo tem um comportamento multicompartmental [21].

Níveis elevados do fósforo no sangue podem acarretar danos consideráveis ao organismo humano. Quando em excesso, o íon fósforo sanguíneo liga-se ao cálcio circulante, formando o fosfato de cálcio, uma substância insolúvel que se precipita nos vasos sanguíneos [15]. Os níveis de fósforo nos pacientes com insuficiência renal fora de diálise, deve ficar entre 2,7 e 4,6 mg/dl, e nos pacientes em diálise os valores devem estar

entre de 3,5 e 5,5 mg/dl [25]. O resultado final é a calcificação destes vasos, obstruindo o fluxo de sangue. Uma das principais causas de morte em pacientes com insuficiência renal são as doenças cardiovasculares como infarto e acidente vascular cerebral [15]. Sendo este tipo de análise da concentração de fósforo no líquido pós-hemodiálise (dialisato total final) essencial para o paciente renal crônico.

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para a fabricação do EGFET, inicialmente foi projetado e caracterizado o dispositivo EIS (Eletrólito-Isolante-Semicondutor) contendo como dielétrico a sobreposição do óxido de alumínio sobre o óxido de silício crescido por oxidação seca a partir de um substrato de silício, formando assim a estrutura $Al_2O_3/SiO_2/Si$. O óxido de alumínio foi obtido pelo processo de sputtering reativo. Na fabricação do dispositivo EIS foram utilizadas lâminas de silício tipo N com orientação cristalográfica (100) e com resistividade de 1 a 10 Ω/cm . Sobre o óxido de alumínio foi depositado um polímero isolante SU8-2005 a base de acetato de metoxi propanol, um fotorresiste negativo formado por oito grupos epoxi reticulados, através do método de fotogração formando uma estrutura no formato de um poço com parede, como ilustrado na figura (6), permitindo que a solução entre em contato com o óxido e assim possibilitando que a medida seja realizada somente naquela região. Para formar o eletrodo na base inferior do dispositivo foi depositado uma fina camada de alumínio por pulverização catódica (sputtering).

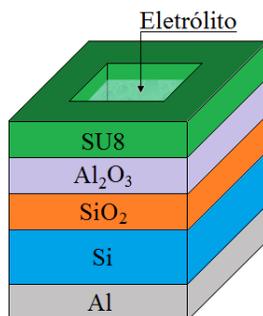


Figura-6: Estrutura do dispositivo eletrólito isolante semicondutor (EIS).

3.1 Fabricação do dispositivo EIS

A seguir é apresentada a sequência das etapas de fabricação do dispositivo EIS.

3.1.1. Lâmina de silício tipo P com orientação cristalográfica $\langle 100 \rangle$. Caracterização, medida da espessura com relógio comparador e da resistividade da lâmina através da técnica de quatro pontas.

3.1.2. Limpeza química completa da lâmina.

3.1.3. Oxidação seca para formação de camada fina de dióxido de silício no dispositivo, Figura 7.

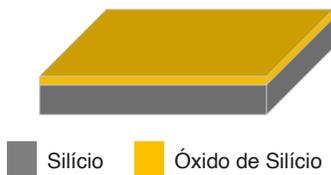


Figura-7: Oxidação seca da lâmina

3.1.4. Após a oxidação seca, a amostra é submetida à limpeza orgânica que visa remover os compostos orgânicos resultantes de etapas anteriores.

3.1.5. Deposição de óxido metálico (Al_2O_3) por pulverização catódica reativa (*sputtering* reativo) sobre a camada de SiO_2 da estrutura anterior, Figura 8.

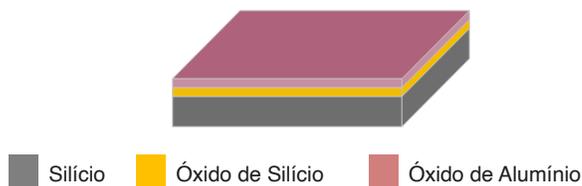


Figura-8: Amostra com óxido de alumínio depositado.

3.1.6. Uma fina camada de alumínio é aplicada nas costas da estrutura anterior por *sputtering*, Figura 9.



Figura-9: Deposição do eletrodo inferior.

3.1.7. Uma camada de fotorresiste negativo SU8-2005 a base de acetato de metoxi propanol é aplicada sobre a camada com óxido de alumínio (Al_2O_3), Figura 10.

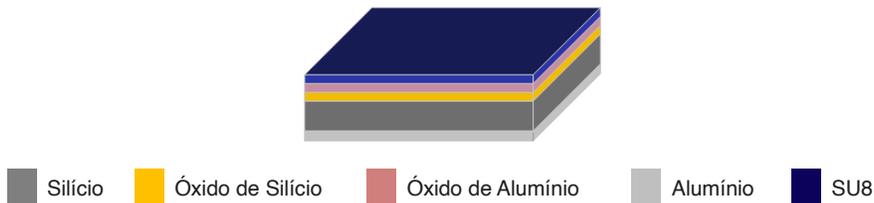


Figura-10: Deposição do fotorresiste SU8-2005 sobre o óxido de alumínio.

3.1.8. Processo litográfico. Utilizando-se uma máscara, executa-se a fotogração do local para abertura na camada do fotorresiste negativo SU8-2005. Essa abertura permite que o eletrólito entre em contato direto com a camada de óxido de alumínio do dispositivo, Figura 11.

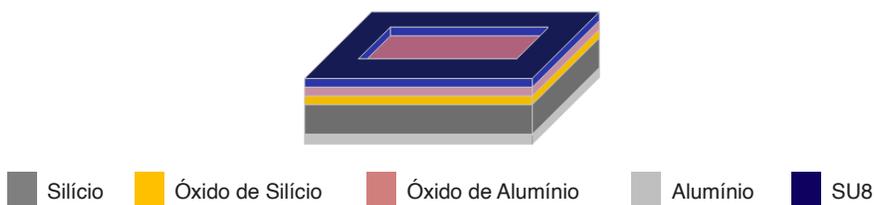


Figura-11: Dispositivo EIS finalizado.

Na Figura 12 temos a imagem do dispositivo EIS concluído, as regiões que ficaram sem o fotorresiste SU8, são aquelas que não foram sensibilizadas pela luz ultravioleta, e as regiões que foram sensibilizadas permaneceram.

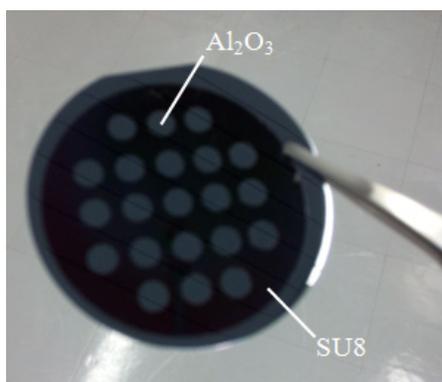


Figura-12: Imagem do dispositivo EIS concluído.

3.2 Fabricação do EGFET

O dispositivo EGFET fabricado é composto pelo dispositivo EIS fabricado conectado

à porta do MOSFET comercial modelo IRF540. A Figura 13, apresenta o circuito elétrico do dispositivo EGFET.

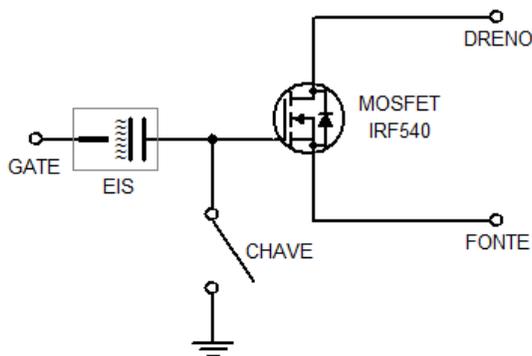


Figura-13: Circuito elétrico que compõem o dispositivo EGFET fabricado.

Devido a flutuações elétricas que a porta do transistor pode sofrer, adota-se uma chave interruptora ligada a porta do transistor e conectado à terra a fim de descarregar o MOSFET entre uma medida e outra, evitando assim possíveis cargas residuais acumuladas.

3.3 Fabricação da membrana polimérica íon seletiva

Utilizou-se neste trabalho, para a fabricação da membrana íon-seletiva, o polímero poli álcool vinílico (PVA). As membranas foram preparadas a partir da solubilização de 2 g de PVA em 40 ml de água deionizada e 4 ml de álcool isopropílico a aproximadamente 85 °C sob agitação mecânica constante por aproximadamente 20 minutos.

O polímero poli álcool vinílico (PVA) tem se mostrado atrativo para a preparação de membranas, por causa de sua alta permeabilidade de água e boas propriedades para formar filmes.

E a principal função dessa membrana nesse trabalho é a sua seletividade em relação ao íon fosfato, para que essa finalidade fosse alcançada, foi preciso inserir na matriz polimérica do PVA o composto orgânico dietilenotriamina, para auxiliar o transporte do íon fosfato dentro do polímero [26], [27].

Dessa maneira, o eletrodo de referência utilizado no dispositivo EIS que compõem o EGFET é composto de um tubo plástico contendo no seu interior uma membrana polimérica íon-seletiva formada pelo poli álcool vinílico (PVA) com adição do ionóforo dietilenotriamina, onde nesse polímero foi introduzido um fio de cobre, como ilustra a Figura 14.

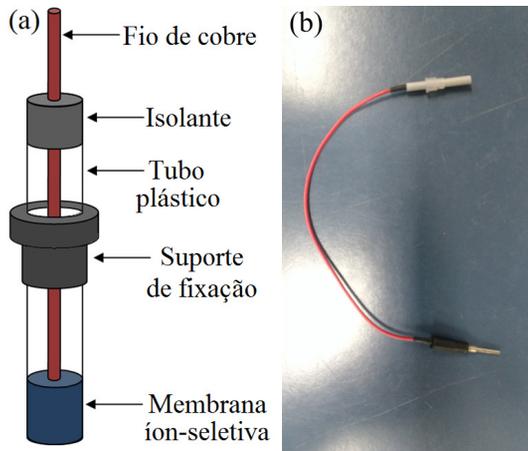


Figura-14: (a) Ilustração do eletrodo de referência, (b) Imagem do eletrodo de referência utilizado no dispositivo EIS do EGFET fabricado.

Na Figura 14 temos o eletrodo de referência que foi fabricado com a membrana íon-seletiva a base de PVA utilizado no EGFET com a finalidade de aumentar a seletividade nas medidas da concentração do íon fosfato.

4 | MEDIDAS DA CONCENTRAÇÃO DE FOSFATO NO DTF

A Figura 15 mostra o esquemático do EGFET, que é composto pelo eletrodo de referência contendo a membrana íon-seletiva, pelo dispositivo EIS, e pelo MOSFET IRF540, que são conectados apropriadamente ao analisador de parâmetros de semicondutores Keithley modelo 4200 SCS.

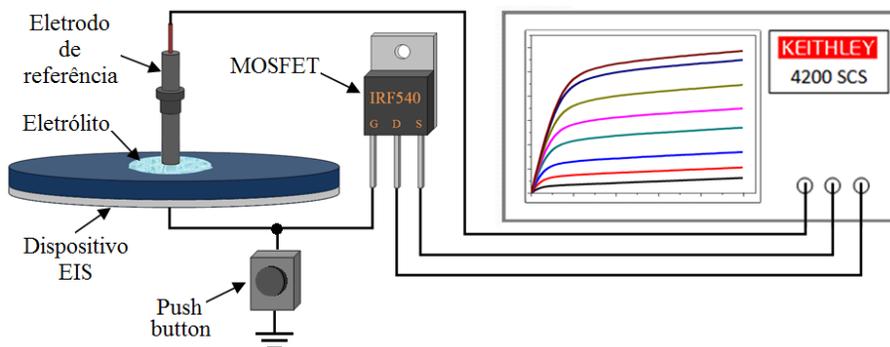


Figura-15: Esquemático do EGFET utilizado na caracterização elétrica das medidas da concentração de fosfato.

Na Figura 15, o eletrodo de referência é o mesmo que já foi mostrado na Figura 14, e o dispositivo push button (interruptor) é utilizado para descarregar possíveis cargas

acumuladas no MOSFET entre uma medida e outra.

Para as medidas da concentração de fosfato no dialisato total final (DTF), foram levantadas curvas I_{DS} versus V_{DS} utilizando soluções com diferentes concentrações de fosfato dissolvidos na solução do DTF. Nessa caracterização a tensão aplicada no eletrodo de referência do EGFET foi de 3,45 V, que é a tensão de limiar do transistor IRF540. Para a realização das medidas da concentração de fosfato no DTF, sobre a superfície do dispositivo EIS foi colocada uma gota de 10 μ L de solução de fosfato dissolvido no DTF (eletrólito) para cada uma das concentrações analisadas (zero a 7 mg/dL). O eletrodo de referência foi aproximado até entrar em contato com o eletrólito. O contato do corpo foi feito pelo substrato de Si pressionado sobre a base metálica da estação de provas. Então, iniciava-se a realização da medida de I_{DS} por V_{DS} no EGFET para cada gota das soluções de fosfato dissolvido no DTF com concentrações de zero a 7 mg/dL, variando V_{DS} de zero a 1 V, com tensão no eletrodo de referência fixada em 3,45 V.

A Figura 16 mostra as curvas I_{DS} versus V_{DS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF para o EGFET.

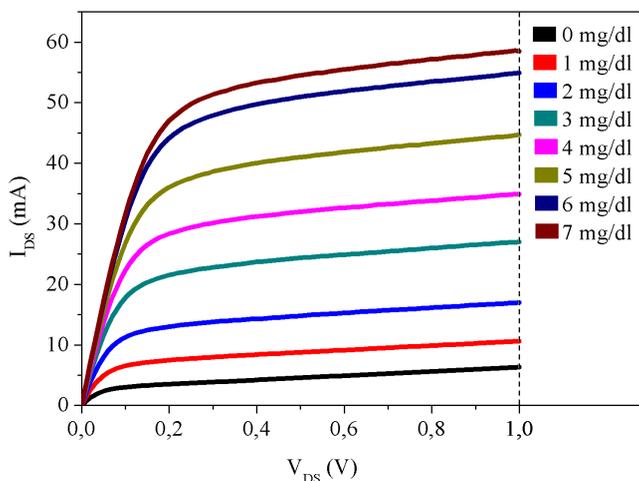


Figura-16: Curvas I_{DS} por V_{DS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF, das medidas realizadas no EGFET.

Notamos no gráfico da Figura 16, a medida I_{DS} por V_{DS} da solução do DTF sem adição do sal de fosfato (zero mg/dL). Essa medida foi realizada para verificar a seletividade da membrana íon-seletiva, ou seja, a interferência na medida de outros íons da solução. A corrente de saturação (I_{DS}) referente a medida com zero de concentração de fosfato no DTF foi aproximadamente 6,3 mA, e referente a medida com 1 mg/dL foi aproximadamente 10,6 mA. Ou seja, a medida com a concentração de 1 mg/dL de fosfato foi aproximadamente 68 % maior do que a medida no DTF com zero concentração de fosfato. A partir das medidas

I_{DS} por V_{DS} (Figura 16), pode-se extrair os valores de I_{DS} de saturação para cada um dos valores da concentração de fosfato em solução do DTF, e com isso obtendo-se a curva I_{DS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF, como mostra a Figura 17.

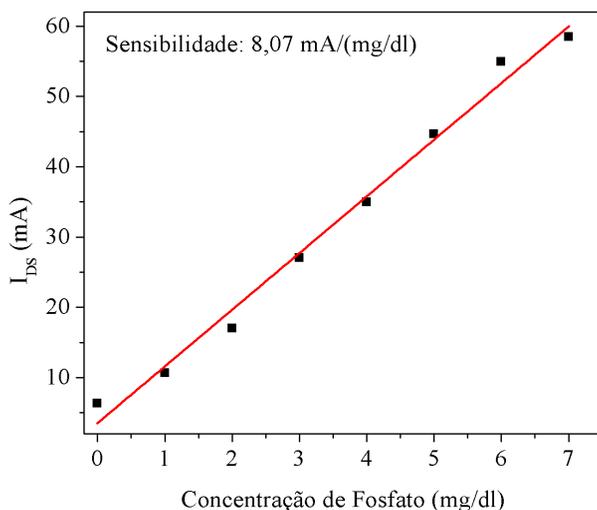


Figura-17: Curvas I_{DS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF, realizadas no EGFET.

Notamos no gráfico da Figura 17, que a sensibilidade em corrente obtida foi de 8,07 mA/(mg/dL).

Na Figura 18, temos as tensões de limiar (V_T) para cada curva I_{DS} por V_{GS} levantada em função de cada uma das concentrações de fosfato no DTF.

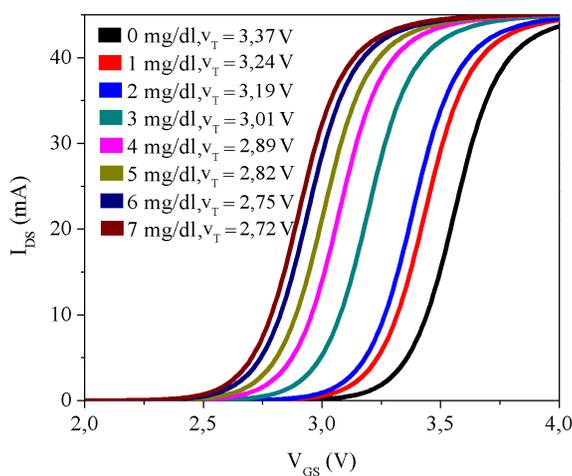


Figura-18: Curvas I_{DS} por V_{GS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF, das medidas realizadas no EGFET.

A partir das curvas I_{DS} por V_{GS} levantadas para cada um dos valores da concentração de fosfato, foi possível extrair o valor de V_T para cada um dos valores das concentrações. Ao fazer o gráfico destes valores de V_T em função da concentração de fosfato, obtivemos o valor da sensibilidade do EGFET em função da concentração de fosfato em solução do DTF, como mostra a Figura 19, e assim obtendo o valor da sensibilidade do EGFET.

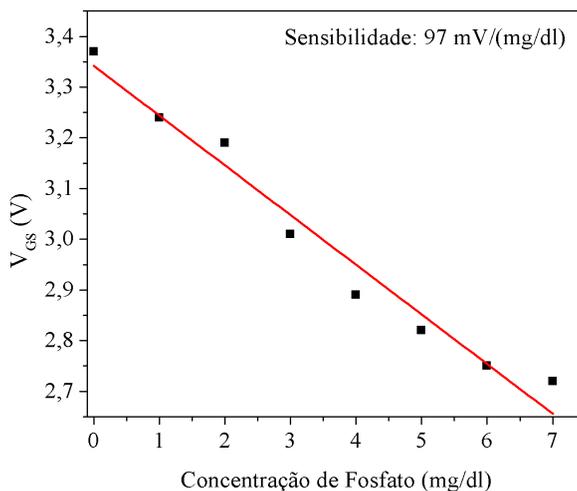


Figura-19: Curva V_{GS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF utilizada para o cálculo da sensibilidade do dispositivo EGFET.

Notamos pelo gráfico da Figura 19, que a sensibilidade em tensão do EGFET em relação a concentração de fosfato obtida foi de 97 mV/(mg/dL).

5 | CALIBRAÇÃO E TESTE DO EGFET

O teste com o EGFET foi realizado com a medida da concentração de fosfato em amostras do dialisato total final (DTF) fornecida pelo Departamento de Clínica Médica (Nefrologia) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, e o resultado da medida foi comparado com o obtido da análise químicas feita em laboratório.

A Tabela 1 mostra o resultado da análise feita em laboratório da amostra do DTF.

Substância	Concentração (mg/dL)
Cálcio	4,70
Fósforo	2,31
Magnésio	1,28
Potássio	9,78
Sódio	312,66

Tabela-1: Parâmetros do resultado da análise laboratorial da amostra do DTF.

Para a calibração do EGFET, foi preparada uma solução de DTF com concentração de 2,31 mg/dL de sal de fosfato (Na_2HPO_4), e depois foi levantada a curva I_{DS} por V_{DS} , amostra (A). Da mesma maneira foi levantada a curva I_{DS} por V_{DS} da amostra de DTF que foi realizada análise laboratorial, amostra (B) que foi coletada na saída da máquina de hemodiálise.

A Figura 20a mostra as curvas I_{DS} por V_{DS} para as amostras (A) e (B) obtidas através do analisador de parâmetros de semicondutores keithley, e a Figura 20b mostra a curva I_{DS} por V_{DS} ajustada para a amostra (A).

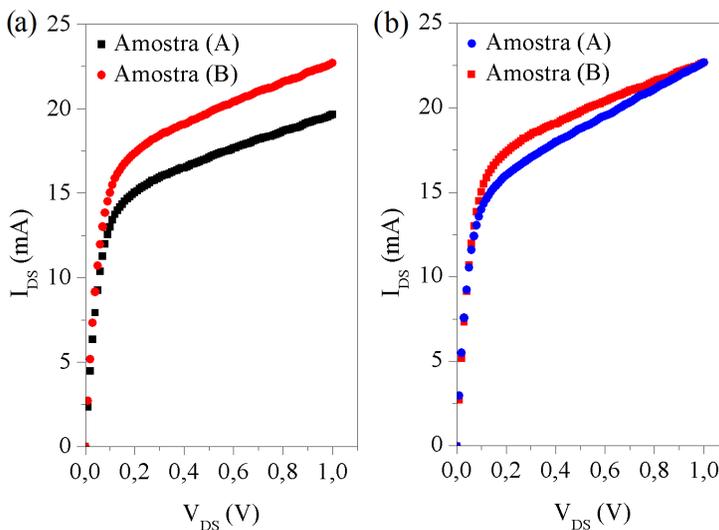


Figura-20: Curvas I_{DS} por V_{DS} em função da concentração de fosfato em solução do DTF das amostras (A) e (B), e curvas I_{DS} por V_{DS} ajustada para a amostra (A).

Mesmo as amostras tendo as mesmas características químicas, de acordo com as curvas I_{DS} por V_{DS} , notamos pela calibração (Figura 20a) que existe uma diferença na corrente máxima de I_{DS} de aproximadamente 3,0 mA. O que evidencia a necessidade de um ajuste no dispositivo EGFET pois os resultados de medidas de corrente para a duas amostras deveriam ser iguais ou muito próximas.

Esse ajuste foi realizado regulando empiricamente a tensão no eletrodo de referência do EGFET até o momento em que a curva I_{DS} por V_{DS} da amostra (A) ficasse sobreposta a curva I_{DS} por V_{DS} da amostra (B), como mostra a Figura 20b.

Percebemos na Figura 20b, que a curva I_{DS} por V_{DS} da amostra (A) ajustada não ficou integralmente sobreposta a curva I_{DS} por V_{DS} da amostra (B), porém, isso não é crítico, o mais importante é que a corrente máxima I_{DS} de ambas as curvas sejam a mesma. Pois, a corrente máxima I_{DS} que será correlacionada com a concentração do fosfato com as medidas realizadas no DTF em tempo real. Isso será realizado com o auxílio de um circuito condicionador do sinal de saída do EGFET, e que por sua vez, será conectado a um Arduino.

6 | CIRCUITO CONDICIONADOR DO SINAL DO EGFET

Um circuito condicionador do sinal de saída do EGFET foi confeccionado para a implementação do dispositivo EGFET na saída da máquina de hemodiálise. A Figura 21 ilustra o circuito condicionador elaborado para o EGFET.

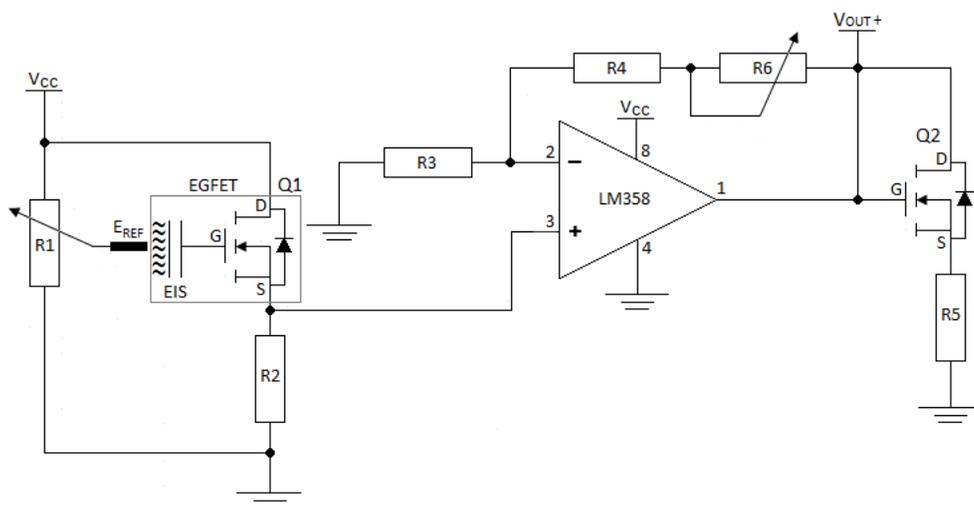


Figura-21: Circuito condicionador do sinal de saída do EGFET.

No circuito da Figura 21, V_{CC} é a tensão de alimentação de 12 V, o potenciômetro R_1 ajusta a tensão no eletrodo de referência (calibração), R_2 polariza Q_1 (MOSFET que compõe o EGFET), R_3 , R_4 e R_6 estão relacionados com o ganho (β) do amplificador operacional na configuração não inversora, onde β é determinado da seguinte forma:

$$\beta = 1 + \frac{R_4 + R_6}{R_3} \quad (50)$$

Sendo R_6 usado para ajustar o ganho do amplificador operacional, e R_5 que polariza Q_2 , tem a finalidade de limitar a tensão de saída do circuito (V_{OUT}) em 5 V. A Figura 22 ilustra a placa de circuito impresso do circuito condicionador do sinal do EGFET.

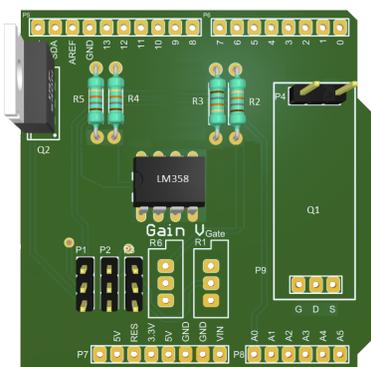


Figura-22: Ilustração da placa de circuito impresso do circuito condicionador do sinal de saída do EGFET.

Essa placa pode ser instalada diretamente sobre a placa do Arduino, permitindo aquisição do sinal de saída do EGFET condicionado, e possibilita fazer a leitura da medida da concentração de fosfato em tempo real através de um display conectado ao Arduino, como mostra a Figura 23, ou em um computador.

Através de um programa instalado e configurado apropriadamente no Arduino, é possível fazer a correspondência da tensão de saída do circuito condicionador com a medida em tempo real da concentração de fosfato. A tensão máxima de saída (V_{OUT}) do circuito condicionador é limitada em 5 V por Q_2 do circuito, pois esse é o valor máximo da tensão de entrada analógica do Arduino.

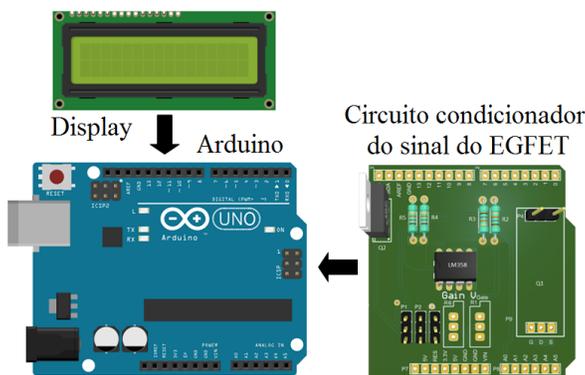


Figura-23: Circuito do sistema de aquisição e de leitura das medidas da concentração de fosfato em tempo real.

Nesse circuito a calibração é realizada ajustando R_1 da placa do circuito condicionador do sinal do EGFET até que o valor lido no display do Arduino ou no computador, corresponda ao valor da concentração de fosfato da amostra padrão. Feito isso pode-se iniciar a série de medições.

A Figura 24 apresenta o gráfico das medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real em função da tensão de saída (V_{OUT}) do circuito condicionador do sinal do EGFET.

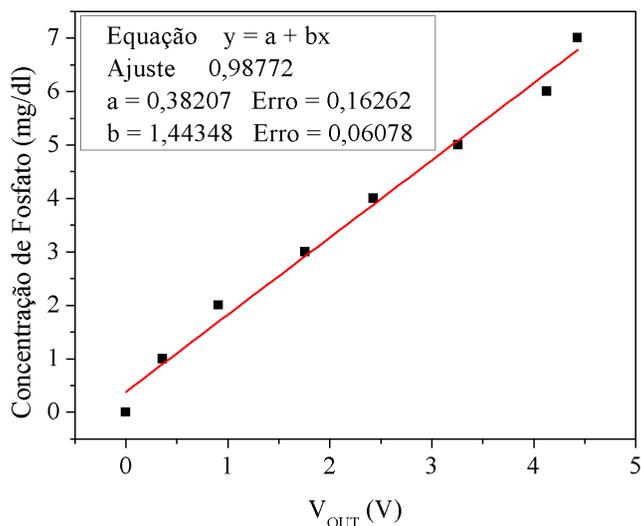


Figura-24: Gráfico das medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real em função da tensão de saída (V_{OUT}) do circuito condicionador do sinal de saída do EGFET.

Notamos na Figura 24 que a sensibilidade em concentração de fosfato obtida no circuito condicionador do sinal (V_{OUT}) do EGFET, foi de aproximadamente 694 mV/(mg/dL), com uma margem de erro em torno de 6%, e com valor mínimo na medida da concentração de fosfato de aproximadamente 0,4 mg/dL, com uma margem de erro de 16%.

A equação da reta de ajuste dos pontos referentes as medidas da concentração de fosfato apresentada junto ao gráfico da Figura 24, foi inserida no código do Arduino, para correlação do valor de medida da concentração de fosfato entre 0,4 e 7 mg/dL com a tensão de saída do circuito condicionador do EGFET.

Agora, para a implementação do dispositivo EIS para realização de medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real pelo EGFET na saída da máquina de hemodiálise, será necessário a utilização de uma célula para acomodar o dispositivo EIS e permitir que o mesmo entre em contato com a solução do DTF que é drenado da máquina de hemodiálise. A Figura 25 mostra a ilustração da célula e seus componentes.

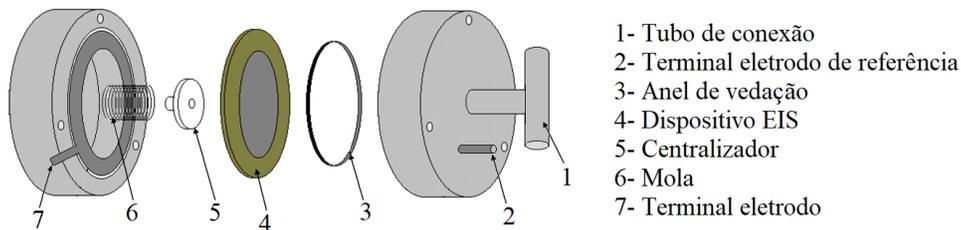


Figura-25: Ilustração da célula a ser utilizada na implementação do dispositivo EIS do EGFET para a realização das medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real pelo EGFET na drenagem da máquina de hemodiálise.

A Figura 26 ilustra as conexões que a célula do dispositivo EIS do EGFET deve fazer, para que o mesmo possa realizar as medidas da concentração de fosfato no DTF em tempo real na saída da máquina de hemodiálise.

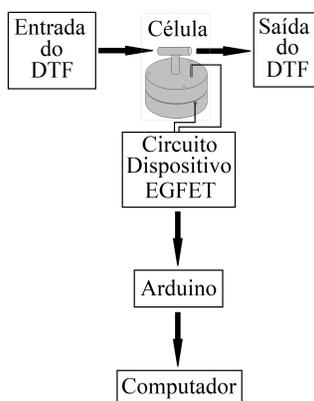


Figura-26: Ilustração das conexões da célula do dispositivo EIS no sistema de medidas.

A célula permite a conexão hidráulica do dispositivo EIS com a bomba de infusão volumétrica, como mostra a Figura 27.



Figura-27: Bomba de infusão volumétrica para medida e controle do fluxo de solução.

A bomba de infusão volumétrica, se faz necessária para conhecer o volume da solução no momento da medida da concentração de fosfato no DTF, e com isso, quantificar

a massa de fósforo, como na equação 1.

A entrada da bomba de infusão será conectada a saída da máquina de hemodiálise. As conexões entre a máquina de hemodiálise, a bomba de infusão volumétrica, o dispositivo EIS e a drenagem definitiva, são hidráulicas, e sendo elétrica a conexão entre o dispositivo final e o computador, como ilustra a Figura 28.

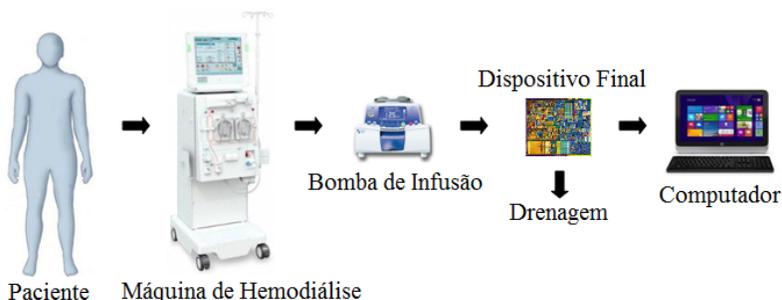


Figura-28: Ilustração da implementação da bomba de infusão volumétrica e do dispositivo final no processo de hemodiálise.

Na Figura 28, o dispositivo final é composto pela célula de implementação do dispositivo EIS, pelo circuito condicionador do sinal de saída do EGFET e pelo Arduino.

A Figura 29 mostra a imagem do circuito condicionador do sinal do EGFET em funcionamento, onde vemos o dispositivo EIS em uma plataforma contendo o eletrodo de referência íon-seletivo, conectados ao circuito condicionador que está acoplado ao Arduino, e vemos o resultado da medida da concentração de fosfato que é mostrado em um display em tempo real.

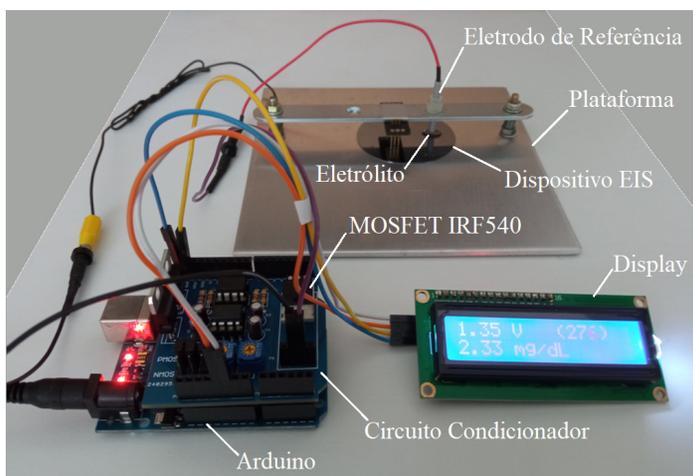


Figura-29: Imagem do circuito condicionador do sinal do EGFET em funcionamento.

Antes de iniciar uma medida, colocamos uma certa quantidade de eletrólito, isto é, um certo volume da amostra (B) que foi fornecida pelo Departamento de Nefrologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, em contato com o dispositivo EIS, e realizamos a calibração do dispositivo ajustando o potenciômetro R1 até que o valor da leitura no display corresponda ao valor da concentração de fosfato do resultado da análise laboratorial. Dessa forma assim, iniciando as medidas da concentração de fosfato em solução em tempo real.

7 | CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

O trabalho mostrou viável a utilização do dispositivo EIS para medidas da concentração do fosfato no dialisato total final. O dispositivo EIS, então, foi conectado a porta do MOSFET modelo IRF540, criando assim, o EGFET, e este por sua vez sendo capaz de medir a concentração de fosfato em solução, sendo uma boa alternativa na substituição ao ISFET, principalmente em relação ao processo de fabricação, já que o EGFET possibilita maior flexibilidade na escolha das características do MOSFET utilizada, e também na flexibilidade da troca do dispositivo EIS, sem a necessidade de fabricar integralmente outro dispositivo.

Os resultados das medidas da concentração de fosfato em solução do DTF com o circuito de implementação do EGFET (circuito condicionador do sinal de saída do EGFET conectado ao Arduino), apresentou sensibilidade por concentração de fosfato de aproximadamente 694 mV/(mg/dL) (Figura 109), com um erro aproximado de 6% nos valores das medidas realizadas, e apresentou um valor mínimo de medida da concentração de fosfato no DTF de aproximadamente 0,4 mg/dL com uma margem de erro de 16%. Os resultados das medidas realizadas nas soluções do DTF preparadas, ficaram com um desvio de aproximadamente 15% em relação aos resultados obtidos das soluções do DTF feita por análise química.

Diante do exposto, o EGFET formado por dispositivo EIS, composto de óxido de alumínio e eletrodo de referência contendo membrana seletiva [28]-[30], mostrou-se muito promissor para a aplicação inédita que propôs o trabalho de pesquisa, que foi medir a concentração de fosfato no DTF em tempo real, e com a contribuição de quantificar a massa de fósforo que é removida do paciente renal crônico nas sessões de hemodiálise. Trouxe também uma contribuição significativa no que diz respeito ao controle do nível de concentração de fósforo em pacientes renais crônicos, pois de acordo com trabalhos relacionados na literatura [9], [17], [31], [32], mostram a relevância do controle do nível de concentração de fósforo nos pacientes renais crônicos. Geralmente essa concentração nos pacientes em diálise os valores devem estar entre de 2,7 e 5,5 mg/dL [27], [28], e os valores das concentrações de fosfato no DTF utilizados nas medidas foram entre 0,4 e 7 mg/dL.

Em uma perspectiva futura, para a implementação do dispositivo EGFET para

realizar as medidas em tempo real frente as máquinas de hemodiálise, será necessário a fabricação da célula de implementação do dispositivo EIS, como mostrado na Figura (110). Essa célula permitirá que o DTF drenado da máquina de hemodiálise, entre em contato com o dispositivo EIS e com o eletrodo de referência contendo a membrana íon seletiva. Isto possibilitará que as medidas da concentração do fosfato sejam feitas em tempo real, e a leitura das medidas podem ser feitas tanto pelo display conectado ao Arduino, como em um computador.

REFERÊNCIAS

- [1] M. Dipalo, C. Pietzka, A. Denisenko, and H. Elhajj, "Terminated Nano-Diamond ISFET for Applications in Harsh Environment," *Diamond and Related Materials*, 2008.
- [2] M. Castellarnau, N. Zine, J. Bausells, C. Madrid, A. Juarez, J. Samitier, and A. Errachid, "ISFET Based Biosensor to Monitor Sugar Metabolism in Bacteria," *Materials Science and Engineering*, 2008. P. 680-685.
- [3] T. M. Pan, and K. M. Liao, "Comparision of Structural and Sensing Characteristics of Pr₂O₃ and PrTiO₂ Sensing Membrane for pH ISFET Application," *Sensors and Actuators*, 2008.
- [4] C. Jimenez, C. Dominguez, O. A. Fuentes, A. Lastres, and E. Valdes, "Microsensores de Estado Sólido Tipo ISFET," *Cyted*, 2006.
- [5] P. Bergveld, "Development of an Ion Sensitive Solid State Device for Neurophysiological Measurements," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 1970a. P. 70-71.
- [6] P. Bergveld, "Thirty Years of Isfetology: What Happened in The Past 30 Years and What May Happen in The Next 30 Years," *Sensors and Actuators*, vol. 88, pp. 1–20, 2003.
- [7] J. Van der Spiegel, I. Lauks, P. Chan, and D. Babic, "The Extended Gate Chemically Sensitive Field Effect Transistor as Multi-Species Microprobe," *Sens. Actuators*, 4,p.291–298, 1983.
- [8] G. O. Silva, "Biossensor de Uréia Utilizando Dispositivo pH-EGFET," *Dissertação de Mestrado*, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Riberão Preto, USP, 2013.
- [9] S. K. Ganesh, A. G. Stack, N. W. Levin, and T. H. Shearon, "Association of Elevated Serum PO₄ and Parathyroid Hormone with Cardiac Mortality Risk in Chronic Hemodialysis Patients," *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12:2131- 2138.
- [10] R. Rizzoli, "Physiology of Calcium and Phosphate Homeostases," 2 nd. Edition, Burlington USA, *Elsevier inc.*, 2006. P. 345- 357.
- [11] M. Ruppe, "Disorders of Phosphate Homestasis. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism," 7th edition. *American Society for Bone and Mineral Research*, Washington, D.C. 2008. P. 123-127.
- [12] E. Slatopolsky, A. Brown, and A. Dusso, "Pathogenesis of Secondary Hyperparathyroidism," *Kidney Int.*, 1999; 73:14-19.

- [13] E. Young, J. Albert, S. Satayatham, D. Goodkin, R. Pisoni, T. Akiba, T. Akizawa, K. Kurokawa, J. Bommer, L. And Piera, F. Port. "Predictors and Consequences of Altered Mineral Metabolism," *The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. Kidney Int.*, 2005, 67:1179-1187.
- [14] D. Kates, D. Sherrard, and D. Andress. "Evidence that Serum Phosphate is Independently Associated with Serum PTH in Patients with Chronic Renal Failure," *Am J Kidney Dis.*, 1997, 30:809-813.
- [15] G. A. Block, P. S. Klassen, J. M. Lazarus, N. Ofsthun, E. G. Lowrie, and G. M. Chertow, "Mineral Metabolism, Mortality, and Morbidity in Maintenance Hemodialysis," *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15:2208-2218.
- [16] S. H. Hou, J. Zhao, C. F. Ellman, J. Hu, Z. Griffin, D. M. Spiegel, and J. E. Bordeau, "Calcium and Phosphorus Fluxes During Hemodialysis with Low Calcium Dialysate," *Am J Kidney Dis.*, 1991, 18:217-224.
- [17] J. P. Gutzwiller, D. Schneditz, A. R. Huber, C. Schindler, F. Gutzwiller, and C. E. Zehnder, "Estimating Phosphate Removal in Hemodialysis," *Nephrol Dial Transplant*, 2002; 17:1037-1044.
- [18] S. C. Smeltzer, and B. G. Bare, "Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica," 10 ed. Vol 3. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005.
- [19] O. Schuck, and J. Kaslikova, "Kinetics of Phosphorus During Hemodialysis and The Calculation of its Effective Dialysis Clearance," *Clin Nephrol*, 1997; 47:379-383.
- [20] R. Minutolo, V. Bellizzi, M. Cioffi, C. Iodice, P. Giannattasio, M. Andreucci, V. Terracciano, B. R. Di Iorio, G. Conte G, and L. De Nicola, "Postdialytic Rebound of Serum Phosphorus," *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13:1046- 1054.
- [21] E. M. Spalding, P.W. Chamney, and K. Farrington, "Phosphate Kinetics During Hemodialysis," *Kidney Int.*, 2002, 61:655-667.
- [22] P. Gallar, M. Ortiz, O. Ortega, I. Rodriguez, V. Seijas, A. Carraño, A. Oliet, and A. Vigil, "Factores en La Eliminación de P en Hemodialysis," *Nefrologia*, 2007, 27:46-52.
- [23] M. Albalate, C. Piedra, C. Fernandez, M. Lefort, H. Santana, P. Hernando, J. Hernandez, and C. Caramelo, "Association Between Phosphate Removal and Markers of Bone Turnover in Hemodialysis Patients," *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21:1626- 1632.
- [24] E. M. Spalding, P. W. Chamney, and K. Farrington, "Phosphate Kinectis During Hemodialysis," *Kidney Int.*, 2002, 61:655-667.
- [25] M. Sigrist, and C. W. McIntyre, "Calcium Exposure and Removal in Chronic Hemodialysis Patients," *J Renal Nutr.*, 2006, 16:41-46.
- [26] M. A. Hocevar, F. Müller, B. Hansen, V. A. Amorim, L. O. Meneguzzi, and C. A. Ferreira, "Membrana Íon Seletiva Estudo da Inserção de Politiofeno em Matriz de Poli (Álcool Vinílico)," 22º CBECiMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Natal, RN, 2016.
- [27] V. A. Amorim, "Síntese e Caracterização de Membranas de Troca Iônica a Partir de Poli (Álcool Vinílico) e Politiofeno para Aplicação em Eletrodialise," Dissertação de Mestrado, PPG3M, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2018.

- [28] H. J. Kim, J. W. Hummel, S. J. Birrel, and K. A. Sudduth, "Evaluation of Phosphate Ion-Selective Membranes for Real Time Soil Nutrient Sensing," *ASAE Annual International Meeting*, Tampa, Florida, 2005.
- [29] T. M. Pan, and C. H. Lin, "High Performance NiO_x Extended-Gate Field-Effect Transistor Biosensor for Detection of Uric Acid," *J. Electrochem. Soc.*, 168 017511, 2021.
- [30] X. Yuan, X. Zhang, Y. Huang, J. Jie, Q. Wei, M. Tan, and Y. Yu, "Development of an Electrochemical Sensor for Chloride ion Detection Using Ion-Sensitive Field-Effect Transistor Array," *Int. J. Electrochem. Sci.*, 16 150911, DOI: 10.20964/2021.01.60, 2021.
- [31] A. B. Carvalho, and L. Cuppari, "Controle da Hiperfosfatemia na Doença Renal Crônica," *Brazilian Journal of Nephrology*, vol. 33, nº 2, ISSN 2175-8239, São Paulo, SP, 2011.
- [32] R. Sesso, and M. B. Ferraz, "Avaliação Crítica do Sevelamer no Tratamento da Hiperfosfatemia em Pacientes com Insuficiência Renal Crônica," *Revista da Associação Médica Brasileira*, vol. 49, nº 1, ISSN 1806-282, São Paulo, SP, 2003.

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO DE ANIMAIS DE COMPANHIA (CÃES E GATOS)

Data de submissão: 09/12/2022

Data de aceite: 02/01/2023

Leonardo Carlos Wendhausen de Oliveira

Universidade Federal de Santa Catarina
— UFSC
Florianópolis — Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/6696397852326543>

Andréa Gonçalves Trentin

Laboratório de Células-Tronco e
Regeneração Tecidual da Universidade
Federal de Santa Catarina — LACERT
(UFSC)
Florianópolis — Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/6175285839739641>

RESUMO: As células estromais mesenquimais (CEM) vêm sendo extensivamente investigadas quanto ao seu potencial de uso terapêutico, tanto em humanos quanto em animais, devido à sua plasticidade, propriedades anti-inflamatória e imunorreguladora. Nesse contexto, as CEM de tecido adiposo (CEM-TA) representam uma boa alternativa, uma vez que podem ser obtidas de descartes cirúrgicos, como os de cirurgias eletivas de castração de cães e gatos que ocorrem rotineiramente nas clínicas veterinárias. Todavia, para explorar o potencial clínico

das CEM-TA, é necessário a caracterização *in vitro* dessas células. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo analisar comparativamente CEM-TA caninas e felinas no que se refere à migração e proliferação celular e alterações nucleares.

PALAVRAS-CHAVE: Cultura celular; biobanco; *Felis catus*; *Canis lupus familiares*.

COMPARATIVE CHARACTERIZATION OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM ADIPOSE TISSUE OF COMPANION ANIMALS (DOGS AND CATS)

ABSTRACT: Mesenchymal stromal cells (MSCs) have been extensively investigated for their therapeutic potential both in humans and in animals, due to their plasticity, anti-inflammatory and immunoregulatory properties. In this sense, MSCs derived from adipose tissue (ADSCs) represent a good alternative, since they can be obtained from surgical discards, such as elective castration surgeries of dogs and cats that occur routinely in veterinary clinics. However, to explore the clinical potential of ADSCs, it is necessary to characterize these *cells in vitro*. Thus, this study aimed

to comparatively analyze canine and feline ADSCs concerning cell migration and proliferation and nuclear alterations.

KEYWORDS: Cell culture; companion animals; biobank; *Felis catus*; *Canis lupus familiares*.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Células-tronco

O termo 'célula-tronco' já possui mais de cem anos e foi utilizado em diferentes contextos com diferentes significados. Em 1868, Ernst Haeckel usou o termo para cunhar o organismo unicelular do qual derivam todos os seres multicelulares, porém na terceira edição do livro *Anthropogenie* (1877), ele o usa para nomear o ovócito após a fertilização. Já em 1896, o termo foi usado por Pappenheim para descrever células precursoras de hemácias e glóbulos brancos (RAMALHO-SANTOS; WILLENBRING, 2007). Atualmente, célula-tronco é uma definição funcional: são células precursoras, embrionárias ou adultas, capazes de se autorrenovar e dar origem a outros tipos celulares. Elas também podem ser classificadas com base no potencial de diferenciação da qual, indo do maior para o menor, se nomeia: totipotente, pluripotente e multipotente (CHAGASTELLES; NARDI, 2011; SOBHANI *et al*, 2017).

Um tipo de célula-tronco que vem ganhando destaque ultimamente, é célula estromal mesenquimal (CEM), que corresponde a células multipotentes com potencial de diferenciação ósseo, adiposo e cartilaginoso dentre outros (SOBHANI *et al*, 2017).

1.2 CEM

Inicialmente descritas por volta da década de 1970 por Friedenstein, Gorskaja e Kulagina (1976) na medula óssea de camundongo, como células aderentes ao plástico dos frascos de cultura e com morfologia similar à de fibroblasto (FRIEDENSTEIN; GORSKAJA; KULAGINA, 1976; LEVY *et al*. 2020) e com origem no estroma da medula óssea (BIANCO; ROBEY; SIMMONS, 2008). Caplan (1991) foi o primeiro a nomeá-las de 'célula-tronco mesenquimal', porém, Bianco, Robey e Simmons (2008) usaram esse termo para designar células progenitoras derivadas do mesoderma com potencial de diferenciação para linhagem de tecidos esqueléticos e não-esqueléticos, existente em outros tecidos conjuntivos além da medula óssea.

Com o crescente interesse nas CEM, surgiram inconsistências devido à grande variabilidade nos estudos. Para resolver esse problema o *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) estabeleceu critérios para a sua definição, incluindo a capacidade de diferenciação *in vitro* para osteoblastos, condrócitos e adipócitos, presença de marcadores mesenquimais de superfícies, adesão ao plástico e morfologia fibroblastóide (DOMINICI *et al.*, 2006). Vale ressaltar que existem discussões sobre a classificação das CEM como células-tronco devido à sua grande heterogeneidade e forma de obtenção, lacuna de

conhecimento preciso sobre sua funcionalidade e localização *in vivo*, assim como a falta de marcadores adequados (LINDNER *et al.*, 2010; VISWANATHAN *et al.*, 2019). Por isso, o termo célula-tronco mesenquimal tem sido utilizado em menos frequência e substituído por células estromais mesenquimais (RENESME *et al.*, 2022), sendo assim a nomenclatura utilizada neste trabalho.

1.3 Potencial terapêutico das CEM

As CEM apresentam um grande potencial terapêutico, a exemplo de seu secretoma que inclui fatores de crescimento e imunomodulatórios capazes de ativar nas células alvo vias anti-apoptóticas e de sobrevivência promovendo melhora do reparo e da regeneração de tecidos (HARRELL *et al.*, 2019). Como apontado por Voga *et al.* (2020), apesar de inicialmente ter sido sugerido que essas células fossem capazes de se diferenciar e substituir as que tecido danificado, é atualmente aceito que suas propriedades terapêuticas sejam em grande parte promovidas pelo efeito parácrino, secreção de vesículas extracelulares, transferência de organelas e apoptose mediada por imunorregulação. Ademais, esses autores salientam a facilidade de obtenção das CEM a partir de diferentes tecidos incluindo o tecido adiposo e a medula óssea. Outro ponto positivo, é a menor implicação ética relacionada à sua utilização.

O interesse terapêutico repercute na medicina veterinária, a exemplo do trabalho de Olsson *et al.* (2021). Trata-se de uma revisão sistemática da literatura na qual se constatou que, tanto em transplantes autólogos quanto os alogênicos, as CEM do tecido adiposo (CEM-TA) correspondem a uma terapia promissora, uma vez que houve melhora nos quadros de dor, amplitude de movimento e claudicação de cães com osteoartrite nas articulações do quadril com apenas uma dose de células. Entretanto, esses mesmos autores alertam para a falta de padronização nos protocolos utilizados e de estudos que acompanhem os pacientes por um período maior de tempo.

Tendo em vista seu potencial terapêutico na medicina veterinária e falta de caracterização desse tipo celular, assim como o fato de que cães e gatos são animais de companhia que eventualmente necessitam de tratamento veterinário; se torna necessário uma melhor caracterização das CEM-TA dessas duas espécies. Desse modo, este trabalho avaliou de modo comparativo a proliferação e migração celular e alterações nucleares das CEM-TA de cães e gatos em cultura de células.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para comparar os aspectos básicos das CEM-TA de cães (CEM-TAC) e de gatos (CEM-TAF) foram realizadas a análise do Tempo de Duplicação Celular (TDC), o ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese e o *cell scratch assay* para avaliação da proliferação, alterações nucleares e migração celular, respectivamente.

2.1 Obtenção das células

Foram utilizadas CEM-TA previamente isoladas e criopreservadas no biobanco do Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual (LACERT) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) a partir descartes de cirurgias eletivas de castração de cães e gatos (machos e fêmeas) (ovariosalpingohisterectomia e orquiectomias) realizadas em clínicas veterinárias conveniadas ao LACERT-UFSC na localidade de Florianópolis e região, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos tutores dos animais. Este trabalho conta com aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (Protocolo 1852210519, CEUA/UFSC), estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.1.1 Coleta, isolamento, cultivo e criopreservação

A coleta se constituiu das seguintes etapas: o fragmento de tecido adiposo da região abdominal foi recolhido de forma antisséptica, lavado duas vezes em solução tampão fosfato-salino (PBS – do inglês *Phosphate Buffered Saline*), e transferido para recipiente contendo Meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM – do inglês *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) acrescido de solução de antibiótico a 0,5% contendo penicilina ([200 U/mL]; Sigma-Aldrich) e estreptomicina ([10 µg/mL]; Sigma-Aldrich). A seguir o tecido foi fragmentado em porções menores com bisturi (GONÇALVES *et al.*, 2018; LIMA, 2022) e submetido à dissociação enzimática. Para tanto, os fragmentos foram transferidos para tubos cônicos e incubados com colagenase tipo I por 60 minutos, seguido por solução de lise de hemácias por 10 minutos para depois ser centrifugado a 300g por 5 minutos para formar o *pellet* que foi ressuscitado no meio de cultura acima e filtrado em malha com poros de 40 µm. A suspensão celular resultante foi semeada em garrafa de cultura de cultivo e mantida a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade até atingirem a confluência de 80%. O meio de cultura foi trocado a cada 2 dias de cultivo. Após a confluência, as monocamadas foram lavadas com PBS e dissociadas com solução de tripsina/ ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) para descolamentos das células da garrafa de cultura. O procedimento foi repetido até a passagem 3 (P3) para a realização dos experimentos. (LIMA, 2022; ZOMER, 2018).

Para o processo de criopreservação, amostras de 1×10^6 células foram ressuscitadas em solução criopreservadora (DMEM com 10% soro fetal bovino – SFB – acrescido de 10% dimetilsulfóxido) e mantida em nitrogênio líquido. O descongelamento foi realizado em DMEM/10% SFB seguido de centrifugação a 300g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células semeadas em garrafas de cultivo (LIMA 2022).

2.2 Análise do tempo de duplicação celular

Para avaliar a proliferação, CEM-TA de ambas as espécies foram semeadas em cinco poços de placas de cultivo. Em intervalos de 24 horas (24, 48, 72, 96 e 120 horas), as células de cada poço foram descoladas por tripsinização como descrito acima e contadas utilizando-se da câmara de Neubauer. Esse procedimento se baseou no protocolo estabelecido por Lima (2022) e Gonçalves *et al.* (2018) com alterações e aplicada a seguinte fórmula de acordo com Roth (2006):

$$\text{TDC} = \frac{\text{Duração (log2)}}{\log (\text{Concentração final}) - \log (\text{Concentração inicial})}$$

2.3 Cell scratch assay

Sua realização se deu com base nos procedimentos de Lima (2022), Zhang *et al.* (2013) e Zomer *et al.* (2019) com alterações. Para tanto, 2×10^4 células por poço foram cultivadas em triplicata até atingirem 80% de confluência. As monocamadas foram então incubadas com 0,5 mg/mL mitomicina diluída no meio de cultura durante 2 horas. Após lavagem com PBS foram realizadas lesões na monocamada por raspagem em forma de cruz com ponteiros de 200 μ L esterilizada. Após nova lavagem, as culturas foram mantidas nas condições de cultivo como descrito no Item 2.1.1. O fechamento da lesão foi mensurado a intervalos de 24 horas com auxílio do software ImageJ (NIH).

2.4 Ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese

Para tanto, as culturas celulares foram incubadas em 5mg/ml de citocalasina B a 37°C por 48 horas. A seguir, as células foram descoladas da placa de cultivo em solução de tripsina/EDTA como descrito previamente no item 2.1.1. O precipitado celular foi mantido por 3 minutos em solução hipotônica (1% DMEM, 0,075% cloreto de potássio em água destilada). Por fim, as células foram fixadas em lâminas histológicas (90% de metanol e 10% de ácido acético por 30 minutos), coradas com 0,5% de Giemsa e observadas em microscópio de luz (ZOMER 2019; FENECH, 2007).

Para contar as alterações nucleares e o número de núcleos foi seguido os critérios estabelecidos por Fenech *et al.* (2003), utilizando-se a equação para calcular o Índice de Divisão Nuclear (NDI):

$$\text{NDI} = \frac{(\text{M1} + 2.\text{M2} + 3.\text{M3} + 4.\text{M4})}{\text{N}}$$

Onde N é o número de células totais viáveis das quais se contaram quinhentas para cada doador. Enquanto M1, M2, M3 e M4 se referem a células com uma quantidade de núcleos de um a quatro respectivamente (FENECH, 2007).

3 | RESULTADOS

3.1 Tempo de duplicação celular

O gráfico da Figura 1 demonstra a curva de crescimento das CEM-TAC e CEM-TAF. O TDC das CEM-TAC foi de 21,95 horas e o das CEM-TAF de 43,14 horas.

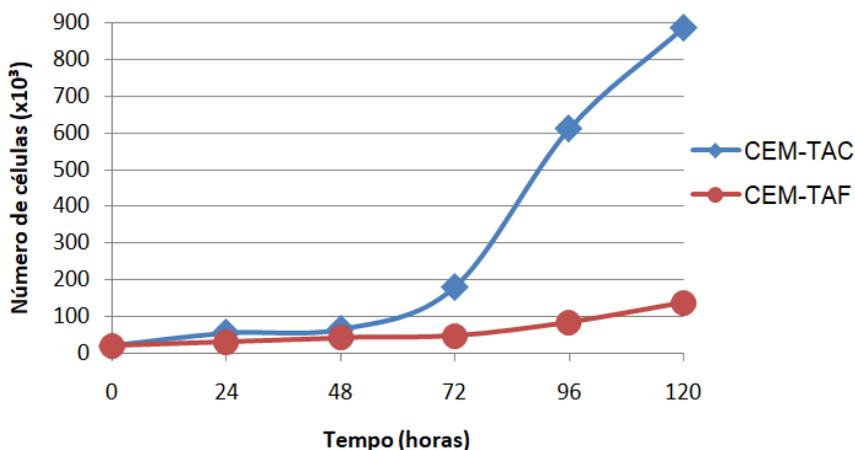


Figura 1 – Gráfico de comparação entre as curvas de crescimento de CEM-TAC e CEM-TAF

Fonte: Elaborado pelos autores

CEM	CEM-TAF	CEM-TAC
TDC (horas)	43,14	21,95

Tabela 1 – Alterações nucleares

Fonte: Elaborado pelos autores

Com isso pode-se verificar que as células as CEM-TAC apresentam maior proliferação e levam menos tempo para duplicar. Além disso, foi observado um aumento do crescimento celular a partir de 72 horas de cultivo nos dois casos, porém mais acentuado para as CEM-TAC.

3.2 Cell scratch assay

Esse ensaio revelou que as CEM-TAF fecharam a ranhura mais rapidamente que as CEM-TAC de modo a não apresentar nenhuma abertura após 48 horas. Também pode ser observado que o desvio padrão (DP) é maior nas 24 horas anteriores ao fechamento total.

Vale ressaltar que na Tabela 2 se apresenta as médias das triplicatas e o DP, e também que valores de 100% significam que a ranhura está completamente aberta e de 0%, completamente fechada.

Poço	0 Horas	24 Horas	48 Horas	72 Horas
CEM-TAF	100% DP=0	19,20% DP=14,3	0% DP=0	0% DP=0
CEM-TAC	100% DP=0	70,52% DP=2,3	38,24% DP=14,85	0% DP=0

Tabela 2 – Fechamento de ranhura

Fonte: Elaborado pelos autores

3.3 Ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese

Como já previamente descrito no item 2.4., os núcleos foram contados e classificados nas categorias M1, M2, M3 e M4. As CEM-TAF apresentam um maior número de células M2 enquanto as CEM-TAC são mais numerosas em M3 e M4. Além disso, as CEM-TAC apresentaram um NDI maior que as CEM-TAF como demonstrado na Tabela 3.

Foi avaliada a presença das alterações nucleares micronúcleos (MNI), pontes nucleoplasmáticas (NPB) e brotos (NBUD), demonstrado na Tabela 4.

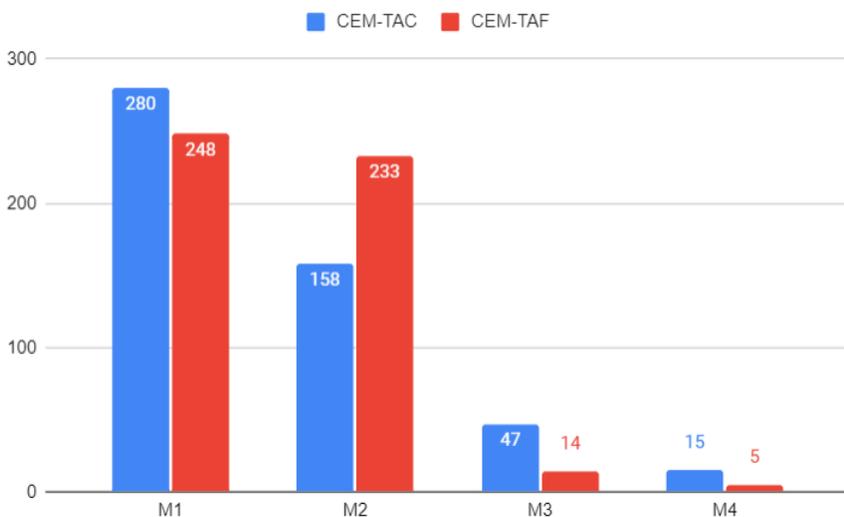


Figura 2 – Gráfico comparativo do número de células contadas

Fonte: Elaborado pelos autores

Doadores	CEM-TAF	CEM-TAC
NDI	1,5	1,6

Tabela 3 – NDI

Fonte: Elaborado pelos autores

Alterações	CEM-TAF	CEM-TAC
MNI	2	9
NPB	2	11
NBUD	4	5

Tabela 4 – Alterações nucleares

Fonte: Elaborado pelos autores

4 | DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram maior proliferação das CEM-TAC em relação às CEM-TAF pela análise da sua curva de crescimento, especialmente após as 72 horas de cultivo e maior presença de células classificadas como M3 e M4, acompanhado de maior número de alterações nucleares. Ressalta-se, no entanto, a necessidade de melhor caracterização de ambas as linhagens com relação à estabilidade nuclear, à senescência replicativa e às características morfológicas de células senescentes como descrito por Bonab *et al.* (2006).

Apesar do cultivo ter sido similar para as CEM-TAC e CEM-TAF, foi obtido um maior número de alterações nucleares nas primeiras. Entretanto deve-se considerar as limitações do corante Giemsa e sua tendência a levar a falsos positivos (TAKEIRI, 2017). É possível que CEM-TAC atinjam a senescência replicativa em mais cedo devido ao maior número de mitoses do que as CEM-TAF e resultando assim em maior número de alterações nucleares. Destaca-se o maior número de M3 e M4 em CEM-TAC. Efeito similar foi descrito por Delben *et al.* (2021) em que as CEM-TA da face humana apresentavam maior integridade genômica, proliferavam mais devagar e indicavam menor envelhecimento em comparação às de origem abdominal. Por outro lado, apesar das CEM-TAF apresentarem menor proliferação, demonstraram maior migração uma vez que fecharam a ranhura na monocamada mais rapidamente. Também se torna preciso salientar que tanto CEM-TAF quanto CEM-TAC apresentaram uma maior variação nas 24 horas que antecederam o fechamento completo. Mais testes são necessários para confirmar o resultado, especialmente ensaio de *scratch* com menores intervalos de tempo (como 12 horas, por exemplo) e da utilização de outros corantes junto ao Giemsa no ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese.

Ao considerar o contexto do qual pesquisas de terapias celular na medicina veterinária tem usado transplantes de CEM com melhora no quadro de cães com osteoartrite (OLSSON *et al.*, 2021). Ademais, foi observada melhora na locomoção de ratos com injúria na medula espinal promovido pelo transplante de CEM de derme humana (MELO *et al.*, 2016). Em conjunto esses resultados demonstram a necessidade de aprofundamento dos ensaios *in vivo* no intuito de descrever de maneira mais minuciosa o comportamento de migração das CEM-TAF e das CEM-TAC, preferencialmente com um acompanhamento do animal por mais de 6 meses. A falta de estudos que vão para além desse período é uma

limitação para se demonstrar a efetividade de algumas terapias como apontada por de Olsson *et al.* (2021). Porém também se apresenta a demanda de testes *in vitro* do cultivo dessas linhagens para desvendar quais mecanismos geram essas diferenças.

REFERÊNCIAS

BIANCO, Paolo *et al.* **Mesenchymal Stem Cells: revisiting history, concepts, and assays.** *Cell Stem Cell*, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 313-319, abr. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2008.03.002>. Acesso em: 21 jul. 2022.

BONAB, Mandana Mohyeddin *et al.* **Aging of mesenchymal stem cell in vitro.** *Bmc Cell Biology*, [S.L.], v. 7, n. 1, 10 mar. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2121-7-14>. Acesso em: 21 jul. 2022.

CAPLAN, Arnold I. **Mesenchymal stem cells.** *Journal Of Orthopaedic Research*, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 641-650, set. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jor.1100090504>. Acesso em: 21 jul. 2022.

CHAGASTELLES, Pedro C; NARDI, Nance B. **Biology of stem cells: an overview.** *Kidney International Supplements*, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 63-67, set. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/kisup.2011.15>. Acesso em: 21 jul. 2022.

DOMINICI, M. *et al.* **Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.** The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905>. Acesso em: 21 jul. 2022.

DELBEN, Priscilla Barros *et al.* **Human adipose-derived mesenchymal stromal cells from face and abdomen undergo replicative senescence and loss of genetic integrity after long-term culture.** *Experimental Cell Research*, [S.L.], v. 406, n. 1, p. 112740-69, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112740>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112740>. Acesso em: 20 set. 2022.

FENECH, M. *et al.* **HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures.** *Mutation Research/ Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, [S.L.], v. 534, n. 1-2, p. 65-75, jan. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00249-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00249-8).

FENECH, Michael. **Cytokinesis-block micronucleus cytome assay.** *Nature Protocols*, [S.L.], v. 2, n. 5, p. 1084-1104, maio 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2007.77>. Acesso em: 21 jul. 2022.

FRIEDENSTEIN, A. J.; GORSKAJA, J.F.; KULAGINA, N.N. **Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.** *Experimental Hematology*. [S.L.], v. 4 n. 5, p. 267-274, set. 1970. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/976387> . Acesso em: 21 jul. 2022.

GONÇALVES, Natália Nardeli *et al.* **Distinct features of rabbit and human adipose-derived mesenchymal stem cells: implications for biotechnology and translational research.** *Stem Cells And Cloning: Advances and Applications*, [S.L.], v. 11, p. 43-54, out. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/sccaa.s175749>. Acesso em: 21 jul. 2022.

HARRELL, Carl *et al.* **Molecular Mechanisms Responsible for Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome.** *Cells*, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 467-467, 16 maio 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/cells8050467>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LEVY, Oren *et al.* **Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies.** *Science Advances*, [S.L.], v. 6, n. 30, 24 jul. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aba6884>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LINDNER, Ulrich *et al.* **Mesenchymal Stem or Stromal Cells: toward a better understanding of their biology?.** *Transfusion Medicine And Hemotherapy*, [S.L.], v. 37, n. 2, p. 75-83, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000290897>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LIMA, Victor Juan de Souza. **Estudo da biologia das células estromais mesenquimais de tecido adiposo canino.** 2022. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/233027>. Acesso em: 21 jul. 2022.

MELO, Fernanda Rosene *et al.* **Transplantation of Human Skin-Derived Mesenchymal Stromal Cells Improves Locomotor Recovery After Spinal Cord Injury in Rats.** *Cellular And Molecular Neurobiology*, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 941-947, 10 ago. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-016-0414-8>. Acesso em: 21 jul. 2022.

OLSSON, Débora Cristina *et al.* **Administration of mesenchymal stem cells from adipose tissue at the hip joint of dogs with osteoarthritis: a systematic review.** *Research In Veterinary Science*, [S.L.], v. 135, p. 495-503, mar. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.014>. Acesso em: 21 jul. 2022.

RAMALHO-SANTOS, Miguel; WILLENBRING, Holger. **On the Origin of the Term “Stem Cell”.** *Cell Stem Cell*, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 35-38, jun. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.013>. Acesso em: 21 jul. 2022.

RENESME, Laurent *et al.* **Definition and Characteristics of Mesenchymal Stromal Cells in Preclinical and Clinical Studies: a scoping review.** *Stem Cells Translational Medicine*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 44-54, 1 jan. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/stcltm/szab009>. Acesso em: 25 jul. 2022.

ROTH V. **Calculate the doubling time of your cells.** 2006. Disponível em: <http://www.doubling-time.com/compute.php>. Acesso em: 21 jul. 2022.

SOBHANI, A. *et al.* **Multipotent Stem Cell and Current Application.** *Acta Medica Iranica*, [S.L.], v. 55, n. 1, p.6-23, dec. 2017. Disponível em: <https://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/4962>. Acesso em: 21 jul. 2022.

TAKEIRI, Akira *et al.* **Giemsa-stained pseudo-micronuclei in rat skin treated with vitamin D3 analog, pefcalcitol.** *Genes And Environment*, [S.L.], v. 39, n. 1, 1 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41021-017-0077-9>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5452393/>. Acesso em: 19 set. 2022.

VISWANATHAN, S. *et al.* **Mesenchymal stem versus stromal cells: international society for cell & gene therapy (isct®) mesenchymal stromal cell committee position statement on nomenclature. Cytotherapy**, [S.L.], v. 21, n. 10, p. 1019-1024, out. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.08.002>. Acesso em: 25 jul. 2022.

VOGA, Metka *et al.* **Stem Cells in Veterinary Medicine—Current State and Treatment Options. Frontiers In Veterinary Science**, [S.L.], v. 7, 29 maio 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2020.00278>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZHANG, Min *et al.* **A simple microfluidic strategy for cell migration assay in an in vitro wound-healing model. Wound Repair And Regeneration**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 897-903, 17 out. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/wrr.12106>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZOMER, Helena Debiazi. **DERME VERSUS TECIDO ADIPOSEO: INFLUÊNCIA DA FONTE DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS EM ENGENHARIA DE TECIDOS PARA O REPARO CUTÂNEO**. 2018. 201 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/198237>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZOMER, Helena Debiazi *et al.* **In vitro comparative study of human mesenchymal stromal cells from dermis and adipose tissue for application in skin wound healing. Journal Of Tissue Engineering And Regenerative Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 729-741, 21 mar. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/term.2820>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ANÁLISE DE COMBUSTÍVEIS DE MOTORES CICLO OTTO NO BRASIL, NA ARGENTINA E NO PARAGUAI

Data de submissão: 19/12/2022

Data de aceite: 02/01/2023

Julia Proença Reis

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Escola de Química, Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/1552148057171535>

Victória Guimarães Matos Santos

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Escola de Química, Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/4504811813657911>

Gisel Chenard Díaz

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Escola de Química, Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/0508124357020553>
ID Orcid 0000-0002-3892-1556

Yordanka Reyes Cruz

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Escola de Química, Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/2484115263109864>
ID Orcid 0000-0002-2309-3698

Donato Alexandre Gomes Aranda

Universidade Federal do Rio de Janeiro,
Escola de Química, Rio de Janeiro – RJ
<http://lattes.cnpq.br/9833601447849479>
ID Orcid 0000-0002-5736-4118

Otto, utilizam combustíveis fósseis não-renováveis para o seu funcionamento. Esses combustíveis possuem alto poder poluente, com altos níveis de emissões de gases de efeito estufa, além de serem finitos. O objetivo do presente trabalho foi realizar um mapeamento no Brasil, na Argentina e no Paraguai em relação às diferentes qualidades de combustíveis que podem ser utilizadas em motores de ciclo Otto, de acordo com disponibilidade de recursos e incentivos governamentais. Foi realizado um estudo sobre a gasolina, etanol de primeira geração e GNV, além de verificar sua disponibilidade nesses países. Por fim, foi possível avaliar que, apesar de a gasolina ainda ter um alto nível de consumo, o etanol vem ganhando cada vez mais espaço, enquanto o GNV ainda possui espaço para crescimento e desenvolvimento.

PALAVRAS-CHAVE: Motor de combustão interna; Combustíveis fósseis; Etanol.

ANALYSIS OF FUELS FOR OTTO
CYCLE ENGINES IN BRAZIL,
ARGENTINA AND PARAGUAY

ABSTRACT: Internal combustion engines with spark ignition, also known as Otto cycle

RESUMO: Os motores à combustão interna com ignição por centelha, também conhecidos como motores de ciclo

engines, use non-renewable fossil fuels for their operation. These fuels have high polluting power, with high levels of greenhouse gas emissions, in addition to being finite. The objective of this work was to perform a mapping in Brazil, Argentina and Paraguay in relation to the different qualities of fuels that can be used in Otto cycle engines, according to the availability of resources and government incentives. A study was conducted on gasoline, first generation ethanol and CNG, in addition to verifying their availability in these countries. Finally, it was possible to assess that, although gasoline still has a high level of consumption, ethanol is gaining more and more space, while CNG still has room for growth and development.

KEYWORDS: Otto cycle engine; Fossil fuels; Ethanol.

1 | INTRODUÇÃO

Os combustíveis líquidos podem ser usados em motores de combustão interna, como os motores do ciclo Otto, nos quais a combustão se inicia com ignição por centelha. A caracterização da eficiência de um motor leva em consideração o tipo de combustível e o poder calorífico deste. Cada combustível possui propriedades específicas e constituições químicas diferentes, que influenciam no desempenho (CARVALHO, 2011). Atualmente, busca-se, cada vez mais, o desenvolvimento de motores de combustão interna mais eficientes, tanto por motivos econômicos e tecnológicos, quanto pela sustentabilidade, adaptados para os diversos tipos de combustíveis alternativos avaliados neste trabalho.

Ao longo dos anos, com o aumento do preço do petróleo e a consciência cada vez maior de redução de emissões de poluentes e de gases de efeito estufa, aumenta-se o interesse em pesquisas sobre o etanol como alternativa para motores de combustão. Além disso, o GNV é considerado como um combustível limpo, uma vez que contribui para a diminuição das emissões, bem como proporciona economia e maior rendimento para os motores (ABEGÁS, 2022).

Enquanto a viabilização de alternativas ainda é desenvolvida em diversos países, estuda-se o uso dos combustíveis tradicionais para o transporte.

2 | METODOLOGIA

De maneira geral, pode-se definir o propósito do trabalho como descritivo, apresentando uma visão ampla sobre o panorama dos combustíveis no Brasil, na Argentina e no Paraguai.

Nesse sentido, utilizou-se uma abordagem qualitativa com levantamento de literatura bibliográfica, fazendo uso de tabelas e gráficos demonstrativos para resumir dados. Segue uma descrição da metodologia utilizada especificamente para os tópicos do presente trabalho.

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica de forma ampla para a avaliação das tecnologias atuais utilizadas nos três países estudados, em relação ao motor de ciclo Otto com combustíveis tradicionais (gasolina e GNV) e com etanol de primeira geração, bem

como dos processos produtivos para a formação desses combustíveis. Foram verificados dados de oferta, demanda e projeções para anos futuros destes para os três países, de acordo com dados disponibilizados em suas plataformas governamentais, como a ANP e a EPE para o Brasil, e USDA e ENER GAS para a Argentina, além de artigos e fontes de notícias, incluindo para o Paraguai.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Gasolina

3.1.1 Panorama da gasolina no Brasil

A gasolina utilizada para automóveis é uma mistura de hidrocarbonetos obtidos pelos processos de destilação, craqueamento e hidrocrackeamento. É o combustível leve de maior comercialização no Brasil. Segundo a ANP (2020), os tipos utilizados no Brasil são gasolina A (comum e premium) e C (comum e premium). A primeira é produzida a partir de processos de refinarias, destinada aos veículos automotores dotados de motores de ignição por centelha, sem adição de etanol anidro. Já a segunda, do tipo C, é obtida com a mistura de gasolina A comum e etanol anidro combustível, nas proporções estabelecidas pela legislação em vigor.

Conforme a ficha técnica da Petrobras (2020), a adição de etanol anidro à gasolina de uso automotivo é obrigatória. O teor atual de etanol anidro permitido na legislação é de 27% em volume para gasolina C Comum e 25% para gasolina C premium, conforme Portaria MAPA nº 75/2015. Uma das vantagens relacionadas à essa adição é o efeito na octanagem do combustível.

3.1.1.1 Oferta e demanda de gasolina

Estuda-se a demanda interna da gasolina no Brasil e suas movimentações inter-regionais, que ocorrem conforme a Figura 1, tendo em vista a necessidade de complementar a produção de regiões deficitárias (EPE, 2021). A projeção até 2031 não prevê produção de derivados de petróleo na região Centro-Oeste, sendo esta dependente da movimentação inter-regional.

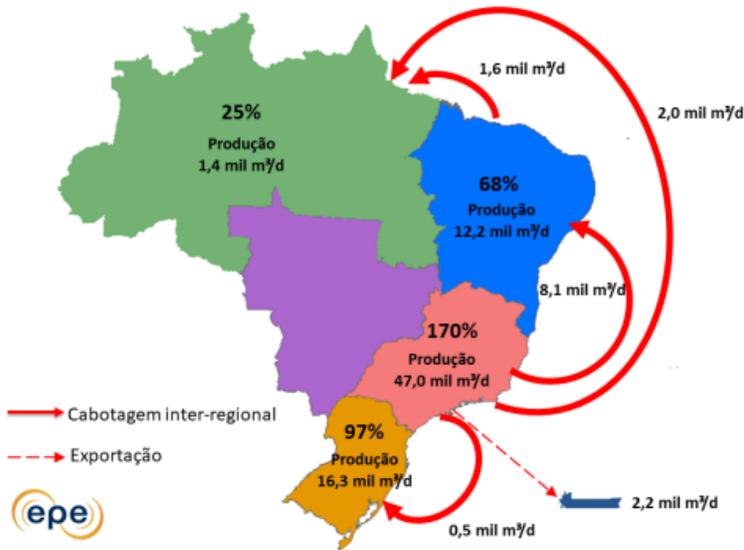


Figura 1 - Atendimento à demanda por região e cabotagem inter-regional de gasolina A em 2031

Fonte: EPE (2021)

Percebe-se na figura que a região Sudeste possui um excedente que não só abastece as demais regiões defasadas em produção, como também tem parte destinada para a exportação, representando cerca de 3% da demanda doméstica do ano (EPE, 2021).

Já a gasolina C possui um estudo de demanda conforme a Figura 2, a qual trata tanto do tipo comum (com 27% de etanol), quanto da premium (com 25%). Entende-se que houve um aumento das vendas no intervalo de meados de 2021 a meados de 2022, em comparação com o mesmo período de 2020 a 2021. De acordo com as perspectivas da EPE (2022), apesar de o período analisado terminar em queda nas vendas, projeta-se ainda um aumento de 1,6% até o final do ano de 2022; o consumo impulsionado deve-se às isenções dos tributos federais e a limitação do imposto sobre circulação de mercadorias e prestação de serviços (ICMS) em 17% ou 18%, o que levou à redução dos preços.

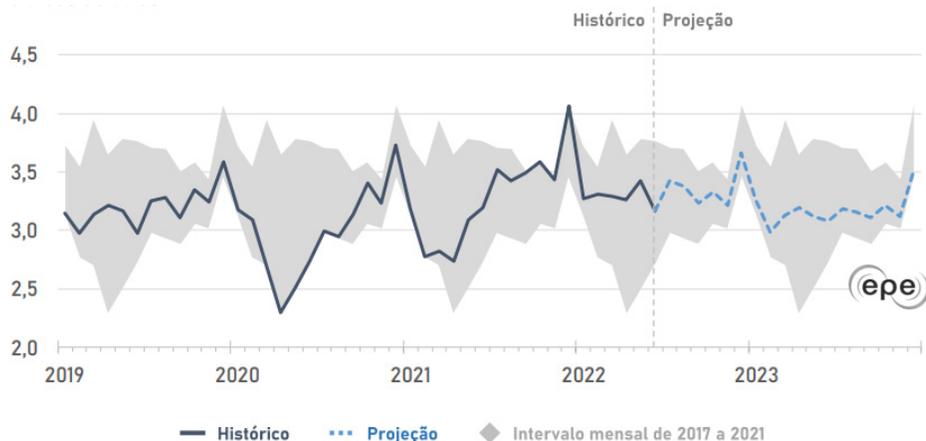


Figura 2 - Vendas mensais de gasolina C pelas distribuidoras (bilhões de litros)

Fonte: EPE (2022)

3.1.2 Panorama da gasolina na Argentina

O consumo de gasolina na Argentina possui uma alta projeção para o ano de 2022. Após uma retração da demanda durante o período da quarentena causada pela Covid-19, espera-se que o volume consumido chegue a 9,5 bilhões de litros, acima dos valores pré-pandemia (USDA, 2022). Entre os motivos para a alta demanda, estão a reconstrução econômica do país desde o fim da quarentena, a volta da população para as suas rotinas com uso de fontes de energia para transporte, o incentivo ao turismo interno e os baixos preços locais do combustível, sendo atrativos inclusive para consumidores de países vizinhos, devido a subsídios do governo argentino.

A gasolina disponibilizada nos postos da Argentina contém menor adição de etanol anidro. De acordo com o professor de engenharia de energia Ricardo Hartmann em reportagem ao G1 (2021), a composição do combustível é de 78% da gasolina proveniente da refinaria, 12% de etanol e 10% de MTBE (éter metil terc-butílico), composto oxigenado também usado com antidetonante.

3.1.3 Panorama da gasolina no Paraguai

No Paraguai, a gasolina é conhecida como “nafta”, mistura homogênea das frações mais leves do petróleo bruto, separadas das mais pesadas durante o refino. No país, as regulações de qualidade e ambientais determinam uma formulação aos combustíveis comercializados, a qual maximiza o desempenho do motor e reduz a liberação de compostos tóxicos para o meio ambiente. Os principais parâmetros de qualidade medidos são a cor, que ajuda a identificar o teor da nafta, a octanagem, o teor de enxofre, a pressão de vapor e a destilação (PETROPAR, [20--]).

O MIC determina no decreto nº 4562 de 2015 o teor de etanol anidro na mistura com a gasolina, de acordo com a octanagem da mesma. Para os níveis de octanagem RON 85, 90 e 95, tem-se um percentual médio de 25% em volume acrescentado do composto oxigenado. Há também a gasolina com octanagem RON 97, sem mistura de etanol anidro. É estabelecido pela Lei nº 5444 que a gasolina com menos de 97 octanas deve ser misturada na porcentagem máxima possível com etanol anidro, em volume, com base em estudos realizados pelo MIC. Segundo a mesma instituição, há uma preferência por utilizar, principalmente, o álcool derivado da cana de açúcar produzido nacionalmente; tendo o mesmo já sido consumido, permite-se o uso de originados de outras matérias-primas.

A partir da análise de Gimenez (2020), tem-se a Figura 3 exibindo o volume em litros de gasolina pura e em mistura com etanol anidro comercializada no país no período de 2015 a 2019, no qual se observa que a maior parte do volume corresponde à comercialização de gasolina pura, cerca de 72%, enquanto a mistura de etanol alcançou um percentual de 28%.

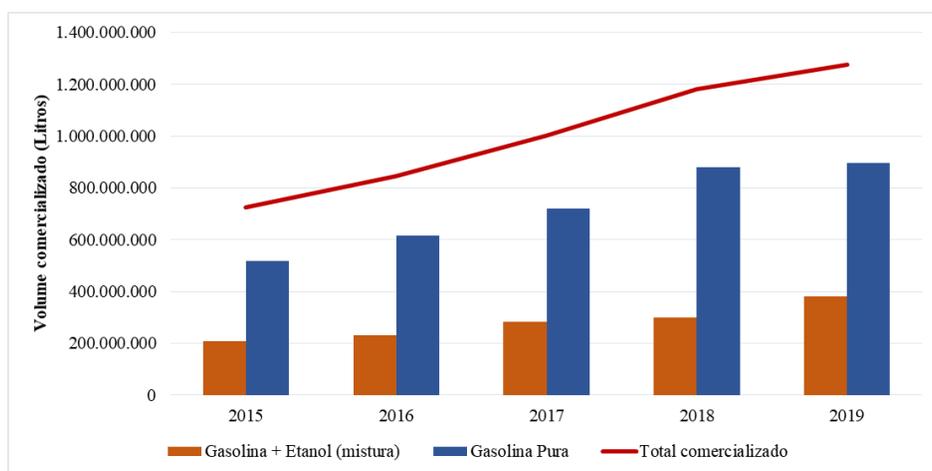


Figura 3 - Volume de gasolina (pura e com etanol) comercializada no Paraguai em 2015-2019, em litros

Fonte: Elaboração própria a partir de dados de Gimenez (2020)

3.2 etanol

O etanol, conhecido também como álcool etílico, possui a fórmula molecular C_2H_6O , e pode ser usado como combustível em motores de combustão interna com ignição por centelha em misturas de gasolina e etanol anidro, ou como etanol hidratado. Na Tabela 1 estão sintetizadas as características principais do etanol e da gasolina.

PARÂMETRO	UNIDADE	GASOLINA	ETANOL
Poder calorífico inferior	kJ/kg	43.500	28.225
	kJ/litro	32.180	22.350
Densidade	kg/litro	0,72 – 0,78	0,792
Octanagem RON (<i>Research Octane Number</i>)	-	90 – 100	102 – 130
Octanagem MON (<i>Motor Octane Number</i>)	-	80 – 92	89 – 96
Calor latente de vaporização	kJ/kg	330 – 400	842 – 930
Relação ar/combustível estequiométrica	-	14,5	9,0
Pressão de vapor	kPa	40 – 65	15 – 17
Temperatura de ignição	°C	220	420
Solubilidade em água	% em volume	~ 0	100

Tabela 1 - Principais características físico-químicas do etanol e da gasolina

Fonte: Goldemberg e Macedo (1994) *apud* BNDES (2008)

Apesar de o poder calorífico do etanol ser inferior ao da gasolina, a relação entre ar e combustível também é menor; isso significa que se necessita de uma menor quantidade de ar para obter uma combustão completa, tendo em vista que o oxigênio faz parte de sua composição. Assim, a mistura entre ar e etanol possui maior quantidade de energia disponível para uma mesma massa de ar (AMORIM, 2005). Ademais, o etanol puro hidratado, utilizado nos motores atuais, possui um consumo de combustível de 25% a 30% superior.

3.2.1 Panorama do etanol no Brasil

No Brasil, devido à necessidade de obter combustíveis alternativos, principalmente com as preocupações com o preço do petróleo, foi criado, em novembro de 1975, o Programa Nacional do Álcool. Esse programa buscou estimular a produção de etanol, a fim de atender aos mercados interno e externo e reduzir os custos com a importação de petróleo; com isso, houve uma expansão da oferta de matérias-primas, ampliação de unidades produtoras e aumento da produção agrícola (AMORIM, 2005).

Segundo dados da ANP (2022), atualmente no Brasil a produção de etanol, seja anidro ou hidratado, ocorre principalmente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste. A Figura 4 exibe a distribuição das instalações produtoras do biocombustível no país, até junho de 2022. Tem-se, de modo geral, o etanol hidratado com o maior volume de produção.



Figura 4 - Instalações produtoras de etanol no Brasil em 2022

Fonte: ANP (2022)

A distribuição da produção de etanol anidro e hidratado no Brasil desde a safra de 2009/2010, segundo dados da Unica (2021), até o ano de 2021, segue conforme a Figura 5. É possível observar que há um maior volume de etanol hidratado sendo gerado nas instalações manufatureiras, com leve mudanças na proporção dos dois tipos ao longo dos anos analisados. Pode-se inferir que, por este tipo de etanol ter passado a ser uma alternativa de biocombustível amplamente utilizada isoladamente no lugar da gasolina, tem-se como maior foco a sua produção, devido à maior competitividade.

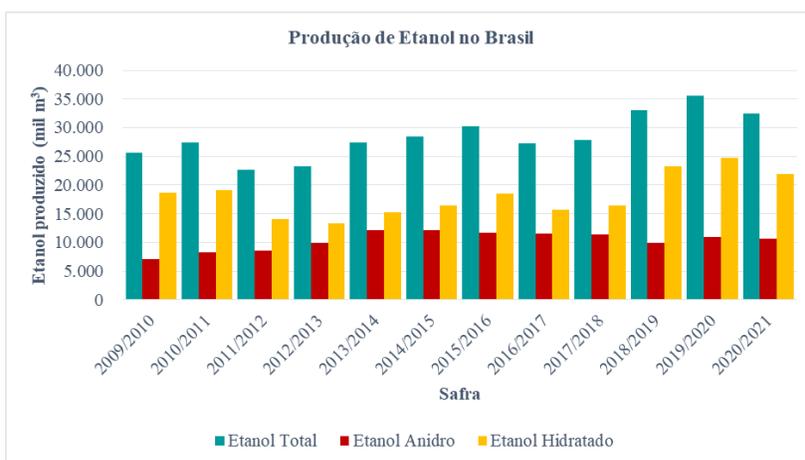


Figura 5 - Produção de etanol no Brasil nas safras de 2009 até 2021

Fonte: Elaboração própria a partir de dados de Unica (2021)

O Plano Decenal de Expansão de Energia (EPE, 2020) realizou uma projeção da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar até o ano de 2030. A expansão até 2025 leva em consideração projetos em andamento; após esse ano, até 2030, considera-se a

implementação de nove unidades produtivas com capacidade de moagem de 3,5 milhões de toneladas de cana por ano, por usina.

O gráfico apresentado na **Figura 6** exibe o fluxo de unidades produtoras de cana, incluindo o histórico, as novas unidades, a reativação e o fechamento de unidades, e a variação da capacidade instalada projetada para o período projetado.

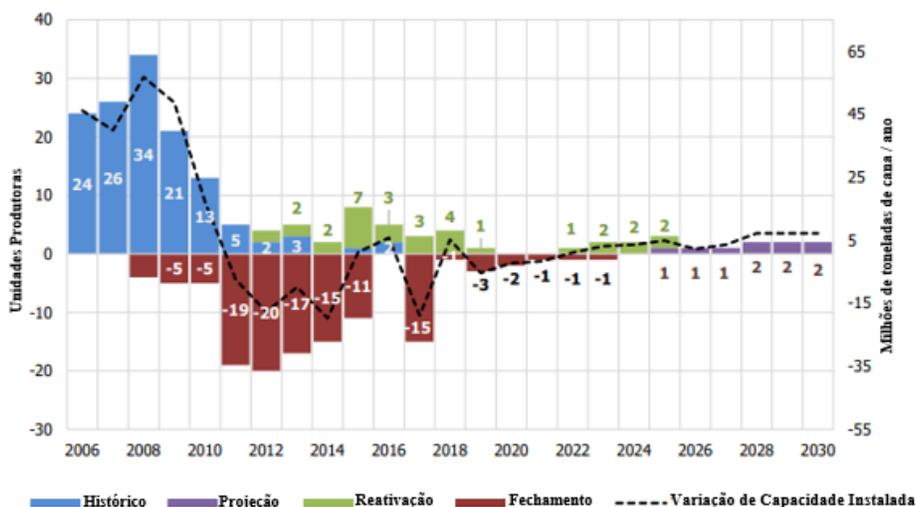


Figura 6 - Fluxo de unidades produtoras de cana de açúcar e variação de capacidade instalada

Fonte: EPE (2020a)

Avalia-se, também, a demanda total de etanol, que é constituída pela demanda do mercado interno (combustante e outros usos não energéticos) e do mercado internacional, suprido pelas exportações brasileiras. A primeira possui uma projeção de crescimento ao longo da próxima década, segundo dados do Plano Decenal de Expansão de Energia 2031 (EPE, 2021) de, partindo de 28 bilhões de litros em 2021, atingir até 43 bilhões de litros em 2031.

Ademais, avaliou-se a publicação bimestral da EPE de agosto de 2022 sobre as perspectivas do mercado brasileiro de combustíveis a curto prazo, estudo no qual principalmente foi possível analisar a demanda interna do etanol hidratado em relação à gasolina C, modalidade que leva adição de cerca de 27% de etanol anidro. A Figura 7 mostra uma comparação das vendas nos últimos três anos, em relação ao mesmo mês de 2019 (EPE, 2022). Pode-se observar reduções das vendas do etanol hidratado ao longo de 2021, e uma forte queda no final do ano. Isso porque, não somente houve um enfraquecimento da demanda por combustíveis, segundo análise da União Nacional de Bioenergia (UDOP, 2022), como também não houve competitividade suficiente entre o biocombustível em relação ao derivado do petróleo; no ano de 2021, o volume de vendas

foi o menor desde 2016.

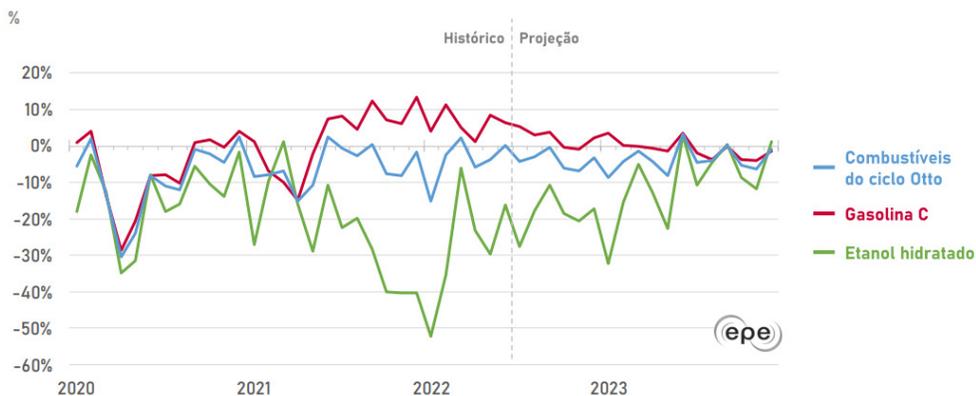


Figura 7 - Comparação das vendas de combustíveis com o mesmo mês de 2019 (em %)

Fonte: EPE (2022)

3.2.2 1 Panorama do etanol na Argentina

Em janeiro de 2008, a Lei 26.334 foi aprovada, promovendo a produção de etanol a partir da cana-de-açúcar, e em dezembro de 2013, o governo argentino anunciou a instalação de novas fábricas de etanol produzido a partir de milho. A Secretaria de Energia do país determinou preços diferentes para o produto, dependendo da matéria-prima utilizada, tendo o álcool produzido com uso do cereal menor valor para o consumidor (ASCURRA; MANOSALVA; MORRIS, 2019).

A Argentina possui 21 plantas de etanol combustível. Conforme visto, o percentual de etanol obrigatório pela legislação para mistura com a gasolina é de 12%; destes, 6% correspondem a etanol anidro obtido da cana-de-açúcar, e 6%, do milho, conforme a nova Lei nº 27640, publicada no Boletim Oficial da República da Argentina, artigo 12. Pela Figura 8, pode-se avaliar que a crescente produção de etanol no país a partir das duas matérias-primas somente apresentou queda no ano de 2020, pelos motivos mencionados anteriormente. A cada ano, a partir de 2012, o percentual de distribuição de ambas se apresentou de forma mais equitativa. Apesar da queda da demanda, houve um aumento na capacidade instalada da indústria de etanol de até 60% em uma das maiores usinas (CALZADA; D'ANGELO; LUGONES, 2020).

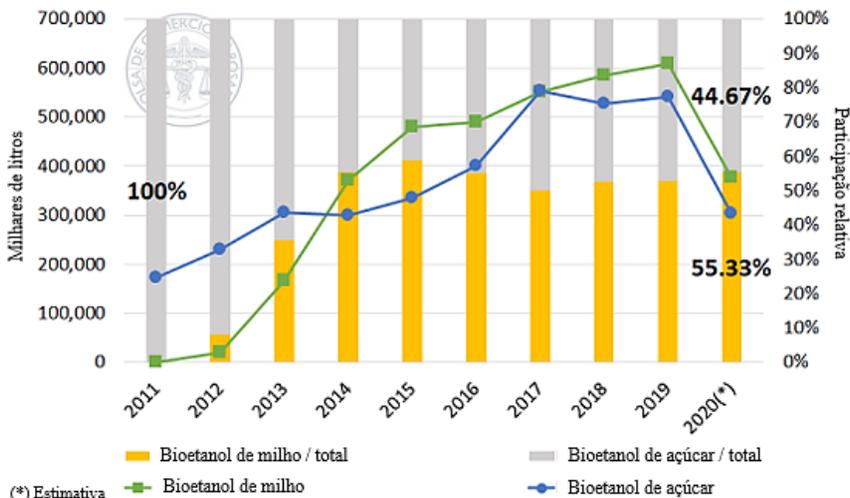


Figura 8 - Produção de etanol de cana de açúcar e de milho na Argentina (2011-2020)

Fonte: Adaptado de Calzada; D'Angelo; Lugones (2020)

A indústria de milho no país, conforme o relatório anual de biocombustíveis da USDA (2022), possui cinco plantas operacionais com capacidade de 900 milhões de litros por ano. O aumento da produção de milho permite à Argentina produzir etanol com essa matéria-prima, ao mesmo tempo em que se mantém como grande exportadora do cereal. Já a produção de açúcar do país tem volume suficiente para o abastecimento interno, exportações e uso para gerar etanol; são 15 usinas para a manufatura do biocombustível, com 16 destilarias e capacidade de produzir 700 milhões de litros anualmente, e vendas ao longo de todo o ano.

Apesar da produção de etanol, a gasolina permanece altamente consumida no país, cerca de nove vezes mais que o primeiro, em bilhões de litros, conforme evidencia a Figura 9.



Figura 9 - Consumo de gasolina e etanol na Argentina de 2011 a 2022 (projeção)

Fonte: Adaptado de USDA (2022)

Enquanto o Brasil necessita de importações de etanol para abastecer o mercado interno, há uma oportunidade para a Argentina em termos de exportação do produto. Entretanto, o país deve superar o obstáculo dos custos logísticos, uma vez que a produção está localizada no interior, distante dos portos de Gran Rosário, principal escoadouro para a produção de grãos, farinhas, óleos e biodiesel (CALZADA; D'ANGELO; LUGONES, 2020).

3.2.3 Panorama do etanol no Paraguai

O Paraguai possui 12 usinas de produção de etanol com capacidade total e anual de cerca de 340 milhões de litros (JORNALCANA, 2016), sendo nove plantas flexíveis, utilizando cana de açúcar ou milho como matérias-primas; as outras três produzem exclusivamente partindo da cana. Gimenez (2020) analisou o volume, em milhões de litros, comercializado no país, de 2015 a 2019, de gasolina, pura e misturada com etanol anidro, e de etanol, incluindo a versão pura e E-85, ou seja, com 15% de gasolina. Pode-se observar na Figura 10 que o combustível fóssil possui uma quantidade cerca de trinta ou quarenta vezes maior do que o derivado da cana de açúcar e do milho, ou seja, ainda que o biocombustível no país esteja em progressão, a taxa de aumento do consumo da gasolina ainda não se encontra perto de ser superada.

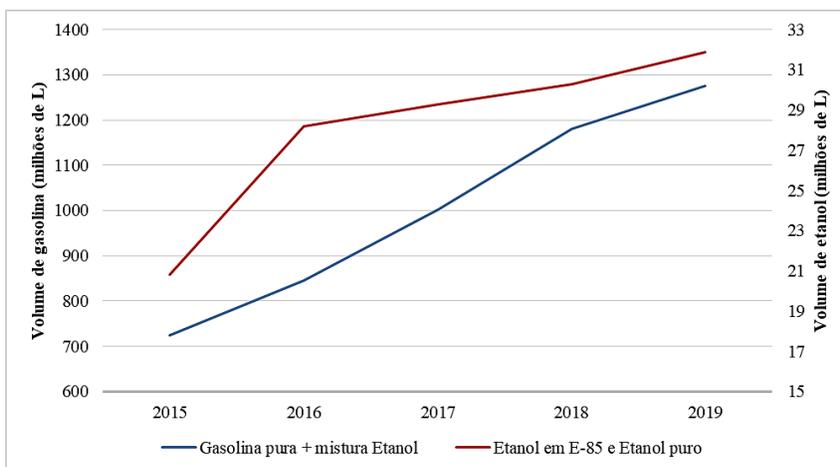


Figura 10 - Volume de gasolina e etanol comercializados no Paraguai em 2015-2019, em milhões de litros

Fonte: Elaboração própria a partir de dados de Gimenez (2020)

Ainda nos mais recentes anos, explora-se o potencial de manufatura de etanol. Há um plano de expansão da estatal Petropar que pretende dobrar a produção, com um aumento do volume anual para 56 milhões de litros, tendo uma nova linha de moagem de cana de açúcar. Conforme a BNAméricas (2021), em 2020, o país produziu cerca de

23,5 milhões de litros, atendendo a 40% da demanda da empresa. O plano de expansão possibilitaria cobrir 100%.

Como mencionado anteriormente, o governo incentiva o uso da cana para a produção de etanol; o biocombustível originado desta matéria-prima é prioritariamente usado em todo o território. Entretanto, o uso do milho vem ganhando espaço no país, uma vez que, ao redor do mundo, tem sido cada vez mais estabelecido. O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAG) certifica-se da origem das matérias-primas utilizadas na indústria de biocombustíveis, garantindo a disponibilidade destas em quantidade suficiente no país. Só se pode ocorrer importação de biocombustíveis caso seja comprovada escassez dos mesmos na oferta nacional. A produção atual de etanol atende à demanda local (LOVERA *et al*, 2021).

3.2.4 Etanol de 1ª Geração

O etanol de primeira geração pode ser produzido a partir de matérias-primas sacarídeas e amiláceas. O produto oriundo da cana-de-açúcar e do milho representa 82% do mercado mundial de biocombustíveis, sendo que, no Brasil, a produção ocorre principalmente a partir do primeiro (BORTOLETTO e ALCARDE, 2015). O uso da cana-de-açúcar como principal matéria-prima para a produção do etanol é devido ao rendimento energético satisfatório e a realidade brasileira, haja vista que o Brasil é um dos líderes de mercado e tecnologia dessa cultura (BERNARDO NETO, 2009 *apud* AGUIAR, 2017). Comparando as matérias-primas, a Figura 11 aponta a produtividade por hectare de milho e de cana, e a quantidade, em toneladas, de produto resultante (considerando, no caso do primeiro, a produtividade em grão, ou seja, após a retirada do sabugo). Estudos indicam que uma tonelada de milho resulta, aproximadamente, em cerca de 400 litros do produto combustível, enquanto a mesma quantidade de cana-de-açúcar produz em torno de 90 litros. Contudo, quando se fala de rendimento por área, a cana-de-açúcar possui uma produtividade de sete mil litros por hectare (AZEVEDO, 2018); já a partir do milho, são de menos de três mil litros (CANNAVAL, 2021).



Figura 11 - Produtividade das matérias-primas de etanol no Brasil

Fonte: Cannaval (2021)

Ademais, a forma canavieira de produção é ambientalmente mais vantajosa, haja vista que a quantidade de energia gerada para cada unidade de energia fóssil utilizada para gerar o combustível é de 9,3 unidades, enquanto para o milho, essa quantidade é de 1,5 (BORTOLETTO e ALCARDE, 2015); assim, mais da metade das usinas de cana do Brasil comercializam excedentes de energia, durante a safra (CANNAVIAL, 2021). Desta forma, quando se trata de cadeias de valor distintas, não se deve comparar somente a produtividade das culturas para avaliar a atratividade do negócio; deve-se considerar também tanto os coprodutos, quanto os custos de produção e de oportunidade (CANNAVAL, 2021).

3.2.4.1. Usinas Flex

No âmbito das usinas *flex*, há dois tipos de cenários industriais: usinas que processam a cana durante a safra e, durante a entressafra, processam milho adaptando a mesma planta; e usinas integradas, as quais realizam o processamento de ambas as matérias-primas ao longo de todo o ano, dependendo da disponibilidade da matéria, com unidades separadas. Segundo revista do BNDES (2014), na entressafra da cana-de-açúcar, existe a possibilidade de operação de parte da estrutura da usina (caracterizada como *flex*) para o processamento de milho, por até 120 dias, conforme o fluxograma da Figura 14.

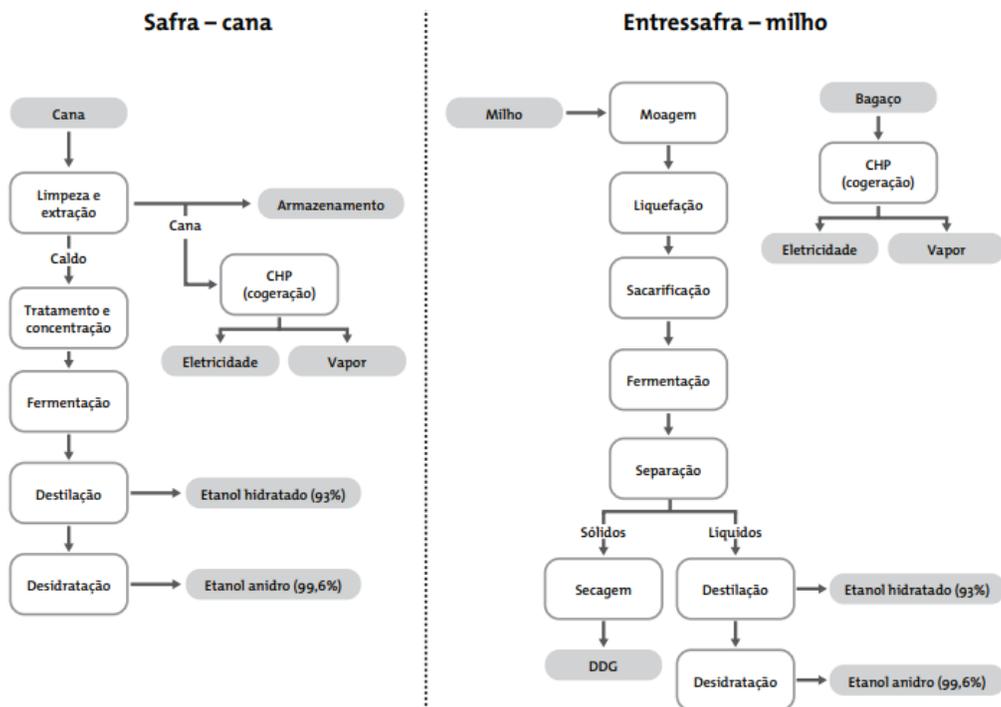


Figura 14 - Fluxograma do processo de uma usina flex

Fonte: Revista do BNDES (2014)

Estados que produzem um alto volume de cana e de milho têm potencial para realizar as operações com tecnologias *flex*; um grande exemplo é o Mato Grosso, visto que a maior parte da manufatura dos produtos no país é concentrada no estado, além de possuir projetos de expansão da capacidade (CANNIVAL, 2021). O Centro-Oeste, de modo geral, é a região de maior potencial para usinas *flex*, haja vista que foi a região responsável pelo significativo crescimento da produção de milho do país, passando de 82 para 114 milhões de toneladas por ano, da safra de 2017/18 para 2021/22 (MACHADO, 2022). Apesar da alta produção, a região possui empecilhos para exportar o produto, uma vez que deve haver transporte para as regiões litorâneas, gerando maior custo pelo ponto de vista econômico; torna-se, portanto, mais interessante e viável o processamento do milho para outras finalidades e em plantas *flex* que se encontrem próximas ao local de cultivo. O outro cenário mencionado anteriormente é de uma planta paralela para a produção de etanol de milho, compartilhando somente as utilidades (vapor e energia elétrica) disponíveis em uma usina de cana-de-açúcar, com potencial para operar durante toda a safra e entressafra. O cenário para o ano de 2022, de acordo com a página Nova Cana (2022), através de dados da ANP, é de novos investimentos em unidades de produção de etanol. Atualmente 23 usinas encontram-se em processo de construção, com capacidade futura de acrescentar

“até 8,23 milhões de litros diários à oferta nacional de etanol hidratado e 5,93 milhões à de anidro” (Cana Online, 2022). Até 2031 espera-se, ainda, que o Brasil tenha 40 novas usinas de etanol em funcionamento, conforme planos da Empresa de Pesquisa Energética (EPE), sendo nove de cana-de-açúcar, 23 somente de milho e oito usinas *flex*, que utilizam ambas as matérias-primas.

3.3 GNV

Derivado do petróleo, o gás natural veicular (GNV) é composto por uma mistura de hidrocarbonetos leves na faixa do metano e etano, que na temperatura e pressão ambiente permanece no estado gasoso. Diferentemente de outros combustíveis fósseis, durante sua queima praticamente não emite monóxido de carbono e não apresenta enxofre em sua composição, sendo considerado um combustível mais limpo. O principal constituinte do GNV é o metano, molécula composta por um átomo de carbono e quatro de hidrogênio. Essa razão hidrogênio-carbono (H/C) é vantajosa para a redução da emissão de poluentes quando comparada com a gasolina que apresenta uma razão H/C de 1,85:1 (MALENSHEK; OLSEN, 2009 *apud* BHASKER, 2018). Isso porque, durante a combustão, a energia térmica e o oxigênio misturam-se com o metano para quebrar as ligações moleculares e recombiná-los para transformar, idealmente, carbono em CO₂ e hidrogênio em H₂O. Assim, se houver menos carbono e mais hidrogênio como reagente, a quantidade desses produtos será menor. No caso do GNV, é observada uma redução de 20% nas emissões de dióxido de carbono comparado à gasolina (CHIODI *et al*, 2006 *apud* BHASKER, 2018). A conversão de um motor *flex* ao GNV consiste em uma adaptação do veículo com a adição de um conjunto de equipamento conhecido como kit gás, incluindo um “reservatório para o GNV, rede de tubos de alta e baixa pressão, regulador de pressão, válvula de abastecimento, dispositivo de troca de combustível e indicadores de condição do sistema” (SCHWOB *et al*, 2003 *apud* BASTOS; FORTUNATO, 2014, p. 173). Feito o processo de conversão, o veículo passa a ter outra alternativa de uso de combustível, além do tradicional etanol e gasolina. A escolha do combustível a ser usado é feita a cada abastecimento, não limitando o motor apenas ao gás após a adição do kit. Como aspecto negativo deve-se destacar a tendência dos veículos à perda de potência e de espaço interno, devido ao peso e ao volume do reservatório do GNV (BASTOS; FORTUNATO, 2014).

3.3.1 Panorama do GNV no Brasil

De acordo com a Abegás, o Brasil apresenta mais de 1,6 milhões de automóveis circulando com GNV. No primeiro semestre de 2022, o número de veículos que migraram para este combustível subiu 6,54%, quando comparado ao mesmo período em 2021, registrando alta pelo segundo ano consecutivo no país, segundo dados divulgados pelo Ministério da Infraestrutura. Comparando com 2020, a diferença é ainda maior, de 56,7%,

tendo o Rio de Janeiro como estado de maior frota de veículos circulando com gás natural veicular (AAPV, 2022). A nota técnica da EPE (2020a) explica que a demanda nacional do GNV corresponde a uma parcela de 5% da demanda do gás natural. Embora o setor automotivo apresente um aumento constante em termos de volume ano a ano, a infraestrutura logística ainda é bastante limitada e concentrada em grandes centros urbanos, principalmente naqueles que possuem incentivos para a utilização de carros movidos a gás e onde há uso recorrente de táxis e/ou aplicativos de transportes.

3.3.2 Panorama do GNV na Argentina

A Argentina apresenta-se como um dos países com papel de liderança da América do Sul em relação ao uso do gás natural veicular. O mercado nacional, no ano de 2020, apresentou uma demanda de 4,65% do consumo interno anual de gás natural, além de uma média de mais de oito mil veículos convertidos mensalmente para a utilização deste combustível. Dessa forma, em dezembro de 2020, o país atingiu a marca de 1.660.218 veículos adaptados, considerando carros particulares, táxis e caminhões, referente à recente frota de veículos pesados movidos a gás (ENERGAS, 2020). A evolução do número de veículos convertidos a GNV desde 1998 a 2020 na Argentina está representada na Figura 15, na qual se percebe uma grande evolução desde o final do século passado até o ano de 2005, seguindo de um sutil crescimento nos anos mais recentes analisados.

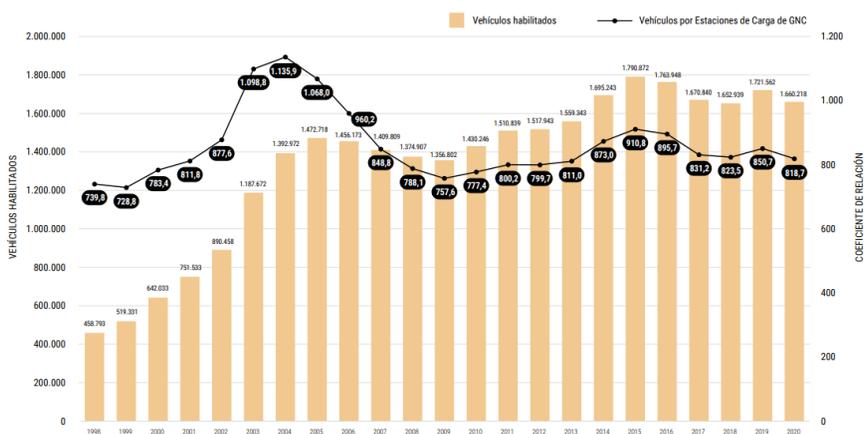


Figura 15 - Evolução da frota de veículos movido a GNV na Argentina de 1998 a 2020

Fonte: ENERGAS (2020)

Por sua vez, os postos de abastecimento totalizaram mais de dois mil até o mês de dezembro de 2020, sendo distribuídos, majoritariamente, nas áreas de grande tráfego; a província de Buenos Aires concentra a maior parte das estações, representando mais de 40% do total do país. Além disso, a Cidade Autônoma de Buenos Aires (conhecida como

CABA) e as províncias de Córdoba e Santa Fé representam uma porcentagem significativa, em comparação às demais províncias (ENERGAS, 2020).

Para o Paraguai, não foi encontrada nenhuma informação sobre a utilização desse combustível no país.

4 | CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou que em um cenário de urgência em reduzir as emissões de gases do efeito estufa, os combustíveis fósseis ainda têm papel de destaque no Brasil, na Argentina e no Paraguai.

A gasolina é o combustível leve de maior comercialização no Brasil; na Argentina, após uma retração da demanda durante o período da quarentena causada pela Covid-19, é esperado que o volume volte a crescer e passe os valores pré-pandemia. Já o Paraguai, tem preferência para comercialização da gasolina pura à misturada com o etanol.

Ao avaliar o etanol, o Brasil apresenta programas de incentivo à produção do combustível como o RenovaBio e um maior volume de produção do etanol hidratado. Pode-se inferir que este passou a ser uma alternativa à gasolina, justificando a produção em prioridade. A Argentina apresenta uma crescente produção de etanol a partir da cana de açúcar e do milho, e após a queda devido a pandemia, houve um aumento da capacidade industrial de até 60% em uma das maiores usinas do país. Para o Paraguai, ainda que o etanol esteja em ascensão, a taxa de consumo da gasolina ainda não se encontra perto de ser alcançada.

O GNV embora apresente um setor com constante aumento no Brasil em termos de volume ano a ano, ainda sofre com uma infraestrutura logística limitada e concentrada em grandes centros urbanos. Já Argentina assume um papel de liderança da América do Sul em relação ao combustível e o para o Paraguai não foram encontrados nenhuma informação sobre a utilização do mesmo em território nacional.

Por fim, foi possível avaliar que, apesar de a gasolina ainda ter um alto nível de consumo, o etanol vem ganhando cada vez mais espaço, enquanto o GNV ainda possui espaço para crescimento e desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

UFRJ, CNPq

REFERÊNCIAS

ABEGÁS – Associação Brasileira das Empresas Distribuidoras de Gás Canalizado. **Uso automotivo**. Disponível em: <https://www.abegas.org.br/uso-automotivo>. Acesso em: 08 out. 2022.

AGUIAR, H. R. R. **Produção de etanol de segunda geração**. 2017. 72 p. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

AMORIM, R. J. **Análise da razão volumétrica de compressão de um motor flexível multicomcombustível visando melhoria de desempenho**. 2005. 124 p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Mecânica) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Ministério de Minas e Energia**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br>. Acesso em: 5 jun. 2022.

ASCURRA, A. M.; MANOSALVA, J.; MORRIS, J. Estudio económico para la obtención del bioetanol lignocelulósico. **RIIYM - Revista Científica de Ingeniería Industrial y Mecánica**, Argentina, 2019, v. 4, n. 6, p. 21, jul. 2019.

BASTOS, S.; FORTUNATO, G. Conversão de veículos flex para o gás natural: problema de escassez e contribuição à sustentabilidade. **Revista de Administração Mackenzie**, v.15, n.5, p. 171-194, 2014.

BNDES. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. 1 ed. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2008. 314 p. ISBN

BORTOLETTO, A. M., ALCARDE, A. R. Dominante nos EUA, etanol de milho é opção, no Brasil, para safra excedente. **Visão Agrícola**, n. 13, 2015.

CALZADA, J.; D'ANGELO, G.; LUGONES, A. Radiografía del etanol brasileño y oportunidades del mercado argentino. **Bolsa de Comercio de Rosario**, 20 nov. 2020, Commodities. Disponível em: <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/radiografia-1>. Acesso em: 14 out. 2022.

CANNAVIAL, R. Etanol de milho e cana. **Innovatech Consulting**, Campinas, São Paulo. 2021. Disponível em: <https://esgtech.com.br/wp-content/uploads/2021/05/Etanol-de-Milho-e-Cana.pdf>. Acesso em: 10 out. 2022.

CARVALHO, M. A. **Avaliação de um motor de combustão interna ciclo Otto utilizando diferentes tipos de combustíveis**. 2011. 147 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

ENARGAS (2020). Informe anual 2020. **Ente Nacional Regulador Del Gas**. 2020. Disponível em: <https://www.enargas.gob.ar/secciones/publicaciones/informes-anales-de-balance-y-gestion/pdf/anales/2020/informe-anual-2020.pdf>. Acesso em: 11 out. 2022.

EPE (2020). A indústria de gás natural na Argentina. **Empresa de Pesquisa Energética**. 2020. Disponível em: https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-492/Nota%20Tecnica%20A%20Industria%20Gas%20Natural%20na%20Argentina_Panorama%20perspectivas%20e%20oportunidades%20para%20o%20Brasil_DPG_SPG.pdf. Acesso em: 10 Set. 2022.

EPE (2020a). Plano Decenal de Expansão de Energia 2030. **Empresa de Pesquisa Energética**. 2021. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/plano-decena-de-expansao-de-energia-2030>. Acesso em: 14 ago. 2022.

EPE (2021). Plano Decenal de Expansão de Energia 2031. **Empresa de Pesquisa Energética**. 2021. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/plano-decenal-de-expansao-de-energia-2031>. Acesso em: 21 ago. 2022.

EPE (2022). Perspectivas para o Mercado Brasileiro de Combustíveis no Curto Prazo. **Empresa de Pesquisa Energética**. 2022. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/Paginas/Perspectivas-para-o-mercado-brasileiro-de-combustiveis-no-curto-prazo.aspx>. Acesso em: 05 out. 2022

GIMENEZ, P. E. Consumo de combustibles fósiles y renovables para uso vehicular en paraguay, periodo 2019, en el marco del plan nacional de desarrollo 2030. **Ciencias Económicas**, San Lorenzo, 2020, p. 93-108, fev. 2020.

LOVERA, L. *et al.* Situación energética del Paraguay. **Red Iberomasa**, Paraguai, p. 153-164, 2021.

MACHADO, L. O. Produção de milho no centro-oeste bate recorde. **Campo & Negócios Online**, 09 mai. 2022, Grãos. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/producao-de-milho-no-centro-oeste-bate-recorde/>. Acesso em: 23 out. 2022.

MILANEZ, A. Y. *et al.* A produção de etanol pela integração do milho-safrinha às usinas de cana-de-açúcar: avaliação ambiental, econômica e sugestões de política. **BNDES - Biblioteca Digital**, n. 41, jun. 2014. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/2496/1/RB%2041%20A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20etanol_P.pdf. Acesso em: 19 jun. 2022.

PETROBRAS. Gasolina - Informações técnicas. **Petrobras**. 2020. Disponível em: <https://petrobras.com.br/data/files/02/93/A0/4C/5A39C710E2EF93B7B8E99EA8/manual-de-gasolina.pdf>. Acesso em: 26 set. 2022.

PETROPAR. Naftas. **Petróleos Paraguayos**. [20--]. Disponível em: https://www.petropar.gov.py/?page_id=4156. Acesso em: 08 out. 2022.

PARAGUAI. Decreto nº 4562, de 11 de dezembro de 2015. Presidencia de la República del Paraguay, Ministerio de Industria y Comercio, p. 35

PARAGUAI. Lei nº 5444, de 13 de julho de 2015. Fomento de consumo de alcohol absoluto y alcohol carburante. Republica del Paraguay. Paraguai, 14 jul. 2015. Disponível em: <https://bacn.gov.py/archivos/4433/20151215142446.pdf>. Acesso em: 09 out. 2022.

PARAGUAY detalla plan de expansión de biocombustibles. **Bnamericas**, 15 out. 2021, Noticia. Disponível em: <https://www.bnamericas.com/es/noticias/paraguay-detalla-plan-de-expansion-de-biocombustibles>. Acesso em: 09 out. 2022.

PARAGUAY espera um récord en la producción de etanol. **JornalCana**, 01 fev. 2016. Disponível em: <https://jornalcana.com.br/biosugar-es/paraguay-espera-un-record-en-la-produccion-de-etanol/#:~:text=Seg%C3%BAn%20el%20reporte%20del%20USDA,granos%20tambi%C3%A9n%20como%20materia%20prima>. Acesso em: 09 out. 2022

POSTOS da Argentina limitam quantidade de combustível para brasileiros que cruzam a fronteira. **G1**, 04 nov. 2021, RPC Foz do Iguaçu. Disponível em: <https://g1.globo.com/pr/oeste-sudeste/noticia/2021/11/04/postos-da-argentina-limitam-quantidade-de-combustivel-para-brasileiros-que-cruzam-a-fronteira.ghtml>. Acesso em: 26 set. 2022.

RAÍZEN quer produzir biogás em todas suas usinas de etanol em dez anos. **Nova Cana**, 9 mai. 2022. Disponível em: <https://www.novacana.com/n/industria/usinas/raizen-produzir-biogas-todas-suas-usinas-etanol-dez-anos-090522>. Acesso em: 19 set. 2022.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. **Observatório da Cana**. 2021. Disponível em: <https://observatoriodacana.com.br/>. Acesso em: 14 ago. 2022

USDA – United States Departamento of Agriculture. **Biofuels Annual: Argentina**. Buenos Aires: USDA, 2022, 22 p. Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Biofuels%20Annual_Buenos%20Aires_Argentina_AR2022-0013.pdf. Acesso em: 08 out. 2022

CAPÍTULO 4

ANÁLISE ACERCA DA RELAÇÃO ENTRE A AGRICULTURA E A CRISE HÍDRICA NO BRASIL

Data de aceite: 02/01/2023

Maria Jassiele Rodrigues Ferreira

Ciências Biológicas – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Lucas Santos de Sousa

Ciências Biológicas – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Joselita Brandão de Sant’Anna

Biomedicina – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Raphael da Silva Affonso

Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Larissa Leite Barbosa

Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Eleuza Rodrigues Machado

Biomedicina - Ciências Biológicas - Enfermagem - Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

RESUMO: Diante da acentuada e agressiva expansão agrícola e da ocorrência de escassez de água, objetivou-se, por meio desta revisão, dissertar acerca da relação entre a agricultura e a crise hídrica no Brasil, bem como evidenciar a crescente demanda por água no Brasil; analisar, em retrospecto, como se deu o desenvolvimento do setor agrícola brasileiro e de seus meios de produção; tratar da ocorrência de crises hídricas e do incessante crescimento do agronegócio. Sob uma metodologia de revisão da literatura, as fontes: livros, artigos, dissertações de mestrado e doutorado, *sites*, etc. foram obtidas usando de plataformas de pesquisa *online*: Google, Google Acadêmico e SciELO. As palavras-chave utilizadas foram: Disponibilidade, distribuição e consumo de água; Crise hídrica; Agricultura; Sustentabilidade. Trabalhos redigidos em português e inglês

foram selecionados de acordo com a pertinência e veracidade de suas informações em relação à temática deste estudo. As obras publicadas entre os anos 2000 e 2022 foram priorizadas. Perante ao explanado, concluiu-se que métodos de descentralização da água devem ser implementados, de modo que a distribuição cumpra padrões de qualidade e quantidade, em todos os setores: agrícola, industrial e urbano. Conjuntamente a isso, técnicas mais eficazes de manejo ambiental precisam ser estudadas, e as que existem têm de ser incrementadas, visando reduzir os impactos aos ecossistemas. Ademais, o fomento à educação ambiental em todos os níveis de ensino, abrangendo todas as faixas etárias, é imprescindível para a construção de um Brasil e um mundo mais sustentável.

PALAVRAS-CHAVE: Disponibilidade, distribuição e consumo de água; Crise hídrica; Agricultura; Sustentabilidade.

ABSTRACT: In view of the accentuated and aggressive agricultural expansion and the occurrence of water shortages, this paper aims to discuss the relationship between agriculture and the water crisis in Brazil, as well as to highlight the growing demand for water in Brazil; to analyze, in retrospect, how the Brazilian agricultural sector and its means of production developed; b) deal with the occurrence of water crises and the incessant growth of agribusiness. Under a literature review methodology, the sources (books, articles, master's and doctoral dissertations, websites, etc.) were obtained through the online search platforms Google, Google Academic and SciELO. The keywords used were: Water availability, distribution and consumption; Water crisis; Agriculture; Sustainability. Works written in Portuguese and English were selected according to the relevance and veracity of their information in relation to the theme of this study. Works published between the years 2000 and 2022 were prioritized. In view of the above, it was concluded that water decentralization methods should be implemented so that distribution meets quality and quantity standards in all sectors (agricultural, industrial, and urban). In addition, more effective environmental management techniques need to be studied, and those that already exist need to be increased, in order to reduce the impacts on ecosystems. Moreover, the promotion of environmental education at all levels of education, covering all age groups, is essential for the construction of a more sustainable Brazil and a more sustainable world.

KEYWORDS: Water availability, distribution and consumption; Water crisis; Agriculture; Sustainability.

INTRODUÇÃO

De acordo com dados recentes publicados pela Organização das Nações Unidas (ONU, 2017), em 1950, a população mundial era composta por cerca de 2,5 bilhões de pessoas. Hodiernamente, existem aproximadamente 7,7 bilhões de habitantes e, ainda em 2022, esse número pode chegar a 8 bilhões, em meados de novembro do mesmo ano. Em 2050, estima-se que a população chegará a 9,7 bilhões de indivíduos, dos quais 68% ocuparão o ambiente urbano (ONUa, 2022; ONUb, 2022).

Estimativas apontam que o Brasil, em 1950, possuía uma população constituída por 50 milhões de pessoas. Em 2022, conforme os dados de projeção da população brasileira

apresentados em tempo real pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2000), estima-se um total aproximado de 215 milhões de habitantes. Até 2050, cerca de 233 milhões de pessoas estarão ocupando o território brasileiro, dos quais quase 100% habitarão o meio urbano (ONU, 2017; IBGE, 2000; IBGE, 2022).

Tomando como alicerces as informações supracitadas, é nítido que a quantidade de pessoas vem aumentando exponencialmente ao longo das últimas décadas. Pode-se afirmar, também, que a demanda por recursos é diretamente proporcional ao quantitativo de indivíduos. No entanto, tanto natural, quanto artificialmente, a distribuição de recursos não ocorre de maneira equivalente em todo o globo, dado que, ainda hoje, de acordo com o Fundo Internacional de Emergência das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) e a ONU, uma em cada três pessoas no mundo não tem acesso à água tratada, por exemplo. A água, como um recurso natural renovável, é imprescindível à sobrevivência da maioria das espécies, mas, ainda assim, é ampla e indiscriminadamente explorada pelos setores domésticos, industriais, energéticos e, especialmente, agrícolas (CANTELLE; LIMA; BORGES, 2018; UNICEF, 2019).

Além do acréscimo do consumo direto de água exercido pelo exorbitante crescimento demográfico, o setor agrícola também é impactado, visto que a demanda por alimentos é igualmente ampliada. Consequentemente, isso faz com que uma maior quantidade de água seja direcionada à irrigação de coberturas vegetais, como culturas de milho e trigo, que, após colhidas, serão utilizadas como matéria-prima na fabricação de diversos produtos alimentícios, tais quais: bebidas, biscoitos, pães, óleos, rações, etc. Ademais, a produção de carnes bovina, bubalina, caprina, ovina, suína, e de aves promovida pelo setor pecuário também usufruirá da produção agrícola, para suprir as necessidades nutricionais dos animais. Assim, à medida que as populações humanas expandem, o alto dispêndio de água ocorre de maneira multilateral (ANDRADE, 2003; BRITO; SILVA; PORTO, 2007).

A Terra possui uma área total de 510 milhões de km², dos quais 360 milhões de km² são ocupados por água. Em termos fracionários, 2/3 do globo são dominados pelos recursos hídricos. Entretanto, apesar do elevado volume hídrico, 97,5% são compostos por água salgada (mares e oceanos), que não é passível de consumo, pois apresenta alto nível de salinidade (≥ 30 gramas de sal por 1 litro de água). Os 2,5% remanescentes são constituídos por água doce ($\leq 0,5$ gramas de sal por 1 litro de água), cuja maior parcela (68,9%) está em estado sólido (geleiras e calotas polares); 29,9% compõem as águas subterrâneas; 0,9% abrange água em estado gasoso e pântanos; por fim, somente 0,3% equivale à água doce encontrada em rios e lagos (BRITO; SILVA; PORTO, 2007; MARENGO, 2008).

Com aproximados 12%, o Brasil detém o maior volume de água doce do mundo. Ainda assim, determinadas regiões são afetadas pela escassez hídrica, pois, tratando-se de um país de dimensões continentais, a distribuição de água é naturalmente desproporcional entre as regiões. Somente a região Norte, onde está a Bacia Amazônica, maior bacia hidrográfica do globo, abrange 68,5% da água doce de todo o território. Em contrapartida,

a área Nordeste compreende apenas 3,3%. Por fim, as demais localidades: Sudeste (6%), Sul (6,5%) e Centro-Oeste (15,7%) (FOLEGATTI, et al, 2010; AUGUSTO, et al., 2012).

Conforme os dados apresentados pelo Relatório de Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil publicado em 2012 pela Agência Nacional das Águas (ANA), 72% dos recursos hídricos do país são destinados à irrigação exercida pela esfera agrícola, enquanto os 28% restantes estão distribuídos entre os setores industrial (7%), urbano (9%), rural (1%) e animal (11%). A título de comparação, em âmbito global, 70% da água são utilizados pelo meio agrícola, 23% pelas indústrias e 7% pelo ambiente urbano (BRITO; SILVA; PORTO, 2007; FOLEGATTI, 2010; ANA, 2012).

Além de consumir a maior parcela de água, tanto a nível nacional, quanto mundial, a agricultura lidera o desperdício desse recurso, visto que 70% são perdidos durante a produção de alimentos. É primordial investigar quais os métodos de produção estão sendo aplicados, bem como examiná-los conforme as suas respectivas eficácias, no que tange o uso sustentável da água (FOLEGATTI, et al., 2010; FORTES; BARROCAS; KLIGERMAN, 2019; MOURA, et al., 2020). Destarte, o propósito primário que norteou esta pesquisa foi dissertar acerca da relação entre a agricultura e a crise hídrica no Brasil.

METODOLOGIA

Em face do abrangente arcabouço científico compatível com a proposta desta pesquisa, a revisão bibliográfica foi adotada como metodologia. As fontes: livros, artigos, dissertações de mestrado e doutorado, sites, etc. foram obtidas usando as plataformas de pesquisa online: Google, Google Acadêmico e SciELO. As palavras-chave utilizadas foram: Disponibilidade, distribuição e consumo de água; Crise hídrica; Agricultura; Sustentabilidade. Trabalhos redigidos em português e inglês foram selecionados de acordo com a pertinência e veracidade de suas informações em relação à temática deste estudo. As obras publicadas entre os anos 2000 e 2022 foram priorizadas.

O objetivo primário foi subdividido em tópicos: Evidenciar a crescente demanda por água no Brasil; Analisar, em retrospecto, como se deu o desenvolvimento agrícola no Brasil, bem como discorrer sobre seus meios de produção; Explanar sobre a ocorrência de crises hídricas e a expansão ininterrupta do agronegócio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A crescente demanda por água no Brasil

Em 8 de janeiro de 1997, o Congresso Nacional decretou a Lei nº 9.433, conhecida popularmente como Lei das Águas. A partir deste ato legislativo, criou-se a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH), que estabeleceu uma série de objetivos, instrumentos e diretrizes que confluem em um só propósito: promover, em âmbito federal, estadual e

municipal, a proteção das águas que integram o país e suas jurisdições (BRASIL, 1997; MATSUSHITA; GRANADO, 2017).

Para que a defesa dos recursos hídricos ocorra de forma equânime em todas as regiões do Brasil, as esferas governamentais devem estar integradas, isto é, interligadas umas às outras, dado que um monitoramento hidrológico eficaz que ocorre coletivamente. Destarte, com vistas a facilitar a transmissão de informações relevantes à preservação das águas de todo o país, a partir da PNRH, foi desenvolvido o Sistema de Informações sobre Recursos Hídricos (SIRH), um banco de dados que coleta, processa, armazena e recupera informações acerca dos recursos hídricos e fatores que intervêm em sua gestão (BRASIL, 1997).

Um dos principais objetivos da PNRH é garantir às atuais e futuras gerações a disponibilidade hídrica, de maneira que os padrões qualitativos e quantitativos sejam mantidos. No entanto, apesar de, em teoria, exercer tal meta por instrumentos estabelecidos, como o SIRH, as águas que banham o território brasileiro ainda sofrem impactos drásticos que reduzem não apenas a qualidade, mas também a quantidade disponível para consumo (ANA, 2005; BRASIL, 1997; CIRILO, 2015).

Em março de 2021, o Instituto Trata Brasil publicou um estudo acerca dos indicadores de acesso à água potável, coleta e tratamento de esgotos nas 100 maiores cidades do país (**Figura 1**). Com base no Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), verificou-se que cerca de 35 milhões de pessoas não têm acesso à água tratada. Ademais, 100 milhões de habitantes ainda não usufruem da coleta de esgotos. Estima-se que, todos os dias, 5,3 mil piscinas olímpicas de esgotos desprovidos de tratamento são depositadas nos mais variados ecossistemas. Percentualmente, o Brasil deixa de tratar 50% de todo o esgoto gerado (ITB, 2021).

Paralelamente às deficiências de abastecimento hídrico, coleta e tratamento de resíduos, a degradação dos cursos hídricos é ainda mais intensificada pela poluição e contaminação provocada pelos componentes insalubres liberados indiscriminadamente. Há, portanto, um ciclo causal, no qual a devastação ambiental culmina na redução da disponibilidade de água potável, que, por sua vez, termina no déficit de acesso ao recurso, que, por fim, contribui para a liberação indevida de insumos nocivos em ambientes naturais (OLIVEIRA, et al., 2019; ITB, 2021).

Além do grave impacto ambiental e da escassez hídrica, a precariedade ou ausência de saneamento básico contribui para a proliferação de patologias, como: leptospirose, amebíase, giardíase, dengue, Chikungunya, Zika, cólera, diarreia, febres tifoide e paratifoide. Com isso, o sistema público de saúde é, por vezes, sobrecarregado pelo aumento do contingente de pacientes. Ainda, é importante levar em consideração que os órgãos sanitários também dispõem de suas próprias debilidades, dificultando ainda mais a adoção de medidas de profilaxia, tratamento e erradicação de doenças, especialmente as que possuem um elevado potencial de transmissão (MACEDO, et al., 2018; ROCHA;

ROSSONI; FARIA, 2018).

Conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS), a cada 1 dólar investido em água e saneamento, são economizados 4,3 dólares em saúde pública. Em suma, além de promover melhorias aos setores social e ambiental, dedicar recursos pecuniários estatais à estruturação de saneamento de boa qualidade beneficia a esfera econômica (OLIVEIRA; MORAES, 2022).

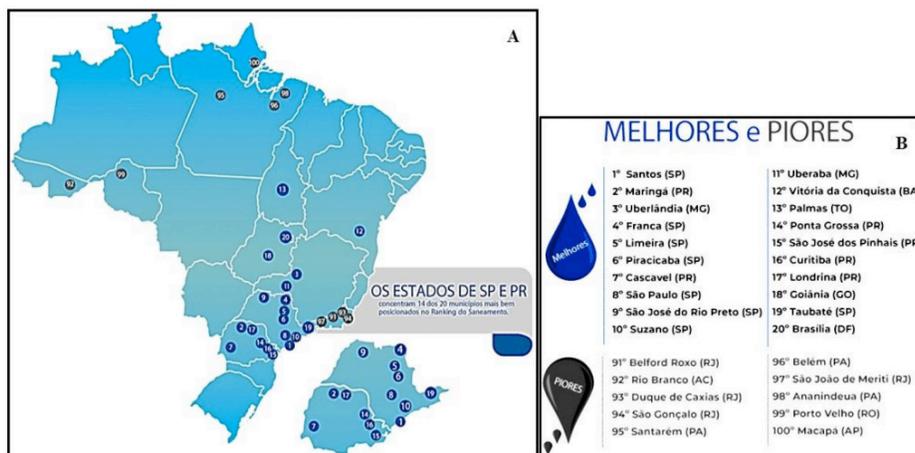


Figura 1. Na **Figura 1A**, mostra o mapa do Brasil e **Figura 1B** os 100 municípios brasileiros localizados nos Estados em que o saneamento básico é melhor ou pior.

Fonte: Adaptado de ITB, 2021.

Na Figura 1, observa-se que, interessantemente, a região Norte, mesmo com o maior volume de água doce de todo o país (68,5%), detém a maior quantidade de municípios com saneamento básico preconizado. Também é notável que as demais cidades, como Belford Roxo (RJ), São Gonçalo (RJ) e Duque de Caxias (RJ), que são largamente compostas por periferias, nas quais as ações do serviço público ocorrem com menor efetividade, têm o abastecimento hídrico, a coleta e o tratamento de esgoto sucateados (AUGUSTO, et al., 2012; ITB, 2017).

Crise hídrica no Distrito Federal

Em épocas mais recentes, não apenas o Distrito Federal (DF), como também Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP), enfrentaram longos períodos de crise hídrica. O baixo volume pluviométrico foi a principal das causas, pois comprometeu grande parte do abastecimento dos reservatórios, que passaram a operar com capacidades muito abaixo das regulares (DINIZ, 2019).

Tomando o DF como exemplo, em virtude das mudanças climáticas, da degradação da cobertura vegetal, das captações ilícitas de água, das ocupações irregulares que

promovem a alteração da estrutura dos solos e a modificação das nascentes, a região foi assolada por uma crise hídrica severa que durou aproximadamente três anos (2016, 2017 e 2018). Deve-se considerar, também, que o DF está localizado no bioma Cerrado (2 milhões de km²), região central da América do Sul, cujo clima predominante é o tropical sazonal com invernos secos, no qual as precipitações ocorrem com maior intensidade nas estações caracterizadas por altas temperaturas (primavera e verão). Ainda assim, períodos estiagem ainda podem ocorrer durante essa fase do ano. Por fim, no decurso do inverno, a ocorrência de chuvas cai drasticamente, submetendo o bioma a um período que varia entre três a cinco meses de baixa umidade (CORREA, 2011; GOVERNO DE BRASÍLIA, 2017; NASCIMENTO; NOVAIS, 2020; SILVA, et al., 2021).

Por estar em uma região que passa por longas temporadas de seca, o DF não dispõe de cursos hídricos abundantes, mas o bioma onde está inserido possui nascentes importantes que fornecem água aos territórios adjacentes. A Hidrelétrica de Itaipu, por exemplo, tem 50% de suas águas advindas do Cerrado (GOVERNO DE BRASÍLIA, 2017; CAPODEFERRO, et al., 2018).

DF abrange um complexo de abastecimento hídrico formado por dois principais reservatórios: Descoberto e Santa Maria, responsáveis por cerca de 90% do fornecimento de água à população urbana e rural. Os demais 10% são assistidos por sistemas de distribuição isolados (GOVERNO DE BRASÍLIA, 2017; TAVARES, et al., 2017).

De setembro a dezembro de 2015, verificou-se que o volume pluviométrico no reservatório do Descoberto, que abastece 64% da população do DF, foi de 368,80 milímetros. Em 2016, na mesma época do ano, foi registrado um total de 412,40 milímetros. Tais números equivalem a, respectivamente, 42,5% e 35,7% abaixo da média. Com isso, em 15 de agosto de 2016, a Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico do Distrito Federal (ADASA), por meio da Resolução nº 13, elaborou uma série de providências a serem tomadas, de acordo com a redução dos níveis das barragens do Descoberto e de Santa Maria.

Uma das providências consistia em: caso a capacidade dos reservatórios alcançasse um valor igual ou inferior a 20%, seria necessário estabelecer um regime de racionamento (ADASA, 2016; CAPODEFERRO, et al., 2018).

Em 2017, o Descoberto passou a atuar com apenas 20% de sua capacidade, enquanto a barragem de Santa Maria manteve seu volume acima de 40%. Defronte desta situação, por meio do Decreto nº 37.976, de 24 de janeiro de 2017, o governo do DF anunciou estado de emergência, determinando restrições do uso da água por 6 meses (180 dias). Ademais, a Adasa tomou medidas complementares e mais longevas, como: a redução da pressão na rede de distribuição de água potável; a implementação de tarifa de contingência; e o rodízio do fornecimento de água (racionamento), como mostrado na **Figura 2**. Toda esta conjuntura perdurou até meados de 2018, quando os níveis dos reservatórios começaram a subir novamente (GOVERNO DE BRASÍLIA, 2017; CAPODEFERRO, et al.,

2018; DINIZ, 2019).

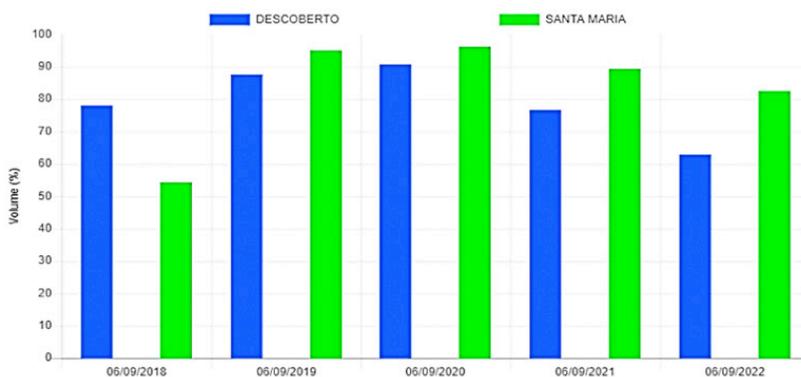


Figura 2. Volumes dos reservatórios do Descoberto e de Santa Maria (2018 a 2022).

Fonte: Adaptado de ANA, 2022.

Especialmente devido ao avanço constante das áreas cultivadas destinadas ao agronegócio, 57% do Cerrado foram degradados, e esse percentual tende a aumentar, pois os aproximados 40% restantes estão sob a iminência de serem modificados. Neste cenário, em que, naturalmente, a região é sujeita a um clima caracterizado por poucas chuvas e longos períodos de seca, além da ausência de cursos d'água volumosos, é essencial que haja, pelo menos, um manejo adequado do solo, visando evitar erosões e assoreamentos, que são potencialmente mais danosos às nascentes, dado que são recursos mais susceptíveis à degradação. No entanto, tendo em vista que o setor agrícola progride cada vez mais, a preservação e a conservação do bioma se tornam paulatinamente mais inexequíveis (GOVERNO DE BRASÍLIA, 2017; BANDEIRA; CAMPOS, 2018; CAPODEFERRO, et al., 2018).

Um breve retrospecto da agricultura brasileira e seus meios de produção

Com uma área total de 8,5 milhões de km², o Brasil é dotado de um território de proporções continentais. Entre os extremos Norte e Sul, há uma distância de quase 4,4 mil km. Em virtude de sua grande extensão, o país é caracterizado por diferentes climas, sendo os principais: tropical, tropical de altitude, tropical atlântico, subtropical, equatorial e semiárido (MENDONÇA; DANNI-OLIVEIRA, 2007).

O clima tem importante influência sobre os fatores bióticos e abióticos de todos os ecossistemas. Assim, com uma ampla variedade climática, o Brasil é detentor da maior biodiversidade do mundo, tendo cerca de 116 mil espécies animais e mais de 46 mil vegetais conhecidas. Tais aspectos favoráveis ao surgimento e desenvolvimento da biota colocam o país em evidência, sobretudo quando se trata da produção agrícola, visto que

as condições ambientais, como temperatura, umidade, volumes pluviométricos, qualidade do solo e produção massiva de matéria orgânica, são extremamente vantajosas ao plantio de diferentes lavouras, tais quais: cana-de-açúcar, café, algodão, soja, arroz, feijão, milho, trigo, etc. (BELARMINO, 2008; CARMO, 2017; ARAÚJO; ROCHA, 2018; FELDENS, 2018).

O potencial de produção agrícola do Brasil não foi imediatamente percebido pelos portugueses que se instalaram no território, no início século XVI. Nesse período, sob a adoção de mão de obra escrava indígena, o foco foi voltado à extração em larga escala do pau-brasil (*Paubrasilia echinata*), cuja madeira era utilizada na construção civil, na confecção de embarcações, produção de móveis e utensílios diversos. Além disso, o principal interesse era sobre o corante vermelho (brasilina) extraído de seu tronco, que era usado no tingimento de tecidos e como tinta para escrita. A exploração intensa fez com que o *P. echinata* chegasse próximo à extinção (SIQUEIRA, 2011; VIEIRA, 2017; GOMES, et al., 2019).

Apenas em meados da década de 1530, o país passou a ser colonizado e, com isso, desenvolver técnicas de plantio organizado em latifúndios, com vistas, a princípio, abastecer a população interna. As primeiras monoculturas foram de cana-de-açúcar e, em menor abrangência, de outros vegetais destinados somente à subsistência das famílias (FELDENS, 2018; SILVA, 2022).

Em virtude do crescente aumento da área plantada, por volta de 1550, a importação de negros escravizados passou a ser praticada, a fim de garantir mão de obra suficiente para a expansão da produção de cana, pois na época, o açúcar era extremamente valorizado pelo mercado mundial. Ademais, vale mencionar que a planta era melhor adaptada aos solos de regiões costeiras do Brasil, o que possibilitava uma exportação mais ágil do produto por meio do transporte marítimo. Desse modo, para os portugueses, o agronegócio era extraordinariamente rentável, com uma margem de lucro descomunal, pois toda a cadeia de produção, desde a colheita até a extração do açúcar, era barateada (MARQUESE, 2006; FELDENS, 2018; SILVA, 2022).

No final do século XVI e início do XVII, devido ao preço elevado do produto, algumas regiões do mundo passaram a cultivar as próprias lavouras de cana, tanto para consumo interno, quanto para exportação. Por conseguinte, a oferta do produto aumentou drasticamente, fazendo com que o seu valor de mercado reduzisse no mundo inteiro, prejudicando, portanto, o cenário econômico brasileiro (RODRIGUES; ROSS, 2020).

No início do século XVIII, com o açúcar desvalorizado, os latifundiários portugueses passaram a investir, ainda timidamente, em monoculturas de café, planta nativa da Etiópia, mas que se adaptou bem aos solos do Brasil. Foi somente na segunda metade do século que o café se tornou a prioridade dos agricultores, pois o grão passou a ser requisitado pelo comércio global, devido à escassez do produto, bem como à baixa do açúcar e de outros produtos, como algodão e tabaco (FELDENS, 2018; RODRIGUES; ROSS, 2020).

O auge do ciclo do café durou mais de um século, tornando o Brasil a principal

referência na produção do grão. Até hoje, o país ocupa a posição de maior exportador de café do mundo. Segundo o Conselho de Exportadores de Café do Brasil (Cecafé), as exportações brasileiras de café somaram aproximadamente 2,5 milhões de sacas de 60 kg em julho de 2022 (CECAFÉ, 2022; BRAGAIA, 2022).

Diante dos fatos mencionados, é importante discorrer acerca das metodologias exploratória e agrícola empregadas no Brasil durante os séculos XVI, XVII, XVIII e XIX, e também sobre os impactos provocados aos sistemas naturais. Em primeiro lugar, observa-se que o desmatamento é iniciado com a extração em massa de pau-brasil, sem qualquer finalidade agrícola. Todavia, ao transcorrer das décadas, além da exploração de madeira, a cobertura vegetal passou a ser devastada com o objetivo de abrir espaço para as grandes monoculturas de cana, algodão, tabaco e, posteriormente, café (FELDENS, 2018).

A remoção das plantas provoca uma série de desequilíbrios ambientais, pois são essenciais à manutenção da maioria dos ecossistemas, visto que, como organismos produtores de biomassa (matéria orgânica), são a base das cadeias alimentares. Além de fonte nutricional, centenas de espécies animais utilizam as vegetações como habitat. Ainda, em consequência da redução da disponibilidade de matéria orgânica, o solo e os organismos que o integram (fungos, microrganismos, anelídeos, vermes e as próprias plantas) também são afetados. Há, também, o comprometimento dos cursos d'água, que ficam mais susceptíveis ao assoreamento causado pela ausência de raízes que sustentam o solo, sobretudo em matas ciliares e de galeria (GUERRA; JORGE, 2018; BARBOSA, 2022).

Em segunda instância, deve-se sublinhar a monocultura como uma forma expressiva de degradação dos solos e recursos hídricos, pois essa técnica de cultivo consiste na produção sucessiva de uma única espécie vegetal, durante longas temporadas, em uma mesma região e sem qualquer manejo sustentável do solo, que, por consequência, tem suas estruturas físico-química e biológica totalmente modificadas, potencializando a ocorrência de erosões, assoreamentos e empobrecimento irreversível do meio edáfico (ZIMMERMANN, 2009; MIRANDA, 2020).

Durante os séculos supracitados, o agronegócio não dispunha de maquinários robustos e altamente tecnológicos. A linha de produção era totalmente composta por indígenas e negros africanos escravizados, que executavam todo o trabalho manualmente (LEITE, 2017; PIACENTE; SILVA; BIAGGI, 2021).

À medida que o setor agrícola e o comércio de madeira se tornavam mais potentes, maior era o nível de desflorestamento, devastação dos solos e das águas, e extinção de espécies promovidos pelos proprietários dos grandes latifúndios (ZIMMERMANN, 2009; BARBOSA, 2022).

Do século XVI para o XXI, o agronegócio progrediu em diversos aspectos, tais como: produção em elevada qualidade e quantidade conseguida por intermédio do desenvolvimento de organismos vegetais transgênicos (melhoramento controlado de espécies, devido a

edição genética), fertilizantes e pesticidas mais eficientes, e construção de equipamentos tecnológicos de grande porte, que, sob comando manual ou automatizado, manipulam o solo, cultivam as sementes, irrigam e colhem as plantas (VARGAS, et al., 2018; SILVA; WINCK, 2019; MORAES, 2019).

A despeito das evoluções notáveis que a agricultura brasileira vem gerando, verifica-se que a deterioração dos bio-sistemas ainda intercorre de maneira exorbitante. *Exempli gratia*, estima-se que 93% do cultivo de soja esteja presente em áreas ilegalmente desmatadas. Vale salientar que o Brasil é líder mundial na exportação dessa *commodity* (MACEDO, 2015; VASCONCELOS, et al., 2020; DUMMETT; BLUNDELL, 2021).

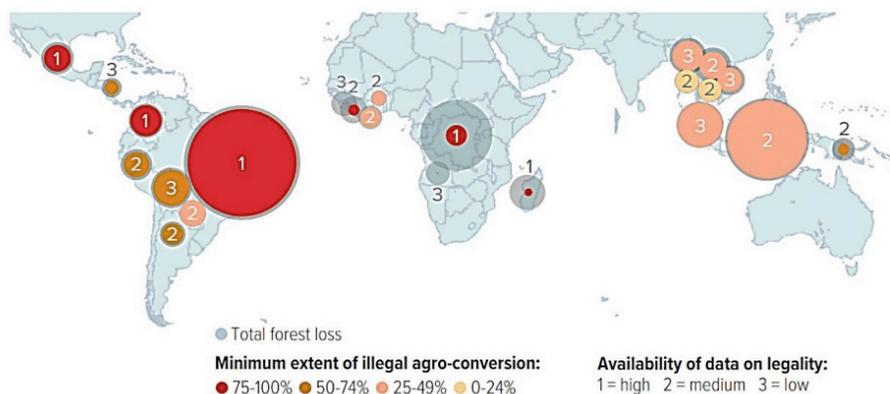


Figura 3. Extensão mínima de áreas ilegalmente ocupadas pela agricultura, em âmbito global, com destaque para o Brasil (2013-2019).

Fonte: Adaptado de DUMMETT, BLUNDELL, 2021.

Dos três níveis apresentados acima: *high* (alto), *medium* (médio) e *low* (baixo), o Brasil ocupa o nível mais alto (1), com praticamente 100% da extensão mínima de áreas ilegalmente ocupadas pela agricultura (DUMMETT; BLUNDELL, 2021).

Entre 2013 e 2019, 77 milhões de hectares (ha) de florestas tropicais foram devastados, número correspondente a 11 milhões de ha por ano. No mesmo intervalo, em conjunto, o Brasil, a República Democrática do Congo e a Indonésia foram responsáveis por 51% de toda a remoção da cobertura vegetal. Agora, entre novembro de 2018 e junho de 2022, 5,3 milhões de ha foram desmatados, valor equivalente a 4 mil ha por dia (DUMMETT; BLUNDELL, 2021; MAPBIOMAS, 2022).

Extremamente dependente da cobertura vegetal, o ciclo hidrológico que ocorre no país é também comprometido pela redução dos níveis de vapor liberados na atmosfera por meio da transpiração das plantas. A título de exemplo, a Floresta Amazônica é responsável por grande parte das precipitações que ocorrem em todas as regiões do Brasil, e isso ocorre devido ao deslocamento das massas de ar que transportam grandes volumes de

gotículas de água em suspensão do Norte para as demais áreas: Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e, em menor intensidade, Sul (DEBORTOLI, 2013).

Aumento do agronegócio contra o avanço das crises hídricas

No Brasil, em grande medida, os danos causados aos recursos hídricos advêm, direta e/ou indiretamente, das atividades antrópicas. Tomando como exemplo a agricultura em larga escala, além da superexploração da água voltada à irrigação, faz o uso insustentável do solo, cujas estruturas física e química são modificadas por meio da administração de veículos e máquinas de grande porte, aplicação acentuada de fertilizantes e demais agroquímicos ricos em substâncias capazes de interagir com as partículas do solo. Nesse cenário, tais compostos, juntamente aos fragmentos do solo, estão sujeitos ao transporte exercido pela força da água proveniente da irrigação ou de precipitações pluviométricas, e, por fim, ao depósito em cursos hídricos, onde ocorrerá a concentração de sedimentos edáficos e elementos químicos, como: Fósforo (P) e Nitrogênio (N), os quais são característicos da composição de fertilizantes. O acúmulo progressivo desses componentes pode culminar em assoreamento (deposição exacerbada de constituintes do solo em um curso hídrico) e eutrofização (concentração de nutrientes que estimulam a proliferação desmedida de organismos, como algas e bactérias fotossintetizantes potencialmente sintetizadoras de substâncias tóxicas). Ambos processos provocam a redução da qualidade e quantidade da água, afetando, portanto, todos os organismos vegetais e animais que dependem desse recurso, tanto no espaço natural, quanto no artificial (FREITAS; RIGHETTO; ATTAYDE, 2011; BARRETO, et al., 2013; NETO, 2018; JÚNIOR, 2022).

A constante expansão das áreas cultivadas por monoculturas também promove a remoção da cobertura vegetal nativa, essencial à manutenção do ciclo hidrológico, visto que as plantas realizam a transpiração, isto é, suas estruturas foliares, liberam água em estado gasoso, que ficará temporariamente suspensa na atmosfera, até condensar e formar as chuvas responsáveis por reabastecer os cursos hídricos. Desse modo, uma vez desmatada, a região apresenta um volume pluviométrico reduzido e, conseqüentemente, ocorre o declínio da disponibilidade de água, não apenas nessa, como em localidades adjacentes, tendo em vista que o vapor d'água é conduzido pelas massas de ar. Ademais, a extração vegetal contribui para o surgimento de erosões e assoreamento, especialmente em matas ciliares e de galeria, nas quais as plantas ocupam as margens do curso e, e seus sistemas radiculares, sustentam a estrutura do solo, evitando deslizamentos de terra (FAO, 2022; TUNDISI; TUNDISI, 2010).

De acordo com dados levantados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), entre os anos 1977 e 2017 (**Figura 4**), a produção de grãos cresceu de 38 milhões de toneladas para 236 milhões, ao passo que a área plantada, de 37 milhões, praticamente dobrou para 60 milhões. No mesmo período, em quilos por hectare, as lavouras de trigo, arroz e milho aumentaram, respectivamente, 346%, 317% e 270%

(EMBRAPA, 2018).

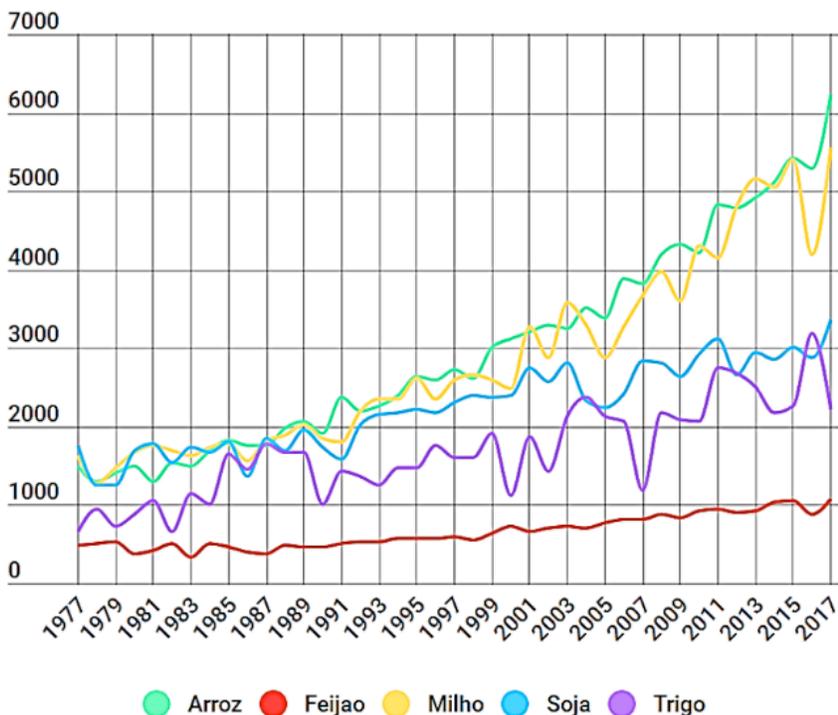


Figura 4. Panorama brasileiro sobre a expansão da produção agrícola de arroz, feijão, milho, soja e trigo (1977-2017).

Fonte: Adaptado de EMBRAPA, 2018.

Nas safras de 2016 e 2017, o Brasil alcançou seu recorde na produção de grãos, pois, além do abastecimento interno, exportou *commodities* para 150 países, de todos os continentes. A produção de base animal e vegetal excede 400 produtos, que provêm de diferentes escalas e unidades produtivas da esfera agrícola (EMBRAPA, 2018).

A amplificação da produção trouxe consigo uma gama de benefícios, tais quais: geração de empregos e de renda, bem como a redução dos valores de mercado dos produtos, tornando-os mais acessíveis aos consumidores finais. Por conseguinte, em 2017, a balança comercial do agronegócio brasileiro registrou um superavit de US\$ 81,7 bilhões. Ademais, a agroindústria e seus serviços terceirizados empregaram mais de 9 milhões de pessoas (AGROSTAT, 2017; BARROS; RENNÓ, 2022).

O crescimento substancial observado no setor agrícola brasileiro foi causado por diversos fatores, como: amplificação demográfica; avanços científicos em metodologias mais eficazes de plantio, tecnologia de maquinário e biotecnologia; e aumento das exportações. Em corroboração a isso, segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

(CEPEA), em 2021, o agronegócio participou de 27,4% do Produto Interno Bruto (PIB) do Brasil (FILHO; FISHLOW, 2017; EMBRAPA, 2018; CEPEA, 2022).

Em face dos dados apresentados, é nítido que o setor agrícola brasileiro obteve um crescimento substancial durante as últimas décadas, especialmente após a revolução verde. Para a economia do país, é um fator positivo a ser considerado, no entanto, quando se trata de desenvolvimento sustentável, não só o agronegócio, mas as indústrias e os grandes centros urbanos não dispõem de metodologias eficientes (VIEIRA, 2017).

Além do uso direto da água, o crescimento populacional provoca o aumento do consumo de energia, sobretudo no Brasil, que ainda é predominantemente dependente das hidrelétricas, as quais fornecem cerca de 80% do total de energia produzida no país. As matrizes energéticas renováveis alternativas e seus respectivos percentuais de produção são: eólica (8,8%), nuclear (2,2%) e solar (1,7%) (NOGUEIRA; ALARCÓN, 2019; BARRA; TEIXEIRA, 2022; MARTINS; CARMINATI, 2022).

Apenas no século XX, o consumo de água aumentou seis vezes, enquanto a população cresceu somente a metade, isto é, a exigência por esse recurso tende a ultrapassar o índice demográfico e, conseqüentemente, causar um colapso hídrico futuro. Estima-se que, nos próximos anos, haverá um crescimento de 50% da demanda por água no Brasil, devido à necessidade de expansão da produção de alimentos em 35% que ocorrerá até 2030 (TUCCI, 2008; EMBRAPA, 2018).

É importante reforçar que, concomitantemente ao aumento do consumo de água, ainda em 2022, existem 750 milhões de pessoas sem acesso ao recurso, ou seja, há uma certa contradição entre a disponibilidade, a distribuição e a elevação do consumo. Isso significa que somente uma quantidade limitada da população mundial usufrui de um bem natural fundamental à vida. Em parte, isso ocorre devido às influências empreendidas pelo comércio mundial, que não considera água um mero recurso ambiental, mas sim um produto rentável.

No Chile, por exemplo, os recursos hídricos, juntamente aos sistemas de processamento d'água, são majoritariamente privatizados, isto é, foram repassados do Estado para empresas de iniciativa privada. Uma vez que a organização está no setor privado, as possibilidades de precarização do serviço e das relações trabalhistas são maiores, além de prováveis aumentos do valor sobre o serviço de abastecimento e deficiência no atendimento à população (CASTRO, 2016; KISHIMOTO; STEINFORT; PETITJEAN, 2020).

Em contrapartida, países europeus, sul-americanos e africanos, como Paris, Berlim, Bamako, Buenos Aires, Maputo e La Paz, pioneiros na privatização da água, tiveram casos recentes de reestatização. Portanto, sob uma perspectiva pragmática, pode-se afirmar que privatizações dessa natureza tendem a ser frustradas pela inabilidade de gestão das empresas (KISHIMOTO; STEINFORT; PETITJEAN, 2020).

Como um recurso predominantemente estatal, em teoria, a pressão popular para

com os seus representantes governamentais é maior, tornando o serviço de abastecimento razoavelmente mais eficaz. O Estado dispõe de diretrizes e instrumentos de capilaridade, que atingem quase que todas as áreas da população, não obstante, mesmo sendo a alternativa mais viável, carece de melhorias (BICUDO; TUNDISI; SCHEUENSTUHL, 2010; KISHIMOTO; STEINFORT; PETITJEAN, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Caracterizado por um planeta majoritariamente constituído por mares e oceanos (água de alta salinidade), a Terra possui uma quantidade praticamente irrisória de água doce disponível para consumo, dado que a maior porção está em estado sólido. Ainda assim, mesmo que sob posse da consciência de que é um recurso essencial e findável, a espécie humana persiste em centralizar a distribuição, descartar e, de inúmeras maneiras, degradar as águas, em todas as suas formas e ambientes.

O aumento progressivo da população global, juntamente à esfera agrícola e suas indústrias, que concentra mais da metade do consumo de água doce do mundo, ao passo que bilhões de pessoas não tem acesso à água tratada, coleta e processamento de esgotos, e compreendem uma enorme parcela da responsabilidade, quando se refere à exploração hiperbólica dos meios hídricos.

Vale destacar que a resolução de todas as problemáticas aqui abordadas é extremamente onerosa, assim, compreender que se trata de um processo gradativo, é basilar. Deve-se, portanto, implementar métodos de descentralização da água, de maneira que a distribuição cumpra padrões de qualidade e quantidade, em todos os setores: agrícola, industrial e urbano. Conjuntamente a isso, técnicas mais eficazes de manejo ambiental precisam ser estudadas, e as que existem têm de ser aprimoradas, visando reduzir os impactos aos ambientes naturais. Ademais, o fomento à educação ambiental em todos os níveis de ensino, abrangendo todas as faixas etárias, é imprescindível para a construção de um Brasil e um mundo mais sustentável.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA REGULADORA DE ÁGUAS, ENERGIA E SANEAMENTO BÁSICO DO DISTRITO FEDERAL (ADASA). **Resolução nº 13, de 15 de agosto de 2016**. Disponível em: <https://bit.ly/3Rpsv8l>

AGENCIA NACIONAL DAS ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Disponibilidade e demandas de recursos hídricos no Brasil**. Brasília, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3RpkQau>

MAPBIOMAS. **Alertas e laudos**. 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3QqptQz>

AGENCIA NACIONAL DAS ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: Informe 2012**. Brasília: 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3wRBAio>

AGENCIA NACIONAL DAS ÁGUAS E SANEAMENTO BÁSICO (ANA). **Sistemas hídricos do Distrito Federal**. Disponível em: <https://bit.ly/3x102OG>

ANDRADE, C.L.T. **Seleção do Sistema de Irrigação**. Minas Gerais: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <https://bit.ly/3AVODR4>

ARAÚJO, L.E.B.; ROCHA, M.C.A. Biodiversidade brasileira: Biopirataria e a proteção dos conhecimentos tradicionais. **Rev Direito UFMS**, Campo Grande, 2018, 4(1): 57-73.

AUGUSTO, L.G.S.; GURGEL, I.G.D.; NETO, H.F.C.; MELO, C.H.; COSTA, A.M. O contexto global e nacional frente aos desafios do acesso adequado à água para consumo humano. **Rev Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, 2012, 17(6): 1511-1522.

BANDEIRA, M.N.; CAMPOS, F.I. Bioma Cerrado: Relevância no cenário hídrico brasileiro. **IX Simpósio Nacional de Ciência e Meio Ambiente – SNCMA – III CIPEEX**, 2018, p. 399-409.

BARBOSA, A.A. O Processo de desmatamento na reserva biológica de Pedra Talhada no município de Lagoa do Ouro – PE. **Rev Geconexões Online**, Rio Grande do Norte, 2022, 2 (2): 56-71.

BARRA, M.M.; TEIXEIRA, W.C. Energia eólica: Panorama atual e perspectivas futuras. **Caderno de Estudos em Engenharia Elétrica**, Minas Gerais, 2022, 4(1): 1-33.

BARRETO, L.V.; BARROS, F.M.; BONOMO, P.; ROCHA, F.A.; AMORIM, J.S. Eutrofização em rios brasileiros. **Rev. Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, 2013, 9(16): 2165-2179.

BARROS, G.; RENNÓ, N. **PIB-AGRO/CEPEA: PIB do agro cresce 8,36% em 2021; participação no PIB brasileiro chega a 27,4%**. CEPEA, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3x1009k>

BELARMINO, A.I.N. **A biodiversidade brasileira e os prejuízos da biopirataria**. Monografia (Graduação em Ciências Econômicas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina. 2008. 78f. Disponível em: <https://bit.ly/3RLYZK8>

BICUDO, C.E.M.; TUNDISI, J.G.; SCHEUENSTUHL, M.C.B. **Águas do Brasil: Análises estratégicas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/3eqwZgP>

BRAGAIA, I.M.S. **A importância econômica da polinização em culturas de café no manejo agroecológico brasileiro**. Monografia (Graduação em Ecologia) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 2022. 31f. Disponível em: <https://bit.ly/3ek1oT>

BRASIL. **Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997**. Disponível em: <https://bit.ly/3qcLyr4>

BRITO, L.T.L.; SILVA, A.S.; PORTO, E.R. **Disponibilidade de água e a gestão dos recursos hídricos**. Brasília: Embrapa, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/3RBFZy9>

CANTELE, T.D.; LIMA, E.C.; BORGES, L.A.C. Panorama dos recursos hídricos no mundo e no Brasil. **Rev. em Agronegócio e Meio Ambiente**, Maringá, 2018, 11(4): 1259-1282.

CAPODEFERRO, M.W.; SMIDERLE, J.J.; OLIVEIRA, L.A.D.; DINIZ, D.T.L. **Mecanismos adotados pelo Distrito Federal no combate à crise hídrica**. Brasília: Universidade de Brasília (UnB) e Adasa, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3RGRW5z>

CARMO, M.L. A indústria açucareira no final do século XVII: A instabilidade e as políticas régias de reestruturação. **Rev Angelus Novus**, São Paulo, 2017, 13(13): 13-30.

CASTRO, J. E. O acesso universal à água é uma questão de democracia. **Boletim regional, urbano e ambiental**, 2016, 1(15): 59-65.

CIRILO, J. A. Crise hídrica: Desafios e superação. **Rev Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2015, 106: 45-58.

CORREA, L.A. Bioma Cerrado: **Um estudo de valoração e conservação da biodiversidade e dos recursos naturais**. Monografia (Graduação em Engenheiro Ambiental) – Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 2011. 80f. Disponível em: <https://bit.ly/3D3gAcp>

DEBORTOLI, N. S. **O regime de chuvas na Amazônia Meridional e sua relação com o desmatamento**. Dissertação (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) –Universidade de Brasília, Brasília. 2013. 217f. Disponível em: <https://bit.ly/3RsOg7E>

DINIZ, F.S. **A crise hídrica do Sistema Descoberto - Distrito Federal - no triênio 2015-2017**. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Fundação Oswaldo Cruz, Brasília. 2019. 91f. Disponível em: <https://bit.ly/3evZAI7>

DUMMETT, C.; BLUNDELL, A. **Illicit harvest, complicit goods: The state of illegal deforestation for agriculture**. Washington, DC: Forest Trends, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3Bmqpk0>

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Visão 2030: O futuro da agricultura brasileira**. Brasília: Embrapa, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/2HvxWDg>

FELDENS, L. **O homem, a agricultura e a história**. Lajeado: Editora Univates, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3x1iXZu>

FILHO, J.E.R.V.; FISHLOW, A. **Agricultura e indústria no Brasil inovação e competitividade**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3CYUkR3>

FOLEGATTI, M.V. et al. **Gestão dos recursos hídricos e agricultura irrigada no Brasil**. São Paulo: Instituto de Botânica, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/3T1vNpr>

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **The world agricultural production**. Estados Unidos: United States Department of Agriculture, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3RICj3O>

FORTES, A.C.C.; BARROCAS, P.R.G.; KLIGERMAN, D.C. A vigilância da qualidade da água e o papel da informação na garantia do acesso. **Rev Saúde Debate**, Rio de Janeiro, 2019,43(3): 20-34.

FREITAS, F.R.S.; RIGHETTO, A.M.; ATTAYDE, J.L. Cargas de fósforo total e material em suspensão em um reservatório do semiárido brasileiro. **Rev Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, 2011, 15(3): 655-665.

GOMES, S.H.M.; GONÇALVES, F. B.; FERREIRA, R.A.; PEREIRA, F.R.M.; RIBEIRO, M.M.J. Avaliação dos parâmetros morfológicos da qualidade de mudas de *Paubrasilia echinata* (pau-brasil) em viveiro florestal. **Rev. Scientia Plena**, Sergipe, 2019, 15(1): 1-10.

GOVERNO DE BRASÍLIA. **Plano integrado de enfrentamento à crise hídrica**. Brasília, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3x1O14I>

GUERRA, A.J. T.; JORGE, M. C. O. **Degradação dos solos no Brasil**. Rio de Janeiro: BERTRAND BRASIL, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3D115nY>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Brasil: 500 anos de povoamento**. Rio de Janeiro: IBGE, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Brasil: 500 anos de povoamento**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022.

INSTITUTO TRATA BRASIL. **5,5 milhões de brasileiros sem água tratada e quase 22 milhões sem esgotos nas 100 maiores cidades, segundo novo Ranking do Saneamento**. São Paulo: Trata Brasil, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3RJA7my>

JÚNIOR, J.R.M. **Impactos da eutrofização do reservatório dourado na Microbacia do Rio Seridó, estado do Rio Grande do Norte, Brasil**. Monografia (Graduação em Geografia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2022. 55f. Disponível em: <https://bit.ly/3x36XH3>

KISHIMOTO, S.; STEINFORT, L.; PETITJEAN, O. **O futuro é público: Pela propriedade democrática dos serviços públicos**. Brasília: Comitê Nacional em Defesa das Empresas Públicas (CNDEP) e Federação Nacional das Associações do Pessoal da Caixa Econômica Federal (FENAE), 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3Qhx6lJ>

LEITE, M.J.S. Tráfico atlântico, escravidão e resistência no Brasil. **Rev. de História da África e de Estudos da Diáspora Africana**, São Paulo, 2017, 10(19): 64-82.

MACEDO, G.A. S.; FIGUEIREDO, J.O.; SILVA, M.F.; RODRIGUES, R.A.L.; SOUZA, Z.H. Influências das condições e conhecimentos ambientais no processo de patologização. **III Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar e I Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar**, 2018, p.1-10.

MACEDO, M.F.S. Técnicas de irrigação, o desenvolvimento da agricultura e do agronegócio: Uma análise à luz da proteção humana e da cidadania frente à crise hídrica nacional. **Rev Campo Jurídico**, Bahia, 2015, 3(2): 39-54.

MARENGO, J.A. Água e mudanças climáticas. **Rev. Estudos Avançados**, São Paulo, 2008, 22(63): 83-96.

MARENGO, J.A.; ALVES, L.M. Crise hídrica em São Paulo em 2014: Seca e desmatamento. **Rev Geosp – Espaço e Tempo**, São Paulo, 2016, 19(3): 485-494.

MARQUESE, R.B. A dinâmica da escravidão no Brasil: Resistência, tráfico negreiro e alforrias, séculos XVII a XIX. **Rev Novos Estudos**, São Paulo, 2006, 74: 107-123.

MATSUSHITA, T.L.; GRANADO, D.W. A crise hídrica no Brasil e seus impactos no desenvolvimento econômico e ambiental. **Rev Thesis Juris**, São Paulo, 2017, 6(1): 167-185.

MENDONÇA, F.; DANNI-OLIVEIRA, I.M. **Climatologia: Noções básicas e climas do Brasil**. São Paulo: Oficina de Textos, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/3ewhXGt>

MIRANDA, R.A. **Breve história da agropecuária brasileira**. In: LANDAU, E.C.; SILVA, G.A.; MOURA, L.; HIRSCH, A.; GUIMARAES, D.P. (Ed.). Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: cenário histórico, divisão política, características demográficas, socioeconômicas e ambientais. Brasília: Embrapa, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3QqoGij>

MORAES, R.F. **Agrotóxicos no Brasil: Padrões de uso, política da regulação e prevenção da captura regulatória**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (Ipea), 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3RKxmKt>

MOURA, P.G.; ARANHA, F.N.; HANDAM, N.B.; MARTIN, L.E.; SALLES, M.J.; CARVAJAL, E.; JARDIM, R.; SOTERO-MARTINS, A. Água de reuso: Uma alternativa sustentável para o Brasil. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, 2020, 25(6): 791-808.

NASCIMENTO, D.T.F.; NOVAIS, G.T. Clima do Cerrado: Dinâmica atmosférica e características, variabilidades e tipologias climáticas. **Revista de Geografia da UEG**, Goiás, 2020, 9(2): 1-39.

NETO, J.V.M. **Áreas de solo exposto intensificam o processo de eutrofização no semiárido brasileiro**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2018. 29f. Disponível em: <https://bit.ly/3KSoKGN>

NOGUEIRA, M.F.M.; ALARCÓN, A. **Impacto das interrupções na geração hidrelétrica do Brasil**. Estados Unidos: Banco Interamericano de Desenvolvimento, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3TQZK3>

OLIVEIRA, E.N.; FERREIRA, M.F.; OLIVEIRA, W.F.; OLIVEIRA, R.R. Estudo bibliográfico das tecnologias utilizadas no tratamento do esgoto e a legislação em vigor no Brasil. **Revista Natural Resources**, Goiás, 2019, 9(1): 20-27.

OLIVEIRA, F.P.S.; MORAES, L.R.S. Panorama dos serviços públicos de saneamento básico na Bacia Hidrográfica do Rio Camarajipe, Salvador (BA). **Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais (GESTA)**, Bahia, 2022, 10(1): 24-35.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDASa. **World cities report 2022: Envisaging the future of cities**. Nova York: ONU, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3ALxEkI>

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDASb. **World population prospects 2022: Summary of results**. Nova York: ONU, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3RALIOz>

ONU. **World population prospects**. Nova York: ONU, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3Txptkt>

PIACENTE, F.J.; SILVA, V.C.; BIAGGI, D.E. Um estudo de prospecção tecnológica para máquinas agrícolas automotrizes no Brasil. **Revista de Estudos de Gestão, Informação e Tecnologia**, São Paulo, 2021, 15(1): 36-52.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL (CECAFÉ). **Relatório mensal de exportações**, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3D69d3W>

ROCHA, A. C. T.; ROSSONI, H. A. V.; FARIA, M. T. S. Determinantes envolvidos no perfil de doenças relacionadas às condições sanitárias inadequadas nos municípios brasileiros: Avaliação realizada nas 10 melhores e 10 piores cidades do ranking do saneamento. **Rev ForScience**, Minas Gerais, 2018, 6(2): 1-22.

RODRIGUES, G.S.S.C.; ROSS, J.L.S. **A trajetória da cana-de-açúcar no Brasil: Perspectivas geográfica, histórica e ambiental**. Minas Gerais: Editora da Universidade Federal de Uberlândia, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3KTiiPq>

SILVA, A. F. C. Pragas, patógenos e plantas na história dos sistemas agroecológicos. **Rev Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, Belém, 2022, 17(1): 1-31.

SILVA, B.A.; WINCK, C.A. Evolução da quantidade de máquinas e implementos agrícolas nas propriedades rurais brasileiras (1960-2017). **Rev Visão**, Santa Catarina, 2019, 8(1): 174-188.

SILVA, L.D.; BASTOS, F.G.; LEITE, H.P.P.; FREIRE, L.V.; HIGA, A.R.; Victoria, D.C. **O clima no Bioma Cerrado**. São Paulo: Sistemas de Informações Florestais do Cerrado (SiFlor), 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3euFRCb>

SIQUEIRA, M. I. Considerações sobre ordem em colônias: As legislações na exploração do pau-brasil. **Rev. de Pesquisa Histórica**, Pernambuco, 2011, 29(1): 1-17.

TAVARES, A.M.F.; VASCONCELOS, F.G.; BENFICA, S.R.; CAMPOS, F.I.; LACERDA, B.F.C. Crise hídrica no Distrito Federal no panorama atual (2016-2017). **VIII Simpósio Nacional de Ciência e Meio Ambiente (SNCMA)**, Goiás, 2017, 8 (1): 1-27, 2017.

TUCCI, C.E.M. Águas urbanas. **Rev Estudos Avançados**, São Paulo, 2008, 22(63): 97-112.

TUNDISI, J.G.; TUNDISI, T. M. Impactos potenciais das alterações do Código Florestal nos recursos hídricos. **Rev. Biota Neotropica**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 67-75, 2010.

VARGAS, B.D.; BASSO, A.; RODRIGUES, T.V.; SILVA, L.B.; GATZKE, M.; FRIZZO, M.N. Biotecnologia e alimentos geneticamente modificados: Uma revisão. **Rev Contexto & Saúde**, Rio Grande do Sul, 2018, 18(35): 19-26.

VASCONCELOS, A.; BERNASCONI, P.; GUIDOTTI, V.; SILGUEIRO, V.; VALDIONES, A.; CARVALHO, T.; BELLFIELD, H.; PINTO, L.F.G. Desmatamento ilegal e exportações brasileiras de soja: O caso de Mato Grosso. **Rev Trase Earth**, Estados Unidos, 2020, 4: 1-16.

ZIMMERMANN, C. L. Monocultura e transgenia: Impactos ambientais e insegurança alimentar. **Rev Veredas do Direito**, Belo Horizonte, 2009, 6 (12): 79-100.

CAPÍTULO 5

EPICARPO DE FRUTA DO CONDE (*Annona squamosa*) COM ATIVIDADE INSETICIDA: UMA ALTERNATIVA NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*

Data de aceite: 02/01/2023

Kevyn Danuway Oliveira Alves

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/6246079540861855>

Ismael Vinicius de Oliveira

Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/0294754197271732>

Ana Carolyna Diógenes Bezerra

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/2537266283267674>

Rita de Cassia Aquino

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/1825576854552784>

Douglas Arenhart França

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/4086600777785698>

Pedro Lucas Soares

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/6372028371185962>

Hilgarde Ferreira Pessoa

Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/3506187148990506>

Ana Karolinne de Alencar França

Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/7525267089498453>

Yandra Thais Rocha da Mota

Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/0461982822563000>

Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra

Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró
<http://lattes.cnpq.br/7123984123781406>

RESUMO: Mudanças no comportamento humano em relação ao meio ambiente, barreiras ao desenvolvimento urbano, globalização e mudanças climáticas são alguns dos fatores que contribuem para a ocorrência e disseminação de doenças infecciosas. O incidente atinge três arbovírus no Brasil, Chikungunya, Dengue e Zika, que são amplamente disseminados por mosquitos vetores distribuídos por todo o país, relacionados aos seres humanos, causando grandes problemas de saúde pública. Na ausência de vacinas eficazes e tratamentos específicos, é importante manter e integrar a vigilância entomológica

e epidemiológica em curso para orientar as abordagens de controle e prevenção do país contra essas arboviroses. A família *Annonaceae* tem sido extensivamente estudada para utilizar muitas espécies como fonte de compostos inseticidas com diferentes modos de ação sobre insetos. Portanto, este trabalho teve como objetivo desenvolver um produto natural, econômico e sustentável, utilizando o extrato da casca de *Annona squamosa* como recurso contra larvas de *Aedes aegypti*. A partir dos resultados, pode-se comprovar a hipótese de que o inseticida natural desenvolvido a partir do extrato da casca da fruta do conde (*Annona squamosa*) é eficaz na mortalidade de *Aedes aegypti*.

PALAVRAS-CHAVE: Produtos naturais, Arboviroses, Extratos.

CONDE FRUIT (*Annona squamosa*) EPICARP WITH INSECTICIDE ACTIVITY: AN ALTERNATIVE IN THE CONTROL OF *Aedes aegypti*

ABSTRACT: Changes in human behavior towards the environment, barriers to urban development, globalization and climate change are some of the factors that contribute to the occurrence and spread of infectious diseases. The incident affects three arboviruses in Brazil, Chikungunya, Dengue and Zika, which are widely disseminated by mosquito vectors distributed throughout the country, related to humans, causing major public health problems. In the absence of effective vaccines and specific treatments, it is important to maintain and integrate ongoing entomological and epidemiological surveillance to guide the country's control and prevention approaches against these arboviroses. The *Annonaceae* family has been extensively studied to utilize many species as a source of insecticidal compounds with different modes of action on insects. Therefore, this work aimed to develop a natural, economical, and sustainable product using *Annona squamosa* bark extract as a resource against *Aedes aegypti* larvae. From the results, one can prove the hypothesis that the natural insecticide developed from the bark extract of the fruit of the conde (*Annona squamosa*) is very effective in reducing the mortality of *Aedes aegypti*.

KEYWORDS: Natural products, Arboviroses, Extracts.

INTRODUÇÃO

Aedes aegypti (Linnaeus, 1762) é um vetor viral que causa dengue, chikungunya, e Zika vírus (Vasconcelos, 2015). Na ausência de vacinas eficazes e tratamentos específicos, é importante manter e integrar uma vigilância entomológica e epidemiológica contínua para orientar as abordagens de controle e prevenção do país contra estas arboviroses.

A. aegypti têm quatro fases biológicas: ovo, larva, pupa e adulto levam cerca de 10 dias a completar um ciclo, sendo os três primeiros aquáticos. Os ovos são brancos e, nas primeiras 24 horas, terão um aspecto preto brilhante; sob condições adequadas de temperatura e humidade, o seu desenvolvimento embrionário é concluído em 48 horas (FEITOSA et al., 2017). As ações de controle da população ocorrem principalmente na fase larval, quando esta é mais vulnerável.

O fruto do conde (*Annona squamosa*) pertence à família *Annonaceae*, esta é uma família que merece destaque por ser atualmente a família botânica mais estudada e utilizada

para o controlo alternativo de pragas e é como Acentogeninas, ou seja, o ingrediente ativo encontrado na casca dos ramos, raízes e sementes destas plantas desta família que mostra o efeito contra os insetos pragas. (PAZ et al., 2018).

Portanto, este trabalho visava desenvolver um produto natural, económico e sustentável utilizando o extrato da casca do fruto do conde ou pinha (*Annona squamosa*) como recurso contra as larvas de *Aedes aegypti*. A partir dos resultados, pode-se provar a hipótese de que o inseticida natural desenvolvido a partir do extrato de casca de *Annona squamosa* é eficaz para matar o *Aedes aegypti*.

METODOLOGIA

Para testar a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti*, foi utilizado um extrato de casca de *Annona squamosa*, vulgarmente conhecido como fruto de conde. Para a preparação dos extratos aquosos e etanolicos, as frutas foram recolhidas para bioensaios em Umarizal/RN nas horas mais frias do dia e deixadas a secar durante 2 semanas.

Para a preparação do extrato, foi utilizado um copo de acrílico com uma lâmina móvel fixada no fundo, no qual a parte colhida foi triturada. A trituração foi feita em diferentes quantidades de soluto, utilizando quantidades iguais de solvente para diferentes extratos, 1 litro de água destilada para extratos aquosos e 500 ml de álcool para extratos etanolicos. Como recomendado por (EMBRAPA, 2006), as substâncias aquosas foram deixadas de pé durante 24 horas num local sem luz, e depois o extrato etanólico foi deixado de pé durante 120 horas para uma melhor extração dos ingredientes ativos. Após este período, o material é filtrado e colocado num recipiente. Havia 3 réplicas na experiência, é importante notar que foram realizadas duas experiências para cada substância de controlo (SANTOS et al., 2012). A primeira é a aplicação indireta e a segunda é a aplicação direta do extrato em larvas de *Aedes aegypti*.

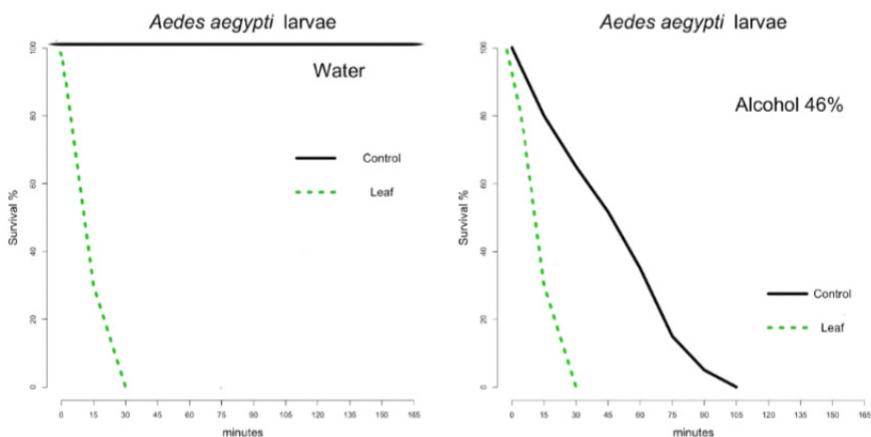
Na experiência, foram utilizados 4 recipientes para conter 40 larvas de *Aedes aegypti*, e em cada recipiente foram colocadas 20 larvas do mosquito da dengue. Nestes recipientes, foram colocados 100 ml de água destilada e 10 gotas de inseticida natural, e o grupo de controlo foi água destilada. Isto é consistente com Cruz et al. (2012) para experiências que testam a mortalidade larvar do *Aedes aegypti*. Na segunda experiência, foram utilizadas 20 larvas e duas placas de poço com 10 larvas de mosquito da dengue em cada placa. Na primeira placa, 10 larvas de *Aedes aegypti* foram distribuídas como uma unidade em cada compartimento e uma gota de extrato à base de água destilada foi aplicada a cada larva, e no segundo recipiente, uma gota de água destilada foi aplicada a cada larva. Observou-se a mortalidade/sobrevivência das larvas de *Aedes aegypti*.

Em experiências com extratos etanolicos com larvas de *Aedes aegypti*, utilizámos 4 contentores para armazenar 40 larvas. Colocámos 20 larvas de mosquitoda dengue em cada recipiente, no qual colocámos 100 ml de água destilada e 10 gotas de inseticida

natural, e um grupo de controlo de 46% de álcool. Na segunda experiência, utilizámos 20 larvas do mosquito da dengue e dois pratos de poços com 10 larvas em cada prato. Na primeira placa, 10 larvas de *Aedes aegypti* foram distribuídas uniformemente em cada compartimento e uma gota de extrato de etanol foi adicionada a cada larva, e no segundo recipiente, uma gota de 46% de álcool é gotejada em cada larva. Observou-se a mortalidade/sobrevivência de larvas do mosquito da dengue (*Aedes aegypti*).

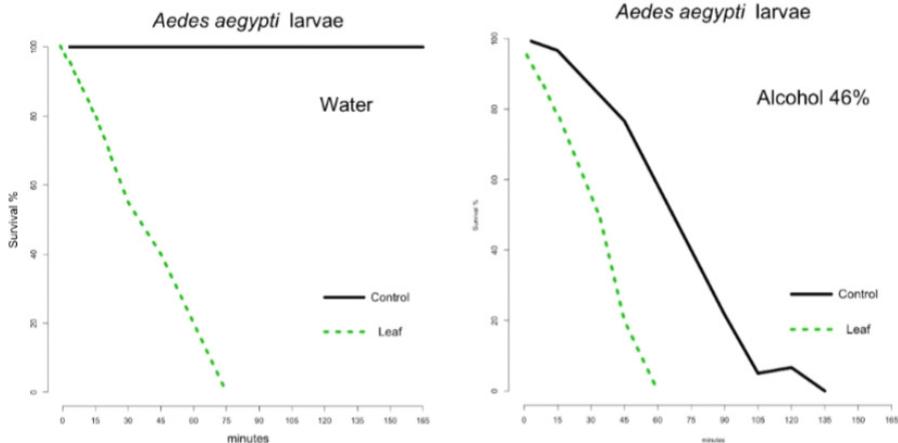
RESULTADOS E DISCUSSÕES

A figura 1 representa a taxa de mortalidade em minutos com o teste feito com o extrato etílico, a figura 2 representa a taxa de mortalidade em minutos feita com o extrato aquoso.



* Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* sujeitas à aplicação direta de extratos de *Annona squamosa* dissolvidos em 46% de álcool e água destilada. Fonte: Autores.

Figura 1. Representa uma aplicação direta de inseticidas sobre as larvas adultas do *Aedes aegypti*.



* Mortalidade de larvas de *Aedes aegypti* sujeitas à aplicação indireta de extratos de *Annona squamosa* dissolvidos em 46% de álcool e água destilada. Fonte: Autores

Figura 2. Representa uma aplicação indireta de inseticidas sobre as larvas adultas do *Aedes Aegypti*.

A figura 01 mostra que os inseticidas tiveram um tempo de mortalidade médio em larvas de mosquito da dengue com extrato aquoso em aplicação direta de 30 minutos, em extrato etanólico de 30 minutos, o controle teve um tempo de mortalidade de 1h45min.

A figura 02 mostra que os inseticidas tiveram um tempo de mortalidade médio em larvas de *Aedes aegypti* com extrato aquoso em aplicação indireta de 1h15min, em extrato etanólico de 60 minutos, o controle teve um tempo de mortalidade de 2h15min.

O resultado do tempo de mortalidade da água mostra a veracidade da ação inseticida na casca de *Annona squamosa*. A partir dos resultados, foi possível provar a veracidade da hipótese, que os inseticidas naturais desenvolvidos a partir do extrato de folhas de *Annona squamosa* são muito eficazes, indicando que são mais eficazes do que as indústrias na questão das taxas de mortalidade das larvas de mosquito da febre amarela (*Aedes aegypti*).

A prova de que a *Annona squamosa* também tem o componente Acetogenina, que constitui uma classe de produtos naturais promissores como agentes inseticidas prototípicos, sendo encontrada nas cascas de ramos e raízes, raízes e especialmente nas sementes de plantas da família Annonaceae (Bermejo et al., 2005; Castillo-Sánchez et al., 2010).

A atividade inseticida deve-se à presença da substância Acetogeninas que atuam nas mitocôndrias, inibindo a NADH -ubiquinona e a oxidoreductase, atingindo o metabolismo, causando a morte de insetos (Zafra Polo et al., 1996; Lümmer, 1998).

O inseticida será colocado em capsulas de gelatina com o inseticida em pó, durante o período chuvoso serão distribuídos nos ambientes, para quando acontecer a chuva levar a capsular até o escoamento da água e lá dissolvendo os inseticidas evitando a proliferação dos insetos dengue.

CONCLUSÃO

Os bioinseticidas feitos da casca de *Annona squamosa* provaram ser muito eficazes no combate às larvas de mosquito da dengue. A utilização deste inseticida natural é eficaz, trazendo benefícios para a população, uma vez que os inseticidas naturais é à base de casca da fruta do conde são naturalmente bioativos e mostram atividade citotóxica. A utilização de pesticidas naturais é uma alternativa quando relacionada com a utilização de químicos sintéticos para o mesmo fim, pois o produto desenvolvido torna-se mais económico e acessível do que os pesticidas sintéticos, além de contribuir para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

- Belmain, S.R., Neal, G.E., Ray, D.A. & Golob, P. Inseticida e toxicidade de vertebrados associada a etnobotânicos utilizados como protectores pós-colheita no Gana. *Toxicologia Química e Alimentar*. 39, 287-91, 2001.
- Bogorni, P.C. & Vendramim, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. entomol.*, Londrina. 32, 665-9, 2003.
- Brazolin, S., Fernandes, J. L. G., Lopes, G. A. C., Monteiro, M. B. B. & Zenid, G. J. Biodeterioração de madeiras em edificações. São Paulo: IPT, 2001.
- Constantino, R., The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. *Journal of Applied Entomology*, Hamburg, v. 126, p. 355-365, 2002.
- Corassa, Janaina de Nadai, et al. Témitas Associados à Degradação de Cinco Espécies Florestais em Campo de Apodrecimento. *Floresta e Ambiente*: 21(1):78-84 79. Instituto de Ciências Agárias e Ambientais, Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, Sinop/MT, Brasil, 2014.
- Cruz, C.S.A.; Medeiros, M.B.; Sousa, F.C.; Silva, L.M.M.; Gomes, J.P. Uso de Partes Vegetativas em Forma de Pó Seco no Controle de *Cupins Nasutitermes* sp. (INSECTA: ISOPTERA) TERMITIDAE. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 7, n. 2, p.102105, 2012.
- Eleotério, Eliane Santos da Rocha; FILHO, Evôneo Berti. Levantamento e identificação de cupins (Insecta: Isoptera) Em área urbana de Piracicaba – SP. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v.10, n.1, p.125-139, 2000.
- EMBRAPA. Uso do extrato aquoso de folhas de nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* no milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 5 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 88), 2006.
- Hernandez, C.R, Angel, D.N. Anonaceas com propriedades inseticidas. *Vitória da conquista: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia*, pág. 229-239, 1997.
- Huang, Y.; Lam, S.L.; Ho, S.H. Bioactivities of essential oil from *Ellateraria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, v.36, p.107-117, 2000.

Instituto de pesquisas tecnológicas. Métodos de ensaios e análise em preservação de madeira: ensaio acelerado de laboratório da resistência natural ou de madeira preservada ao ataque de térmitas do gênero *Cryptotermes* (Fam. Kalotermitidae). São Paulo. 1 p. (Publicação IPT, 1157), 1980.

Lelis, A. T. Cupins: prevenção e erradicação. *Preservação de Madeiras*, v.6-7, n.1, p.51-58, 1976.

Lümmen, P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v. 1364, n.2, p.287–296, 1998.

Nie, J., Sun, Y., Zhou, Y., Kumar, M., Usman, M., Li, J., Shao, J., Wang, L. & Tsang, D. C. W. Bioremediation of water containing pesticides by microalgae: mechanisms, methods, and prospects for future research. *Science of The Total Environment*, 707, 136080, 2019.

Oliveira, J.V.; Vendramim, J.D. (1999) Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.28, p.549-555, 1999.

Padmaja, V., Thankamany, V., Hara, N., Fujimoto, Y and Hisham, A. Biological activities of *Annona glabra*. *Etheneopharmacol*, 11; 48(1):21-4, 1995.

Pontes, A.F.; Barbosa, M.R.V.; Maas, P.J.M. Flora Paraibana: Annonaceae Juss. *Acta Botânica Brasília*, v.18, n.2, p.281-93, 2004.

Santos, A. V et al. et al. Efeito in vitro do extrato de nim (*Azadirachta indica*) e óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus**. *Revista brasileira de medicina veterinária.*, 111-115, 2010.

Silva, J. C.; Lopez, A. G. C.; Oliveira, J. T. S. Influência da idade na resistência natural da madeira de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden ao ataque de cupim de madeira seca (*Cryptotermes brevis*). *Revista Árvore*, Viçosa, v. 28, n. 4, p. 583-587, 2004.

Soerjato, D.D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspective from field. *Journal of Ethnopharmacology*, v.51, p.1-15, 1996.

CAPÍTULO 6

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* Linn. CULTIVADA *in vitro* SOB DIFERENTES QUALIDADES DE LUZES

Data de aceite: 02/01/2023

Herbert Cristian de Souza

Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia e Biodiversidade – Rede
Pró-Centro-Oeste (PRPG-PGGB)
Goiania, GO, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0040415562945146>

Luís Cláudio Kellner Filho

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2088458263744179>

Wanderson Zuza Cosme

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1931789848603809>

Nicoli Dias Oliveira

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6230008721006050>

Iara Silva Squarisi

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0480610028940053>

Lizandra Guidi Magalhães

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6987777227549255>

Denise Crispim Tavares

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5342181863190744>

Márcio Luís Andrade e Silva

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3379459480976790>

Wilson Roberto Cunha

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0167858725923432>

Patrícia Mendonça Pauletti

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas
e Tecnológicas-Universidade de Franca
(Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5900037029288245>

Fabiano Guimarães Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde-
(IF-Goiano-Campus Rio Verde)
Rio Verde, GO, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5908103551594306>

Ester Gonçalves de Jesus

Centro de Ciências Agrárias e Engenharias-
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Alegre, ES, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7716305915451323>

Mario Ferreira Conceição Santos

Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde-
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)
Alegre, ES, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7815489824754185>

Ana Helena Januário

Núcleo de Pesquisas em Ciências Exatas e
Tecnológicas-Universidade de Franca (Unifran)
Franca, SP, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5596725243630872>

RESUMO: As doenças tropicais negligenciadas representam um enorme desafio para a saúde pública no Brasil, por afetar populações mais pobres, e pela limitação nos medicamentos atualmente disponíveis. Conhecida no Brasil como Camapú, *Physalis angulata* Linn., é uma planta com grande importância na medicina popular por suas várias propriedades terapêuticas e pela produção de compostos ativos. Objetivou-se com esse trabalho avaliar o potencial antiparasitário de extratos de plantas de *P. angulata* cultivadas *in vitro* sob diferentes qualidades de luz (branca, azul, verde, vermelha e amarela). A atividade esquistossomicida do extrato de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha mostrou 75% de ausência de motilidade dos vermes adultos às 72 horas de incubação na concentração 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Já o extrato de *P. angulata* cultivada sob luz azul, apresentou 100% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A atividade leishmanicida mostrou que o extrato cultivado sob luz verde reduziu a viabilidade de células promastigotas de *L. amazonensis* em 73.56%, seguido do extrato de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha (66.8%). Os valores de CI_{50} dos extratos testados foi de 17.72 μM e 12.38 μM para a luz verde e luz vermelha, respectivamente. Todos os extratos testados apresentaram baixa toxicidade contra linhagem normal de fibroblasto de pulmão humano GM07492A. Dependendo da qualidade da luz, respostas na produção de metabólitos secundários são evidentes. As luzes branca, azul, vermelha e verde apresentam diversos estudos que retratam seus potenciais biológicos. Neste estudo, sugere-se que a produção de compostos antiparasitários fora estimulada pelas luzes branca, azul, vermelha e verde, podendo ser responsáveis pelas atividades biológicas

descritas neste estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Camapu, Cultura de tecidos, *Leishmania amazonensis*, *Schistosoma mansoni*.

1 | INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DTN) são um grupo diverso de doenças transmissíveis que acometem pessoas mais pobres, que vivem sem o provimento de água limpa, sem saneamento e higiene adequados e, em estreito contato com vetores infecciosos e animais. Mais de um bilhão de pessoas em todo mundo são afetadas pelas DTN, principalmente em países tropicais e subtropicais, representando um enorme desafio em termos de saúde pública e para a economia dos países (VUITIKA et al., 2022).

No Brasil, o quadro de DTN é inquietante, sendo responsável por uma enorme parte dessas doenças na América Latina, com destaque para doença de Chagas, esquistossomose e leishmaniose (HOTEZ, 2014; MARTINS-MELO et al., 2016). A esquistossomose se desenvolve após o contato com larvas do parasita *Schistosoma mansoni*, que são liberadas de caramujos hospedeiros em ambientes de água doce. No Brasil existem três espécies de moluscos que transmitem o *S. mansoni*, sendo que a espécie *Biomphalaria glabrata* destaca-se como o principal hospedeiro intermediário.

Dados revelam que mais de 1,5 milhões de pessoas vivem em áreas de risco em praticamente todos os estados do Brasil, sendo que nas últimas duas décadas foram registradas mais de 10 mil mortes provocadas pela doença (BRASIL, 2018). Já a leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania* que é prevalente em 88 países de quatro continentes, apresentando registros de infecção anual em mais de 1 milhão de casos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018; MENDOZA-ROLDAN et al., 2022).

As opções terapêuticas disponíveis para as diversas DTN são limitadas, insuficientes e apresentam uma série de problemas, tais como baixa eficácia, elevada toxicidade e a emergência de cepas resistentes (DIAS et al., 2013). Este panorama ainda é agravado pela falta de investimentos no desenvolvimento de terapias melhoradas, tendo em vista que o retorno sobre o investimento é baixo e não garantido (TROUILLER et al., 2001), o que reflete em número reduzido de medicamentos desenvolvidos nas últimas décadas (NWAKA et al., 2009).

Atualmente o tratamento da esquistossomose é baseado em um único fármaco, o praziquantel, um composto desenvolvido há mais de 30 anos (FRIEDMAN et al., 2018; ZANOLLA et al., 2018), que apresenta diversos efeitos colaterais (STELMA et al., 1995; CIOLI; PICA-MATTOCCIA, 2003). Já o tratamento da leishmaniose pode ser realizado utilizando-se antimoniais pentavalentes, e, no caso de cepas resistentes, a Anfotericina B e a Pentamidina. No entanto, esses fármacos apresentam elevada toxicidade, grande

número de efeitos adversos e alto custo, levando pacientes a desistirem do tratamento (BRASIL, 2018).

Frente à necessidade de encontrar novos fármacos que sejam mais eficazes, mais baratos e seguros, diversas estratégias de descoberta de compostos vêm sendo utilizadas, como a utilização de plantas medicinais, as quais possuem uma diversidade estrutural necessária para servirem de modelo para novas moléculas bioativas (ANNANG et al., 2015).

Conhecida popularmente no Brasil como camapú, *Physalis angulata* Linn. é uma planta medicinal da família *Solanaceae*, com ampla adaptação ecológica e distribuição em regiões tropicais e temperadas do mundo (BASTOS et al., 2006; AM; NIDAVANI, 2014). É conhecida por suas propriedades etnofarmacológicas, tendo sido usada na medicina tradicional ao redor do mundo como analgésico (BASTOS et al., 2006), sedativo (AGRA et al., 2007), antirreumático (LAWAL et al., 2010), anti-diurético (NANUMALA et al., 2012), anti-inflamatório (COELHO-FERREIRA, 2009), antimalárico e antiasmático (RUIZ et al., 2010), entre outras. Desta planta já foram caracterizados inúmeros compostos químicos, incluindo diterpenos, ésteres, flavonoides, ceramidas e vitaesteroides, os quais são responsáveis por comprovadas atividades biológicas (TOMASSINI et al., 2000; LICODIEDOFF; KOSLOWSKI; RIBANI, 2013; ZHANG; TONG, 2014). Entre os vitaesteroides, as fisalinas são os compostos ativos mais encontrados em *P. angulata* (ZHANG; TONG, 2014).

Diante da sua importância medicinal, trabalhos envolvendo espécies do gênero *Physalis* tem sido alvo de pesquisas em propagação (AZLAN et al., 2005; RAMADAN, 2011; RAMAR; AYYADURAI; ARULPRAKASH, 2014) e, neste aspecto, técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro* têm se mostrado promissoras com a finalidade de produzir compostos de interesse em aplicações biotecnológicas. Na cultura de tecidos vegetais *in vitro* é possível realizar o tratamento com elicitores, como a luz, a qual é considerada como gatilho e modulador de complexos mecanismos de desenvolvimento e regulação da planta, promovendo modificações na produção de metabólitos secundários (TOBIN; SILVERTHORNE, 1985; ZAVALA; RAVETTA, 2001; ZORATTI et al., 2014), o que abre perspectivas para a micropropagação e o estudo do efeito sobre os explantes *in vitro* (HUGHES, 1981; TAKEUI et al., 2017).

Dependendo da qualidade, intensidade e duração (fotoperíodo) da luz utilizada, respostas específicas são desencadeadas em plantas micropropagadas (KAMI et al., 2010; HIGUCHI; HISAMATSU, 2016), as quais podem influenciar a fotossíntese, morfogênese e processos fisiológicos (HAHN; KOZAI; PAK, 2000; LIN et al., 2013). Lâmpadas com diferentes comprimentos de onda (<400 ultravioleta; 400 a 450 violeta; 450 a 500 azul; 500-570 verde; 570-590 amarelo; 590-610 laranja / âmbar; 610 a 760 nm vermelho), podem ser usadas para otimizar respostas específicas em cultura de tecidos (SINGH et al., 2015).

Diversos estudos mostram o impacto da luz no crescimento e produção de compostos. Em trabalhos com plantas de *Lactuca sativa*, a luz azul favoreceu maiores

concentrações no teor de carotenoides, polifenóis e antioxidantes totais (JOHKAN et al., 2010), e o mesmo ocorrendo em plantas de *Pisum sativum* (WU et al., 2007). Ademais, o teor de teor de clorofila foi aumentado em *Vaccinium myrtillus* e *Doritaenopsis* (SHIN et al., 2008; HUNG et al., 2016), bem como foi favorecido a biossíntese de fenilpropanoide, flavonoides, flavona, flavonol e ácido jasmônico em plantas de *Picea abies* (OUYANG et al., 2015).

Outros estudos (LIN et al., 2013; HERNÁNDEZ; KUBOTA, 2014; PEDROSO et al., 2017) mostram que a luz azul e vermelha promovem maior crescimento das plantas devido os espectros de ação ter o máximo de absorção nestes comprimentos de onda. No entanto, faixas espectrais entre 520-610 nm (luzes verde, amarela e laranja) possuem menor influência no crescimento vegetativo e na fotossíntese das plantas (SINGH et al., 2015).

Os efeitos da qualidade de luz em espécies micropropagadas tem chamado a atenção de pesquisadores na busca de melhoria nos aspectos morfogênicos e fisiológicos de plantas cultivadas *in vitro*, trazendo novas perspectivas para a produção e compostos com aplicações biotecnológicas (BATISTA et al., 2018). Considerando que as DTN ainda representam um enorme desafio para a saúde pública de diversos países, e a busca por novos compostos mais seguros e eficazes, objetivou-se com esse trabalho avaliar o potencial antiparasitário de plantas de extratos de *P. angulata* cultivadas *in vitro* sob diferentes qualidades de luz, com vistas a exploração do potencial biotecnológico da espécie.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção do material vegetal e condições de cultivo *in vitro*

As mudas *in vitro* foram estabelecidas a partir de sementes de *P. angulata* no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, campus de Rio Verde, estado de Goiás, Brasil. As sementes foram coletadas de frutos maduros de mudas cultivadas em viveiro do Instituto. Em câmara de fluxo laminar os frutos foram lavados por três vezes com água destilada e autoclavada. Para a extração das sementes, os frutos foram cortados ao meio com auxílio de pinça e bisturi, sendo que 30 sementes inoculadas em frascos contendo 40 mL de meio de cultivo. Os frascos contendo um explante cada, foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16/8 horas, com temperatura de 25°C, sob lâmpadas fluorescentes brancas, tipo luz do dia, com irradiância de 40 a 55 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Após trinta dias, as plântulas estabelecidas *in vitro* obtidas foram repicadas, utilizando-se explantes da espécie oriundos da multiplicação (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

2.2 Condições Experimentais

As plântulas foram subcultivadas e crescidas em condições de cultura idênticas

durante 7 dias para se estabelecerem e posteriormente foram transferidas para ambientes iluminados com diferentes lâmpadas coloridas, que tiveram a composição espectral dividida nas classes: luz branca (300-750 nm), azul (400-490 nm), verde (490-560 nm), vermelha (600-700 nm) e luz amarela (560-590 nm), usando lâmpadas fluorescentes Taschibra® de 40 W (Indaial, Santa Catarina, Brasil) com uma irradiação de $50 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sob fotoperíodo de 16 h. A qualidade espectral foi determinada usando um espectroradiômetro USB2000 (Ocean Optics, Dunedin, FL, EUA), e a intensidade da luz foi ajustada usando um sensor PAR (modelo QSO-S, Decagon Devices, Pullman, WA, EUA). As mudas foram mantidas desta maneira por 30 dias. As câmaras de luz foram seladas com um pano preto para evitar interferências de luz.

2.3 Obtenção do extrato bruto

Após este período, as plântulas foram removidas dos frascos e imediatamente pesadas para se obter a massa fresca de cada uma. Em seguida, estas foram secas em estufa de ventilação forçada a 35 °C até atingirem massa constante, sendo posteriormente pesadas para a obtenção de massa seca.

Após o processo de estabilização e secagem, as plântulas de *P. angulata* oriundas do cultivo *in vitro* sob as diferentes qualidades de luzes foram maceradas em gral de porcelana para a obtenção de um pó seco. Das plântulas de cada qualidade de luz pesou-se 200 mg de pó seco, que logo em seguida adicionou-se 5mL de metanol grau HPLC (J. T. Baker), e levadas a ultrassom (Schuster - Santa Maria, BR) por 30 min. Estes extratos foram avaliados quanto ao potencial esquistossomicida contra *Schistosoma mansoni* e leishmanicida contra *Leishmania amazonensis*, bem como seu ensaio de citotoxicidade.

2.4 Ensaio da atividade esquistossomicida

O ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*, cepa LE (Luiz Evangelista) foi mantido pela passagem seriada em moluscos *Biomphalaria glabrata*, em camundongos Balb/c. Os ovos de *S. mansoni* presentes nas fezes de camundongos previamente infectados com o parasito foram recolhidos pelo método de Hoffmann e expostos por aproximadamente 1 hora sob luz para a liberação dos miracídios, os quais foram utilizados para infectar o hospedeiro intermediário (*B. glabrata*) e, após 38 a 43 dias, liberaram a forma infectante (cercárias) do parasita. Cerca de 200 cercárias foram inoculadas nos camundongos por via subcutânea. Após aproximadamente 49 dias, os casais dos parasitas adultos foram recuperados de camundongos por perfusão do sistema porta-hepático (SMITHERS; TERRY, 1965). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as recomendações da Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade de Franca, sob protocolo CEUA nº 5199070417, aprovado em 10/05/2017.

2.5 Avaliação dos extratos em vermes adultos mantidos *in vitro*

Os vermes adultos recuperados de camundongos Balb/c via perfusão do sistema porta-hepático foram lavados em meio RPMI 1640 (Gibco, Life Technologies, Gaithesburg, EUA) tamponado com HEPES 20 μM , pH 7.5, suplementado com penicilina (100 U mL^{-1}), estreptomicina (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e 10 % de soro bovino fetal (Gibco, Life Technologies, Gaithesburg, EUA). Posteriormente, vermes adultos (um macho e uma fêmea) foi transferido por poço em uma placa de cultura de 24 poços contendo o mesmo meio descrito anteriormente e incubados em atmosfera umidificante a 37°C na presença de 5% CO_2 .

Após 24 horas de incubação, as amostras de cada qualidade de luz, previamente dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionadas ao meio RPMI 1640 nas concentrações 12.5, 25, 50, 100 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os parasitas foram incubados nas mesmas condições descritas anteriormente por 72 horas e monitorado a cada 24 horas usando um microscópio invertido (Leitz Diavert) para avaliar as condições gerais dos parasitas como a atividade motora. A motilidade dos vermes foi classificada como motilidade normal, sem motilidade (sem movimento em dois minutos de observação), motilidade diminuída (motilidade reduzida em comparação com os grupos de controle negativo), e movimento mínimo (movimento ocasional da cabeça e do corpo) (MANNECK; LLER; KEISER, 2009).

Como controle negativo foram utilizados vermes adultos mantidos em meio RPMI 1640 com o solvente das amostras (0.1% de DMSO), e como controle positivo foi utilizado vermes adultos incubados com 1.56 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de praziquantel (Sigma Aldrich), que causou a morte de 100% dos vermes após 24 horas de incubação. Foram avaliados oito vermes de parasitas por concentração.

2.6 Ensaio da atividade leishmanicida

Para a manutenção do parasito, uma concentração de 5×10^6 formas promastigotas foram inoculadas na pata traseira de camundongos Balb/c machos, e, após o surgimento da lesão (aproximadamente 60-70 dias), as patas foram removidas com auxílio de uma tesoura cirúrgica e macerados para obtenção dos parasitos. Os parasitos coletados foram mantidos *in vitro* em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de meio soro bovino fetal (SBF) e 10.000 U mL^{-1} de penicilina, 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de estreptomicina, e pH ajustado para 7.4 a 25°C em estufa BOD (Quimis). O meio de cultura foi trocado a cada dois dias, e a partir do sexto dia de cultura as formas promastigotas foram coletadas no sobrenadante. A manutenção do ciclo de *L. amazonensis* foi aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais da Universidade de Franca, sob protocolo CEUA nº 046/15.

2.7 Triagem *in vitro* da atividade leishmanicida

Inicialmente foi realizada uma triagem dos extratos nas diferentes qualidades de luzes na concentração de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*. As culturas das formas promastigotas de *L. amazonensis* foram mantidas como descritas

anteriormente por 6 dias (início da fase estacionária) e cerca de 1×10^6 parasitos foram cultivados em placas de 96 poços contendo o mesmo meio. Os extratos vegetais das qualidades de luzes foram previamente dissolvidos em DMSO (Synth) e adicionados nas culturas em uma concentração final de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

As culturas foram incubadas a 25°C em estufa BOD (Quimis) por 24 horas e as atividades leishmanicida dos extratos foram determinados pela inibição do crescimento das formas promastigotas pela contagem em câmara de Neubauer (Global Glass) do número total de promastigotas vivas, levando-se em consideração a motilidade flagelar em microscópio óptico. Como controle negativo foi utilizado meio RPMI 1640 contendo 0.1 % de DMSO (Synth), e como controle positivo foi utilizado Anfotericina B (Eurofarma – São Paulo, Brasil) na concentração de $12.5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos como a média da porcentagem de inibição do crescimento em relação ao controle negativo (0.1% DMSO). Foram realizados três experimentos independentes em triplicata. Os extratos que apresentaram inibição do crescimento maior que 60% foram selecionados para a determinação dos valores de concentração inibitória 50% (CI_{50}).

2.8 Atividade leishmanicida dos extratos mais ativos contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* e determinação dos valores de concentração inibitória 50%

Após a realização da triagem inicial, foram selecionados os extratos cultivados sob as luzes vermelha e verde para a continuação dos testes sobre *L. amazonensis*, por terem apresentado porcentagem de inibição do crescimento maior que 60% em um ou ambos os períodos testados. As culturas das formas promastigotas de *L. amazonensis* foram mantidas como descritas no item anterior por 6 dias (início da fase estacionária) e cerca de 1×10^6 parasitos foram plaqueados em placas de 96 poços contendo meio RPMI 1640 suplementado com 10% de SBF e 1% de antibiótico (Penicilina $10.000 \text{ UI mL}^{-1}$ e Estreptomicina $10.000 \text{ mg mL}^{-1}$). Os extratos foram previamente solubilizados em DMSO e adicionados nas culturas nas concentrações de 6.25 a $100 \mu\text{M}$ e Anfotericina B no range de 0.19 a $3.12 \mu\text{M}$.

As culturas foram incubadas a 25°C em estufa BOD (Quimis) por 24 e 48 horas e a atividade leishmanicida dos extratos foi determinada pela inibição do crescimento das formas promastigotas pela contagem em câmara de Neubauer do número total de promastigotas vivas, levando-se em consideração a motilidade flagelar em microscópio óptico.

Como controle negativo foi utilizado meio RPMI 1640 contendo 0.1 % de DMSO e como controle positivo foi utilizado Anfotericina B na concentração de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata. Os valores de CI_{50} foram determinados por meio de curvas de regressão não-linear utilizando o software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad software, San Diego, USA).

2.9 Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

A citotoxicidade foi medida utilizando a toxicologia *in vitro*, avaliada com o uso do kit colorimétrico XTT (2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2-H-tetrazolium-5-carboxanilide) de acordo com as instruções do fabricante (Roche Diagnostics). A redução de XTT ocorre extracelularmente na superfície da membrana do plasma por meio de transporte de elétrons transmembranar (BERRIDGE; HERST; TAN, 2005). A técnica de XTT é um ensaio quantitativo para determinar a interrupção de uma função bioquímica crítica. Este ensaio quantifica a atividade mitocondrial, medindo-se a formação de cristais de formazan, produto formado pela redução do sal XTT (MOSMANN, 1983).

Para a avaliação da atividade citotóxica utilizou-se metodologia descrita por Silva et al. (2016). Cerca de 1×10^4 de células normais de fibroblastos de pulmão humano (linhagem celular GM07492A) foram semeadas em microplacas de 96 poços, contendo cada poço 100 μL de meio de cultura HAM F10/DMEN (Sigma Aldrich), suplementado com 10% de soro bovino fetal. As concentrações avaliadas para as amostras variaram de 19.5 a 2500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O controle negativo (sem tratamento), solvente (0.02% DMSO) e controle positivo (25% DMSO) também foram incluídos na placa.

Após incubação a 36.5°C por 24 horas, o meio foi removido e as células foram lavadas com 100 μL de tampão fosfato salino (PBS) e exposto a 100 μL de meio HAM F10 sem vermelho de fenol. Em seguida, 25 μL de XTT foi adicionado a cada poço (plaqueados) e incubados a 36.5°C por 17 horas. As absorbâncias de cada poço foram determinadas por leitor de microplacas em comprimento de 450 nm e referência de 620 nm, usando um leitor de Elisa (Tecan-SW Magellan versão 5.03 STD 2P).

A viabilidade celular foi expressa em % de células não tratada, que serviu de grupo controle negativo, a qual foi designado como 100%. Desta forma os resultados foram expressos em % de controle negativo.

A citotoxicidade foi avaliada usando o parâmetro de resposta CI_{50} , traçando a sobrevivência das células contra as respectivas concentrações dos tratamentos. Os experimentos foram realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPrism versão 5.0.

3 | RESULTADOS

3.1 Atividade esquistossomicida *in vitro*

O potencial esquistossomicida dos extratos brutos de *P. angulata* oriundos do cultivo *in vitro* sob as diferentes qualidades de luzes foi avaliado *in vitro* frente aos vermes adultos de *S. Mansoni*, em comparação com o praziquantel como controle positivo. De acordo com a tabela 1, 100% dos pares de vermes adultos de *S. mansoni* incubados com extrato de *P. angulata* cultivada sob luz branca mostrou motilidade normal em 24, 48 e 72 horas

de incubação nas concentrações avaliadas. O extrato de *P. angulata* cultivada sob luz verde e amarela mostraram a motilidade diminuída de 25% com 48 horas de incubação na concentração 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e às 72 horas de incubação na concentração 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

a												
b												
Amostra	Motilidade normal ^b (%)			Sem motilidade ^b (%)			Motilidade diminuída ^b (%)			Motilidade mínima ^b (%)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
	Horas			Horas			Horas			Horas		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
Controle ^c	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DMSO ^d	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PZQ ^e	0	0	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0
Extrato Luz Branca^f												
12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
200 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Extrato Luz Verde^f												
12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	75	100	0	0	0	0	25	0	0	0	0
200 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Extrato Luz Amarela^f												
12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
200 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	75	0	0	0	0	0	25	0	0	0
Extrato Luz Azul^f												
12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	0	0	0	50	0	0	0	0	0	50
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	75	0	0	25	0	0	0	0	0	0
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	50	0	0	50	0	0	0	0	0	0
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	50	0	0	50	0	0	0	0	0	0

200 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0
Extrato Luz Vermelha ^f												
12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	25	0	0	75	0	0	0	0	0	0
25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	100	75	0	0	0	0	0	25	0	0	0
50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100	50	25	0	25	75	0	25	0	0	0	0
100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	75	75	75	0	25	25	25	0	0	0	0	0
200 $\mu\text{g mL}^{-1}$	75	100	50	25	0	50	0	0	0	0	0	0

^a % em relação a 8 pares de vermes adultos

^b Motilidade dos vermes, classificada como motilidade normal, sem motilidade (sem movimento em dois minutos de observação), motilidade diminuída (motilidade reduzida em comparação com os grupos de controlo negativo), e movimento mínimo (movimento ocasional da cabeça e do corpo).

^c Parasita em meio RPMI 1640.

^d Parasita em meio RPMI 1640 mais 0.1% de DMSO.

^e Parasita incubado com PZQ (praziquantel) (1.56 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

^f Parasita incubado com extratos de *P. angulata* cultivada sob diferentes luzes.

Tabela 1 – Efeito de extratos de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes na motilidade de pares de verme adulto de *S. mansoni*.

Os melhores resultados foram apresentados pelo extrato de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha, que apresentou 75% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e pelo extrato de *P. angulata* cultivada sob luz azul, o qual apresentou 100% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2 Atividade leishmanicida *in vitro*

Levando em consideração que a forma promastigota tem sido utilizada em vários estudos na análise preliminar de extratos vegetais com atividade leishmanicida, no presente trabalho, a atividade leishmanicida contra *L. amazonensis* dos extratos de *P. angulata* cultivada sob as luzes branca, azul, verde, vermelha e amarela foram avaliados em termos de inibição do crescimento após incubação por 24 horas a 25°C. O extrato de *P. angulata* cultivada sob luz verde na concentração de 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ reduziu a viabilidade de células promastigotas de *L. amazonensis* em 73.56%, seguido do tratamento com o extrato de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha (66.8%) (Figura 1).

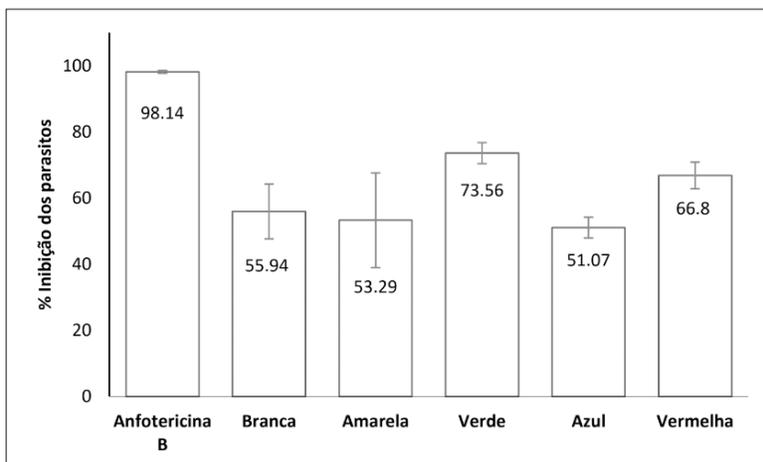


Figura 1 – Viabilidade de células (%) promastigotas de *L. amazonensis* após 24 horas de incubação com extratos de plântulas de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes (Branca, Amarela, Verde, Azul e Vermelha).

Resultados provenientes de três experimentos independentes realizados em triplicata (resultados expressos como média da porcentagem \pm desvio padrão, em relação ao controle positivo (Anfotericina B - 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e em relação ao controle negativo (0.1% DMSO).

Na tabela 2 são mostrados os valores de CI_{50} para os extratos que apresentaram inibição do crescimento maior que 60%.

Amostra	Concentrações (μg) \pm Desvio Padrão					CI_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
	100	50	25	12,5	6,25	
Luz Verde	99,49 \pm 0,87	61,87 \pm 1,31	27,12 \pm 0,93	22,27 \pm 1,64	7,89 \pm 0,48	17,72 (14,99-20,79)
Luz Vermelha	87,98 \pm 0,67	74,05 \pm 1,69	58,31 \pm 0,59	18,27 \pm 1,52	4,79 \pm 1,62	12,38 (11,14-13,79)
	0,19	0,095	0,047	0,023	0,011	
Anfotericina B	99,88 \pm 0,6	78,33 \pm 24,43	68,74 \pm 21,97	54,67 \pm 17,77	42,44 \pm 20,97	0,011 (0,0058 - 0,019)

Tabela 2 – Atividade leishmanicida *in vitro* de extratos de *P. angulata* cultivadas sob as luzes verde e vermelha contra formas promastigotas de *L. amazonensis* e determinação dos valores de concentração inibitória de 50% após 24 horas de incubação.

Controle Positivo: Anfotericina B 1 $\mu\text{g/mL}$

Controle Negativo: Meio RPMI + 0,1% DMSO

Os valores de CI_{50} dos extratos metanólicos de *P. angulata* oriundos do cultivo sob as luzes verde e vermelha foi de 17.72 e 12.38 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*.

3.3 Ensaio citotoxicidade

Os extratos metanólicos de *P. angulata* oriundas do cultivo sob as luzes branca, verde, amarela, azul e vermelha tiveram suas atividades citotóxicas avaliadas *in vitro* utilizando linhagens de células normais de fibroblastos de pulmão humano (GM07492A).

A figura 2 mostra as porcentagens de viabilidade das células normais de fibroblastos de pulmão humano pelo método do XTT, onde o sal XTT é convertido em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983) e as concentrações avaliadas.

Os resultados permitem verificar que, em todos os extratos de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes, não houve dependência da viabilidade celular em função da concentração do extrato, ou seja, não foram dose-dependentes.

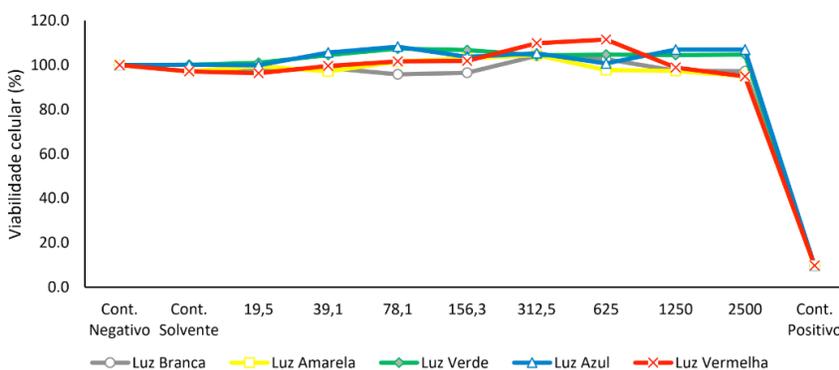


Figura 2 – Viabilidade celular de fibroblastos de pulmão de humano (GM07492A) tratadas com diferentes concentrações (19.5 a 2500 µg mL⁻¹) de extratos de plântulas de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes (Branca, Amarela, Verde, Azul e Vermelha).

Controle negativo (sem tratamento); Controle do solvente: 0.1% DMSO; Controle positivo: 25% DMSO.

Ademais, os resultados mostraram que todos os extratos de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes apresentam CI_{50} acima de 2500 µg mL⁻¹ (Tabela 3), não apresentando, portanto, efeito citotóxico frente a células normais de fibroblastos de pulmão humano (GM07492A).

Concentração	Extrato de luzes <i>P. angulata</i>				
	Branca	Amarela	Verde	Azul	Vermelha
CI_{50} µg mL ⁻¹	> 2500	> 2500	> 2500	> 2500	> 2500

Tabela 3 – Avaliação de CI_{50} dos extratos de *P. angulata* cultivadas sob diferentes qualidades de luzes, realizado por meio do ensaio de XTT com células normais de fibroblastos de pulmão humano (GM07492A).

4 | DISCUSSÃO

A busca por plantas medicinais e compostos ativos podem abrem novas perspectivas no desenvolvimento de terapias medicamentosas frente à várias patologias. São bem descritos na literatura o uso de extratos e infusões de *P. angulata* na medicina tradicional para tratar várias enfermidades (RENGIFO-SALGADO; VARGAS-ARANA, 2013), bem como são mostrados em diferentes experimentos farmacológicos de testes *in vitro* e modelos *in vivo* as diversas atividades biológicas de seus compostos ativos (TOMASSINI et al., 2000; SANTOS et al., 2003; BASTOS et al., 2008; SUN et al., 2016). No entanto, seu potencial antiparasitário frente a leishmaniose e esquistossomose permanecia desconhecido, ou pouco investigado.

Uma das estratégias de erradicação da esquistossomose é o combate aos caramujos vetores do *S. mansoni*. Diversas plantas brasileiras vêm sendo estudadas com ação moluscicida frente a espécie *B. glabrata*, como o *Chenopodium ambrosioides* (FRANK et al., 2018), *Anadenanthera colubrina* (SÁ et al., 2017) e *Euphorbia umbellata* (PEREIRA et al., 2017). Estudos envolvendo *P. angulata* também mostram a atividade moluscicida de seus extratos, como avaliado por Santos et al. (2003) utilizando extratos etanólicos de suas raízes na concentração de 500 mg L⁻¹ frente a caramujos da espécie *B. tenagophila*; por Kamelia et al. (2006) utilizando extratos de acetato de etila das partes aéreas contra *B. alexandrina*, e, mais recentemente por Karamba (2015), o qual demonstrou que os extratos aquosos na concentração de 50 mg L⁻¹ levaram a letalidade de 100% de caramujos da espécie *Bulinus globosus*.

No presente estudo foi testado extratos de *P. angulata* frente a cercárias de *S. mansoni*, e, a partir dos resultados obtidos foi possível observar que houve significativa ausência de motilidade dos vermes adultos de *S. mansoni* incubados com extratos de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha, o qual apresentou 75% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 12.5 µg mL⁻¹, e, pelo extrato de *P. angulata* cultivada sob luz azul, apresentando 100% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 200 µg mL⁻¹. Nos trabalhos de Santos et al. (2011), utilizando *P. angulata ex vitro*, os extratos etanólicos desta espécie promoveu 100% de mortalidade de cercárias de *S. mansoni* na concentração de 100 mg L⁻¹.

Adicionalmente, na triagem de atividade leishmanicida observou-se que o extrato de *P. angulata* cultivada sob luz verde na concentração de 50 µg mL⁻¹ reduziu a viabilidade de células promastigotas de *L. amazonensis* em 73.5%, seguido do tratamento com o extrato de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha (66.8%). Ademais, estes extratos apresentaram valores de CI₅₀ de 17.72 µ mL⁻¹ e 12.38 µ mL⁻¹ para a luz verde e luz vermelha, respectivamente.

De acordo com estudo e critérios de Katsuno et al. (2015) para que uma substância seja promissora *in vitro* para leishmaniose, esta deve apresentar CI₅₀ menor que 10 µ mL⁻¹

sobre a forma intracelular de *Leishmania spp.* Desse modo, apesar do não isolamento de nenhuma substância, os extratos verde e vermelho de *P. angulata* apresentam valores de CI_{50} próximos do sugerido como promissora. Não há relatos da literatura sobre a atividade leishmanicida de extratos de *P. angulata* cultivada *in vitro* sob diferentes qualidades de luzes. No entanto, trabalhos com extratos de *P. angulata ex vitro* (DA SILVA et al., 2015b) mostram o potencial leishmanicida desta espécie, onde extratos aquosos das suas raízes, na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, promoveu a redução de 99,8% de células promastigotas de *L. amazonensis*.

A citotoxicidade foi avaliada com os extratos de *P. angulata*, frente a linhagem normal de fibroblastos de pulmão humano (GM07492A). Todos os extratos testados não apresentaram toxicidade, não obtendo CI_{50} na maior concentração avaliada ($2500 \mu\text{g mL}^{-1}$).

É bem relatado na literatura a fitoquímica de *P. angulata* por conter compostos fenólicos, flavonoides, diterpenos, vitaesteroides e fisalinas nas suas raízes e folhas (TOMASSINI et al., 2000; BASTOS et al., 2006; RENGIFO-SALGADO; VARGAS-ARANA, 2013; İZLI et al., 2014). A rutina é um flavonoide com ampla gama de propriedades terapêuticas (SHARMA et al., 2013), sendo que sua atividade moluscicida foi comprovada frente às espécies *B. alexandrina* e *Bulenus truncatus*, utilizando extratos etanólicos de *Calendula officinalis* (EL-SHEIKH et al., 2012), e a atividade leishmanicida deste flavonoide foi demonstrada em condições *in vitro* pelos extratos de *Cordia myxa* frente à *L. major* e *L. infantum*. Em estudos anteriores deste grupo de pesquisa com extratos de *P. angulata* cultivada *in vitro*, a luz azul e vermelha favoreceu o acúmulo de rutina nesta espécie, o que pode ser um indicativo da atividade esquistossomicida (DE SOUZA, 2019).

Já as fisalinas são os compostos ativos mais encontrados em *P. angulata* (ZHANG; TONG, 2014), apresentando diversas propriedades biológicas (TOMASSINI et al., 2000; CURI et al., 2017), como tripanomicida (MEIRA et al., 2015), leishmanicida (CHOUDHARY et al., 2007; GUIMARAES et al., 2009; DA SILVA et al., 2015a) e moluscicida (SANTOS et al., 2003).

A luz é um fator abiótico que influencia o desenvolvimento morfológico e fisiológico de plantas, promovendo defesa contra herbívoros, patógenos e estresse oxidativo através da regulação da biossíntese de metabólitos secundários (LEGRIS et al., 2013; BATISTA et al., 2018). Ademais, o controle da composição e qualidade de luz na produção de plântulas *in vitro* permite respostas específicas no vegetal (SÆBØ; KREKLING; APPELGREN, 1995; MACEDO et al., 2011), estando envolvida na regulação de vias biossintéticas de pigmentos, como por exemplo carotenoides, e compostos bioativos, como flavonoides e terpenoides (TAULAVUORI et al., 2017).

Na cultura *in vitro* de calos e brotos de várias espécies, as diferentes qualidades de luz fornecidas por lâmpadas fluorescentes têm sido utilizadas para estimular a fotossíntese, morfogênese e a biossíntese de compostos químicos de interesse (SZOPA; EKIER, 2016; TO;GAZOLLA et al., 2017; PEDROSO et al., 2017).

Além disso, lâmpadas com diferentes comprimentos de onda (violeta, azul, verde, amarelo e vermelho) vem sendo utilizadas para estimular vários processos fisiológicos em plantas cultivadas *in vitro* (SZOPA; EKIER, 2016; TAULAVUORI et al., 2017), sendo que esta estimulação é feita através da ativação seletiva de diferentes fotorreceptores, que induzem respostas fotomorfogênicas nas plantas (THORPE, 2003; DA SILVA et al., 2015a), as quais incluem os fitocromos que absorvem a luz vermelha, e criptocromos e fototropinas que absorvem a luz azul (HIGUCHI; HISAMATSU, 2016).

Em estudos com culturas de tecido *in vitro*, dados mostram que a fotossíntese é fortemente influenciada por luz vermelha e azul, uma vez estas são as principais fontes para a absorção de CO₂ fotossintética em plantas (OUYANG et al., 2015; MANIVANNAN et al., 2017).

Outros trabalhos trazem que a luz azul (400-500 nm) controla o fototropismo, o crescimento das folhas, crescimento do caule, concentrações de clorofila, abertura estomática e acumulação de antioxidantes. Já a luz vermelha (660 nm) é importante no desenvolvimento do complexo do fotossistema, controlando a germinação, a função do cloroplasto e o crescimento do caule e do pecíolo (SÆBØ; KREKLING; APPELGREN, 1995; GOINS et al., 1997; MOON et al., 2006; CARVALHO; FOLTA, 2017; TAKEUI et al., 2017).

Ademais, muitos estudos mostram a relação positiva das luzes azul e vermelha na produção de metabólitos secundários. A luz azul estimulou a produção de flavonoides em *Swertia chirata* (GUPTA; KARMAKAR, 2017), lignanas em *Schisandra chinensis* (SZOPA; EKIER, 2016), ácidos fenólicos em *Rehmannia glutinosa* (MANIVANNAN et al., 2015), e em *Panax ginseng* (PARK et al., 2013). Já em trabalhos com a luz vermelha, esta promoveu a produção de monoterpenos em *Achillea millefolium* (ALVARENGA et al., 2014) e ácidos fenólicos totais em *Eleutherococcus senticosus* (SHOHAEL et al., 2006).

5 | CONCLUSÕES

A avaliação esquistossomicida mostra que há significativa ausência de motilidade dos vermes adultos de *S. mansoni* incubados com extratos de *P. angulata* cultivada sob luz vermelha, o qual apresentou 75% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 12.5 µg mL⁻¹, e, pelo extrato de *P. angulata* cultivada sob luz azul, apresentando 100% de ausência de motilidade às 72 horas de incubação na concentração 200 µg mL⁻¹.

Ao observar a viabilidade de células promastigotas de *L. amazonensis*, o extrato de *P. angulata* cultivada sob luz verde na concentração de 50 µg mL⁻¹ reduziu a viabilidade em 73,5%, seguido do extrato cultivado sob luz vermelha (66.8%). Estes dados levaram a determinação do CI₅₀ destes dois extratos, obtendo-se valores de 17.72 µg mL⁻¹ e 12.38 µg mL⁻¹ para a luz verde e luz vermelha, respectivamente, caracterizando *P. angulata* cultivada

in vitro como promissor agente leishmanicida.

Na avaliação da citotoxicidade, foram utilizadas linhagens normais de fibroblastos de pulmão humano (GM07492A). Todos os extratos testados de *P. angulata* cultivado *in vitro* não apresentaram toxicidade, obtendo CI_{50} acima de $2500 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A luz é um dos mais importantes fatores ambientais que afetam a biossíntese de compostos em plantas, permitindo a relação dose-resposta positiva. Ademais, dependendo da qualidade da luz, respostas na produção de metabólitos secundários são evidentes. As luzes branca, azul, vermelha e verde apresentam diversos estudos que retratam seus potenciais biológicos.

REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.

ALVARENGA, I. C. A. et al. In vitro culture of *Achillea millefolium* L.: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 122, n. 2, p. 299–308, 7 ago. 2015.

AM, M.; NIDAVANI, R. B. *Physalis Angulata* L.: An Ethanopharmacological Review. *Indo-American J Pharm Res*, v. 4, n. 03, p. 1479–1486, 2014.

ANNANG, F. et al. High-Throughput Screening Platform for Natural Product–Based Drug Discovery Against 3 Neglected Tropical Diseases. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 20, n. 1, p. 82–91, 2015.

AZLAN, G. J. et al. Accumulation of Physalin in Cells and Tissues of *Physalis minima* L. **Acta Hort**, v. 2, n. 676, p. 53–59, 2005.

BASTOS, G. N. T. et al. Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice. **J. Ethnopharmacol**, v. 103, n. 2, p. 241–245, 2006.

BASTOS, G. N. T. et al. *Physalis angulata* extract exerts anti-inflammatory effects in rats by inhibiting different pathways. **Journal of ethnopharmacology**, v. 118, n. 2, p. 246–51, 2008.

BATISTA, D. S. et al. Light quality in plant tissue culture: does it matter? **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 54, n. 3, p. 195–215, 2018.

BRASIL. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2018.

BERRIDGE, Michael V.; HERST, Patries M.; TAN, An S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. **Biotechnology annual review**, v. 11, p. 127-152, 2005.

CARVALHO, S. D.; FOLTA, K. M. Sequential light programs shape kale (*Brassica napus*) sprout appearance and alter metabolic and nutrient content. **Horticulture Research**, v. 8, p. 1–13, 2017.

CHOUDHARY, M. I. et al. New leishmanicidal physalins from *Physalis minima*. **Natural Product Research**, v. 21, n. 10, p. 877–883, 2007

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. Praziquantel. **Parasitology Research**, v. 90, n. 1, p. S3–S9, 2003.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p. 159–175, 2009.

CURI, P. N. et al. Characterization of different native american physalis species and evaluation of their processing potential as jelly in combination with brie-type cheese. **Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 112–119, 15 maio 2017.

DA SILVA, B. J. . et al. *Physalis angulata* induces death of promastigotes and amastigotes of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* via the generation of reactive oxygen species. **Micron**, v. 82, p. 25–32, dez. 2015a.

DA SILVA, R. R. P. et al. In vitro biological action of aqueous extract from roots of *Physalis angulata* against *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 249, 24 dez. 2015b.

DE SOUZA, Herbert Cristian et al. Effects of light quality on rutin production and growth of '*Physalis angulata*' (Linn.) seedlings cultured in vitro'. **Australian Journal of Crop Science**, v. 13, n. 2, p. 251-257, 2019.

DIAS, L. C. et al. Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1552–1556, 2013.

FRANK, Henrique Oliveira et al. Atividade moluscicida do óleo essencial da Erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.) sobre o molusco do gênero *Biomphalaria*. **Universidade Federal do Espírito Santo, Ed.) XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. Anais... Alegre: 2012** Disponível em:< http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/0081_0731_02.pdf>. Acesso em, v. 12, 2018.

FRIEDMAN, J. F. et al. Praziquantel for the treatment of schistosomiasis during human pregnancy. **Bull World Health Organ**, v. 96, p. 59–65, 2018.

GAZOLLA, A. P. et al. The influence of light quality on phenolic acid and biflavonoid production in *Anacardium othonianum* Rizz. seedlings grown in vitro. **Australian Journal of Crop Science**, v. 11, n. 05, p. 528–534, 2017.

GOINS, G. D. et al. Photomorphogenesis, photosynthesis, and seed yield of wheat plants grown under red light-emitting diodes (LEDs) with and without supplemental blue lighting. **Journal of Experimental Botany**, v. 48, n. 7, p. 1407–1413, 1997.

GUIMARAES, E. T. et al. Activity of physalins purified from *Physalis angulata* in in vitro and in vivo models of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, n. 1, p. 84–87, 2009.

GUPTA, S. D.; KARMAKAR, A. Machine vision based evaluation of impact of light emitting diodes (LEDs) on shoot regeneration and the effect of spectral quality on phenolic content and antioxidant capacity in *Swertia chirata*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 174, p. 162–172, 2017.

- HAHN, E.-J.; KOZAI, T.; PAEK, K.-Y. Blue and red light-emitting diodes with or without sucrose and ventilation affect in vitro Growth of *Rehmannia glutinosa* plantlets. **Journal of Plant Biology**, v. 43, n. 4, p. 247–250, 2000.
- HERNÁNDEZ, R.; KUBOTA, C. Growth and morphological response of cucumber seedlings to supplemental red and blue photon flux ratios under varied solar daily light integrals. **Scientia Horticulturae**, v. 173, p. 92–99, 2014.
- HIGUCHI, Y.; HISAMATSU, T. Light Acts as a Signal for Regulation of Growth and Development. In: KOZAI T.; FUJIWARA K.; RUNKLE E. (Eds.). . **LED Lighting for Urban Agriculture**. Singapore: Springer Singapore, p. 57–73, 2016.
- HOTEZ, P. J. Ten Global “Hotspots” for the Neglected Tropical Diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. e2496, 2014.
- HUGHES, K. W. In vitro ecology: Exogenous factors affecting growth and morphogenesis in plant culture systems. **Environmental and Experimental Botany**, v. 21, n. 3–4, p. 281–288, 1981.
- HUNG, Cao Dinh et al. LED light for in vitro and ex vitro efficient growth of economically important highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 6, p. 1-9, 2016.
- İZLI, N. et al. Effect of different drying methods on drying characteristics, colour, total phenolic content and antioxidant capacity of Goldenberry (*Physalis peruviana* L.). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, n. 1, p. 9–17, 2014.
- JOHKAN, M. et al. Blue Light-emitting Diode Light Irradiation of Seedlings Improves Seedling Quality and Growth after Transplanting in Red Leaf Lettuce. **Hortscience**, v. 45, n. 12, p. 1809–1814, 2010.
- KAMELIA, E.-S.; BAYOUMI, M. M.; AHMED, S. E.-D. Effect of exposure of *Biomphalaria alexandrina* snails to various extracts of *Physalis angulata* on their survival and subsequent infection with *Schistosoma mansoni*. **Journal of Union of Arab Biologists Cairo a Zoology**, v. 26, n. A, p. 52–64, 2006.
- KAMI, C. et al. Light-Regulated Plant Growth and Development. **Current Topics in Developmental Biology**, v. 91, p. 29–66, 2010.
- KARAMBA, H. **Molluscicidal Effect of Cassia Occidental and Physalis Anguilata Leaf Extract in the Elimination of Water Snail. 2nd Int’l Conference on Advances in Environment, Agriculture & Medical Sciences** . Anais...Turkey: 2015Disponível em: <<http://iaast.org/upload/9961A0615025.pdf>>. Acesso em: 5 maio. 2018
- LAWAL, I. O. et al. Ethno medicinal information on collation and identification of some medicinal plants in Research Institutes of South-west Nigeria. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 1–7, 2010.
- LEGRIS, Martina et al. Perception and signalling of light and temperature cues in plants. **The Plant Journal**, v. 90, n. 4, p. 683-697, 2017.
- LICODIEDOFF, S.; KOSLOWSKI, L. A. D.; RIBANI, R. H. Flavonols and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. fruit at two maturity stages. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 35, n. 2, p. 393–399, 2013.

- LIN, K.-H. et al. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata). **Scientia Horticulturae**, v. 150, p. 86–91, 2013.
- MACEDO, Andrea Furtado et al. The effect of light quality on leaf production and development of in vitro-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. **Environmental and experimental botany**, v. 70, n. 1, p. 43-50, 2011.
- MANIVANNAN, A. et al. Blue and red light-emitting diodes improve the growth and physiology of in vitro-grown carnations ‘Green Beauty’ and ‘Purple Beauty’. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v. 58, n. 1, p. 12–20, 2017.
- MANIVANNAN, A. et al. Blue LED light enhances growth, phytochemical contents, and antioxidant enzyme activities of *Rehmannia glutinosa* cultured in vitro. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 56, n. 1, p. 105–113, 2015.
- MANNECK, T.; LLER, Y. H.; KEISER, J. Morphological effects and tegumental alterations induced by mefloquine on schistosomula and adult flukes of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology**, v. 137, p. 85–98, 2009.
- MARTINS-MELO, F. R. et al. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil, 2000–2011. **Bull World Health Organ**, v. 94, p. 103–110, 2016.
- MEIRA, C. S. et al. In vitro and in vivo antiparasitic activity of *Physalis angulata* L. concentrated ethanolic extract against *Trypanosoma cruzi*. **Phytomedicine**, v. 22, n. 11, p. 969–974, 2015.
- MENDOZA-ROLDAN, Jairo Alfonso et al. *Leishmania tarentolae*: A new frontier in the epidemiology and control of the leishmaniasis. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 5, p. e1326-e1337, 2022.
- MOON, H. K. et al. Growth of *Tsuru-rindo* (*Tripterospermum japonicum*) cultured in vitro under various sources of light-emitting diode (LED) irradiation. **Journal of Plant Biology**, v. 49, n. 2, p. 174–179, abr. 2006
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.
- NANUMALA, S. K. et al. Evaluations of diuretic activity of methanolic extract of *Physalis angulata* L. leaves. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 16, p. 40–42, 2012.
- NWAKA, S. et al. Advancing Drug Innovation for Neglected Diseases—Criteria for Lead Progression. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 8, p. e440, 2009.
- OUYANG, F. et al. Transcriptome Analysis Reveals that Red and Blue Light Regulate Growth and Phytohormone Metabolism in Norway Spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. **Plos One**, v. 10, n. 8, p. 1–19, 2015.

- PARK, S.-Y. et al. Metabolite Profiling Approach for Assessing the Effects of Colored Light-Emitting Diode Lighting on the Adventitious Roots of Ginseng (*Panax Ginseng* C. A. Mayer). **Plant Omics**, v. 6, p. 224–230, 2013.
- PEDROSO, R. C. N. et al. Impact of light quality on flavonoid production and growth of *Hyptis marrubioides* seedlings cultivated *in vitro*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 466–470, 2017.
- PEREIRA, L. P. L. A. et al. Molluscicidal effect of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns latex on *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* host snail. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, n. 0, p. 1–5, 2017.
- RAMADAN, M. F. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1830–1836, 2011.
- RAMAR, K.; AYYADURAI, V.; ARULPRAKASH, T. In Vitro Shoot Multiplication and Plant Regeneration of *Physalis peruviana* L. An Important Medicinal Plant. **Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci**, v. 3, n. 3, p. 456–464, 2014.
- RENGIFO-SALGADO, E.; VARGAS-ARANA, G. *Physalis angulata* L. (Bolsa mullaca): A Review of Its Traditional Uses, Chemistry and Pharmacology. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, v. 12, n. 5, p. 431–445, 2013.
- RUIZ, L. et al. Plants used by native Amazonian groups from the Nanay River (Peru) for the treatment of malaria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 917–921, 2010.
- SÁ, J. et al. **Avaliação da atividade moluscicida do extrato de *Anadenanthera colubrina* sobre caramujos adultos e embriões da espécie *Biomphalaria glabrata*. Blucher Biophysics Proceedings**. Anais...Recife : 2017Disponível em: <<http://pdf.blucher.com.br/s3-sa-east.1.amazonaws.com/biophysicsproceedings/biofisica2017/009.pdf>>. Acesso em: 12 maio. 2018
- SÆBØ, A.; KREKLING, T.; APPELGREN, M. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 41, n. 2, p. 177–185, 1995.
- SANTOS, J. A. A. DOS et al. Molluscicidal activity of *Physalis angulata* L. extracts and fractions on *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) under laboratory conditions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 3, p. 425–428, 2003.
- SANTOS, T. T. DOS; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 32, n. 2, p. 199–212, 2011.
- SHARMA, S. et al. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 22, n. 8, p. 1063–1079, 2013.
- SHIN, K. S. et al. The effect of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured *Doritaenopsis* plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 3, p. 339–343, 2008.
- SHOHAEL, A. M. et al. Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 5, p. 1179–1185, 2006.

- SINGH, D. et al. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 139–147, 2015
- SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. **Parasitology**, v. 55, n. 4, p. 695-700, 1965.
- STELMA, F. F. et al. Efficacy and Side Effects of Praziquantel in an Epidemic Focus of *Schistosoma mansoni*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 2, p. 167–170, 1995.
- SUN, C. P. et al. Antiproliferative and Anti-inflammatory Withanolides from *Physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 6, p. 1586–1597, 2016.
- SZOPA, A.; EKIERT, H. The importance of applied light quality on the production of lignans and phenolic acids in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. cultures in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 127, n. 1, p. 115–121, 2016.
- TAKEUI, B. et al. In vitro culture of heliconia in different light sources. **Plant Cell Cult. Micropropag.**, v. 12, n. 2, p. 39–45, 2017.
- TAULAVUORI, E. et al. Targeted use of LEDs in improvement of production efficiency through phytochemical enrichment. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 15, p. 5059–5064, 2017.
- TOBIN, E. M.; SILVERTHORNE, J. LIGHT REGULATION OF GENE EXPRESSION IN HIGHER PLANTS. **Ann. Rev. Plant Physiol**, v. 36, p. 569–93, 1985.
- TOMASSINI, T. C. B. et al. Genus *Physalis* – a revision of withasteroids. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 47–57, 2000
- TROUILLER, P. et al. Drugs for neglected diseases: A failure of the market and a public health failure? **Tropical Medicine and International Health**, v. 6, n. 11, p. 945–951, 2001
- VUITIKA, Larissa et al. Vaccines against emerging and neglected infectious diseases: an overview. **Vaccines**, v. 10, n. 9, p. 1385, 2022.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 1 maio. 2018.
- ZANOLLA, D. et al. Milling and comilling Praziquantel at cryogenic and room temperatures: Assessment of the process-induced effects on drug properties. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 153, p. 82–89, 2018.
- ZAVALA, J. A.; RAVETTA, D. A. Allocation of photoassimilates to biomass, resin and carbohydrates in *Grindelia chiloensis* as affected by light intensity. **Field Crops Research**, v. 69, n. 2, p. 143–149, 2001.
- ZHANG, W.-N.; TONG, W.-Y. Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Physalis*. **Chem. Biodiversity**, v. 13, n. 48, p. 4–65, 2016. ZORATTI, L. et al. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. October, p. 1–16, 2014.

CAPÍTULO 7

IMPORTÂNCIA DO PROFISSIONAL DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PARA A PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DO BRASIL

Data de aceite: 02/01/2023

Larissa Batista Pereira

Ciências Biológicas – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Lucas Santos de Sousa

Ciências Biológicas – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Joselita Brandão de Sant’Anna

Biomedicina – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Raphael da Silva Affonso

Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Larissa Leite Barbosa

Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

Eleuza Rodrigues Machado

Biomedicina - Enfermagem - Farmácia – Faculdade Anhanguera de Brasília (FAB) – Unidade Taguatinga Shopping – QS 1-40 – Taguatinga Sul, Distrito Federal

RESUMO: Diante do contraste entre riqueza natural e a instável conjuntura ambiental do Brasil, determinou-se como necessária a confecção desta obra, cujo **objetivo** foi dissertar sobre a importância do profissional de Ciências Biológicas na preservação ecossistêmica do país. Na revisão bibliográfica foi adotada como **metodologia** as fontes: livros, artigos, monografias, dissertações de mestrado e doutorado, sites, etc., obtidas das plataformas de pesquisa online: Google, Google Acadêmico e SciELO. As palavras-chave utilizadas foram: História da Biologia; Preservação ambiental; Degradação ambiental; Educação ambiental. Trabalhos redigidos em português e inglês foram selecionados consoante a pertinência e veracidade das informações em relação à temática. As obras publicadas entre os anos 2000 e 2022 foram priorizadas. O objetivo primário foi subdividido em: **3.1.** apontar as

principais formas de degradação ambiental que ocorrem no Brasil; **3.2.** discorrer sobre a relevância do Biólogo no controle de atividades potencialmente poluidoras e utilizadoras de recursos ambientais; **3.3.** abordar a educação ambiental como instrumento de preservação do meio ambiente. **Conclusão:** Todos os cidadãos partilham dos direitos e deveres de manter e usufruir de um ecossistema ecologicamente equilibrado, por meio da prática do desenvolvimento sustentável, visando garantir a satisfação das necessidades presentes, sem comprometer as demandas das gerações futuras, além de fomentar a formação de novos biólogos e o aprimoramento daqueles que estão em exercício, para estimular a valorização das Ciências Biológicas e a consolidação da educação ambiental, em todos os âmbitos da sociedade, de modo que a área seja percebida como indispensável à integridade da biosfera e à perpetuação das espécies.

PALAVRAS-CHAVE: História da Biologia; Preservação ambiental; Degradação ambiental; Educação ambiental.

ABSTRACT: In view of the contrast between the natural wealth and the unstable environmental situation in which Brazil finds itself, it was determined to be necessary to write this work, whose **objective** was to discuss the importance of the Biological Sciences professional in the preservation of the country's ecosystems. To this end, a bibliographic review was adopted as the **methodology**. The sources: books, articles, monographs, master's and doctorate dissertations, websites, etc. were obtained through the online research platforms Google, Google Scholar and SciELO. The keywords used were: History of Biology; Environmental preservation; Environmental degradation; Environmental education. Works written in Portuguese and English were selected according to the relevance and veracity of their information in relation to the theme of this study. Works published between the years 2000 and 2022 were prioritized. The primary objective was subdivided into: **3.1.** to point out the main forms of environmental degradation occurring in Brazil; **3.2.** to discuss the relevance of the Biologist in the control of potentially polluting activities and users of environmental resources; **3.3.** to approach environmental education as a tool for environmental preservation. In **conclusion**, all citizens share the rights and duties of maintaining and enjoying an ecologically balanced ecosystem, through the practice of sustainable development, which aims to ensure the satisfaction of present needs without compromising the demands of future generations. Finally, besides encouraging the training of new biologists and the improvement of those who are already working, it is fundamental to stimulate the valorization of Biological Sciences and the consolidation of environmental education, in all spheres of society, so that the area is perceived as indispensable to the integrity of the biosphere and the perpetuation of species.

KEYWORDS: History of Biology; Environmental preservation; Environmental degradation; Environmental education.

INTRODUÇÃO

Em termos de variabilidade biológica, o Brasil é substancialmente abastado, comportando 20% de toda a biodiversidade disponível no mundo. A localização no globo e a extensão geográfica do país (8,5 milhões de km²) promovem a formação de diversos climas,

que, no que lhe concerne, são responsáveis pela constituição de zonas biogeográficas com características ambientais bem definidas, com fatores bióticos e abióticos próprios. As zonas, também conhecidas como biomas, são divididas em seis, por ordem de dimensão territorial: Amazônia (4.196.943 km²), Cerrado (2.036.448 km²), Mata Atlântica (1.110.182 km²), Caatinga (844.453 km²), Pampa (176.496 km²) e Pantanal (150.355 km²) (IBGE, 2022).

Em 1981, foi implementada a Lei n.º 6.938, que dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente (PNMA), um conjunto de diretrizes destinadas à garantia da preservação, melhoria e recuperação da qualidade ambiental de todos os biomas, promovendo a conciliação entre o desenvolvimento socioeconômico e o equilíbrio dos sistemas naturais. Para tal, como parte da PNMA, criou-se o Sistema Nacional do Meio Ambiente (SISNAMA), estruturado por órgãos federais, estaduais, distritais e municipais encarregados de monitorar e controlar a qualidade ambiental, conforme as suas respectivas competências. Nesse sentido, em teoria, o território brasileiro é resguardado por normas que protegem os componentes de sua biodiversidade (BRASIL, 1981).

Entretanto, na prática, o Brasil ainda enfrenta obstáculos no que tange o bem-estar natural. A título de exemplo, segundo a portaria n.º 148 do Ministério do Meio Ambiente (MMA), publicada em 7 de junho de 2022, 1.249 espécies da fauna estão ameaçadas de extinção. Quanto à flora, conforme dados coletados pelo Sistema de Alerta de Desmatamento (SAD) e publicados pelo Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia (Imazon), entre agosto de 2021 e julho de 2022, cerca de 10.781 km² de cobertura vegetal da Amazônia foram desmatados (AMORIM *et al.*, 2022; MMA, 2022).

Diante do cenário ambiental nacional, a atuação dos profissionais de Ciências Biológicas é indispensável, especialmente aqueles envolvidos na repressão direta de atividades potencial ou efetivamente degradadoras. Atualmente, o Conselho Federal de Biologia (CFBio) afirma que existem cerca de 80 mil biólogos em atividade no Brasil, onde a densidade demográfica chega a 25 habitantes por km², equivalente a 215 milhões de pessoas. Observa-se, portanto, uma notável discrepância entre a quantidade de habitantes e a de biólogos, o que, em um território de proporções continentais, pode comprometer a eficiência das entidades de proteção ambiental, sobretudo as que operam na esfera Federal, como o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), que passa por uma progressiva carência de servidores (CFBio, 2015; MARQUES, 2015; IBGE, 2022).

OBJETIVO

O objetivo que motivou a construção desta obra foi dissertar acerca da importância do profissional de Ciências Biológicas para a preservação ambiental do Brasil.

METODOLOGIA

Em face do abrangente arcabouço científico compatível com a proposta desta pesquisa, a revisão bibliográfica foi adotada como metodologia. As fontes: livros, artigos, monografias, dissertações de mestrado e doutorado, *sites*, etc., foram obtidas, usando as plataformas de pesquisa *online*: Google, Google Acadêmico e SciELO. As palavras-chave utilizadas foram: História da Biologia; Preservação ambiental; Degradação ambiental; Educação ambiental (EA). Trabalhos redigidos em português e inglês foram selecionados consoante a pertinência e veracidade de suas informações em relação à temática do estudo. As obras publicadas entre os anos 2000 e 2022 foram priorizadas.

Assim, o objetivo primário foi subdividido em tópicos: **3.1.** apontar as principais formas de degradação ambiental ocorrentes no Brasil; **3.2.** discorrer sobre a relevância do Biólogo no controle de atividades potencialmente poluidoras e utilizadoras de recursos ambientais; **3.3.** abordar a EA como instrumento do meio ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Degradação ambiental no Brasil

No Brasil, dentre as diversas formas de degradação dos ecossistemas, a que mais se destaca é a remoção da cobertura vegetal natural. A principal causa do desmatamento desenfreado é o avanço da agropecuária, que, para elevar os níveis de produção de alimentos, expande os seus territórios de cultivo de monoculturas e pastagens destinadas ao gado. Considerando a Amazônia como exemplo, em um intervalo de 18 anos (2000 a 2018), cerca de 8% da sua vegetação foi removida, em função da instalação de áreas de pasto. No mesmo bioma, até 2020, 730 mil km² foram desmatados, enquanto na Amazônia Legal, o número chega a 813 mil km². Além da agricultura e pecuária, a extração de madeira destinada ao comércio ilegal é altamente recorrente na região amazônica (IBGE, 2020; INPE, 2022).

Quanto às demais zonas biogeográficas, a Mata Atlântica, que abrange praticamente toda a costa brasileira, de nordeste a sul, teve 93% de sua área devastada. O Cerrado, que é intensamente explorado pelo agronegócio, perdeu mais de 50% de sua cobertura vegetal original. A Caatinga teve 47% de sua flora nativa desmatada; os Pampas, cerca de 54%; e o Pantanal, com mais de 45%, dos quais, 30% foram devastados apenas em 2020, período em que queimadas severas assolaram o bioma (SOUZA, 2022).

A literatura científica aborda com frequência o desflorestamento ocorrente no Brasil, visto que é uma prática que culmina em um efeito em cadeia, isto é, a remoção da cobertura vegetal de qualquer ecossistema ocasiona desregulações ambientais, que, dependendo do nível de nocividade do agente, podem ser irreversíveis. Nesse inteirom, além das plantas, demais organismos, como fungos, bactérias e animais, são severamente prejudicados.

Fatores abióticos, especialmente os solos e as águas, também são comprometidos (SOARES *et al.*, 2019).

As plantas constituem o primeiro nível trófico de uma cadeia alimentar, atuando como produtoras de biomassa altamente concentrada em elementos essenciais à subsistência de organismos consumidores: animais herbívoros, carnívoros e onívoros, além dos decompositores: bactérias e fungos, por exemplo. Os componentes nutricionais são transmitidos de um nível trófico a outro, de forma que a intensidade energética decai ao longo da cadeia. Portanto, ao final, a medida de energia será inferior à do início do processo. Destarte, uma vez que as estruturas vegetais são extraídas, a disponibilidade de matéria orgânica reduz drasticamente, desajustando a manutenção de todos os componentes do ecossistema (SILVA; FILHO, 2004; SOARES *et al.*, 2019).

Adiante à insegurança alimentar, ocorre a destruição de habitats e fragmentação dos ecossistemas, sobretudo aqueles utilizados por espécies parcial ou totalmente arborícolas, como primatas, serpentes e insetos. Seres predominantemente terrestres que usufruem da matéria orgânica de origem vegetal morta depositada na superfície do solo como refúgio também são negativamente impactados. Por conseguinte, a ausência de abrigo e alimento força a dispersão das populações (MIDDLETON, 2016).

Durante a transição de uma área para a outra, as espécies estão sujeitas a diversos riscos, tais quais: abate ou lesões promovidos por agentes antrópicos; exaurimento energético associado à indisponibilidade de constituintes basilares à sobrevivência: água e alimento, no decorrer do trajeto. Mesmo os obstáculos do percurso sejam ultrapassados, e que um meio com condições propícias à ocupação dos organismos seja encontrado, existe a possibilidade de competição por recursos contra as espécies residentes do local (ARAÚJO; BASTOS, 2019).

Deve-se considerar que, caso a supressão vegetal seja efetuada por meio de queimadas, além dos danos supracitados, todos os organismos presentes no meio estão susceptíveis ao contato direto com as chamas, e também com os seus derivados químicos gasosos nocivos advindos da combustão da matéria, que afetam as vias respiratórias e que podem ser fatais, a depender do tempo de exposição (BERNARDY *et al.*, 2011).

Em decorrência da retirada da vegetação, as estruturas físicas e químicas do solo são modificadas. Fisicamente, com a ausência do sistema radicular das plantas, que promove a contenção das partículas do solo, a ocorrência de incidentes erosivos e de assoreamentos de cursos hídricos é potencializada. Ainda, sem as raízes, a incorporação de gases (ex.: nitrogênio atmosférico) e de água ao solo é suprimida. Quimicamente, ocorre a redução da produção de matéria orgânica vegetal, que, após decomposta por bactérias e fungos, torna-se um importante constituinte do solo, enriquecendo-o com elementos químicos (ex.: fósforo, potássio, cobre e cálcio) indispensáveis ao crescimento e manutenção das plantas, bem como à amplificação dos grupos de microrganismos e animais. A desarborização, portanto, acarreta o empobrecimento do solo e a decadência das espécies que dele

dependem (BRASIL, 2015; SANTOS *et al.*, 2017).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) aponta que cerca de 33% dos solos do mundo estão degradados, dos quais, 14% estão na América Latina, cujo maior país é o Brasil, que tem 16,5% dos seus solos deteriorados, o equivalente a 140 milhões de hectares (ha) (WINK *et al.*, 2005; FAO, 2018).

Estreitamente relacionados ao solo, os recursos d'água, essencialmente os envoltos por matas ciliares e de galeria, têm a qualidade e quantidade comprometidas em decorrência da deposição ininterrupta de sedimentos de origem erosiva. Quando localizadas às margens dos cursos hídricos, as raízes exercem a função de fixar o solo, impedindo que ocorram deslizamentos de terra. Assim, em caso de desmatamento, a estrutura do solo perde sustentação, tornando viável o surgimento de erosões, cujos fragmentos serão depositados no interior do afluente, que, a longo prazo, pode assorear (SÃO PAULO, 2014).

Durante e após o processo de assoreamento, o recurso apresenta: alta turbidez, devido a elevada quantidade de partículas em suspensão, que impedem a passagem de luz e, conseqüentemente, inviabilizam a produção de gás oxigênio, O₂, via fotossíntese realizada pelas algas e cianobactérias; redução do volume de água, em função do acúmulo contínuo de sedimentos; declínio das populações de espécies aquáticas, devido à insuficiência de O₂ e luminosidade, absorção demasiada de partículas inorgânicas pelo organismo e delimitação dos habitats e meios de locomoção; e decréscimo da disponibilidade de matéria orgânica. As comunidades de organismos terrestres que consomem dessas águas também serão afetadas (CASTRO; CASTRO; SOUZA, 2013).

É importante destacar que, dependendo das dimensões do afluente e do nível da degradação, tanto o microclima, quanto o macroclima, podem ter aspectos desregulados. A redução do volume de água faz com que uma menor quantidade de vapor seja direcionada à atmosfera, gerando um declive pluviométrico e da umidade relativa do ar. Como consequência, a escassez hídrica é potencializada, em face do déficit de chuvas, e, em temporadas de altas temperaturas, a seca é agravada, possibilitando a desidratação da biota e a desregulação do ciclo vital de espécies mais vulneráveis, como grupos de insetos que necessitam de condições climáticas específicas para reproduzir. Por fim, as propriedades do solo, como: textura; densidade; porosidade; permeabilidade; fluxo de água, ar e energia térmica são parcial ou totalmente alterados (CANEPPELE, 2018; RODRIGUES; GOMES; COSTA, 2022).

O Brasil detém o maior volume de água doce do mundo (12%). Ainda assim, determinadas regiões são afetadas pela escassez hídrica, pois, tratando-se de um país de dimensões continentais, a distribuição de água é naturalmente desproporcional entre as regiões. Somente a região Norte, onde está a Bacia Amazônica, maior bacia hidrográfica do globo, abrange 68,5% da água doce de todo o território. Em contrapartida, a área Nordeste compreende apenas 3,3%. Por fim, as demais localidades: Sudeste (6%), Sul (6,5%) e Centro-Oeste (15,7%) (AUGUSTO *et al.*, 2012).

O Relatório de Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil publicado em 2012 pela Agência Nacional das Águas (ANA), indica que 72% dos recursos hídricos do país são destinados à irrigação exercida pela esfera agrícola, enquanto os 28% restantes estão distribuídos entre os setores industrial (7%), urbano (9%), rural (1%) e animal (11%). A título de comparação, em âmbito global, 70% da água são utilizados pelo meio agrícola, 23% pelas indústrias e 7% pelo ambiente urbano (BRITO; SILVA; PORTO, 2007; ANA, 2012).

Os recursos hídricos e os solos também estão sujeitos à contaminação por despejo indiscriminado de efluentes não tratados de origem industrial e/ou doméstica. A constituição química dos resíduos depende do ambiente em que foram gerados, podendo, portanto, causar diferentes impactos ao ambiente natural. Efluentes domésticos, por exemplo, geralmente apresentam alto teor de lipídios (gorduras), componentes insolúveis em água e que, graças a essa propriedade, têm um maior poder de dissipação, preenchendo facilmente a superfície de cursos hídricos e, por conseguinte, ocasionando o declínio das taxas de: iluminação, O_2 , temperatura e populações de organismos aquáticos. Ademais, o solo às margens e ao fundo do afluente também estão susceptíveis à contaminação (RIBEIRO; ROOKE, 2010; MELO, 2018; LINS; LINS, 2019).

Uma vez que os efluentes aderem às partículas edáficas, corre-se o risco de outras regiões serem poluídas, haja vista que a força das chuvas e dos ventos pode transportar esses componentes a ecossistemas próximos. Além disso, substâncias podem infiltrar o solo e chegar até as águas subterrâneas (CAMARGO, 2006; BORTOLI *et al.*, 2012; BETTIOL; PACHECO *et al.*, 2021).

O descarte indevido e contínuo de resíduos também dispõe da capacidade de promover o assoreamento e/ou a eutrofização do curso d'água. Caso nenhuma medida de recuperação ou supressão dos impactos seja adotada, as propriedades físico-químicas e organolépticas (ex.: turbidez, pH, salinidade, temperatura, umidade, coloração, odor, etc.), tanto da água, como do solo, podem ser permanentemente modificadas (FIGUEIREDO, 2009; PASSOS; CARNEIRO; OLIVEIRA, 2019).

Em um intervalo de trinta anos (entre 1985 e 2020), o Brasil perdeu 15,7% da superfície de água, valor correspondente a 3,1 milhões de ha. Em 1985, 19,7 milhões de ha eram preenchidos por água, em 2020, esse número foi reduzido a 16,6 milhões (MAPBIOMAS, 2021).

O desflorestamento, juntamente à devastação das águas e dos solos, influenciam na qualidade do ar. As plantas, em conjunto com outros organismos fotossintetizantes, desempenham funções indispensáveis: absorção de CO_2 , síntese de O_2 e liberação de H_2O gasoso, todas relevantes à estabilidade atmosférica. As águas e os solos degradados afetam diretamente a saúde vegetal e, assim, desestabilizam os serviços ambientais proporcionados pelas plantas. A título de exemplo, o ciclo do nitrogênio (N), elemento imprescindível à vida e, em estado gasoso (N_2), o mais predominante da atmosfera, com uma concentração de 78%, depende do pleno equilíbrio ecossistêmico para ocorrer, visto

que os processos envolvidos ocorrem em diferentes categorias de organismos, terrestres e aquáticos, tais quais: bactérias fixadoras de N_2 , nitrificantes e desnitrificantes; plantas; fungos; entre outros indivíduos. Dessa maneira, em sistemas naturais deteriorados, a ciclagem de N é debilitada (CHAVES *et al.*, 2003; GUARDA; CAMPOS, 2014; VIEIRA, 2017).

Em casos de extração de áreas verdes por meio de incêndios florestais induzidos, há a liberação massiva de CO_2 , produto advindo majoritariamente da combustão de matéria orgânica vegetal. Em suma, a concentração do gás na atmosfera é fortificada multilateralmente: interrupção abrupta da absorção de CO_2 pelas plantas e liberação excessiva do composto devido as queimadas, concomitantemente (SANTOS *et al.*, 2017).

É incontável a diversidade de atividades antrópicas, de origem doméstica, industrial e agropecuária, que geram gases poluentes, tais como: dióxido de carbono (CO_2), monóxido de carbono (CO), metano (CH_4), óxido nitroso (N_2O), hidrofluorcarbonetos (HFCs), clorofluorcarbonetos (CFCs), etc. Tais compostos intensificam o fenômeno natural de retenção de energia térmica que ocorre em escala global, o efeito estufa, e também induzem a abertura de espaços na camada de ozônio (O_3) (DALCIN; MANGINI; GODOI, 2021).

Em função do desmatamento e da queima de combustíveis fósseis, o Brasil é o quarto maior responsável pelas emissões cumulativas globais de CO_2 , com aproximados 5%. O país está entre os dez maiores emissores históricos do gás (EVANS, 2021).

O acúmulo desordenado desses gases na atmosfera impede que o calor se dissipe, provocando um aumento paulatino da temperatura da Terra. Mesmo que o acréscimo de temperatura seja irrisório, em grandeza física, o clima e, por consequência, toda a biosfera são modificados. A ocorrência de intempéries: derretimento de geleiras, chuvas torrenciais, furacões, ciclones, tornados, etc., é uma das expressões do aquecimento global. Por fim, a propagação de poluentes atmosféricos afeta, também, a saúde da biota, que, involuntariamente, inala gases tóxicos prejudiciais não somente ao sistema respiratório, como também ao cardiovascular e ao excretor (SANTOS *et al.*, 2008).

Localizada na estratosfera, a camada de O_3 é responsável por filtrar a radiação ultravioleta emitida pelo Sol, que, em contato com a superfície terrestre, pode causar: câncer de pele, danos à visão, supressão do sistema imunológico, extinção de espécies, impulsão do aquecimento global, etc. Uma vez que gases poluentes, como os CFCs e HFCs, chegam à atmosfera, o átomo de Cloro (Cl) presente em suas composições reagem com o O_3 , gerando como produto uma molécula de O_2 e outra de monóxido de cloro (ClO). Observa-se que houve a decomposição do O_3 , unidade fundamental da camada. À vista disso, em larga escala, o mesmo processo acaba por desconstituir certas regiões da camada, submetendo os ecossistemas aos efeitos supramencionados (MAIA; SILVA; RODRIGUES, 2019).

Em âmbito geral, a alteração de sistemas naturais gera condições favoráveis

à propagação de agentes patogênicos e seus vetores. Para que o ciclo de vida de um organismo ocorra integralmente, é necessário que as circunstâncias ambientais como: temperatura; umidade; disponibilidade e qualidade de alimento, água e refúgio estejam compatíveis com as suas demandas. Considerando o vírus da Dengue como exemplo, nota-se que a sua incidência é mais elevada em regiões tropicais, nas quais as temperaturas e os volumes de chuva são substanciais, propiciando a disseminação do seu vetor, *Aedes aegypti*, e, conseqüentemente, da doença. Em paralelo a isso, o aumento da temperatura provocado pelo aquecimento global pode implicar na criação de ecossistemas propícios à inserção e desenvolvimento de doenças em novas regiões que, anteriormente, não eram acometidas (PIGNATTI, 2004; SOUSA *et al.*, 2022).

A difusão e o agravamento de outras enfermidades também são potencializados pela degradação ambiental, tais quais: leptospirose, amebíase, giardíase, Chikungunya, Zika, doença de Chagas, cólera, diarreia, febres tifoide, paratifoide e amarela, asma, bronquite, sinusite, câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica, hepatite A, ascaridíase, entre outras (PAIXÃO; PAIXÃO; PAIXÃO, 2013; JUNIOR; MATION; SAKOWSKI, 2015; ZEZZO *et al.*, 2021).

Importância do Biólogo no controle da qualidade ambiental

Existem registros históricos referentes à Grécia Antiga que apontam a existência de estudiosos, como Tales de Mileto (624–558 a.C.) e Aristóteles (384–322 a.C.), que se debruçavam sobre as Ciências Naturais. A princípio, os naturalistas, como eram intitulados, se limitavam ao estudo empírico dos fenômenos da natureza, das plantas e dos animais, visto não haver uma metodologia de ensino formal voltada a esta área do conhecimento. Nesse sentido, as práticas naturalistas não eram consideradas uma profissão, mas sim um simples passatempo (ARAÚJO; MENEZES; COSTA, 2012; SILVEIRA, 2014).

Pouquíssimas pessoas tinham a oportunidade de atuar neste campo, pois a possibilidade de retornos financeiros era inviável. Portanto, apenas os mais abastados dispunham de recursos suficientes para se dedicar ao estudo da natureza. Exempli gratia, Charles Darwin (1809–1882), naturalista inglês de altíssima proeminência no meio científico, era filho de um médico renomado, Robert Waring Darwin (1766–1848), e de Susannah Darwin (1765–1817), integrante da família proprietária da Wedgwood, uma fabricante de porcelanas de alto padrão. Charles, portanto, usufruía de privilégios que o permitiam investir tempo e dinheiro em suas aspirações, de forma que pôde viajar durante 5 anos ininterruptos (1832–1836) a bordo do HMS Beagle, interregno em que, por meio da observação analítica, desenvolveu e aprimorou a Teoria da Evolução das Espécies, exposta ao cenário científico em 1859, por meio do livro “*On the Origin of Species*” (“A Origem das Espécies”) (DARWIN, 2009; HAYMAN, 2019).

No Brasil, os naturalistas começaram a se destacar em meados de 1808, após a chegada da Família Real Portuguesa, que promoveu, em 13 de junho do mesmo ano, a

fundação do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ), que, por sua extensa diversidade vegetal, chamou a atenção de pesquisadores do mundo inteiro. Em 1818, foi criado o Museu Nacional, a primeira instituição científica do país. Vale salientar que, mesmo com a eminência de organizações nacionais inclinadas à ciência, o contingente de profissionais da área era predominantemente composto por estrangeiros (Instituto de Pesquisas JBRJ, 2008; GOVERNO FEDERAL, 2022).

Em 1824, Frei Leandro do Santíssimo Sacramento (1778–1829), um notável botânico brasileiro, formado em filosofia pela Universidade de Coimbra (Portugal) e integrante de uma gama de entidades naturalistas europeias, que foi designado ao cargo de diretor do JBRJ. Devido à sua formidável reputação no cenário científico, a presença do botânico no cargo era estratégica, pois colocava a organização em um patamar de reconhecimento internacional, de maneira que estudiosos estrangeiros fossem atraídos ao Brasil (SARAIVA, 2015).

Concomitantemente à direção JBRJ, Leandro desempenhou um excelente papel como professor de botânica da Academia Médico-Cirúrgica, repassando seus conhecimentos às mais variadas classes sociais, desde lavradores a proprietários de terras. A sua trajetória à frente da diretoria do jardim efêmera, durando até 1829, ano em que veio a óbito (GOVERNO FEDERAL, 2022).

À época, algumas Universidades, como a de Cambridge (Inglaterra), ofereciam o curso de Ciências Naturais, que, além da Biologia, abrangia: Geografia, Paleontologia e História. No Brasil, a Universidade de São Paulo (USP) foi a primeira a criar um curso direcionado à História Natural, em 1934 (CRBio-01, 2015; DOWLER, 2019).

À vista disso, a comunidade brasileira de naturalistas cresceu substancialmente. No entanto, após formados, o índice de atuantes áreas especificamente biológicas ainda era irrisório, dado que a profissão ainda não era regulamentada. Assim, visando driblar o exercício irregular de atividade profissional, os naturalistas eram registrados como docentes, mesmo exercendo outras atividades (CRBio-04, 2015).

Com vistas à regularização da profissão, a partir de 1950, associações organizadas por naturalistas surgiram em várias regiões do Brasil. Em 1960, a pluridisciplinaridade do curso de História Natural foi desfeita, ou seja, a Biologia passou a ter uma graduação singular. Em 1970, durante o Regime Militar iniciado em 1964, a Assembleia Geral pela Associação Brasileira de Biólogos aprovou a redação de um Projeto de Lei para a Regulamentação da Profissão de Biólogo, o qual foi encaminhado ao Ministério do Trabalho. Entretanto, devido às adversidades vigentes da ditadura, o projeto tomou procedências desconhecidas (CRBio-01, 2015; CFBio, 2021).

Nesse contexto, em 1970, com a mobilização constante e execução de greves por professores, estudantes e profissionais das Ciências Biológicas, reivindicando a retomada do tramit do projeto anterior, deputados federais apoiaram a causa e estruturaram novos planejamentos (CRBio-01, 2015).

O projeto confeccionado por Ademar Paladini Ghisi, à época, deputado federal por Santa Catarina, tramitava em etapas mais avançadas, em razão do vínculo realizado entre parlamentares favoráveis à regularização do exercício dos Biomédicos e Biólogos. Dessa forma, o rol de apoiadores do projeto, dentro e fora da Câmara, aumentou drasticamente, pois correspondia aos interesses de duas grandes esferas trabalhistas. Assim, em 3 de setembro de 1979, a Lei n.º 6.684 regulamentou ambas as profissões, e o Conselho Federal e os Conselhos Regionais de Biologia e Biomedicina foram criados, entre outras determinações. É importante destacar que os Conselhos das duas áreas atuam a despeito um do outro, conforme consta na Lei n.º 7.017/1982 (BRASIL, 1979; BRASIL, 1982).

Incumbido da função normativa, o Conselho Federal de Biologia (CFBio) é responsável por: desenvolver resoluções que viabilizem a plena interpretação e a execução da Lei n.º 6.684/79; orientar, instalar e inspecionar os CRBios; analisar e julgar os recursos de penalidades impostas pelos CRBios; em âmbito nacional, inspecionar a fiscalização do exercício profissional; fixar o valor das anuidades, taxas, multas e emolumentos; e, por fim, definir o limite de competência do exercício profissional (BRASIL, 1983; CFBio, 2019).

Encarregados da função executiva, os Conselhos Regionais de Biologia (CRBios) dispõem das seguintes atribuições: supervisionar o exercício profissional, nos limites de suas respectivas jurisdições; cumprir e fazer cumprir as disposições, regulamentos, resoluções e demais normas expedidas pelo CFBio; efetuar o registro e expedir a Carteira de Identidade Profissional e a Cédula de Identificação aos profissionais registrados; efetuar o registro e expedir a Certidão de Registro das empresas; atuar como Comitês Regionais de Ética; examinar, julgar as transgressões e aplicar as penalidades previstas em regulamentos e normas complementares do CFBio; e arrecadar anuidades, multas, taxas e emolumentos (BRASIL, 1983; CRBio-08, 2022).

Conforme a Resolução n.º 227, de 18 de agosto de 2010, emitida pelo CFBio, o profissional de Ciências Biológicas devidamente registrado nos CRBios, e legalmente habilitado para o exercício profissional, está autorizado a exercer suas funções em três grandes grupos: meio ambiente e biodiversidade; saúde; e biotecnologia e produção (CFBio, 2010; MELO; CARVALHO; GUIMARÃES, 2017).

Cada grupo comporta dezenas de opções. Os campos de atuação em meio ambiente e biodiversidade são diversos, tais quais: ecoturismo, EA, bioética, fiscalização ambiental, gestão de qualidade, mudanças climáticas, entre outros. Na saúde, os biólogos podem atuar em: análises citogenéticas, reprodução humana assistida, gestão de bancos de células e material genético, terapia gênica e celular, etc. Por fim, em biotecnologia e produção, algumas das áreas passíveis de exercício são: engenharia genética (bioengenharia), biodegradação, biossegurança, desenvolvimento e produção de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), bioprospecção, etc. (CFBio, 2010; CRBio-03, 2018).

Independentemente de suas peculiaridades, direta ou indiretamente, todas as formas de atuação mencionadas são imprescindíveis ao bem-estar ambiental. Todavia, é

necessário destacar que a preservação dos sistemas naturais não é uma tarefa exclusiva dos Biólogos, pois, consoante o artigo 225 da Constituição Federal vigente no Brasil, todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações (BRASIL, 1988).

A título de ilustração, entre 2013 e 2019, 77 milhões de ha de florestas tropicais foram devastados, número correspondente a 11 milhões de ha por ano. No mesmo intervalo, em conjunto, o Brasil, a República Democrática do Congo e a Indonésia foram responsáveis por 51% de toda a remoção da cobertura vegetal. Agora, entre novembro de 2018 e junho de 2022, 5,3 milhões de ha foram desmatados, valor equivalente a 4 mil ha por dia (DUMMETT; BLUNDELL, 2021; MapBIOMAS, 2022).

No Brasil, somente em 2021, cerca de 16,5 mil km² de área verde nativa foram desflorestados, o equivalente a 1.655.782 de ha. Tais dados foram construídos com base em aproximados 70 mil alertas de desmatamento verificados em todo o território, sendo que a Amazônia foi a mais afetada, com 60% de toda a área devastada do país. O principal agente da extração da cobertura vegetal é a expansão do setor agropecuário, que visa a incessante ampliação do cultivo de monoculturas (ex.: soja, trigo, milho e cana-de-açúcar) e gado, majoritariamente, bovino (MapBIOMAS, 2021).

A execução de atividades efetiva ou potencialmente degradadoras do meio ambiente deve ser acompanhada por Estudos de Impacto Ambiental (EIA) e de seus respectivos Relatórios de Impacto Ambiental (RIMA), conforme consta na Lei n.º 6.938/1981, artigo 8º, inciso II. Mesmo com a vigência de normatizações legais que exigem a prática de metodologias de preservação da natureza, grande parte dos desastres ecológicos provocados por atividades antrópicas ocorrem sem qualquer supervisão qualificada, desprovidos de medidas de inibição ou mitigação de danos (BRASIL, 1981; SANTOS, 2021).

Diante do cenário descrito, é imprescindível a atuação coordenada de profissionais da Biologia, sobretudo os que desempenham funções voltadas à fiscalização, à gestão e ao monitoramento da qualidade ambiental, como agentes do Ibama, que, na medida de suas proporções, detectam e combatem infrações ambientais, consoante as diretrizes previstas em legislação, tal qual a Lei n.º 9.605/1998, que estabelece as sanções penais e administrativas advindas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, entre outras providências (BRASIL, 1998).

Em 2010, a população do Brasil correspondia a 190 milhões de habitantes. Atualmente, com cerca 215 milhões, o país é sétimo mais populoso do mundo. O crescimento do índice demográfico, aliado à debilidade das políticas públicas brasileiras, gera consequências indesejáveis, tais quais: exigência exacerbada por território para fins habitacionais, que leva à construção irregular de moradias; produção e o descarte indevido de efluentes e resíduos; uso indiscriminado da água e do solo; aumento da demanda

por alimento, fornecido pela esfera agropecuária, a qual acaba por ampliar o plantio de monoculturas e a criação de animais, em detrimento da qualidade ambiental. Destarte, considerando a quantidade de indivíduos, a precariedade do Sistema Público e a extensão continental do país (8,5 milhões de km²), a preservação dos biomas torna-se uma tarefa laboriosa, impulsionada pelo contingente irrisório de Biólogos atuantes (IBGE, 2010; IBGE, 2022).

Por exemplo, o Ibama, responsável pela fiscalização ambiental e a aplicação de penalidades administrativas, entre outras funções, possuía 4.200 colaboradores, em 2009. Hodiernamente, o órgão dispõe de apenas 2 mil servidores. Estima-se que mais de três mil cargos estão desocupados, em função da destinação de insuficiente de verbas governamentais, que impede a reposição de funcionários. Restringindo-se aos agentes ambientais fiscalizadores, até 2021, o Instituto dispunha de 668 servidores, dos quais, somente 281 eram aptos à atuação em campo, os demais, inaptos, devido à idade avançada, enfermidades ou comorbidades. Em 2010, eram 1.311 fiscais em atuação (BRASIL, 1989; IBAMA, 2020).

Além do combate direto às práticas de deterioração da natureza, existem Biólogos que, por meio da EA, conscientizam a população a respeito da importância de manter o meio ambiente ecologicamente equilibrado. Ao longo das últimas décadas, em decorrência dos avanços tecnológicos, do advento de novos veículos de comunicação e da crescente exploração antrópica dos recursos naturais, a difusão de conteúdos didáticos de caráter sustentável destinados ao público geral tomou enormes proporções. Apesar da progressão, dados anuais referentes à destruição dos biomas, em especial do Amazônico, ainda são alarmantes (SOARES; VASCONCELOS, 2018; MapBIOMAS, 2021).

EA como instrumento de preservação do meio ambiente

Desde o seu surgimento, há 2,5 milhões de anos, a espécie humana explora os recursos naturais. Todavia, em épocas mais remotas, o usufruto da natureza visava apenas a subsistência de pequenos grupos, que pouco impactavam a qualidade ambiental. À medida que a população mundial expandia, a exigência por riquezas naturais aumentava. Isso se torna mais evidente durante a Revolução Industrial (XVIII-XX), período em que o sistema capitalista tomou proporções protuberantes, promovendo a produção em larga escala, ao passo que provocava a deterioração do solo, do ar e das águas; intensificava o efeito estufa; agravava o aquecimento global; removia extensas áreas de cobertura vegetal; ocasionava a redução e a extinção de espécies; e impulsionava o consumo hiperbólico de recursos não renováveis e renováveis (LIMA *et al.*, 2019; FRIEDE, 2021).

Revolução Industrial terminou ao fim da Segunda Guerra Mundial, em 1945. É importante mencionar que, mesmo após ao encerramento de dois grandes marcos históricos, as indústrias não cessaram o seu desenvolvimento. O enfrentamento a um conflito global gerou lucros exorbitantes ao setor industrial, sobretudo o bélico. Após a

guerra, com diversos territórios do mundo devastados, as indústrias desempenharam um papel fundamental no reerguimento das economias nacionais, que, paulatinamente, voltaram ao patamar regular, em detrimento da qualidade dos ecossistemas, pois um maior volume de matéria-prima teve de ser utilizado para o aumento da produção (MACHADO; RESENDE, 2019).

Outro acontecimento que acentuou ainda mais a degradação ambiental foi a Guerra Fria (1947-1991), caracterizada por um conflito político-ideológico, sem combates belicosos diretos, no qual houve uma corrida armamentista entre Estados Unidos (EUA), capitalista, e a União das Repúblicas Socialistas Soviéticas (URSS), socialista. Assim, as indústrias, especialmente as de natureza bélica, potencializaram as suas produções (LAAKKONEN; PÁL; TUCKER, 2016; SILVA; TEIXEIRA, 2019).

Em face da ininterrupta exploração dos recursos naturais, na década de 60, movimentos em favor da sustentabilidade ocorrentes em numerosas regiões do mundo, constituídos por organizações sem fins lucrativos, Biólogos, Ecólogos, estudantes e professores das ciências naturais, passaram adquirir dimensões significativas. Em decorrência disso, em 1965, na Grã-Bretanha, realizou-se a Conferência de Educação da Universidade de Keele, onde, sem precedentes, a expressão “*Environmental Education*” (“Educação Ambiental”) foi pronunciada (VALPASSO; CASTOR, 2021).

Em 1972, o Clube de Roma, composto por estudiosos de diferentes nacionalidades, publicou “Os Limites do Crescimento”, documento que, em tom de urgência, traçou uma relação entre o constante crescimento populacional, aliado ao desenvolvimento do sistema capitalista, e a deterioração da biosfera, considerado a esgotabilidade de seus recursos, principalmente os não renováveis (GONÇALVES, 2005; TANNOUS; GARCIA, 2008; AZZARI, 2022).

Em virtude da reverberação causada pelo relatório, a Organização das Nações Unidas (ONU) resolveu, pela primeira vez, reunir países do mundo inteiro, com a finalidade de discutir sobre o cenário ambiental. Ainda em 1972, entre os dias 5 a 16 de junho, em Estocolmo (Suécia), foi realizada a Conferência das Nações Unidas sobre o Ambiente Humano ou, como ficou conhecida, Conferência de Estocolmo, que contou com a presença de representantes de 113 países. O principal resultado da assembleia foi a Declaração sobre o Ambiente Humano, a qual aborda 26 princípios concordantes com o bem-estar ambiental e humano, em concomitância ao desenvolvimento econômico (PNUMA, 1972; PASSOS, 2009).

Outra consequência da conferência foi a criação do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA), sediado em Nairóbi (Quênia). Como autoridade defensora do meio ambiente no mundo, o PNUMA é responsável por estabelecer a agenda ambiental e coordenar a implementação do desenvolvimento sustentável no Sistema das Nações Unidas. Atualmente, 193 países, incluindo o Brasil, são membros do PNUMA (PNUMA, 2022).

Em 1975, na cidade de Belgrado, a ONU para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO) viabilizou o Encontro Internacional em EA, no qual surgiu o Programa Internacional de EA (PIEA), que visa a internacionalização e multidisciplinaridade da EA. Gerou-se, também, a Carta de Belgrado, que disserta acerca da importância de erradicar, ao nível mundial, as mazelas sociais, como: pobreza, fome, analfabetismo, poluição, exploração e dominação. Ainda, o documento também trata da harmonia entre o crescimento econômico e a proteção ambiental, em conformidade com a Declaração de Estocolmo (PNUMA, 1972; BARBIERI; SILVA, 2011; FARIAS; BORGES; SILVA, 2012).

Como experiência prática do PIEA, em 1977, ocorreu a Conferência Intergovernamental de EA, em Tbilisi (cidade integrante da antiga URSS, e atual localidade da Geórgia). A assembleia foi elementar para determinar e aperfeiçoar os princípios, propósitos e planejamentos da EA, de maneira que os conhecimentos relativos a essa área fossem difundidos de maneira uniforme, em amplitude mundial (BARBIERI; SILVA, 2011; ARAUJO; SANTOS; MENEZES, 2017).

À medida que a EA tomava capilaridade, camadas da população, que antes não enxergavam a exploração desmedida da natureza uma problemática, passaram a considerar plausível a implementação de ajustes no sistema econômico vigente. No entanto, quando as soluções previamente propostas eram trazidas à prática, dissonâncias eram verificadas. Por conseguinte, com a intenção de estabelecer sugestões mais pragmáticas, a ONU promoveu a Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (CMMAD), em 1983. Quatro anos depois, em 1987, a Comissão publicou o documento Nosso Futuro Comum (Relatório Brundtland), que conceituou o desenvolvimento sustentável como aquele que satisfaz as carências presentes, sem comprometer a capacidade de suprir as necessidades das futuras gerações. O conceito perdura até os tempos atuais, sendo visto como um marco deveras relevante dentro da EA (PEREIRA; CURI, 2012).

Em 1987, a UNESCO, associada ao PNUMA, realizou Congresso Internacional sobre Educação e Formação Relativas ao Meio Ambiente, visando examinar os progressos e os empecilhos enfrentados pela EA, desde a Conferência de Tbilisi. Denominado Estratégia Internacional de Ação em Matéria de Educação e Formação Ambiental para o Decênio de 1990, o documento resultante do Congresso propôs a inserção da EA em todos os níveis de ensino (BERNARDES; PRIETO, 2010; SOARES, 2011).

No mesmo ano, o Plenário do Conselho Federal de Educação aprovou, de forma unânime, por intermédio do Parecer 226/87, a inclusão da EA na base curricular de 1º e 2º graus, atuais ensinos fundamental e médio, e também recomendava a construção de Centros de EA (UDESC, 2002).

Em 5 de outubro de 1988, no transcorrer do governo de José Sarney, ocorreu a promulgação da Constituição Federal do Brasil, que dedicou toda a extensão do Capítulo VI ao meio ambiente, com destaque para o Artigo 225, inciso VI, que determina a prática da EA em todos os níveis de ensino. No mesmo ano, houve a realização do primeiro Congresso

Brasileiro de EA, e também do primeiro Fórum de EA, viabilizado pela USP (BRASIL, 1988).

No Rio de Janeiro, em 1992, a ONU realizou a Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD), Rio-92 ou Eco-92, que teve a participação de comitês de 178 países, os quais debateram sobre: o controle das emissões de gases de efeito estufa, com destaque para o CO₂; a exploração sustentável dos recursos naturais, em especial das florestas; a padronização do desenvolvimento sustentável até o século presente; entre outras abordagens. A partir da discussão dessas temáticas, gerou-se como resultado uma série de documentos, tais quais: Declaração do Rio de Janeiro sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (Carta da Terra); Declaração sobre Florestas; Convenção sobre Diversidade Biológica; Convenção Quadro de Mudanças Climáticas; e Agenda 21 (Ipea, 2009; SCHERER; FRANCO; FERNANDES, 2016).

Na Eco-92, concluiu-se que os países desenvolvidos eram os principais responsáveis pelos desastres ambientais, especialmente no que tange a emissão de gases poluentes. Nesse sentido, além de traçar metas de resolução, tais nações deveriam auxiliar, financeira e tecnologicamente, as regiões subdesenvolvidas do globo. Em termos lógicos, o empreendimento deste modelo pode ser justificado pela intensa atividade industrial, associada ao aproveitamento e à destruição desmoderados dos recursos naturais, muitas vezes extraídos de outras nações, efetuada por países como os EUA e a Inglaterra, cujas economias foram impulsionadas ao extremo, mormente na Era Industrial. Enquanto outros territórios, como a Somália (em PIB *per capita*, lidera o *ranking* de países mais pobres do globo), submetida à colonização e exploração europeia, dispõe de um sistema econômico e de produção sucateados, e também é afetada pelas consequências da degradação ambiental provocada pelas pátrias mais abastadas (LAYRARGUES, 2012; STIEFELMANN, 2012; SCHERER; FRANCO; FERNANDES, 2016).

Durante a CNUMAD, entre os dias 1 e 12 de julho, também no Rio de Janeiro, o MEC realizou o *Workshop* sobre EA, do qual resultou a Carta Brasileira para a EA. O documento discorre acerca das importâncias da inserção da EA em todas as modalidades de ensino, e também propõe medidas para tal (BARBIERI, 2004; MEC, 2007).

Eco-92 estimulou a formação da Rede Brasileira de EA (REBEA), que, por meio de uma estrutura horizontal, interliga os territórios do país e permite a articulação nacional dos educadores, garantindo a uniformidade e eficiência das metodologias utilizadas na abordagem da EA (LAYRARGUES, 2012).

Em 1994, no Brasil, o MEC, juntamente ao MMA, Ministério da Cultura e Ministério da Ciência e Tecnologia, criou o Programa Nacional de EA (ProNEA). O ProNEA foi essencial à qualificação das instituições de educação formal e informal, bem como de supletivo e cursos profissionalizantes, ao ensino da EA. Para tal, o Programa fomentou a capacitação de docentes; elaboração de instrumentos e metodologias; e o desenvolvimento de ações educativas (ProNEA, 2005; MEC, 2007).

Objetivando discutir as práticas de EA no Brasil e indicar estratégias que

consolidassem o ProNEA, em 1997, foi feita a I Conferência Nacional de EA, em Brasília. O produto da Conferência foi a Declaração de Brasília para a EA, que apontou a urgência de uma educação adaptada à conscientização pública, de maneira que o desenvolvimento sustentável fosse adotado pela coletividade, em consonância com a legislação, economia e tecnologia. O documento foi apresentado à Conferência Internacional sobre Meio Ambiente e Sociedade: Educação e Consciência Pública para a Sustentabilidade, realizada em Thessaloniki, na Grécia, entre 8 e 12 de dezembro de 97. O ponto central do evento foi debater sobre a conjuntura global referente à EA durante os anos subsequentes da Rio-92. Em face disso, concluiu-se que o desenvolvimento da EA durante os 5 anos transcorridos foi insatisfatório (FRACALANZA *et al.*, 2005; CARVALHO, 2010; MATOS; BATISTA; PAULA, 2020).

Ainda como tema transversal, em 1997, houve a introdução da EA nos Parâmetros Curriculares Nacionais (PCN's), um conjunto de orientações definidas pelo Governo Federal que visam nortear as ações de todos os membros das redes de ensino públicas e privadas: professores, coordenadores e diretores, de forma que as peculiaridades de cada disciplina, bem como de cada região do país, sejam consideradas. Destarte, além de assegurar a coerência do ensino, também garante uma melhor aplicabilidade dos recursos orçamentários destinados à educação (MEC, 1997; SOUZA; BENEVIDES, 2005; SANTOS; COSTA, 2015).

Dois anos após, o Plano Plurianual (PPA), responsável por determinar as diretrizes e objetivos da administração pública federal, atuando como instrumento de planejamento orçamentário de médio prazo, teve a EA integrada ao seu quadro, no triênio 1996-1999. Assim, EA foi incorporada aos PPAs subsequentes (NETO, 2012; GOVERNO FEDERAL, 2022).

No decurso do governo de Fernando Henrique Cardoso, em 27 de abril de 1999, a Política Nacional de EA (PNEA) foi instituída por intermédio da Lei n.º 9.795. À época, o Brasil se destacou no cenário mundial, visto que foi o primeiro país da América Latina a estabelecer uma política nacional específica para a EA. Ademais, motivou a incorporação da EA políticas educacionais do MEC (BRASIL, 1999; SOUZA; BENEVIDES, 2005).

De acordo com o artigo 4, da Lei n.º 9.795, como parte do processo educativo mais amplo, todos têm direito à educação ambiental. Nessa perspectiva, com a finalidade de colocar a PNEA em ação em todo o país, em 2003, foi instaurado o Órgão Gestor (OG), formado pelo MEC, representado pela Coordenação Geral de EA, do Departamento de Educação para a Diversidade e Cidadania da Secretaria de Educação Continuada, Alfabetização e Diversidade (Secad), e pelo MMA, representado pela Diretoria de Educação Ambiental, na Secretaria Executiva (SOUZA; BENEVIDES, 2005; MEC; MMA, 2007).

O principal propósito do OG foi criar, com o apoio da sociedade, o Sistema Nacional de EA (SISNEA), cuja função é a formação de educadores ambientais que desempenhem papéis relevantes, tanto nas redes de ensino, quanto nas comunidades. Assim, não

apenas os professores, estudantes, diretores e demais funcionários das escolas devem ser introduzidos à EA, mas sim todas as camadas da sociedade (SAVIANI, 2010).

Em 2004, segundo dados do Instituto Nacional de Estudos e Pesquisas Educacionais Anísio Teixeira (INEP), cerca de 32,3 milhões de crianças do Ensino Fundamental tinham acesso à EA. Ainda, 95% das instituições de ensino praticavam alguma forma de EA. Em virtude do sucesso do SISNEA, o MEC criou o programa Vamos Cuidar do Brasil com as Escolas (VCBE), para legitimar a EA nas salas de aula. O programa foi delineado com base em um círculo virtuoso constituído por ações e práticas integradas, contínuas e transversais a todas as disciplinas (MEC; MMA, 2007; SAVIANI, 2010; BARRETO; VILAÇA, 2018).

Unidos, o MEC e o MMA realizaram uma gama de conferências com a temática ambiental, com a participação de todos os públicos. Por conseguinte, Conselhos de Jovens, com idade entre 16 e 25 anos, passaram a ser organizados em todos os 27 Estados do Brasil. Os integrantes dos Conselhos eram responsáveis por mobilizar grupos de estudantes para a realização de novas conferências, em âmbito estadual. A I Conferência Nacional Infanto-Juvenil pelo Meio Ambiente (CNIJMA), por exemplo, ocorreu graças ao movimento de jovens engajados nas causas ambientais. Estima-se que, entre 2003 e 2018, 65 mil escolas e 22 milhões de pessoas participaram das assembleias (MEC; MMA; UNESCO, 2007; MORAIS; VIEIRA; MORTELLA, 2018).

Em 15 de junho 2012, o Conselho Nacional de Educação (CNE) aprovou a Resolução n.º 02, que dispõe sobre as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Educação Ambiental (DCNEA). Conforme o artigo 22 da Resolução, “os sistemas de ensino e as instituições de pesquisa, em regime de colaboração, devem fomentar e divulgar estudos e experiências realizados na área da EA”. Em suma, todos os níveis de ensino, do básico ao superior, devem estar aptos ao desenvolvimento e à propagação de estudos relativos à proteção do meio ambiente (MEC, 2012).

Contudo, em 2018, com a aprovação da Base Nacional Comum Curricular (BNCC), a EA foi suprimida dentro do currículo da Educação Básica. A temática ambiental passou a ser abordada de maneira extremamente superficial e homogênea, desconsiderando as peculiaridades de cada instituição, bem como de suas respectivas regiões, em contrapartida aos PNC's produzidos em 1997 (MEC, 2018; BUCZENKO; ROSA, 2022).

Por fim, em confluência com esse cenário, em 2019, no início do governo de Jair Bolsonaro, houve uma reestruturação ministerial, que culminou na extinção da Diretoria de Educação Ambiental do MMA e da Coordenação Geral de Educação Ambiental do MEC. Em síntese, a EA foi restringida à atuação de uma Secretaria de Ecoturismo do MMA, reduzindo drasticamente a capacidade de atuação da dimensão educativa, possibilitando o agravando crise socioambiental ocorrente no país e, sobretudo, desconsiderando todo o processo laborioso de construção e consolidação da EA no país (HOLMER, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em face de todo o panorama apresentado, todos os cidadãos compartilham dos direitos e deveres de manter e usufruir de um meio ambiente ecologicamente equilibrado, por meio do desenvolvimento sustentável, que visa garantir o suprimento das necessidades presentes, sem comprometer as necessidades das gerações futuras.

Apesar de ser detentor da maior biodiversidade do mundo, de ser abundante em recursos e de possuir um complexo sistema de leis destinadas à proteção ambiental, o Brasil dispõe de um déficit severo de biólogos qualificados, sobretudo os que atuam na fiscalização ambiental. Desse modo, o combate direto à degradação dos ecossistemas é extremamente debilitado, pois, quando comparado à extensão territorial e ao crescente demográfico do país, o quantitativo de profissionais é ínfimo.

É nítido que os dados brasileiros referentes ao desmatamento, devastação e exploração desmedida das águas e dos solos tornam-se cada vez mais preocupantes, à proporção em que os anos passam. Assim, caso providências radicais não sejam empregadas, em algumas décadas, o Brasil poderá enfrentar um colapso ambiental.

Nesse contexto, surge a EA como uma alternativa plausível à conscientização social, visando reduzir os impactos negativos aos sistemas naturais. Durante anos, o Brasil obteve sucesso no que tange à disseminação do ensino e à mobilização de crianças e jovens engajados na causa ambiental. Entretanto, em razão de decisões governamentais adotadas nos últimos anos, as entidades públicas, como o MMA, tiveram os seus poderes atenuados, afetando toda a estrutura que salvaguarda os biomas. À vista disso, existem vulnerabilidades que dominam a esfera político-institucional, e que denunciam a necessidade de investir no cumprimento e na aplicação das leis que asseguram a prática da EA em todo o território brasileiro.

Em síntese, além de fomentar a formação de novos biólogos e o aprimoramento daqueles que estão em exercício, é primordial estimular a valorização das Ciências Biológicas e a estabilização da EA, em todos os âmbitos da sociedade, de modo que a área seja percebida como indispensável à integridade da biosfera e à perpetuação das espécies.

REFERÊNCIAS

A dinâmica da superfície de água do território brasileiro: principais resultados do mapeamento anual e mensal da superfície de água no Brasil entre 1985 até 2020. MapBiomass, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3RvmG9i>

A importância da conservação dos solos para a produção de alimentos no mundo. FAO, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3dVUL4j>

Amazônia registra recorde de desmatamento no primeiro semestre de 2022. Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia (Ipam), 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3Sxyrgj>

AMORIM, L.; SANTOS, B.; FERREIRA, R.; RIBEIRO, J.; DIAS, M.; BRANDÃO, I.; SOUZA JR.; C.; VERÍSSIMO, A. **Desmatamento na Amazônia chega a 10.781 km² nos últimos 12 meses, o maior em 15 anos.** Imazon, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3qxGOfo>

ANA. **Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: informe 2012.** Brasília: ANA, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3wRBAio>

ARAÚJO, C. C.; SANTOS, L. M.; MENEZES, S. S. M. Construção de saberes ambientais a partir das memórias do Rio Poxim. **XII Colóquio Nacional e V Colóquio Internacional do Museu Pedagógico**, Bahia, p. 473-478, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3Ck0Z7L>

ARAÚJO, M. F. F.; MENEZES, A.; COSTA, I. A. S. **História da Biologia.** Natal: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (EDUFRN), 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3raIYSE>

ARAÚJO, T. M. S.; BASTOS, F. H. Corredores ecológicos e conservação da biodiversidade: aportes teóricos e conceituais. **Rev. Casa da Geografia de Sobral**, Ceará, v. 21, n. 2, p. 716-729, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3xCm8Hp>

Áreas de atuação do Biólogo. CRBio-03, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3BK4CCa>

AUGUSTO, L. G. S.; GURGEL, I. G. D.; NETO, H. F. C.; MELO, C. H.; COSTA, A. M. O contexto global e nacional frente aos desafios do acesso adequado à água para consumo humano. **Rev. Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 6, p. 1511-1522, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3ecb6Sd>

AZZARI, S. A. O. R. **Educação ambiental: de onde veio e para onde vamos?** Governo do Estado de São Paulo, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3LSNlvw>

BARBIERI, J. C. A educação ambiental e a gestão ambiental em cursos de graduação em administração: objetivos, desafios e propostas. **Rev. de Administração Pública**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 6, p. 919-46, 2004. Disponível em: <https://bit.ly/3Srn2PI>

BARBIERI, J. C.; SILVA, D. Desenvolvimento sustentável e educação ambiental: uma trajetória comum com muitos desafios. **Rev. de Administração Mackenzie**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 51-82, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/3DYBjP0>

BARRETO, L. M.; VILAÇA, M. T. M. Controvérsias e consensos em educação ambiental e educação para o desenvolvimento sustentável. **The Research, Society and Development Journal**, São Paulo, v. 7, n. 5, p. 1-15, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3BR4gdc>

BERNARDES, M. B. J.; PRIETO, E. C. Educação ambiental: disciplina versus tema transversal. **Rev. Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande do Sul, v. 24, n. 24, p. 173-185. Disponível em: <https://bit.ly/3BRYRm7>

BERNARDY, K.; FAGUNDES, L. S.; BRANDÃO, V. J.; KELLER, L.; BORTOLINI, J. G.; COPATII, C. E. Impactos ambientais diante das catástrofes naturais: secas e queimadas. **XVI Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, Rio Grande do Sul, p. 1-5, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/2TGwZhx>

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura.** Brasília: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 2006. Disponível em: <https://bit.ly/3BvP1WP>

Biomás Brasileiros. IBGE, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3TYd89f>

BORTOLI, M.; KUNZ, A.; SOARES, H. M.; FILHO, P. B.; COSTA, R. H. R. Emissão de óxido nitroso nos processos de remoção biológica de nitrogênio de efluentes. **Rev. Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3dAEzFs>

Brasil em síntese (território). IBGE, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3eM5232>

BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988.** Disponível em: <https://bit.ly/3xPax89>

BRASIL. **Decreto nº 88.438, de 28 de junho de 1983.** Disponível em: <https://bit.ly/3SabOOV>

BRASIL. **Lei nº 6.684, de 3 de setembro de 1979.** Disponível em: <https://bit.ly/3SmgfXn>

BRASIL. **Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981.** Disponível em: <https://bit.ly/3B7okl0>

BRASIL. **Lei nº 7.735, de 22 de fevereiro de 1989.** Disponível em: <https://bit.ly/3dCApWw>

BRASIL. **Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.** Disponível em: <https://bit.ly/3BIWamG>

BRASIL. **Lei nº 9.795, de 27 de abril de 1999.** Disponível em: <https://bit.ly/3RdFWI8>

BRASIL. **Roteiro de atuação: desmatamento.** Brasília: Ministério Público Federal (MPF), 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3SjjOgl>

BRITO, L. T. L.; SILVA, A. S.; PORTO, E. R. **Disponibilidade de água e a gestão dos recursos hídricos.** Brasília: Embrapa, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/3RBFZy9>

BUCZENKO, G. L.; ROSA, M. A. Educação ambiental crítica e a educação para o desenvolvimento Sustentável (Eds): encontros e desencontros. **The Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 3882-3892, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3E0xB7t>

CANEPPELE, L. B. **Variação microclimática influenciada pela topografia e urbanização.** Tese (doutorado em física ambiental) – Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso. 2018. 78f. Disponível em: <https://bit.ly/3BUBIGI>

CARVALHO, L. M. Políticas públicas em educação ambiental no contexto da Conferência Nacional de Educação – CONAE 2010. **Rev. Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande do Sul, Edição Especial, p. 4-27, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/3y0G4E4>

CASTRO, M. N.; CASTRO, R. M.; SOUZA, P. C. A importância da mata ciliar no contexto da conservação do solo. **Rev. Eletrônica de Educação da Faculdade Araguaia**, Goiânia, v. 4, n. 4, p. 230-241, 2013. Disponível em: <https://bit.ly/3dswin3>

Censo 2010: população do Brasil é de 190.732.694 pessoas. IBGE, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/3Sfh1Fm>

CFBio. **Resolução nº 227, de 18 de agosto de 2010**. Disponível em: <https://bit.ly/3S8YrPI>

CHAVES, R. A.; ABE, D. S.; TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Fatores controladores da desnitrificação na coluna de água na Represa Velha do CEPTA/IBAMA, Pirassununga, São Paulo. **Boletim Técnico Científico do Cepnor**, Pará, v. 3, n. 1, p. 197-213, 2003. Disponível em: <https://bit.ly/3RXKfbz>

DALCIN, G.; MANGINI, L. F. K.; GODOI, L. Química ambiental e o impacto ambiental relacionado aos gases de efeito estufa. **Caderno Intersaberes**, Curitiba, v. 10, n. 27, p. 117-134, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3QUdKp7>

DARWIN, C. **A origem das espécies**. São Paulo: Edipro, 2018.

Declaração de Estocolmo. PNUMA, 1972. Disponível em: <https://bit.ly/3dT82dV>

DOWLER, R. C. Just What Is a Naturalist? Thoughts on Natural History in the Early 21st Century. **Natural Science Research Laboratory**, Estados Unidos, n. 71, p. 861-871, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3LILfhm>

Educação Ambiental: aprendizes de sustentabilidade. Brasília: MEC, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/3y2LpdZ>

Educação e meio ambiente. Florianópolis: Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), 2002. Disponível em: <https://bit.ly/3remWi7>

EVANS, S. **Analysis: which countries are historically responsible for climate change?** Carbon Brief, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3LVA05G>

FARIAS, J. F.; BORGES, F. R.; SILVA, E. V. Educação ambiental contextualizada no semiárido cearense: subsídios a gestão e preservação dos recursos hídricos. **Rev. Geosaberes**, Ceará, v. 3, n. 5, p. 30-36, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3SmJeu0>

FIGUEIREDO, C. C. **Propriedades físico-químicas da água com preparados homeopáticos**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2009. 69f. Disponível em: <https://bit.ly/3LrIX6l>

FRACALANZA, H.; AMARAL, I. A.; NETO, J. M.; EBERLIN, T. S. A educação ambiental no Brasil: panorama inicial da produção acadêmica. **V Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências**, São Paulo, p. 1-14, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3SmTjXV>

FRIEDE, R. Aumento populacional e degradação ambiental: a conta que não quer fechar. **Rev. Augustus**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 52, p. 82-93, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3xZof8n>

GONÇALVES, D. B. Desenvolvimento sustentável: o desafio da presente geração. **Rev. Espaço Acadêmico**, Paraná, v. 5, n. 51, p. 1-7, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3y2viNI>

GUARDA, V. D. A.; CAMPOS, L. J. M. **Bases ecofisiológicas da assimilação de carbono e suas implicações na produção de forragem**. Tocantins: Embrapa, 2014. Disponível em: <https://bit.ly/3QYw84s>

HAYMAN, J. Charles Darwin: his illness, surgeons and the Royal College of Surgeons. **The Bulletin of the Royal College of Surgeons of England**, Inglaterra, v. 101, n. 3, p. 100-104, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3S4sHKY>

História - 40 anos de regulamentação da profissão Biólogo. CRBio-01, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3DM6ux9>

História: Rio-92. Ipea, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/3dKh3WV>

Histórico da Profissão Biólogo. CRBio-06, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3SuE0fv>

HOLMER, S. A. **Histórico da educação ambiental no Brasil e no mundo**. Bahia: Universidade Federal da Bahia, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3SHBF0v>

Ibama. **Nota Técnica nº 16, de 30 de julho de 2020**. Disponível em: <https://bit.ly/3LHvyHB>

Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (IPJBRJ). Governo Federal, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3BEvNhH>

Jardim Botânico do Rio de Janeiro: 1808-2008. Rio de Janeiro: IPJBRJ, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/3BN08uG>

JUNIOR, N. L. S.; MATION, L. F.; SAKOWSKI, P. A. M. **Impacto do desmatamento sobre a incidência de doenças na Amazônia**. Brasília: Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (Ipea), 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3RZJ0J6>

LAACKONEN, S.; PÁL, V.; TUCKER, R. The Cold War and environmental history: complementary fields. **Cold War History**, Reino Unido, v. 16, n. 4, p. 1-18, 2016. Disponível em: <https://bit.ly/3ReONt6>

LAYRARGUES, P. P. Educação ambiental no Brasil: O que mudou nos vinte anos entre a Rio 92 e a Rio+20. **Rev. ComCiência**, São Paulo, v. 136, n. 136, p. 1-6, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3LQOW4T>

LIMA, M. M.; MIRANDA, M. G.; DUSEK, P. M.; AVELAR, K. E. S. A Quarta Revolução Industrial sob o tripé da sustentabilidade. **Rev. Semioses: Inovação**, Desenvolvimento e Sustentabilidade, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 76-86, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3reS6G5>

LINS, K. J. P.; LINS, M. A. F. Saneamento básico: impacto do esgoto despejado na orla de Olinda - PE. **Rev. Holos Environment**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 220-234, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3S0Njtr>

MACHADO, C. A. A.; RESENDE, A. C. L. Tecnologia, meio ambiente e democracia: reflexões necessárias. **Rev. de Investigações Constitucionais**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 749-771, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3Sw02OS>

MAIA, G. P. D.; SILVA, L. M. X.; RODRIGUES, M. V. S. Avaliação dos métodos de eliminação das Substâncias que Destroem a Camada de Ozônio (SDOs) através das ações de recolhimento e reciclagem dos fluidos refrigerantes. **X Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Ceará, p. 1-4, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3qOW9J4>

Manual de orientação e fiscalização do exercício profissional do biólogo. Brasília: CFBio, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3Ca9d2d>

MARQUES, E. J. Praga urbana: os pombos das grandes cidades estão se tornando um problema de saúde pública. **Rev. do Conselho Regional de Biologia**, São Paulo, v. 9, n. 36, p. 1-24, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3DjXfnx>

MATOS, T. P. P. B.; BATISTA, L. P. P.; PAULA, E. O. Notas sobre a história da educação ambiental no Brasil. **VI Congresso Nacional de Educação**, Paraíba, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://bit.ly/3RkZudq>

MEC. **Portaria nº 1.348, de 14 de dezembro de 2018.** Disponível em: <https://bit.ly/3CeMTo3>

MEC. **Resolução nº 2, de 15 de junho de 2012.** Disponível em: <https://bit.ly/3E2scNy>

MELO, A. G. S. **Impactos da contaminação ambiental do Rio Imbassai por lançamento de esgotos domésticos.** Monografia (Especialização em Gestão Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná. 2018. 62f. Disponível em: <https://bit.ly/3ShqStL>

MELO, L. L. P.; CARVALHO, A. V.; GUIMARÃES, A. P. M. A interdisciplinaridade da profissão biólogo. **Rev. Entrepreneurship**, Tocantins, v.1, n.1, p.28-33, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3DRwzec>

MIDDLETON, T. C. P. **Declínio de aves no arco do desmatamento amazônico.** Tese (Doutorado em Zoologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2016. 138f. Disponível em: <https://bit.ly/3RXjT9D>

MMA. **Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022.** Disponível em: <https://bit.ly/3L9q87D>

MORAIS, J. L.; VIEIRA, E. R.; MORTELLA, R. D. Os desafios da Conferência Nacional Infantojuvenil pelo Meio Ambiente: percepções dos participantes das Comissões Organizadoras Estaduais. **Rev. Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, Rio Grande do Sul, Edição Especial, p. 49-62, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3BU5Bik>

NETO, E. R. T. Educação ambiental como instrumento de política ambiental. **III Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Goiânia, p. 1-8, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3SHmnsG>

Origens da profissão e do Sistema CFBio/CRBios. CRBio-04, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3fmbOgA>

PACHECO *et al.* Levantamento sobre pontos de despejo de esgoto e percepção de banhistas sobre balneabilidade do Rio Turiaçu no município Santa Helena - MA. **Rev. Research, Society and Development**, São Paulo, v. 10, n. 14, p. 1-7, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3DG4UwC>

PAIXÃO, M. V. S.; PAIXÃO, G. P.; PAIXÃO, P. P. Doenças causadas por fatores ambientais na baixada do município de Santa Teresa - ES. **Rev. Ensino, Saúde e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 2, p. 33-43, 2013. Disponível em: <https://bit.ly/3DzrKGe>

Parâmetros Curriculares Nacionais: introdução aos parâmetros curriculares nacionais. Brasília: MEC, 1997. Disponível em: <https://bit.ly/3xXMHqC>

PASSOS, H. F. F.; CARNEIRO, V. A.; OLIVEIRA, A. L. R. A identificação de áreas de assoreamento no córrego Vaca Brava em Goiânia (GO) via trabalho de campo. **Rev. Mirante**, Goiás, v. 12, n. 2, p. 11-35, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3Lxw7Ui>

PASSOS, P. N. C. A Conferência de Estocolmo como ponto de partida para a proteção internacional do meio ambiente. **Rev. Direitos Fundamentais e Democracia**, Paraná, v. 6, n. 6, p. 1-25, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/3xW2JBy>

PEREIRA, S. S.; CURI, R. C. Meio Ambiente, impacto ambiental e desenvolvimento sustentável: conceituações teóricas sobre o despertar da consciência ambiental. **Rev. de Administração, Contabilidade e Sustentabilidade**, Paraíba, v. 2, n. 4, p. 35-57, 2012. Disponível em: <https://bit.ly/3SBJTbf>

Perguntas frequentes. CRBio-01, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3r0ly1m>

PIGNATTI, M. G. Saúde e ambiente: as doenças emergentes no Brasil. **Rev. Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 133-148, 2004. Disponível em: <https://bit.ly/3SnnPk1>

População. IBGE, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/2AiYFfJ>

Por que o PNUMA é importante? PNUMA, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3rafZPb>

PPA. Governo Federal, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3raKRiu>

Profissão biólogo - 40 anos de regulamentação. CFBio, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3dIDMCC>

Projeção da população do Brasil e das Unidades da Federação. IBGE, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/2AiYFfJ>

ProNEA. Brasília: MMA, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3UKPMEI>

Relatório anual do desmatamento no Brasil (2021). São Paulo: MapBiomass, 2022. Disponível em: l1nq.com/qMCUR

RIBEIRO, J. W.; ROOKE, J. M. S. **Saneamento básico e sua relação com o meio ambiente e a saúde pública**. Monografia (Especialização em Análise Ambiental) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais. 2010. 36f. Disponível em: <https://bit.ly/3Ls0j35>

RODRIGUES, H. J. B.; GOMES, D. J. C.; COSTA, A. C. L. Avaliação estatística do crescimento populacional de micro-organismos de solo associado à sazonalidade microclimática em uma floresta tropical úmida. **Rev. Brasileira de Geografia Física**, Pernambuco, v. 15, n. 4, p. 2086-2103, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3Lud6BR>

SANTOS, T. O.; FILHO, V. S. A.; ROCHA, V. M.; MENEZES, J. S. Os impactos do desmatamento e queimadas de origem antrópica sobre o clima da Amazônia brasileira: um estudo de revisão. **Rev. Geográfica Acadêmica**, Roraima, v. 11, n. 2, p. 157-181, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3S2XvMm>

SANTOS, M. A.; ROSA, L. P.; MATVIENKO, B.; SANTOS, E. O.; D'ALMEIDA ROCHA, C. H. E.; SIKAR, E. SILVA, M. B.; JUNIOR, A. M. P. B. Emissões de gases de efeito estufa por reservatórios de hidrelétricas. **Rev. Oecologia brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 116-129, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/3f7kjMl>

SANTOS, M. R. R. A importância da avaliação de impacto ambiental independente do licenciamento. **XII Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, Bahia, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3fhnOjp>

SANTOS, T. C.; COSTA, M. A. F. Um olhar sobre a educação ambiental expressa nas diretrizes curriculares nacionais para a educação ambiental. **Rev. Práxis**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 13, p. 143-151, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3SGOh8o>

SÃO PAULO. **Cadernos de Educação Ambiental: Matas ciliares**. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente, 2014. Disponível em: <https://bit.ly/3BV5u8z>

SARAIVA, R. V. C. Paisagismo brasileiro revisitado. **Rev. Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 56, n. 332, p. 50-51, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/3SuDDkR>

SAVIANI, D. Sistema Nacional de Educação articulado ao Plano Nacional de Educação. **Rev. Brasileira de Educação**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 44, p. 380-412, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/3frjn5z>

SCHERER, L.; FRANCO, M. B.; FERNANDES, S. B. V. Eco-92: Nuances, avanços e interrogações. **XXI Jornada de Pesquisa**, Rio Grande do Sul, p. 1-5, 2016. Disponível em: <https://bit.ly/3rfZZLy>

SILVA, C. E. M. TEIXEIRA, S. F. Educação ambiental no Brasil: reflexões a partir da década da educação para o desenvolvimento sustentável das Nações Unidas (2005-2014). **Rev. Educação (UFSM)**, Santa Maria, v. 44, n. 44, p. 1-20, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3Ehd4vV>

SILVEIRA, R. R. **Natureza, ciência e religião: uma avaliação do Naturalismo**. Dissertação (Mestrado em Filosofia) – Universidade de Brasília, Brasília. 2014. 127 f. Disponível em: <https://bit.ly/3xRNYPU>

Sistema CFBio/CRBios. CRBio-08, 2022. Disponível em: <https://bit.ly/3DSW3rw>

SOARES, C. J. Educação e desenvolvimento sustentável: aspectos legais. **Cadernos do Aplicação**, Porto Alegre, v. 24, n. 2, p. 277-296, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/3y1Heiu>

SOARES, T. O.; ALMEIDA, A. A.; MORAES, A. E. F.; SOUSA, M. C. B. C.; LEITE, T. S. A. Impactos ambientais causados pelo desmatamento: uma revisão sistemática da literatura. **Rev. Saúde e Meio Ambiente**, Três Lagoas, v. 9, n. 2, p. 66-73, 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3BScL8W>

SOARES, W. N.; VASCONCELOS, F. C. W. A utilização de tecnologias de informação e comunicação como recurso didático para a promoção da educação ambiental. **Rev. Tecnologias na Educação**, Minas Gerais, v. 25, n. 25, p. 1-16, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/3fgZEFI>

SOUZA, G. C. P. **Crescimento econômico, desmatamento e emissões de gases de efeito estufa: análises prospectivas para os biomas brasileiros numa perspectiva de sustentabilidade**. Tese (Doutorado em Economia Aplicada) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais. 2022. 200f. Disponível em: <https://bit.ly/3qS7NTt>

SOUZA, J. N. S.; BENEVIDES, R. C. A. Educação ambiental para o desenvolvimento sustentável e o comprometimento das Universidades/Faculdades do Município do Rio de Janeiro, RJ. **II Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia (SEGeT)**, Rio de Janeiro, p. 531-548, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3UJMjpo>

STIEFELMANN, G. C. **Mudanças na visão sobre ambiente entre Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e o Desenvolvimento (Eco-92) e a Conferência das Nações Unidas para o Desenvolvimento Sustentável (Rio+20)**. Monografia (Graduação em Relações Internacionais) — Universidade do Sul de Santa Catarina, Florianópolis. 2012. 88f. Disponível em: <https://bit.ly/3BL96sc>

TANNOUS, S.; GARCIA, A. Histórico e evolução da educação ambiental, através dos tratados internacionais sobre o meio ambiente. **Rev. Nucleus**, v. 5, n. 2, p. 183-196, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/3Sj5Jjf>

Unidades de Conservação no Brasil. World Wide Fund for Nature (Fundo Mundial para a Natureza), 2019. Disponível em: <https://bit.ly/3LHoCKI>

VALPASSO, M. J.; CASTOR, K. G. **Guia didático de educação ambiental crítica**. Vitória: Diálogo Comunicação e Marketing, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3SFhksS>

Vamos cuidar do Brasil: conceitos e práticas em educação ambiental na escola. Brasília: MEC: MMA: UNESCO, 2007. Disponível em: <https://bit.ly/2DzwfmR>

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícolas**. Brasília: Embrapa, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/3f5uMaN>

WINK, C.; GUEDES, J. V. C.; FAGUNDES, C. K.; ROVEDDER, A. P. Insetos edáficos como indicadores da qualidade ambiental. **Rev. de Ciências Agroveterinárias**, Santa Catarina, v. 4, n. 1, p. 60-71, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/3BUbDR1>

ZEZZO, L. V.; COLTRI, P. P.; MIRANDA, M. J.; ZULLO JÚNIOR, J. Doenças infecciosas no contexto das mudanças climáticas e da vulnerabilidade socioambiental. **Rev. Brasileira de Climatologia**, Paraná, v. 28, n. 17, p. 671-697, 2021. Disponível em: <https://bit.ly/3xF1tTb>

CAPÍTULO 8

NOTAS SOBRE LA CONDUCTA *XYLOCOPA* (*NEOXYLOCOPA*) *AUGUSTI* LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, UNA ESPECIE NO NATIVA EN CHILE CENTRAL. ADEMÁS DOCUMENTAMOS LA PRESENCIA DE LA ESPECIE DEL GÉNERO *AGAPOSTEMON* EN SANTIAGO, CHILE

Data de submissão: 01/12/2022

Data de aceite: 02/01/2023

Alejandro Correa Rueda

Evolutionary Biologist
Félix de Amesti N° 991, Dp. 502, Las
Condes (CP. 7580350), Santiago, Chile
<http://orcid.org/0000-0003-2067-4611>

Javier Rendoll Cárcamo

Universidad de Magallanes
Programa de Conservación Biocultural
Subantártica (PCBS)
Puerto Williams, Chile
<http://orcid.org/0000-0003-1928-0914>

Ricardo Rozzi

Instituto de Biología y Biodiversidad,
Departamento de Ciencias Ecológicas.
Facultad de Ciencias. Universidad de
Chile. Casilla 653, Santiago. Chile
<http://orcid.org/0000-0001-5265-8726>

RESÚMEN: Registramos una colonia de la gran abeja carpintera *Xylocopa augusti* en un tronco de *Acer* muerto en Santiago, Chile. Documentamos, tanto a las hembras como a los machos, visitando y polinizando flores no nativas de *Erysimum linifolium* y *Aesculus hippocastanum*. Además del primer registro de la interacción de esta especie con estas especies vegetales, describimos características de comportamiento poco

conocidas en la zona central de Chile. Documentamos también la presencia de la especie del género *Agapostemon* en Santiago, Chile.

PALABRAS CLAVE: *X. augusti*, Abeja carpintera, Polinizador, Conducta, Chile central.

NOTAS SOBRE O COMPORTAMENTO *XYLOCOPA* (*NEOXYLOCOPA*) *AUGUSTI* LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, UMA ESPÉCIE NÃO NATIVA NO CHILE CENTRAL. AINDA DOCUMENTAMOS A OCORRÊNCIA DAS ESPÉCIES DO GÉNERO *AGAPOSTEMON* EM, SANTIAGO, CHILE

RESUMO: Registamos uma colônia da grande abelha carpinteira *Xylocopa augusti* num tronco *Acer* morto em Santiago, Chile. Documentamos, tanto fêmeas como machos, visitas e polinização de flores não nativas de *Erysimum linifolium* e *Aesculus hippocastanum*. Para além do primeiro registo da interação desta espécie com estas espécies vegetais, descrevemos características de comportamento pouco conhecidas no centro do Chile. Documentamos também a presença das

espécies do género *Agapostemon* em Santiago, Chile.

PALAVRAS-CHAVE: *X. augusti*, Abelha Carpinteira, Polinizadora, Conducta, Central do Chile.

NOTES ON THE BEHAVIOUR OF *XYLOCOPA (NEOXYLOCOPA) AUGUSTI* LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, A NON-NATIVE SPECIES ON CENTRAL CHILE. FURTHER WE DOCUMENT THE OCCURRENCE OF THE SPECIES OF THE GENUS *AGAPOSTEMON* IN CHILE

ABSTRACT: We recorded a colony of the large carpenter bee *Xylocopa augusti* on a dead *Acer* trunk in Santiago, Chile. We documented, both females and males, visiting and pollinating non-native flowers of *Erysimum linifolium* and *Aesculus hippocastanum*. In addition to the first record of this species interaction with these plant species, we describe poorly known behaviour features in central Chile. We document also, the presence of the species of the genus *Agapostemon* in Santiago, Chile.

KEYWORDS: *X. augusti*, Large carpenter bee, Pollinator, Behaviour, Central Chile.

VERHALTEN VON *XYLOCOPA (NEOXYLOCOPA) AUGUSTI* LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, EINE NICHT EINHEIMISCHE HOLZBIENE TAXA IN ZENTRALCHILE. WEITER WIR DOKUMENTIEREN DAS VORKOMMEN DER SPEZIES DER GATTUNG *AGAPOSTEMON* IN SANTIAGO, CHILE

ZUSAMMENFASSUNG: Wir haben eine Kolonie der großen Tischlerbiene *Xylocopa augusti* auf einem abgestorbenen *Acer*-Stamm in Santiago, Chile, beobachtet. Wir dokumentierten, dass sowohl die Weibchen als auch die Männchen Blüten von *Erysimum linifolium* und *Aesculus hippocastanum*, die nicht heimisch sind, besuchten und bestäubten. Neben dem ersten Nachweis der Interaktion dieser holzbiene mit diesen Pflanzenarten beschreiben wir wenig bekannte Verhaltensmerkmale in Zentralchile. Wir dokumentieren auch das Vorkommen von spezies der Gattung *Agapostemon* in Santiago, Chile.

SCHLÜSSELWÖRTER: *X. augusti*, holzbiene, Polinizator, Verhalten, Zentralchile.

NOTES SUR LE COMPORTEMENT DE *XYLOCOPA (NEOXYLOCOPA) AUGUSTI* LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, UNE ESPÈCE NON INDIGÈNE DANS LE CENTRE DU CHILI. ENCORE NOUS DOCUMENTONS LA PRÉSENCE DES ESPÈCES DU GENRE *AGAPOSTEMON* AU SANTIAGO, CHILI

RÉSUMÉ: Nous avons enregistré une colonie de la grande abeille charpentière *Xylocopa augusti* sur un tronc d'érable *Acer* mort à Santiago, au Chili. Nous constatons que les femelles et les mâles visitent et pollinisent les fleurs non indigènes d'*Erysimum linifolium* et d'*Aesculus hippocastanum*. Outre le premier enregistrement de l'interaction de cette espèce avec ces espèces végétales, nous décrivons des caractéristiques comportementales peu connues dans le centre du Chili. Nous documentons également la présence de l'espèce du genre *Agapostemon* à Santiago, Chili.

MOTS CLÉS: *X. augusti*, abeille charpentière, pollinisateur, comportement, Chili central.

Xylocopa (Neoxylocopa) augusti Lepeletier de Saint Fargeau 1841, es una especie introducida de abeja carpintera en Chile (Montalva *et al.*, 2013). Y este taxón es autóctono de Argentina, Brasil, Uruguay y Paraguay (Ospina, 2000). Presenta un marcado dimorfismo sexual entre machos y hembras, siendo los primeros completamente anaranjados (Fig. 1) y la hembra es mayormente negra con los costados del abdomen anaranjados (Fig. 2) (Mariano, 2011). Las abejas carpinteras son consideradas solitarias, nectarívoras y/o polenívoras, (Pozzi, 1972; Minckley, 1998; Tellería, 1999; Chinery, 2012). Muchas especies de *Xylocopinae* son abejas poliléticas (Ospina, 2000), viven en parejas (Mariano, 2011) y son primitivamente eusociales (Batra, 1966; Engels & Buschinger, 1990) (ver Fig. 3, 4). Estas abejas carpinteras intervienen en la polinización de varias plantas silvestres en Sudamérica (Pinilla-Gallegos *et al.* 2015). En Chile central polinizan algunas especies de plantas con flores, sin embargo, poco se conoce de otras interacciones con flora y fauna (Montalva *et al.*, 2013). En general las especies introducidas de polinizadores compiten por alimento con las nativas (Morales, 2007) si visitan las mismas plantas, lo cual es común dado el carácter generalista de muchas de estas especies invasoras (Montero-Castaños *et al.*, 2018). Durante el proceso de adaptación al nuevo ecosistema, estas especies adaptan su actividad de forrajeo a la nueva situación con el fin de optimizar la ingesta de alimentos (Armbruster & Herzig, 1984; Mustajärvi *et al.*, 2001). Las interacciones polinizador-planta no ocurren de forma aislada, sino inmersas en redes complejas de interacción (Schweiger, 2010; Novella-Fernandez *et al.*, 2019). El parque urbano en que se realizaron nuestras observaciones posee principalmente vegetación exótica y ornamentales de jardines, siendo común observar visitas de polinizadores no nativos tales como *X. augusti*. Usualmente, los polinizadores introducidos muestran preferencias por plantas también introducidas. Los parques urbanos, al ser ambientes alterados, facilitarían su establecimiento, reproducción y posterior extensión de distribución (Montero-Castaños *et al.*, 2018). En este trabajo destacamos la visita y polinización a dos plantas con flores no nativas que se mencionan por primera vez en Chile, polinizadas por *X. augusti*, una especie de crucífera, Alhelí morado (*Erysimum linifolium*) (Fig. 5 y 6) y una especie de Sapindaceae, Castaño de Indias (*Aesculus hippocastanum*) (Fig. 7) por esta gran abeja carpintera y que transporta grandes “paquetes” de polen en sus tibias (Mariano, 2011). Además, aportamos algunas observaciones de rasgos conductuales poco conocidos de este potencial polinizador (Roubik, 1992; Gordon *et al.*, 1997), introducido en Chile. Por otra parte documentamos la presencia no nativa de la especie del género *Agapostemon* de conducta primitivamente eusocial (Batra, 1966), en Santiago, Chile.

Se observaron varios nidos (n= 19) de *X. augusti*, cercanos (entre 12 a 50 cm de distancia uno de otro) y en el mismo tronco muerto en pie de un arce (*Acer negundo*) de 89 cm perímetro de ancho a la altura del pecho y una altura de 4 metros. El tronco muerto de *A. negundo* y los nidos de *X. augusti* están ubicados en el Parque Araucano, Santiago, Chile (33° 24'S; 70° 34' W), que es un parque urbano utilizado para uso recreativo y áreas verdes.

Las observaciones fueron realizadas por 15 días del mes de octubre del año 2022. Durante la mañana de 10:00 am hasta las 13:00 pm y parte de la tarde desde las 14:00 hasta las 16:00 pm, incluso 4 días hasta las 20:00 pm. Se observaron siete ejemplares hembras (♀) y siete machos (♂) activos en sus nidos. Se observaron ejemplares de machos (♂) imagos salir de los nidos (n=6) (Fig. 8,9 y 10) y hembras (♀) (n=5). Algunos imagos (♂) no se orientaban bien en el ingreso a los nidos y se quedaban en la corteza del tronco de arce. Y en algunos casos por más de 24 horas. Para las fotografías de los ejemplares y flores se utilizó una cámara Cannon Power-Shot modelo SX500 IS. Se observaron individuos adultos de ambos sexos (♀,♂) polinizando y libando néctar de las especies no nativa de *E. linifolium* que se ubicaban a 423 metros lineales del nido en dirección nororiente y las especies no nativa *A. hippocastanum* que se ubicaban a 480 m lineales del nido en dirección nororiente. En el período de estudio en el parque, se observaron a los individuos de adultos y su descendencia polinizando y recolectando el polen de las dos especies vegetales ya mencionadas. Adicionalmente, se observaron ejemplares machos y hembras visitando las flores de *E. linifolium* y *S. hippocastanum* a una tasa de 11 flores/min, concordante con los estudios de Heinrich (1975). Durante la tarde, y a la hora de mayor temperatura (15:00 hrs), época estival en Chile, machos adultos de esta especie mostraban rasgos de agotamiento excesivo, refugiándose y descansando en la superficie de los pétalos de las flores de taxones del género *Rosa* (Fig. 11), que son linajes híbridos de rosas de jardín (Tan *et al.*, 2017; Medan *et al.*, 2004), no nativas. Y cayendo débilmente al suelo, hasta recuperarse después de 12 minutos. El mecanismo para alivianar su cuerpo era liberar los sacos de polen de las tibias para desprenderse del peso y luego poder alzar su vuelo. En cuanto al cuidado parental, constatamos que estas abejas tienden a ser gregarias, construyendo sus nidos uno al lado del otro y no se mostraron agresivas a pesar de las cortas distancias para ser observadas, incluso se observaron ejemplares de *X. splendidula* (Montalva *et al.*, 2008), anidando en el mismo *Acer* muerto y nunca se observó agresión entre estas especies de *Xylocopa*, pero si se observó agresión interespecífica por parte la especie del género *Agapostemon* (La Berge *et al.*, 1966; Eickwort, 1969; Abrams, *et al.* 1981), que es una especie no nativa en Chile y primitivamente eusocial, contra *X. augusti*, en el mismo *Arce* muerto. Hembras y machos de *X. augusti* se dividían en turnos para salir a forrajear, mientras uno cuidaba y alimentaba por trofalaxis a sus crías del nido, el otro iba de forrajeo. Observamos que las hembras adultas regresan al nido alrededor de las 20:00 hrs, cuando ya no había luz solar y se orientaba sin problemas al nido correspondiente, con exactitud. Una vez que los machos juveniles salen del nido, los machos adultos abandonan el nido. Y las hembras tanto maternas como las descendientes hembras siguen en los nidos, ya que son primitivamente eusociales (Danforth, 2001), protegiendo a los imagos y el nido (Fig. 3 y 4) y las madres alimentando a su descendencia y enseñando a los juveniles a distinguir las flores que contienen néctar, específicamente las flores no nativas documentadas para este estudio: *E. linifolium* y *A. hippocastanum* (Fig.12). *X. augusti* (♀,

♂) coopera y poliniza las flores no nativas de *E. linifolium* y *A. hippocastanum* en el parque Araucano situado en Chile central y pensamos que tienen una conducta oligoléctica, en este ecosistema alterado. Y existe solapamiento de nicho con otros polinizadores nativos y no nativos tales como: *Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, *Chilicola vernalis*, *Callistochlora chloris*, *Xenochilicola diminuta*, *Zyzyx chilensis*, *X. splendidula* y mariposas como *Phoebius sennae* y *Vanessa carye* (Peña, 1996; Pozzi, 1988), en ambas especies de plantas no nativas que fueron polinizadas por *X. augusti* lo que supone una disminución del recurso disponible para los polinizadores nativos y exóticos (Hansen *et al.*, 2002; Valido *et al.*, 2004; Lach, 2007). Concluimos que *X. augusti* la gran abeja carpintera se está reproduciendo exitosamente como especie invasora en esta área de la región metropolitana a pesar de la intervención humana y aglomeración de gente en el parque. Observamos ejemplares de imagos machos que no lograban alzar el vuelo desde el nido y en algunos casos, estos no soportaban las altas temperaturas del sol de la tarde apoyados en la corteza del arce muerto, probablemente por no estar totalmente maduros, y sin poder alzar el vuelo agonizando hasta morir (n=4). Los imagos machos son obligados a abandonar el nido (Fig. 8 y 9) y las hembras hijas se quedan en el nido cumpliendo funciones de cuidadoras y mantenimiento del nido (Fig. 3 y 4). Consideramos que la población no nativa de *X. augusti* como invasor en Chile, no reviste mayores peligros, ya que no son agresivos. Y como para infectar con parásitos intestinales (Sihag, 1993) a otras especies de *Bombus* nativos que son eficientes polinizadores, ya que *X. augusti* no los posee (Fernández, 2020) Empero en este estudio, no se observó solapamiento de nicho con *Bombus* nativos en las plantas no nativas elegidas para forrajear. Por otra parte los polinizadores en general favorecen en algunos cultivos el aumento de la producción (Sihag, 1993; Sihag, 2012; Needham *et al.*, 1969) y pensamos que *X. augusti* es un potencial polinizador tanto de plantas con flores nativas como no nativas. Al margen de este estudio, observaciones preliminares muestran que *X. augusti* ha invadido otras comunas de Santiago, ya que fueron observados fuera del área de estudio individuos hembras adultas polinizando la especie no nativa en Chile del género *Passiflora*, *Passiflora caerulea* (Fig. 13), que es una planta nativa de Argentina, Perú, Brasil, Bolivia y Uruguay (Deginani, 2001). Se observaron en las comunas de La Florida (33° 30' S; 70°36' W) polinizando las plantas no nativas de maracuyá y ligustrina (*Ligustrum japonicum*). Y también se observaron hembras adultas en la comuna de Providencia y Las Condes (33° 25' S; 70° 36' W y 33° 25' S; 70° 32' W) (Fig. 14) polinizando la especie no nativa *P. caerulea*. No obstante, se observaron hembras adultas en la comuna de La Cisterna (33° 31' S; 70° 40' W), polinizando flores de la especie no nativa en Chile del género *Malva*: *Alcea rosea* (Fig. 15). Por otra parte confirmamos la presencia de *X. splendidula* en Santiago por Montalva y otros 2008 y la observación de al menos 5 individuos hembras de la especie *Agapostemon sp.*, del género *Agapostemon* (Fig. 17 y 18) de color verde metálico (33° 24' S; 70° 34' W) que es una especie de *Halictido* no nativos y polilécticos y en que hubo solapamiento de nicho con *X. augusti* en este parque urbano.

Esperamos que esta nota breve sea un aporte para otras investigaciones futuras sobre este activo polinizador no nativo invasor en Chile central.

AUTORIZACIONES/ RECONOCIMIENTOS

Los autores se hacen responsables de todo el contenido del trabajo. Agradecemos a Donata Rossi, Claudia Gutiérrez y Francisco Maino por sus valiosas observaciones y registros fotográficos de *X.augusti* hembras adultas en otras comunas de Santiago.

REFERENCIAS

- ABRAMS, J & G. EICKWORT.1981. Nest switching and guarding by the communal sweat bee *Agapostemon virescens* (Hymenoptera, Halictidae). *Insectes Sociaux*, 28: 105–116.
- AIZEN, M.A. & P. FEINSINGER. 1994. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine Chaco Serrano. *Ecological Applications*, 4: 378–392.
- ARMBRUSTER, W.S. & A.L. HERZIG. 1984. **Partitioning and sharing of pollinators by four sympatric species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Panamá.** *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 71: 1–16.
- BATRA, SWT. 1966: **Nests and social behavior of halictine bees of India (Hymenoptera: Halictidae).** *Indian Journal of Entomology*, 28: 375-393.
- CHINERY, M.2012. **Insetti.** Viggiano ed. Italy. ISBN 978-88-7887-783-2
- EICKWORT, G.1969. **Tribal Positions of Western Hemisphere Green Sweat Bees, with Comments on Their Nest Architecture (Hymenoptera: Halictidae).** *Annals of the Entomological Society of America*. Vol. 62: 652-660.
- ENGELS, W & A. BUSCHINGER.1990. **Caste Systems: Social Insects. An Evolutionary Approach to Castes and Reproduction.** Wolf Engels, Eds. Springer-Verlag, New York,VI, 265 pp., illus. ISBN-13: 978-3642744921
- DANFORTH, BN. 2001. **Evolution of sociality in a primitively eusocial lineage of bees.** Edited by Charles D. Michener, University of Kansas, Lawrence, KS PNAS, Vol. 99:(1) 286-290.
- DEGINANI, N. 2001. **Las especies Argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae).** *Darwiniana*, 39(1-2): 43-129
- FERNÁNDEZ, K. 2020. **Detección de parásitos intestinales en *Bombus terrestris* y *Xilocopa augusti* en Chile Central mediante técnicas moleculares.** Tesis de Grado. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/176514>
- GORDON W. F, VINSON, SB., RIZZARDI, MA., GRISWOLD, TL., O'KEEFE,S & R. SNELLING. 1997. **Diversity and Abundance of Bees Visiting a Mass Flowering Tree Species in Disturbed Seasonal Dry Forest, Costa Rica.** *Journal of the Kansas Entomological Society*. Published By: Kansas (Central States). *Entomological Society*, Vol. 70 (4): 281-296.

- HANSEN, D.M., OLESEN, J.M., JONES, C.G. 2002. **Trees, birds and bees in Mauritius: exploitative competition between introduced honey bees and endemic nectarivorous birds?** *Journal of Biogeography*, 29(5-6):721–734.
- HEINRICH, B. 1975. **Bee flowers: A hypothesis on flower variety and blooming times.** *Evolution*, 29:325-335.
- LA BERGE, WE. & W. RIBBLE. 1966. **"The Nests and Larvae of Two Species of Agapostemon (Hymenoptera: Halictidae)."** *Journal of the Kansas Entomological Society*, 39 (3): 467–72
- LACH, L. 2007. **A mutualism with a native membracid facilitates pollinator displacement by Argentine ants.** *Ecology*, 88: 1994–2004.
- MARIANO, L. 2011. **Estudio biosistemático de las abejas de la tribu *Xylocopini* (Hymenoptera: Apidae) de interés agronómico en Argentina.** Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata, U. Nac. de La Plata. Bs. Aires.
- MEDAN, D., & C. SCHIRAREND. 2004. **The Families and Genera of Vascular Plants. VI. Flowering Plants: Dicotyledons. Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales.** Rhamnaceae in Kubitzki, K. (ed.), Springer, Berlin, Pp. 320-338
- MINCKLEY, R. L. 1998. **A cladistic analysis and classification of the subgenera and genera of the large carpenter bees, tribe *Xylocopini* (Hymenoptera: Apidae).** *Scientific Papers, Natural History Museum, University of Kansas*, 9:1-47.
- MINCKLEY, R. L., BUCHMANN, S. L., WCISLO, W. 1991. **Bioassay evidence for a sex attractant pheromone in the large carpenter bee, *Xylocopa varipuncta* (Anthophoridae: Hymenoptera).** *J. Zool. Soc. London*, 224: 285-291
- MONTERO-CASTAÑO, A., CALVIÑO-CANCELA, M., ROJAS-NOSSA, S., DE LA RÚA, P., ARBETMAN, M., & C. MORALES. 2018. **Invasiones biológicas y pérdida de polinizadores.** *Ecosistemas*, 27(2), 42-51.
- MONTALVA, J., DUDLEY, LS., KALIN ARROYO, MT. 2008. **Primer registro de *Xylocopa (schonnherria) splendidula* Lepeletier 1841 (hymenoptera: apidae: xylocopini) para la zona mediterránea de Chile.** *Gayana (Concepción)* V.72 (2):258-260.
- MONTALVA, J., ALLENDES, JL., MARIANO, L. 2013. **The large carpenter bee *Xylocopa augusti* (Hymenoptera: Apidae): New record for Chile.** *Journal of Melittology*, 12 pp. 1-6.
- MORALES, C. 2007. **Introducción de abejorros (*Bombus*) no nativos: causas, consecuencias ecológicas y perspectivas.** *Ecología austral*, 17:1. Córdoba, Argentina.
- MUSTAJÄRVI, K., SIIKÄMAKI, P., RYTKÖNEN, S. 2001. **Consequences of plant population size and density for interactions and plant performance.** *Journal of Ecology*, 89: 80–87.
- NEEDHAM, PH & JH, STEVENSON. 1969. **Las abejas en la agricultura.** *Bee World*, 50:1, 7-8, DOI: 10.1080/0005772X.1969.11097234
- NOVELLA- FERNANDEZ, R., RODRIGO A., ARNAN X., BOSH J. 2019. **Interaction strength in plant-pollinator networks: Are we using the right measure?.** *PLoS ONE*, 14(12). DOI:10.1371/journal.pone.0225930

- OSPINA, M. 2000. **Abejas Carpinteras (Hymenoptera: Apidae: Xylocopinae: Xylocopini) de la Región Neotropical**. Biota Colombiana. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alex. von Hum.". Vol. 1 (3): pp. 239-252. Bogotá, Colombia.
- PARRA, A & G.N. PARRA. 2009. **La arquitectura de nidos de *Euglossa (Euglossa) hemichlora* (Hymenoptera: Apidae: Euglossini)**. Revista Colombiana de Entomología 35 (2): 283-285 (2009)
- PEÑA, LE. 1996. **Introducción al estudio de los insectos de Chile**. Guía de campo. Editorial Universitaria S.A., Santiago, Chile. 253 pp.
- POZZI, G.1972. **Insetti d'Italia**. Aldo Martello Editore. Verona, Italia.156 pp.
- POZZI, G.1988. **Insetti d'Italia e D'Europa. Conocerli y Reconocerli**. Ed. Giorgio Mondadori. Milano, Italia.156 pp.
- PINILLA-GALLEGOS, M & G.N.PARRA. 2015. **Diversidad de visitantes y aproximación al uso de nidos trampapara *Xylocopa* (Himenóptera: Apidae) en una zona productora de pasifloras en Colombia**. Actualidades Biológicas, 37 (103):143-153.
- ROUBIK, DW.1992. **Ecology and Natural History of Tropical Bees**. Cambridge tropical biology series. Cambridge University press. EUA.
- SCHWEIGER, O., BIESMEIJER, J.C., BOMMARCO, R., HICKLER, T., HULME, P.E.,KLOTZ, S., INGOLF, K. 2010. **Multiple stressors on biotic interactions: how climate change and alien species interact to affect pollination**. Biological Reviews, 85: 777–795.
- SIHAG, RC.1993. **Behaviour and ecology of the subtropical carpenter bee, *Xylocopa fenestrata* F. 8. Life cycle, seasonal mortality, parasites and sex ratio**. Journal of Apicultural Research, 32:2, 109-114.
- SIHAG, RC.1993. **Behaviour and ecology of the subtropical carpenter bee, *Xylocopa fenestrata* F. 6. Foraging dynamics, crop hosts and pollination potential**. Journal of Apicultural Research, 32:2, 94-101.
- SIHAG, RC. 2012. **Bee diversity for floral diversity**. Journal of Nature Science and Sustainable Technology, Vol. 6 (4): 271-276.
- TAN, J., WANG, J., LUO, L.,YU, CH., XU, T., WU, Y., CHENG, T., WANG, J., PAN, H., ZHANG, Q. 2017. **Genetic relationships and evolution of old Chinese garden roses based on SSRs and chromosome diversity**. Scientific Rep. 7: 15437.
- TELLERÍA, MC.1999. **Pollen collected by *Xylocopa augusti* (Hymenoptera, Apidae) in the northwestern of the Buenos Aires province, Argentina**. Journal Darwiniana, 37(3-4): 253-258.
- VALIDO, A., DUPONT, L., OLESEN, J.M. 2004. **Bird-flower interactions in the Macaronesian islands**. Journal of Biogeography, 31: 1945–1953.



Figura 1: Macho adulto de *X. augusti* entrando al nido de un *Acer* muerto.



Figura 2: Hembra adulta de *X. augusti* ingresando al nido del tronco de *Acer*.



Figura 3 y 4: Hembras adultas (madre e hijas) de *X.augusti* en su nido protegiendo a su descendencia. Son primitivamente eusociales.

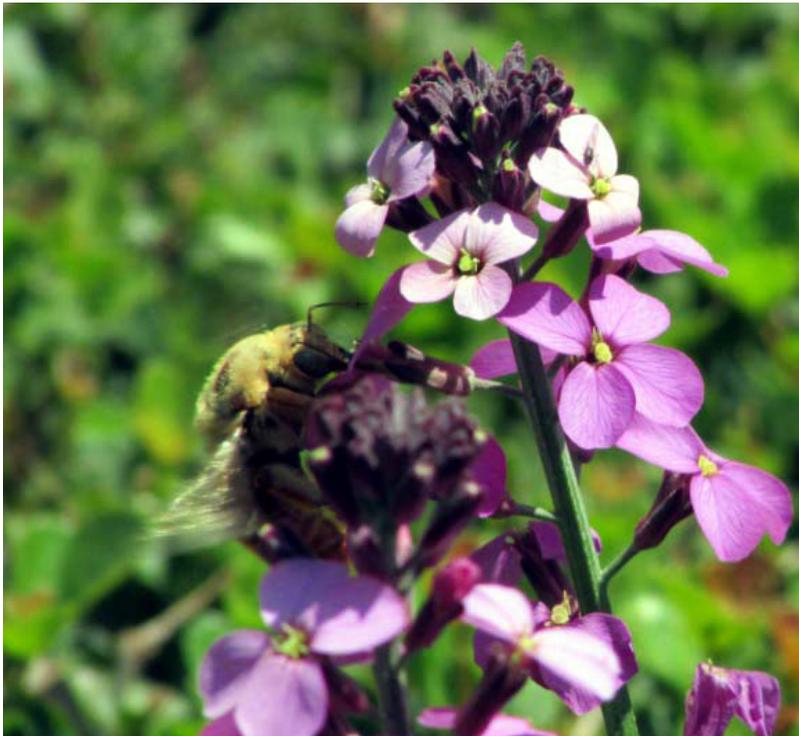


Figura 5: macho de *X. augusti* polinizando Alhelí morado.

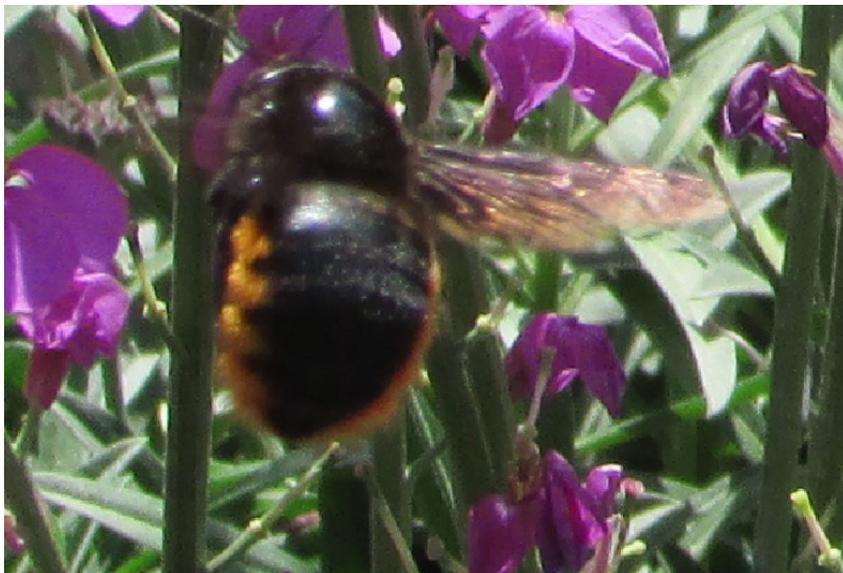


Figura 6: hembra adulta de *X. augusti* polinizando Alhelí morado



Figura 7: hembras de *X. augusti* polinizando castaño de Indias.



Figura 8: 3 Imagos juveniles de *X. augusti* machos, abandonando el nido.



Figura 9: dos Imagos de *X. augusti* machos y hembra materna adulta en vuelo.



Figura 10: 3 Imagos de *X. augusti* machos juveniles



Figura 11: macho adulto de *X. augusti* descansando en una especie del género *Rosa*.



Figura 12: Juvenil *X. augusti*



Figuras 13, 14, 15: Hembras *X. augusti*



Figura 16 y 17: presencia de la especie del género *Agapostemon* en Chile: (ejemplar hembra, de 14,45 mm vista dorsal y vista ventral).

PROTEOMICA COMPARATIVA DE FOLHAS DE MARACUJÁ TRATADAS COM METIL JASMONATO

Data de submissão: 12/11/2022

Data de aceite: 02/01/2023

Viviane Abrantes Perdizio

Laboratório de Biotecnologia, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4443281110967677>

Jucélia da Silva Araújo

Laboratório de Química de Função de Proteínas e Peptídeos, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6836282001181646>

Olga Lima Tavares Machado

Laboratório de Química de Função de Proteínas e Peptídeos, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8204780680625242>

Joelma Saldanha

Laboratório de Toxinologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5287367068896399>

Jonas Perales

Laboratório de Toxinologia, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5792347469122034>

Vanildo Silveira

Laboratório de Biotecnologia, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5487343211549907>

Tânia Jacinto

Laboratório de Biotecnologia, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1925768768544149>

RESUMO: O maracujá é uma frutífera da família Passifloraceae, pertencendo ao gênero *Passiflora*, possuindo aproximadamente 150 espécies nativas brasileiras. Dentre elas, a mais comercializada é a espécie *Passiflora edulis* Sims, comumente conhecida como maracujá azedo ou maracujá amarelo. Devido o Brasil apresentar um clima tropical, o cultivo dessa fruta é observado em todo território nacional, o que faz o país ser um dos maiores produtores mundiais. Contudo, essa planta sofre com inúmeros ataques de patógenos e insetos. Logo, estudos relacionados aos mecanismos de defesa dessa planta para suportar

esses ataques são de suma importância, uma vez que eles atuam diretamente reduzindo a produção de frutos dessa planta. Com o objetivo de estudar os mecanismos de defesa desta cultura tropical, uma abordagem proteômica foi utilizada para investigar os perfis de proteínas (2D-PAGE) de folhas expostas ao metil-jasmonato (MeJa) durante 24 e 48 h. Nossa análise proteômica foi estendida às proteínas acumuladas naturalmente na polpa da fruta, concentrando-se naquelas possivelmente relacionadas a condições de estresse. A partir de 326 spots diferencialmente expressos em folhas um total de 76 proteínas foram identificadas pela tecnologia de espectrometria de massa (MALDI-TOF-TOF). Destas, 9 proteínas foram induzidas após ao tratamento com MeJa, enquanto a maioria das proteínas (67) diminuíram. Uma proteína apresentou padrão diferente de resposta durante o tempo testado, a Glutathione S-Transferase, a qual sua tradução não é observada no tempo de 24h, porém ao final de 48h ela apresenta um nível de acumulação maior inclusive ao apresentado pelas plantas controles. Proteínas identificadas em folhas, incluem aquelas associadas com a resposta ao estresse, à morte celular, metabolismo e formação de pétala e sépala. Logo, conclui-se que a utilização de MeJa no tratamento de folhas de maracujá modula diversas proteínas com distintas funções, como as de defesa vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Defesa vegetal; jasmonato; maracujá; proteômica; resposta a estresse.

ABSTRACT: Passion fruit is a fruit of the Passifloraceae family, genus *Passiflora*, with approximately 150 Brazilian native species. Among them, the most commercialized is *Passiflora edulis* Sims species. Because Brazil experiences a tropical climate, the cultivation of this fruit is observed throughout the country, which makes the country is one of the largest producers. However, this plant suffers from numerous pathogens and insect attacks. Therefore, studies related to this plant defense mechanisms to support these attacks are of paramount importance, since they act directly reducing the production of fruit of this plant. In order to study defense mechanisms of tropical crop, a proteomic approach was used to investigate the protein profiles (2D-PAGE) sheets exposed to methyl jasmonate (MeJA) for 24 and 48 h. Our proteomic analysis was extended to proteins accumulated naturally in fruit pulp, concentrating on those possibly related to stress conditions. From 326 spots differentially expressed in leaves a total of 76 proteins were identified by mass spectrometry technology (MALDI-TOF-TOF). Of these, 9 proteins were induced after treatment with MeJA, while most proteins (67) decreased. A standard protein showed different response during the time tested, Glutathione S-Transferase, which the translation is not observed in the time of 24 hours, but at the end of 48 hours it has a higher accumulation level even when presented by the control plants. Proteins identified in leaves include those associated with the stress response, cell death, metabolism and sepal and petal formation. Therefore, it is concluded that the use of MeJa in of passion fruit leaves modulate diverse proteins with diverse functions, as of vegetal defense.

KEYWORDS: Plant defense; jasmonate, passion fruit; proteomic; stress related.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Maracujá

O maracujazeiro pertence à família Passifloraceae, gênero *Passiflora*, e é caracterizado por uma ampla diversidade morfológica, compreendendo cerca de 530 espécies, sendo que, aproximadamente, 150 são nativas do Brasil (Cervi, 1997; Rodrigues *et al.*, 2013). O maracujá se destaca entre as frutíferas por apresentar um aroma e sabor exótico, além de ser uma fonte de vitamina C, cálcio e fósforo, e, por possuir compostos bioativos com propriedades terapêuticas, tais como glicosídeos, alcaloides e compostos fenólicos (Dhawan *et al.*, 2004).

Os cultivos comerciais no país se baseiam apenas na espécie *Passiflora edulis* Sims (figura 1), mais conhecida como maracujá amarelo ou azedo, sendo 95% dos pomares constituídos dessa espécie, a qual a maior parte da produção é destinada ao mercado de suco *in natura* (Meletti *et al.*, 2001). O mercado internacional demonstra ter bastante interesse em frutas tropicais, incluindo o maracujá, uma vez que possui grande apelo comercial, não só pelo seu sabor peculiar, como também por possuir propriedades funcionais a alimentação humana (Andrigueto *et al.*, 2002).

Contudo, não é só a pós-colheita que preocupa os agricultores. O maracujá sofre diversos danos devido a ataques de muitos predadores, dos quais se destacam larvas de lepidópteros que atuam diretamente nas folhas; abelhas marapuás ou melíferas, que atacam diretamente as flores (figura 1A) e as moscas-das-frutas, que vão interagir com os frutos. Esses insetos atuam reduzindo a área foliar, abrindo brechas para outros patógenos atacarem; a queda das flores; e a murcha dos frutos antes de sua maturação (Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016). Para contornar essas adversidades ambientais, as plantas possuem diversas estratégias de defesa; tanto a nível estrutural, como a nível molecular.



Figura 1. *Passiflora edulis sims*, conhecido popularmente como maracujá azedo. Figura A. Demonstra as flores dessa espécie, e a figura B o fruto.

Arquivo pessoal

1.2 Defesa Vegetal

As plantas respondem a estímulos ambientais através da ativação de redes de moléculas de sinalização, que por sua vez desencadeiam as vias complexas de transdução que conduzem a uma resposta fisiológica apropriada. Entre as moléculas de sinalização fundamentais, jasmonatos são conhecidos por modular o comportamento biológico em direção a estímulos bióticos / abióticos, bem como o desenvolvimento. Tal característica tornou os jasmonatos excelentes ferramentas para induzir diferentes tipos de respostas fisiológicas em sistemas vegetais (Dueckershoff *et al.*, 2008; Botelho-Júnior *et al.*, 2014).

Ao perceber que está sendo atacada, através dos receptores, a planta desencadeia uma resposta local a infecção. Esse ato promove uma grande liberação de oxigênios reativos que vão atuar na Resposta a Hipersensibilidade (RH) (figura 2) e na Resistência Sistêmica Adquirida (RSA). A RH se caracteriza como uma necrose no tecido atacado, tendo como objetivo conter e matar o patógeno. Juntamente a esse processo, moléculas como os *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) e os *Effector-Triggered Immunity* (ETIs) aumentam a concentração de cálcio (Ca^{2+}) no citoplasma, e esse aumento leva à produção de ácido salicílico (AS) e do ácido jasmonico (AJ) (Cavalcante *et al.*, 2013).



Figura 2. Folhas de maracujá atacadas por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. A. início da infecção onde observa-se o início de um clorose na folha. B. a resposta de hipersensibilidade, onde observe-se à necrose local no tecido infectado.

Halfeld-Vieira & Nechet, 2006

Não é apenas por patógenos que as plantas são atacadas, elas sofrem vários prejuízos provocados por insetos. Assim, como possuem receptores que reconhecem os patógenos, elas também possuem mecanismos para a detecção de herbívoros. Os padrões moleculares associados a herbívoros, Hamps (*Herbivory associated molecular patterns*), possuem uma atuação parecida com as dos PAMPs, onde as plantas distinguem o ataque e assim ativam uma resposta de defesa mais específica. Essa resposta desencadeia a biossíntese do jasmonato; que por sua vez controla a biossíntese de metabólitos de defesa,

que promovem a resistência da planta ao ataque de herbívoros (Kästner *et al.*, 2014).

O ácido jasmonico é encaminhado para diversos processos fisiológicos distintos, dentre eles a ativação de inibidores de proteinase. Esses inibidores vão atuar diretamente no intestino dos insetos, promovendo a redução do seu desenvolvimento como demonstrado por Botelho-Júnior *et al.*, (2014), reduzindo assim suas capacidades de predação.

1.3 Proteômica

Proteoma é o termo coletivo para todas as proteínas traduzidas a partir do material genético da célula em um tecido específico. A expressão proteômica está no estabelecimento de mapas quantitativos do acúmulo de proteínas sob a sua função fisiológica ou nas condições de desenvolvimento do ser em estudo. Por outro lado, temos a proteômica funcional, que se concentra no papel individual de cada proteína e suas interações com outros ligantes, incluindo outras proteínas (Barrett *et al.*, 2005; Sugiyama, 2015).

Atualmente, essa abordagem é de grande prestígio na estratégia de analisar a complexidade de proteínas, em detrimento a estímulos do ambiente, desenvolvimento de tecidos específicos ou até mesmo da composição proteica de uma parte do organismo. Essa análise em tecidos e órgãos vegetais pode ser dificultada devido a grande quantidade de interferentes presentes nesses tecidos, como compostos fenólicos, pigmentos, compostos da parede celular entre outros (Fang *et al.*, 2015). Porém isso não inviabiliza o estudo, como demonstrado na área de defesa vegetal, onde a análise proteômica é dada em estudos que evidenciam as alterações dos perfis protéicos de plantas após um determinado estímulo, como ataque de patógenos e herbívoros. Experimentos realizados por Liao *et al.*, (2009), identificaram diferentes proteínas em folhas de arroz, envolvidas na resposta de defesa vegetal contra eliciadores. Já Alvarez *et al.*, (2009), descreveram diferentes proteínas que sofreram redox após o tratamento com metil jasmonato em *Arabidopsis*.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As sementes foram adquiridas de frutos comprados em mercado local, na região de Campos dos Goytacazes. Elas foram cultivadas de acordo com Botelho-Júnior *et al.* (2014).

2.2 Tratamento com MeJa

A exposição aos vapores de MeJa foram realizadas de acordo com Farmer & Ryan (1990). Os recipientes com as plantas são mantidos, nas primeiras 24 horas sob iluminação constante. Para os tratamentos de 48h, após as primeiras 24h, a planta retorna para a condição da câmara de crescimento.

2.3 Extração de Proteínas

Foram efetuadas de acordo com Perdizio *et al.* (2015), utilizando a solução de fenol saturado com solução de Tris-HCl.

2.4 Quantificação proteica

As concentrações de proteína foram determinadas utilizando 2-D kit Quant (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA) seguindo as instruções do fabricante.

2.5 Eletroforese, coloração e análise de imagem

Foram executadas de acordo com *Perdizio et al.* (2015).

2.6 Digestão de proteínas *in-gel*, MALDI TOF-TOF

Realizado de acordo com *Perdizio et al.* (2015). As sequências de peptídeos os foram analisadas e validadas usando o software Scaffold³™ utilizando a probabilidade de identificação do peptídeo de 90%. O banco de dados UniProt (www.uniprot.org) foi utilizado para nomear as proteínas que não tiveram sua nomenclatura indicada pelo Mascot e pelo Scaffold. A classificação funcional das proteínas identificadas foi realizada utilizando o programa Blast2go PROv. 3.1 (www.blast2go.com).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho, a fim de aprofundar a compreensão sobre os mecanismos de defesa da planta foram analisadas as proteínas diferencialmente expressas em folha em resposta ao tratamento com MeJa. A Figura 3, mostra géis representativos (2D-PAGE) de plantas controle e tratadas (24 e 48 h). As imagens digitalizadas dos géis foram examinadas pelo ImageMaster 2D-Platinum, software versão 7.0. Os critérios para definir se a proteína é estatisticamente modulada foram: i) os spots serem observados em três repetições de três experimentos independentes e ii) o volume individual dos spots de géis de plantas tratadas variar pelo menos 1,5 vezes em comparação com os do controle.

Com essa estratégia, foram selecionados num total de 326 spots após a análise pelo software ImageMaster. Eles foram retirados do gel, digeridos com tripsina e sujeitos a análise de espectrometria de massa (MALDI-TOF-TOF). A Tabela 1 mostra que desses 326 spots, foram identificadas 77 proteínas expressas diferencialmente em resposta à exposição a MeJa. Dessas, 9 proteínas foram identificadas como possuindo a capacidade de se acumularem após os tratamentos. São elas, duas lipoxigenases (spots 107 e 309, gil499141108), uma superóxido desmutase [Fe] (spot 28, gil159464723), uma cisteína sintase (spot 177, gil223548214), uma proteína prevista (spot 76, gil303289148), uma ribulose bifosfato carboxilase/ oxigenase activase (spot 212, gil672124328), uma proteína relacionada com transporte (spot 170, gil328879000), uma precursora de hordeína B1 (spot 142, gil364506288)

e uma proteína hipotética ARALYDRAFT_346243 (spot 183, gil297824445). As quatro proteínas que não foram encontradas em géis de plantas controle foram chamados de “novos” (*New*). Com base no perfil de indução, as proteínas foram quantificadas de acordo com o seu comportamento de expressão: 1 proteína teve sua expressão aumentada durante as primeiras 24 h de tratamento e voltou ao nível basal em 48h (spot 76); 4 proteínas foram induzidas apenas em 48h (spots 28, 177, 142 e 183) e 4 proteínas apresentaram indução em ambos os períodos testados (spots 107, 309, 212, 170).

Porém o tratamento com MeJa também demonstrou que 67 proteínas sofreram uma redução na sua acumulação, sendo também quantificadas de acordo com o seu comportamento de acumulação: 5 proteínas foram reduzidas em 24h, mas retornaram aos níveis basais ao final de 48h (spots 173, 106, 292, 46 168); 7 proteínas tiveram suas expressões reduzidas apenas em 48h (spots 116, 189, 209, 251, 274, 244, 114); e 55 proteínas tiveram redução em ambos os tempos de tratamento. Algumas proteínas encontradas, localizam-se na tabela 1.

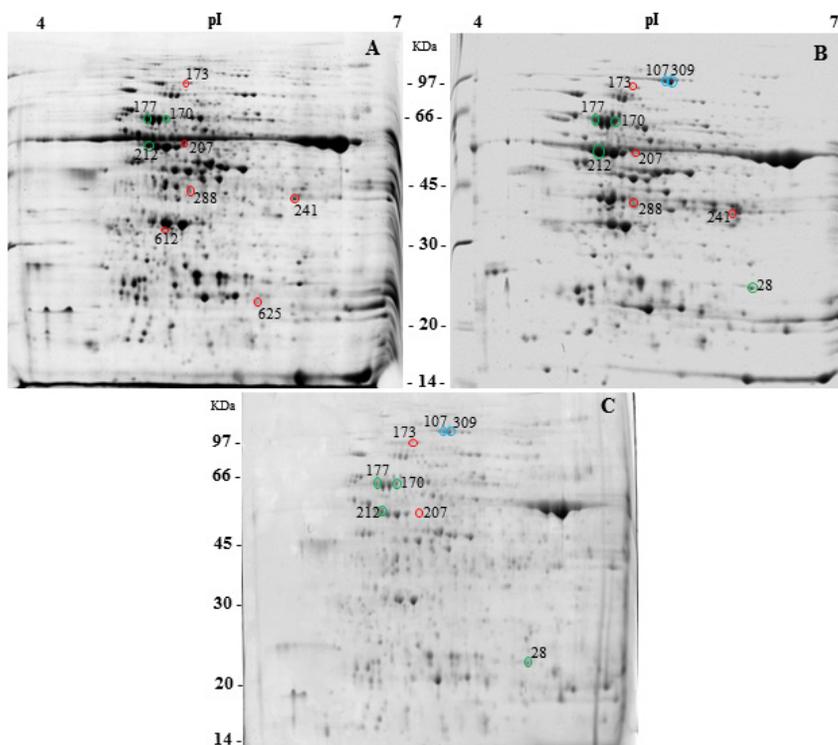
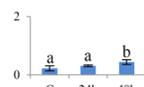
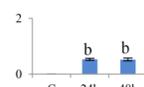
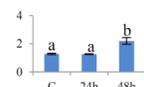
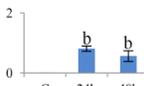
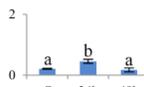


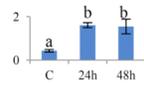
Figura 3. Géis representativos de proteínas foliares de maracujá tratadas com MeJa em 24 e 48 h. As amostras de proteínas totais (500 mg) foram focalizados em tiras de IPG (18 cm), em um gradiente de pH linear de 4-7, e separadas por SDS-PAGE (10%). A. Tratamento controle; B. Extrato de folhas tratadas com MeJa por 24h; C. Extratos foliares de plantas tratadas com MeJa por 48h. Os géis foram corados com Coomassie coloidal azul (Schuster *et al.*, 1983). Círculos azuis indicam spots que foram induzidos após os tratamentos (*New*); círculos verdes indicam spots que obtiveram uma maior expressão após o tratamento (*Up*) e os círculos vermelhos spots que foram reduzidos (*Down*).

As proteínas induzidas foram classificadas em 5 categorias funcionais: 4 proteínas de defesa vegetal (45%), em vermelho na figura 4A (englobando os spots 28, 107, 177, 309), e os outros 3 na mesma faixa percentual. Morte celular (spot 212), processos metabólicos (spot 212) e transporte (spot 170) contando com 11% cada (Figura 4A) e 2 proteínas não caracterizadas, (spots 142, 183) com 22%.

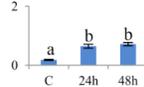
As proteínas com acúmulos reduzidos foram classificadas em categorias, com 10 papéis funcionais: Processos metabólicos (36%), sendo a maior categoria, seguida por 18% de fotossíntese, 11 % de resposta ao estresse, 6% processos biológicos, processos de desenvolvimento e síntese proteica ambos com 3% cada, 2% de transporte sistema imunológico, formação de pétala e sépala e atividade de reserva de nutrientes com 1% cada, além dos 17% das proteínas que não foram categorizadas de acordo com o Blast2Go e apresentam a cor cinza na figura 4B. Ressalta-se que a indução por MeJa provocou a redução global do acúmulo de proteínas, sugerindo a diminuição de certas funções biológicas.

Nº spot	Nome da proteína	Número de acesso NCBI	Score ^a	P.C. ^b	Cob. Seq. ^c	Organismo de referência	PI/MM ^d	Abundância ^e
New/Up								
Defesa Vegetal								
28	Superóxido dismutase [Fe]	gil159464723	59	1	3%	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	9,3/ 25915	
107	Lipoxigenase, parcial	gil499141108	65	1	1%	<i>Phaseolus coccineus</i>	5,7/82206	
177	Cisteína sintase, putativo	gil223548214	191	3	11%	<i>Ricinus communis</i>	5,5/34435	
309	Lipoxigenase, parcial	gil499141108	56	1	1%	<i>Phaseolus coccineus</i>	5,7/82206	
Processos Metabólicos								
76	Proteína prevista	gil303289148	36	1	3%	<i>Micromonas pusilla</i> CCMP1545	5,6/ 43432	

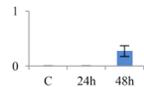
Morte Celular

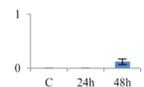
212	Previsto: ribulose bisfosfato carboxilase / oxigenase Activase 2, cloroplasmático isoforma X1	gil672124328	517	6	14%	<i>Phoenix dactylifera</i>	5,4/52233	
-----	---	--------------	-----	---	-----	----------------------------	-----------	---

Transporte

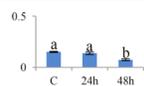
170	Proteína relacionada com o transporte	gil328879000	109	3	16%	<i>Helianthus annuus</i>	9,6/20420	
-----	---------------------------------------	--------------	-----	---	-----	--------------------------	-----------	---

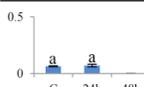
Não Caracterizadas

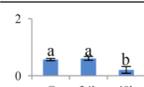
142	Precursora de hordeína B1, parcial	gil364506288	40	2	25%	<i>Hordeum vulgare subsp. vulgare</i>	8,5/1811	
-----	------------------------------------	--------------	----	---	-----	---------------------------------------	----------	---

183	Proteína hipotética ARALY-DRAFT_346243	gil297824445	60	1	3%	<i>Arabidopsis lyrata subsp. lyrata</i>	5,8/16271	
-----	--	--------------	----	---	----	---	-----------	---

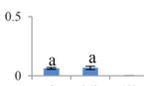
Processos Metabólicos

116	Provável lactoilglutamina liase, cloroplasto	gil659071188	55	1	6%	<i>Cucumis melo</i>	6,4/40298	
-----	--	--------------	----	---	----	---------------------	-----------	--

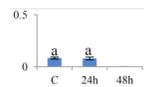
209	Ferritina *	gil115486898	48	1	4%	<i>Oryza sativa Japonica Group</i>	5,4/28165	
-----	--------------------	--------------	----	---	----	------------------------------------	-----------	---

251	VITISV_026323 proteína hipotética	gil147835837	183	3	4%	<i>Vitis vinifera</i>	6,6/81297	
-----	-----------------------------------	--------------	-----	---	----	-----------------------	-----------	---

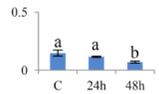
Respostas ao Estresse

274	Proteína de choque térmico de 70 kDa	gil19878	65	1	2%	<i>Nicotiana tabacum</i>	5,2/63313	
-----	--------------------------------------	----------	----	---	----	--------------------------	-----------	---

Transporte

244	PRUPE_ppa015054mg proteína hipotética	gil462424594	51	1	2%	<i>Prunus persica</i>	7,5/45247	
-----	---------------------------------------	--------------	----	---	----	-----------------------	-----------	---

114	Csa_4G055360 proteína hipotética	gil700198283	45	1	5%	<i>Cucumis sativus</i>	11,8/7298
-----	--	--------------	----	---	----	------------------------	-----------



- a- MASCOT score
- b- Peptidos combinados – homologia com o banco de dados
- c- Cobertura sequencia
- d- Ponto Isoelétrico/ Massa Molecular teórico
- e- As letras (a,b) representam mudanças nos níveis de abundância pelo test SNK
- * - Nomes identificados por Uniprot

Tabela 1- Proteínas diferencialmente expressas em folhas de maracujá identificadas por MALDI-TOF-TOF

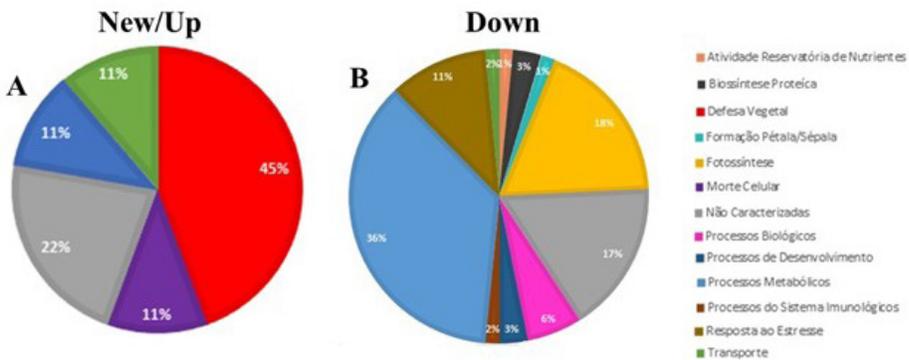


Figura 4. Categorização funcional de proteínas identificadas em folhas de maracujá. Proteínas que foram acumuladas em maior quantidade (A), e (B) proteínas que tiveram redução no seu nível de tradução. Os gráficos mostram os diferentes níveis de acumulação e as funções fisiológicas que sofreram alterações em detrimento ao tratamento com MeJa nos períodos de 24 e 48h.

Proteínas relacionadas a resposta ao estresse em resposta a vapores de metil jasmonato já foram relatadas anteriormente em maracujá; como é o caso da lipoxigenase (Rangel *et al.*, 2002 e Jardim *et al.*, 2008); da aleno óxido sintase (Siqueira-Junior *et al.*, 2008) e inibidores de tripsina (Botelho-Júnior *et al.*, 2009; Botelho-Júnior *et al.*, 2014). Essas proteínas estão associadas a resposta de defesa vegetal do tipo induzida direta, onde o herbívoro ao preda a planta dispara um mecanismo de sinalização através de compostos presentes em sua saliva; ativando lipases que atuam na expulsão do ácido linoleico e linolêico da membrana do cloroplasto, culminando com a produção de ácido jasmonico, que juntamente com seus derivados como metil jasmonato (MeJa) atuam em vários processos fisiológicos, sendo a transcrição de inibidores de proteases um processo importante para a defesa direta contra os insetos predadores (Ryan, 1990; Singh *et al.*, 2015).

Curiosamente chama a atenção que apenas uma proteína induzida por MeJa tenha

sido relatada no presente estudo, a lipoxigenase. Como já descrito por Rangel *et al* (2002) e Jardim *et al.* (2008), essa proteína é induzida após a planta ser tratada com metil jasmonato e ao ataque de lagartas, nos tempos de 24 e 48h em maracujá. Este fato é corroborado em nossos experimentos, os quais identificaram duas LOXs (spot 107 com gil499141108 e 309 com gil499141108), através do gráfico de abundância dos spots (tabela 1). Nele, observa-se que ao longo do tempo de tratamento, a proteína apresentou um nível de expressão igual, sinalizando que sua expressão se mantém constante enquanto houver a sinalização de agressão as plantas. Um fato que não podemos deixar de fora é o baixo valor dos Scores. Mesmo utilizando o Scaffold para a validação das proteínas identificadas, essa enzima possui um Score baixo, se comparado as outras proteínas categorizadas como pertencentes a defesa vegetal. Este fato também é observado em *Camellia sinensis* (Score de 91) (Zhou *et al.*, 2014) e trigo (Score de 59) (Guan *et al.*, 2015), isso sugere que por ser uma proteína de alto peso molucular, por volta dos 100 KDa, sua clivagem em peptídeos e subsequentemente sua fragmentação pela espectrometria de massas seja dificultada, acarretando um dado estatístico (Score) baixo.

Era esperado a identificação de outras já relatadas na literatura, como é o caso da aleno óxido sintase, cistatina e de inibidores de tripsina do tipo Kunitz (Siqueira-Júnior *et al.*, 2008; Botelho-Júnior *et al.*, 2014). Este fato corrobora com a importância de se utilizar diferentes tipos de abordagem para estudar um mesmo modelo. No caso da aleno óxido sintase encontramos na literatura que essa proteína apresenta um ponto isoelétrico entre duas faixas, abaixo do pH 7 como encontrado em *Zea mays* (Xiong *et al.*, 2013), *Oryza sativa L.* (Ma *et al.*, 2015) como também acima da faixa que é o caso apresentando por *Glycine max* (Moura *et al.*, 2014). Com esses dados, podemos supor que a não identificação da aleno óxido sintase pode estar atrelada ao fato dela apresentar um ponto isoelétrico semelhante ao da soja (pH 8,74), logo ela não estaria em nossos experimentos, devido a utilização de uma faixa de pH 4-7, ou ela não foi identificada pela espectrometria de massas. Com a cistatina, acontece outro fenômeno. Na literatura ela é descrita como uma proteína que possui um ponto isoelétrica dentro da faixa de pH que utilizamos, como observado em *Amaranthus hypochondriacu* (pl 5,67) (Maldonado-Cervantes *et al.*, 2014), *Zea mays* (pl 5,66) (Meng *et al.*, 2014) e *Triticum aestivum* (pl 5,95) (Kosová *et al.*, 2013), contudo, como tivemos muitos spots que não tiveram sua identificação realizada, acredita-se que a cistatina poderia está entre eles. Já os inibidores de tripsina podem não terem sido observados, devido a uma limitação da própria técnica. Para clivar a proteína em peptídeos, utilizamos tripsina como enzima e como eles são inibidores da própria enzima, é bem provável que eles não foram clivados, logo não puderam ser fragmentados pelo laser da espectrometria de massas e subsequentemente identificado.

Nossos resultados também demonstraram que apesar das plantas serem tratadas com MeJa, encontramos proteínas relacionadas a defesa vegetal, desencadeada por espécies reativas de oxigênio (EROs). Como é o caso da da superóxido desmutase [Fe]

(spot 28, gil159464723) e cisteína sintase (spot 177, gil223548214); elas atuam no combate de radicais livres, liberados a partir de ataque de patógenos, conhecida como resposta de hipersensibilidade (HR, do inglês, *hypersensitivity response*). Esse tipo de defesa é desencadeado quando a planta sofre ataques de patógenos (como bactérias por exemplo).

Os resultados apresentados nos permitem observar, que o metil jasmonato está associado a diversos processos fisiológicos, dentre eles o de defesa vegetal. Ele atua em dois processos distintos, tanto na cascata de sinalização para a produção de inibidores de proteases, como no controle de espécies reativas de oxigênio. Esses dois processos são mediados por sinalizações diferentes, o que explica os dados obtidos pelo STRING 10 (figura 9), onde não há qualquer interação entre essas proteínas, mesmo possuindo a mesma função de defesa vegetal.

Outra proteína identificada como induzida foi a ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (spot 212, gil672124328). Esta proteína foi categorizada com a função de morte celular. Essa função fisiológica está intimamente relacionada com a resposta de hipersensibilidade, uma vez que esse processo desencadeia a necrose do tecido atacado por patógenos (Lau *et al.*, 2006).

Por outro lado, cerca de 67 proteínas tiveram seus acúmulos reduzidos em resposta ao tratamento com MeJa durante os tempos de 24 e 48h. A maioria dessas proteínas foi categorizada aos grupos de metabolismo e a fotossíntese. Esse fenômeno sugere que o desvio do maquinário celular para a expressão de proteína de defesa, faça com que as proteínas ligadas ao metabolismo e outras funções biológicas como relatadas na tabela 1, sofram uma redução da sua acumulação como forma de combater os ataques de patógenos e insetos, ao utilizar todo o maquinário celular para a tradução de proteínas de defesa. Esse tipo de redução de expressão atua diretamente na produção da cultura, uma vez que a frutífera reduz seu maquinário de metabolismo em prol do combate de agentes patológicos. Esse comportamento também foi observado em estudos proteômicos em grapefruit, onde a maioria das proteínas também apresentaram redução no nível de expressão (Li *et al.*, 2013).

Outros estudos com o maracujá usando condições naturais de estresse, como infecções por patógenos e herbivoria podem amplificar e até mesmo complementar os dados proteômicos descritos neste trabalho.

4 | CONCLUSÃO

Através das aplicações da abordagem proteômica foi possível a identificação de 76 proteínas diferencialmente reguladas em resposta ao MeJa nos períodos de 24 e 48h.

Proteínas de defesa como lipoxigenase e de detoxificação celular como a cisteína sintase e a superóxido dismutase [Fe] foram induzidas por MeJa.

A LOX e as proteínas de detoxificação, por mais que sejam atreladas a função de

defesa vegetal, não possuem qualquer interação entre si.

Outras proteínas além das de defesa também foram induzidas, como uma proteína prevista, ligada a processos metabólicos; ribulose bifosfato, atrelada a morte celular e uma proteína relacionada com o transporte.

A maioria das proteínas identificadas, 67, sofrem redução no seu acúmulo durante o tratamento com MeJa.

As funções biológicas de metabolismo e fotossíntese foram as que apresentaram uma maior quantidade de proteína com acúmulo reduzido.

Foi identificada uma proteína que apresentou um perfil muito diferente das outras. A glutationa-S-transferase não é traduzida no período de 24h, porém em 48h ela apresenta uma acumulação maior ao comparadas com as plantas controles.

REFERÊNCIAS

Alvarez S, Zhu M, Chen S. Proteomics of Arabidopsis redox proteins in response to methyl jasmonate. *J. Proteomics* 2009; 73: 30-40.

Andrigheto JR, Kosoki AR, Oliveira DA. Maracujá no contexto do desenvolvimento e conquistas da produção integrada de frutas no Brasil. In: Faleiro FG, Junqueira NTV, Braga MF (Ed.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 2005; 509-556.

Botelho-Junior S, Machado OLT, Fernandes KVS, Lemos FJA, Perdizio VA, Oliveira AEA, Monteiro LR, Filho ML, Jacinto T. Defense response in non-genomic model species: methyl jasmonate exposure reveals the passion fruit leaves' ability to assemble a cocktail of functionally diversified Kunitz-type trypsin inhibitors and recruit two of them against papain. *Planta* 2014; 240: 345-56.

Botelho-Júnior S, Siqueira-Júnior CL, Jardim BC, Machado OLT, Neves-Ferreira AGC, Perales J, Jacinto T. Trypsin inhibitors in passion fruit (*passiflora* f. *edulisflavicarpa*) leaves: accumulation in response to methyl jasmonate, mechanical wounding, and herbivory. *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56: 9404-09.

Cavalcante FML, Almeida IV, Melo KA, Panizzon CPNB, Rhoden AS, Pamphile JA. Interação patógeno planta: respostas frente ao ataque. *Rev. Saúde e Biol.* 2013; 8:90-97.

Cervi, AC (1997). *Passifloraceae* do Brasil. Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. *Fontqueria*, 45: 1-92.

Dueckershoff K, Mueller S, Mueller MJ, Reinders J. Impact of cyclopentenone-oxylipins on the proteome of *Arabidopsis thaliana*. *Biochim. Biophys. Acta* 2008; 1784:1975–85.

Dhawan K, Dhawan S, Sharma A (2004). *Passiflora*: a review update. *J. Ethnopharmacol.* 2004; 94: 1-23.

Embrapa: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/maracuja> (25/05/2016).

Guan W, Ferry N, Edwards MG, Bell HA, Othman H, Gatehouse A, Gatehouse AMR. Proteomic analysis shows that stress response proteins are significantly up-regulated in resistant diploid wheat (*Triticum monococcum*) in response to attack by the grain aphid (*Sitobion avenae*). *Mol. Breeding* 2015; 35:1-22.

Jardim BC, Perdizio VA, Berbert-Molina MA, Rodrigues DC, Botelho-Júnior S, Vicente ACP, Hansen E, Otsuki K, Ürményi TP, Jacinto T. Herbivore response in passion fruit (*passiflora edulis sims*) plants: induction of lipoxygenase activity in leaf tissue in response to generalist and specialist insect attack. *Protein Pept. Lett.* 2010; 17: 480-4.

Kosová K, Vítámvás P, Planchon S, Renaut J, Vanková R, Prášil IT. Proteome analysis of cold response in spring and winter wheat (*Triticum aestivum*) crowns reveals similarities in stress adaptation and differences in regulatory processes between the growth habits. *J. Proteome Res.* 2013; 11:4830-45.

Liao M, Li Y, Wang Z. Identification of elicitor-responsive proteins in rice leaves by a proteomic approach. *Proteomics* 2009; 9: 2809–19.

Ma H, Yang R, Song L, Yang Y, Wang Q, Wang Z, Ren C, Ma H. Differential proteomic analysis of salt stress response in jute (*corchorus capsularis & olitorius* L.) seedling roots. *Pak. J. Bot.* 2015; 47:385-96.

Maldonado-Cervantes E, Huerta-Ocampo JA, Montero-Morán GM, Barrera-Pacheco A, Espitia-Rangel E, la Rosa APB. Characterization of *Amaranthus cruentus* L. seed proteins by 2-DE and LC/MSeMS: Identification and cloning of a novel late embryogenesis-abundant protein. *J Cereal Sci.* 2014; 60:172-78.

Meletti LMM, Brückner, CH. Melhoramento Genético. In: Brückner, C.H., Picanço, M.C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e mercado. Porto Alegre: *Cinco Continentes*, 2001. p. 345-85.

Meng LB, Chen YB, Lu TC, Wang YF, Qian CR, Yu Y, Ge XL, Li XH, Wang BC. A systematic proteomic analysis of NaCl-stressed germinating maize seeds. *Mol. Biol. Rep.* 2014; 41:3431-43.

Perdizio VA, Machado OLT, Araújo JS, Oliveira AEA, Monteiro LR, Costa MN, Ferreira AT, Perales J, Jacinto T. Critical evaluation of proteomic protocols for passion fruit (*Passiflora edulis Sims*) leaves, a crop with juice market benefits. *Afr. J. Biotechnol.* 2015; 14: 1662-67.

Rangel M, Machado OLT, da Cunha M, Jacinto T. Accumulation of chloroplast-targeted lipoxygenase in passion fruit leaves in response to methyl jasmonate. *Phytochemistry* 2002; 60: 619–25.

Rodrigues JSQ; Pineli LLO; Rodrigues NG; Lima HC; Costa AM; Silva CHO; Junqueira NTV; Chiarello MD. Qualidade sensorial de néctares de maracujás BRS Ouro Vermelho produzidos em diferentes sistemas de cultivo. *Rev.Ceres* 2013; 60: 595-602.

Schuster A, Davies E. Ribonucleic acid and protein metabolism in *Pea epicotyls*. *Plant Physiol.* 1983; 73: 809-16.

Singh A, Singh S, Singh IK. Recent insights into the molecular mechanism of jasmonate signaling during insect-plant interaction. *Australasian Plant Pathol.* 2016; 45:123-33.

Siqueira-Júnior CL, Jardim BC, Ürményi TP, Vicente ACP, Hansen E, Otsuki K, da Cunha M, Madureira HC, Carvalho DR, Jacinto T. Wound response in passion fruit (*Passiflora f. edulis flavicarpa*) plants: gene characterization of a novel chloroplast-targeted allene oxide synthase up-regulated by mechanical injury and methyl jasmonate. *Plant Cell Rep.* 2008; 27: 387–97.

Xiong H, Shen H, Zhang L, Zhang Y, Guo X, Wang P, Duan P, Ji C, Zhong L, Zhang F, Zuo Y. Comparative proteomic analysis for assessment of the ecological significance of maize and peanut intercropping. *J. Proteomics* 2013; 78:447-60.

Zhou L, Xu H, Mischke S, Meinhardt LW, Zhang D, Zhu X, Li X, Fang W. Exogenous abscisic acid significantly affects proteome in tea plant (*Camellia sinensis*) exposed to drought stress. *Hortic Res.* 2014; 1:14029.

INSÉTARIO VIRTUAL: UTILIZANDO AS REDES SOCIAIS NO ENSINO SOBRE OS INSETOS

Data de aceite: 02/01/2023

Fabiana Lazzerini da Fonseca Barros

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Vacaria, RS
<http://lattes.cnpq.br/5206164252767801>

Eduarda Alves da Silva

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Vacaria, RS
<http://lattes.cnpq.br/7255527868158478>

Nágila Aguiar Marques

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Vacaria, RS
<http://lattes.cnpq.br/8795263732920924>

Luidi Eric Guimarães Antunes

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Vacaria, RS
<http://lattes.cnpq.br/2562047030562176>

Eléia Righi

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Vacaria, RS
<http://lattes.cnpq.br/2981662302233984>

do equilíbrio e preservação. Nesse sentido, surgiu a necessidade de registrar essas amostras e armazenar as informações em uma plataforma online, disponibilizando esses dados aos interessados, por meio do desenvolvimento de um Insetário Virtual. O objetivo do projeto foi criar um Insetário Virtual, através de fotografias dos insetos tiradas pelos estudantes do componente curricular Entomologia do Curso de Agronomia da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul. Para isso, em 2021, alunos do curso de agronomia da Uergs fotografaram insetos em seu ambiente natural e criaram páginas nos aplicativos do Facebook e Instagram denominadas: Insetário Virtual, onde todas as imagens dos insetos foram inseridas e utilizadas como coleção do Laboratório de Entomologia da Universidade. Na página do Facebook foram curtidas por mais de 300 pessoas, com 329 seguidores. Além das fotos foram compartilhadas informações a respeito dos insetos, auxiliando no conhecimento, desmistificando e explorando as espécies mais comuns que ocorrem no município, região e país e sua relação para com o ambiente e orientando sobre a preservação da diversidade local, além de postagens dos mais variados sites de informação referente

RESUMO: Cada vez mais espécies de insetos são catalogadas no Brasil, em laboratórios de Universidades e armazenado em coleções didáticas. Porém, a retirada desses insetos de seu habitat natural é muito discutida, ferindo o princípio

aos insetos. Através desta ferramenta e do estudo da Entomologia, foi possível auxiliar no ensino e aprendizagem sobre o papel ecológico dos insetos na natureza e sua importância na manutenção da vida na Terra.

PALAVRAS-CHAVE: Entomologia. Instagram. Facebook. Meio ambiente.

ABSTRACT: More and more insect species are cataloged in Brazil, in university laboratories, and stored in didactic collections. However, removing these insects from their natural habitat is frequently debated, violating the principle of balance and preservation. In this sense, the idea and the need arose to register these samples and store the information on an online platform, making this data available to interested parties through the development of a virtual insectary. The project's objective was to create a Virtual Insectary through photographs of insects taken by students of the Entomology curricular component of the Agronomy Course at UERGS. To this end, in 2021, students from the agronomy course at UERGS photographed insects in their natural environment. They created Pages called "Virtual Insetário" on Facebook and Instagram applications, where all images of insects were placed in a Virtual Insectary and used as a collection of the Entomology Laboratory of the University. The Facebook page was liked by more than 300 people, with 329 followers. In addition to the photos, information about the insects was shared, helping with knowledge, demystifying and exploring the most common species that occur in the municipality, region, and country and their relationship with the environment, and providing guidance on the preservation of local diversity, in addition to postings of a variety of information sites related to insects. Through this tool and the study of Entomology, it was possible to aid in teaching and to learn about the ecological role of insects in nature and their importance in maintaining life on Earth.

KEYWORDS: Entomology. Instagram. Facebook. Environment.

INTRODUÇÃO

Insetos é o nome popular para todos Hexapoda, pertence ao grupo do Artrópodes, que constitui o grupo mais diversificado de organismos sobre a terra, representando cerca de 60% de todas as espécies conhecidas (RAFAEL, *et. al.* 2012). Os insetos constituem o maior grupo animal da face da Terra (BORROR; DELONG, 1988), sendo conhecidas mais de um milhão de espécies de um total de 2,5 milhões que provavelmente ocorrem (ALVES, 1998). Eles desempenham importante papel ecológico, pois atuam como herbívoros, decompositores, predadores e parasitoides. Além disso, ocupam lugar de destaque na vida socioeconômica da maioria das sociedades humanas (COSTA-NETO, 1998; COSTA-NETO; CARVALHO, 2000).

Os insetos são de extrema importância para a manutenção dos ecossistemas, sem os quais a reciclagem e toda a cadeia alimentar entrariam em colapso. Eles constituem a base alimentar para muitos outros animais e podemos incluir nesse conjunto os seres humanos, posto que em algumas culturas encontradas no planeta, insetos como gafanhotos, besouros, içãs, larvas em geral, e até baratas são incorporados à dieta habitual do dia a dia, sendo consideradas iguarias com alto teor proteico (COSTA NETO; CARVALHO, 2000).

Sem deixar de lado a importância ecológica dos insetos, é preciso assinalar também a importância econômica e social, pois enquanto algumas espécies elaboram produtos de valor comercial, como o mel, a cera de abelha e a seda (BORROR; DELONG, 1988), outras são pragas agrícolas ou vetores de diversas doenças tropicais (MARICONI, *et al.*, 1999). Eles também degradam a matéria orgânica, reciclam nutrientes, aeram o solo, polinizam as plantas e dispersam sementes; participando assim destas e de inúmeras interações ecológicas importantes como predação e parasitismo (BORROR; DELONG, 1988).

Dada à importância dos artrópodes, insetos mostram-se uma relevante ferramenta no ensino de Ciências e Biologia, diante da dificuldade apresentada pelos professores, pois a maioria dos conceitos se apresenta de forma abstrata o que leva o docente ao desafio de facilitar sua comunicação com os alunos fazendo com que compreendam e se aproximem dos conceitos propostos (SANTOS *et al.*, 2009).

O ensino de Ciências nas escolas, tem por objetivo colaborar para que o estudante entenda o mundo e suas transformações, situando-o como indivíduo participante e parte integrante do Universo (BRASIL, 1998). Isso se torna possível a partir da utilização de conteúdos que possibilitam o contato do aluno com explicações científicas sobre o mundo, os fenômenos da natureza, as transformações produzidas pelo homem e o reconhecimento das relações entre os seres vivos (LUDKE; ANDRÉ 1996, ALVES; CAMPOS 2006).

Os insetos constituem um tema encontrado em praticamente todos os programas e propostas curriculares de disciplinas da área e estão presentes na maior parte dos livros didáticos e paradidáticos voltados para o ensino fundamental e médio. Portanto, os insetos constituem um assunto tradicional no âmbito do ensino de Ciências e Biologia. O mundo atual exige de nós a construção de novas formas de pensar, agir e sentir. Assim torna-se importante considerar, sobretudo no contexto do ensino de ciências para crianças, as aproximações possíveis entre ciência e arte, para que se possam encaminhar novas formas de ensinar e de aprender, levando em conta as relações entre emoção e razão, já que nós seres humanos somos feitos de ambas as partes (PUJOL, 2002). Borrór e Delong (1988) afirmam que o mundo dos insetos é rico e incomum, com seus representantes apresentando peculiaridades intermináveis, que atraem a curiosidade de nós humanos.

Todas as espécies de insetos fazem parte de um importante e delicado equilíbrio ecológico, cuja perturbação pelo homem pode resultar no aparecimento de pragas prejudicando a natureza (SIMÕES, 2007).

Utilizar as coleções didáticas de insetos, representam um importante acervo para o conhecimento da biodiversidade, biogeografia e ensino (ALMEIDA *et al.*, 2012). Segundo Santos e Solto (2011), em relação ao ensino, as coleções de insetos por terem baixo custo e serem chamativas, devido à diversidade de cores e formas dos insetos, apresentam uma enorme potencialidade de tornar as aulas de Ciências/Biologia mais atrativas e motivadoras, além pode contribuir para reduzir a repulsividade por esses organismos e trabalhar com questões de respeito à vida, importante valor para o exercício da cidadania. Neste contexto

torna-se importante que os alunos entrem em contato com os insetos através da coleção didática de forma a facilitar o entendimento do conteúdo das aulas de Ciências/Biologia.

As coleções didáticas ou insetários para fins de estudo, são construídos com uma metodologia própria de captura e conservação das espécies. Onde os insetos são coletados, utilizando pinças, peneiras e redes entomológicas. Após a coleta, as espécies precisam ser sacrificadas por via úmida (álcool 70%) ou por utilização de gases. Porém, recentemente vem sendo debatido que embora os insetos constituam o maior grupo de seres vivos do nosso planeta, retirá-los e sacrificá-los para uma coleção de insetos, vai contra o equilíbrio do ecossistema onde se encontram. Além disso, o discurso da preservação ambiental pode se esvaziar, uma vez que, na teoria comenta-se a importância da preservação e, na prática, estimula-se a captura dos insetos.

Incentivar os alunos e a comunidade em geral da importância da preservação e o respeito as relações ecológicas estabelecidas entre os seres vivos na natureza, considerando a multiplicidade e complexidade dessas relações e considerando as orientações, embasadas nas leis, torna-se inviável a construção de um insetário tradicional nas escolas.

Também, se percebe que é nítido que atualmente os estudantes têm uma relação muito próxima com as TIC (Tecnologias da Informação e Comunicação) através dos seus *smartphones*. Essa tecnologia tem cada vez mais atraído a atenção deles e o que tem possibilitado que se criem cada vez mais possibilidades da mediação dos *smartphones* em processos de ensino-aprendizagem.

Neste sentido, o objetivo dessa foi proposta foi a construção coletiva de um Insetário Virtual, utilizando os aplicativos Facebook e Instagram, através dos *smartphones* dos estudantes, auxiliando na captura de imagens dos insetos, possibilitando aos mesmos a produção e a socialização destas imagens a comunidade em geral, bem como à identificação de insetos e sua importância ambiental, como ferramenta de aprendizagem além das múltiplas relações que os insetos tem entre si e com o meio onde vive.

MATERIAL E MÉTODOS

Os estudantes do componente curricular Entomologia Agrícola dos Curso de Agronomia das Unidade da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, em Vacaria, Santana do Livramento, Cachoeira do Sul, Sananduva e São Luiz Gonzaga, foram instrumentalizados para a construção coletiva do Insetário virtual com a mediação dos *smartphones* utilizando os aplicativos Facebook e *Instagram*, a partir do ano de 2021.

As páginas nos aplicativos do Facebook e Instagram denominadas: Insetário Virtual foram criadas e nessas páginas foram postadas imagens dos insetos fotografados pelos alunos, e comunidade em geral utilizando essa ferramenta como a mediação dos *smartphones* para as pesquisas e sínteses solicitadas durante o processo de

desenvolvimento das sequências didáticas, e dessa forma utilizar esses aparelhos para a produção, edição e socialização das fotos dos insetos, em seus respectivos habitats (Figura 1).

Uma vez criada as páginas nas plataformas, foi socializado para os estudantes e comunidade em geral que curtissem as páginas e realizassem as postagens das imagens, além de contribuir também com a construção coletiva do Insetário. Através das imagens postadas, foi realizada à classificação dos insetos segundo as regras taxonômicas utilizadas em insetários. Desta forma o Insetário virtual abordou diversos aspectos sobre as características dos insetos fotografados, modos de vida, relações com outras espécies de plantas e animais, classificação biológica, entre outros.



Figura 1 - Páginas criadas no Facebook e Instagram: Insetário Virtual.

Fonte: Fabiana L. da Fonseca, 2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao navegar na página do Facebook para incentivar tanto os alunos quanto a

comunidade em geral foi criado um card informativo, contendo informações importantes sobre o projeto e como participar e inserir as fotos (Figura 2). Cada semana foi escolhido uma ordem dos insetos. Nesses cards foram mencionadas informações sobre a ordem em geral bem como a importância ambiental. A primeira ordem de insetos escolhida foi a Ordem Mantodea, (louva-a-deus).



The image shows an informational card for the 'Insetário Virtual' project. At the top left is a green leaf. To its right, the text 'INETÁRIO VIRTUAL' is written in orange. Further right is a circular logo featuring a green praying mantis and the text 'INETÁRIO VIRTUAL' and 'UNIVERSIDADE UERGS'. Below this is a dark green box with the white text 'O que somos?'. Underneath, a paragraph explains the project: 'O Inetário Virtual é um projeto realizado pela Uergs de Vacaria que pretende organizar uma coleção de fotografias de insetos no seu habitat natural, no qual a participação de alunos do curso de Bacharelado em Agronomia e dos alunos das escolas da cidade é muito importante, já que deverão participar enviando fotos tiradas por eles mesmos.' Below this is a light green box with the text 'Como participar?'. To the left of the list is a small green leaf icon. The list contains four bullet points: '• Tire uma foto de um inseto em seu habitat;', '• Envie para uma de nossas páginas;', '• Diga a cidade e a data que você tirou a foto;', and '• Nos dê autorização para postá-la;'. Below the list is another green leaf icon and the text 'E pronto! Você e sua foto vão fazer parte de nosso acervo!'. At the bottom center is the 'Uergs' logo, which consists of a stylized 'U' with a globe inside, followed by the text 'Uergs' and 'Universidade Estadual do Rio Grande do Sul' below it.

INETÁRIO VIRTUAL

O que somos?

O Inetário Virtual é um projeto realizado pela Uergs de Vacaria que pretende organizar uma coleção de fotografias de insetos no seu habitat natural, no qual a participação de alunos do curso de Bacharelado em Agronomia e dos alunos das escolas da cidade é muito importante, já que deverão participar enviando fotos tiradas por eles mesmos.

Como participar?

- Tire uma foto de um inseto em seu habitat;
- Envie para uma de nossas páginas;
- Diga a cidade e a data que você tirou a foto;
- Nos dê autorização para postá-la;

E pronto! Você e sua foto vão fazer parte de nosso acervo!

Uergs
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Figura 2 – Card elaborado com as informações sobre o projeto de extensão com informações de como participar.

Fonte: Autores (2022);

A primeira foto postada foi por uma estudante do curso de Agronomia Convênio IFRS/Uergs, Unidade em Vacaria, registro de uma fêmea de louva-a-deus da família Mantidae (Figura 3). Como foi o primeiro registro sempre foi frisado que como orientação, toda a foto postada deve ser mencionada o nome da pessoa que fez o registro, data e local, dados muito importantes para estabelecer a época de ocorrência, local de ocorrência (habitat), relações ecológicas e descobertas de novas espécies e dessa forma auxiliar na preservação principalmente no equilíbrio ecológico das espécies.



Figura 3. Primeira foto postada no aplicativo Facebook.

Fonte: Autores (2022);

Outras ordens dos insetos foram escolhidas e mais fotos foram sendo pontadas contribuindo para a construção coletiva do acervo do Insetario Virtual (Figura 4).

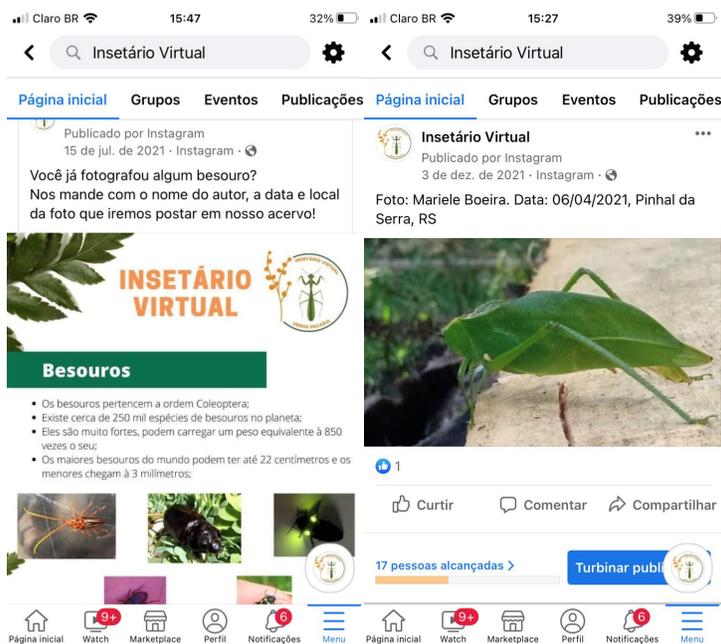


Figura 4. Card com informações sobre a Ordem Coleoptera e foto postada de uma esperança (Ordem Orthoptera).

Fonte: Autores (2022);

Foram postadas mais de 180 fotos sendo que a maioria foram insetos representados pelas Ordem Hemiptera, conhecidos como percevejos, fede-fede, alguns exemplares foram fotografados em lavouras de soja da região, muitos percevejos são insetos-pragas da cultura. A segunda ordem com mais exemplares registados foi dos Ortópteros que são gafanhotos, grilos, esperanças e taquarinhas, existem cerca de 17 mil espécies descritas, os insetos que pertencentes a essa ordem tem como características gerais o aparelho bucal mastigador, asas anteriores em tégmina e patas posteriores saltatórias. A terceira ordem foram os besouros, e normalmente são mais conhecidos por seus nomes populares, como os gorgulhos, os vaga-lumes, as joaninhas, os escaravelhos e os serra-paus, por essa razão foi elaborado um card para cada um deles, para que postassem as fotos, total de 64 registros.

Foi observado que a procedência dos registros fotográficos ocorreu em cinco Estados, destacando o Rio Grande do Sul, local onde a maioria dos estudantes residem, mas alguns registros realizados em Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro foram realizados (Tabela 1). O município com mais registros foi Vacaria no RS.

ORDEM DOS INSETOS	QUANTIDADE DE FOTOS POSTADAS	CIDADES DO REGISTRO	ESTADOS
MANTODEA	10	4	RS
COLEOPTERA			
- Besouro Escaravelho	28	13	RS, SC, MS, MT, TO
- Besouro Tec -Tec	4	3	
- Besouro Joaninha	4	4	
- Besouro Vaquinha	5	4	
- Besouro Serra-pau	20	16	
- Besouro Tartaruga	3	3	
HEMIPTERA	114	25	RS, SC, MS, RJ
ORTHOPTERA	95	24	RS, SC, MS, RJ

Tabela 1 – Registros fotográficos de acordo com a ordem dos insetos.

Fonte: Autores (2022);

Os estudantes foram estimulados a compartilhar as fotos, via Facebook e Instagram, bem como a “curtir” e “comentar” suas postagens e a dos colegas. Até o presente momento, a página do Facebook foi curtida por mais de 300 pessoas, com 344 seguidores.

Através da página do Insetário Virtual no Facebook, foi possível trocar informações com grupos importantes, como Insetos do Brasil, Sociedade Entomológica do Brasil e Laboratório de Sistemática dos Insetos (Labsin), páginas que trazem informações a respeito dos insetos, auxiliando no conhecimento, mostrando a diversidade de espécies que ocorrem no Brasil (Figura 5).

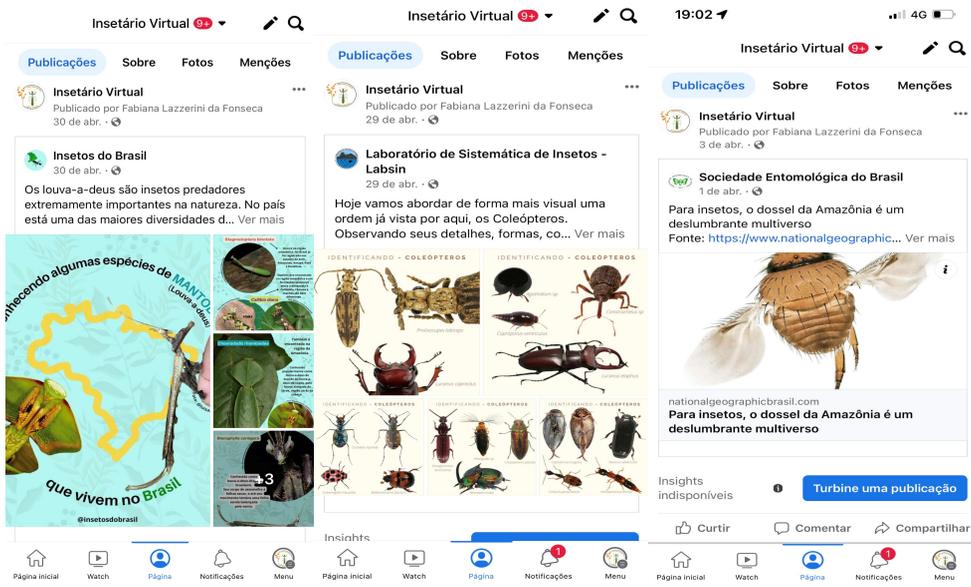


Figura 5. Páginas do Facebook compartilhadas e seguidas pelo Insetario Virtual.

Fonte: Autores (2022).

Além das postagens de páginas relevantes que tratam da importância dos insetos e das imagens produzidas pelos estudantes, foi possível problematizar o papel que as tecnologias móveis possuem e abordar as características dos insetos fotografados, suas diferenças, seus modos de vida, toda a relação que existe entre as outras espécies, e principalmente entre plantas e animais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim concluímos, que o Insetário Virtual auxiliou no conhecimento, desmistificando e explorando as espécies mais comuns que ocorrem no município de Vacaria, região e País, a sua relação para com o ambiente e orientando sobre a preservação da diversidade local, além de postagens dos mais variados sites de informação referente aos insetos. Através desta ferramenta e do estudo da Entomologia, foi possível auxiliar no ensino e aprendizagem sobre o papel ecológico dos insetos na natureza e sua importância na manutenção da vida na Terra.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. M.; RIBEIRO-COSTA, C. S.; MARINONI, L. Coleta, montagem preservação e métodos para estudo. In RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Brasília: Holos. 2012.

ALVES, G.; CAMPOS, L. L. "A borboleta é bonita e colorida": o que alunos de séries iniciais do Ensino Fundamental conhecem sobre insetos. **Atas do V Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências**. Universidade Estadual Paulista, Bauru. 2006.

BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Edgard Blücher, 1988. 653 p.

ALVES, S. B. **Patologia e controle microbiano**: vantagens e desvantagens. Piracicaba: FEALQ, 1998.

COSTA NETO, E. M. Folk taxonomy and cultural significance of "abeia" (Insecta, Hymenoptera) to the Pankararé, Northeastern Bahia State, Brazil. *J. Ethnobiol.*, Washington, D.C., v. 18, n.1, p.1-13, 1998.

COSTA-NETO, E. M.; CARVALHO, P.D. Percepção dos insetos pelos graduandos da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil. **Acta Scientiarum**, 22, 2, 423-428, 2000.

GULLAN, P. J. *et al.* **Os insetos: um resumo de entomologia**. Roca, 2007.

LUDKE, M.; ANDRÉ MED. **Pesquisa em Educação**: abordagens qualitativas. EPU: São Paulo. 1996.

MARICONI, F. A. M.; GUIMARÃES, J. H. G.; BERTI FILHO, E. **A mosca doméstica e algumas outras moscas nocivas**. Piracicaba, Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz. 135p. 1999.

PUJOL, R. Educacion Científica para la ciudadanía em formación. **Revista Alambique**, n.32, p. 1-15. 2002.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R. de; CARVALHO, C. J. B. de; CASSARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil**: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto: Ed: Holos. 810 p. 2012.

SANTOS, Saulo César Seiffert; TERÁN, Augusto Fachín. Possibilidades do uso de analogias e metáforas no processo de ensino-aprendizagem do ensino de zoologia no 7º ano do Ensino Fundamental. In: **VIII Congresso Norte Nordeste de Ensino de Ciências e Matemática**, Boa Vista. 2009.

SANTOS, D. C. J.; SOUTO, L. S. Coleção entomológica como ferramenta facilitadora para a aprendizagem de Ciências no ensino fundamental. **Scientia plena**, v. 7, n. 5. (2011).

SIMÕES, P. **ORDEM LEPIDÓPTERA**, Dúvida sobre borboletas, 2007

DANIELA REIS JOAQUIM DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2000), com mestrado em Biologia Celular e Molecular (2002), doutorado em Ciências (2006) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante o mestrado e o doutorado trabalhou diretamente com biologia celular e molecular e bioquímica, na clonagem e expressão de genes do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Também trabalhou com morte celular e estresse oxidativo no carrapato. Fez pós-doutorado na área de Ciências Médicas - Farmacologia (2007) na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Atualmente é professora Adjunta III na Universidade Federal do Piauí, no Departamento de Parasitologia e Microbiologia, líder do Grupo de Estudos em Microbiologia e Parasitologia (NUEMP) e membro do Núcleo de Pesquisa em Prevenção e Controle de Infecções em Serviços de Saúde (NUPCISS). Também é docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem (PPGEnf-UFPI). Tem experiência nas áreas de Biologia Celular e Molecular, Imunologia, Parasitologia, Microbiologia e Farmacologia Experimental e tem linhas de pesquisa em Controle de Infecções em Serviços de Saúde, Infecções comunitárias e Educação em Saúde.

A

Abeja carpintera 135, 137, 139

Agricultura 50, 59, 60, 62, 66, 69, 70, 74, 75, 76, 106, 111, 113, 127, 141

Animais de companhia 27, 29

Annona squamosa 79, 80, 81, 82, 83, 84

Arboviroses 80

B

Biobanco 27, 30

C

Camapu 88

Chile central 135, 137, 139, 140

Combustíveis fósseis 38, 53, 55, 115

Crise hídrica 59, 60, 62, 64, 65, 75, 76, 77, 78

Cultura celular 27

Cultura de tecidos 88, 89, 90

D

Defesa vegetal 150, 152, 153, 156, 158, 159, 160, 161

Degradação ambiental 108, 109, 111, 116, 121, 123, 129

Disponibilidade, distribuição e consumo de água 59, 60, 62

E

Educação ambiental 60, 73, 108, 109, 111, 121, 124, 125, 127, 128, 129, 130, 131, 133, 134

Entomologia 164, 165, 167, 172, 173

Etanol 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 82

Extratos 80, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 155

F

Facebook 164, 165, 167, 168, 170, 171, 172

Felis catus 27, 28

Filmes finos 2

Fosfato 1, 2, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 30, 94, 175

H

Hemodiálise 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 175

História da Biologia 108, 109, 111, 127

I

Insetário 164, 165, 167, 168, 171, 172

Instagram 164, 165, 167, 168, 171

J

Jasmonato 149, 150, 152, 153, 158, 159, 160

L

Leishmania amazonensis 88, 91

M

Maracujá 149, 150, 151, 152, 155, 158, 159, 160, 161, 162

Meio ambiente 42, 74, 78, 79, 109, 110, 111, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 165

Motor de combustão interna 38, 56

Motores de ciclo Otto 38

O

Óxido de alumínio 1, 2, 9, 10, 11, 23

P

Polinizador 135, 137, 139, 140

Preservação ambiental 108, 109, 110, 111, 167

Produtos naturais 80, 83

Proteômica 150, 153, 160

R

Resposta a estresse 150

S

Schistosoma mansoni 88, 91, 104, 105, 106, 107

Sustentabilidade 39, 56, 59, 60, 62, 121, 124, 129, 130, 132, 133

T

Tecido adiposo 27, 29, 30, 36, 37

Transistor de efeito de campo 1, 2, 3, 4, 176

X

Xylocopa augusti 135, 136, 141, 142

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades


Ano 2023