

I CONABIO / IV SIMCBIO CATÓLICA
I Congresso Nacional de Ciências Biológicas
IV Simpósio de Ciências Biológicas



UNIVERSIDADE
CATÓLICA DE
PERNAMBUCO
07 a 11 de novembro
Recife - PE

2011
ANAIS

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR MUCOR MUCEDO NA FORMA DE LEVEDURA

Souza, D. G.⁽¹⁾; Brandão, R. M. O.⁽¹⁾; Silva, N. R. A.⁽²⁾; Moura, P. A.⁽²⁾; Anjos, M. N. V.⁽³⁾; Souza, P. M.⁽⁴⁾; Okada, K.⁽⁵⁾
nadi.elly@hotmail.com

⁽¹⁾Bolsista de Iniciação Científica, Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco, (UNICAP), Recife – PE, Brasil; ⁽²⁾Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Católica de Pernambuco, (UNICAP), Recife – PE, Brasil; ⁽³⁾Mestranda em Biologia De Fungos pela Universidade Federal de Pernambuco, (UFPE), Recife – PE, Brasil; ⁽⁴⁾Programa Nacional de Pós-Doutorado da CAPES (PNPD/CAPES) - Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais - UNICAP, Recife – PE, Brasil; ⁽⁵⁾Professor do curso de Ciências Biológicas pela Universidade Católica De Pernambuco, (UNICAP), Recife – PE, Brasil.

RESUMO

Os Zygomycetes são organismos com potencial econômico/industrial, apresentam habilidades de adaptação a diferentes condições ambientais, e ainda representa um elemento fundamental na compreensão de seu comportamento celular. A diferenciação morfológica entre ambas as formas (filamentosa e levedura) pode ser controlada experimentalmente por condições ambientais, e é denominada de Dimorfismo. Este trabalho tem como objetivo promover o dimorfismo como também avaliar o potencial da espécie na produção de biosurfactante. Para a esporulação, as culturas foram mantidas em placa de Petri contendo BDA e logo transferidas para o meio estático YPG, a 28°C em uma estufa de CO₂ (20%); para o controle, as amostras foram mantidas à 28°C em condições aeróbias, por 72 horas. Após este período, o líquido metabólico livre de células foi submetido à análise da tensão superficial. O micélio foi coletado nos períodos de 24, 48 e 72 horas de cultivo, para a microscopia óptica. A melhor tensão superficial ocorreu nas 24 horas de cultivo. Os resultados da microscopia óptica revelaram a presença de artrósporos e células de levedura em todas as amostras. É preciso verificar o potencial de *M. mucedo* quanto à produção de biosurfactante.

Palavras-chave: Surfactante, Dimorfismo; *Mucorales*

INTRODUÇÃO

Os fungos da Ordem Mucorales, representantes da Divisão Zygomycota

constituem um grupo relevante de microrganismos, pois se destacam como produtores de compostos em processos biotecnológicos industriais,

como: enzimas, vitaminas, ácidos orgânicos, ácidos graxos, antibióticos, conservantes dentre outros. Esse potencial econômico-industrial significativo é devido a sua capacidade em resistir a variadas condições ambientais, referentes à sua atividade fisiológica, bioquímica e genética (ALEXOPOULOS et al., 1996; DUBE, 1978; TOMBS e BLAKE, 1982; ENDO et al., 1985; GRIFFIN, 1994; GRIFFIN, 1994; CARLILE & WATKINSON, 1996).

Alguns gêneros da Ordem Mucorales são dimórficos, estando o dimorfismo relacionado às condições ambientais, como: anaerobiose, presença de substâncias que bloqueiam a função geradora de energia das mitocôndrias e adição de Adenosina Monofosfato Cíclico (AMPc) (ORLOWSKI, 1991).

Alguns microrganismos (bactérias, fungos ou leveduras) são capazes de produzirem compostos que apresentam propriedades surfactantes, os quais são denominados de biossurfactantes. Devido as suas propriedades funcionais; uma das importantes propriedades dos biossurfactante é a habilidade de atuarem na redução da tensão superficial de soluções aquosas (NITSCHKE et al., 2004; YOUSSEF et al., 2004).

Dependendo de sua natureza química e da espécie produtora, os biossurfactantes são de grande aplicabilidade aos setores industriais como: indústria farmacêutica, cosméticos, alimentícia, entre outros. Os biossurfactantes apresentam vantagens quanto aos surfactantes sintéticos, pela baixa toxicidade, biodegradabilidade e a tolerância correspondendo a temperatura, pH e a força iônica (MULLIGAN; GIBBS, 1993; URUM et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi promover o dimorfismo do *M. mucedo* e analisar

seu potencial biotecnológico para a produção de biossurfactante.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismos e condição de cultivo

- O estudo foi realizado com o fungo *M. mucedo* da Ordem Mucorales, isolados de sedimentos de mangue do município de Rio Formoso, Pernambuco. Este foi identificado e depositado na Coleção de Culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais da Universidade Católica de Pernambuco, a qual é registrada no World Federation for Collection-WFCC. A linhagem foi mantida a temperatura de 28°C no meio Sintético para *Mucorales*- SMA (HESELTINE & ANDERSON, 1957), sendo repicadas a cada 4 meses para o mesmo meio de cultivo.

Indução ao dimorfismo

- Para promover o dimorfismo do fungo foram utilizados frascos de Erlenmeyers de 250 mL de capacidade, contendo: 100 mL do meio, composição: 0,3 g de extrato de levedura; 1 g de peptona e 2 g de glicose de YPG, pH 4,5. Em seguida, 2mL da suspensão de esporos contendo 10^7 esporangiósporos/mL, foram transferidos para o meio de YPG, mantidos na condição estática à 28°C nos períodos de 24, 48 e 72 horas de cultivo em estufa de CO₂ (20%). As amostras controle foram mantidas em condição aeróbia, à 28°C nos períodos de 24, 48 e 72 horas de cultivo. O meio foi centrifugado, para separar a biomassa do líquido metabólico. Após a centrifugação, foram retiradas alíquotas de 1mL para a observação através da microscopia óptica, utilizando lâminas (corante Azul de Amann). Aumento de 1000x. Os experimentos foram conduzidos em triplicata.

Determinação da Tensão Superficial -

Para a determinação da tensão superficial os líquidos metabólicos livre de células contendo o biossurfactante após 72 horas de cultivo, foram medidos em um tensiômetro automático (modelo Sigma 70-KSV Ltd., Finland) utilizando-se o anel de DU NUOY, através de sua imersão no líquido, registrando-se a força requerida para puxá-lo através da interface ar-líquido, de acordo com (Kuykina et al., 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Segundo ORLOWSKI (1991), o dimorfismo foi observado em várias espécies de *Mucor*.

A formação de levedura por brotamento esférico é uma característica comumente observada após o final do crescimento logarítmico (Log).

O aparecimento de artrósporos, estruturas de reprodução assexuadas, que são iniciadas com a formação de um septo durante a fase logarítmica e acaba com a fragmentação de hifas, estão relacionados com ambientes desfavoráveis nutricionalmente ou ambientes ácidos (ORLOWSKI, 1991; BARTNICKI-GARCIA e NICKERSON, 1962).

Os resultados obtidos pela microscopia óptica demonstraram: a presença de células leveduriformes na Figura 1B e 1C; e artrósporos na Figura 1D, no período de 24 horas, na estufa de CO₂ (20%); entretanto, no controle Figura 1A, observa-se crescimento na forma filamentosa.

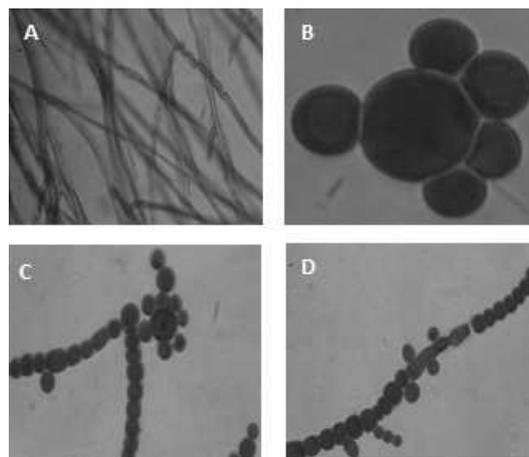


Figura 1. Microscopia óptica do *M.ucedo* cultivado em meio de cultura YPG: Controle (A); Estufa CO₂ (B, C e D). Incubados a

Na Figura 2 os resultados obtidos através da microscopia óptica crescida há 48 horas equivalem à morfologia das células do controle (A), encontram-se na forma filamentosa e presença de artrósporos. Nas figuras (2B, 2C e 2D), com formas esféricas, característica de levedura.

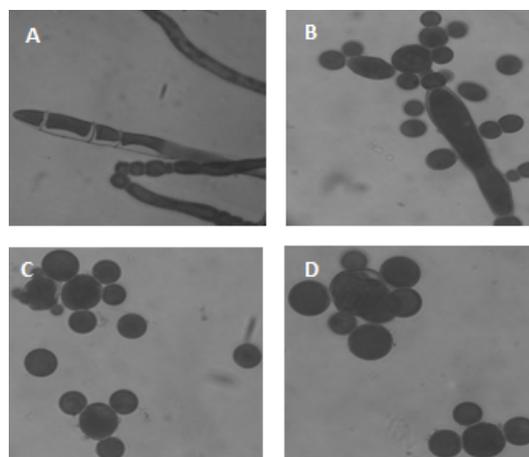


Figura 2. Microscopia óptica do *M.ucedo* cultivado em meio de cultura YPG: Controle (A); Estufa CO₂ (B, C e D). Incubados a 28°C, 48 horas. Aumento de 1000X.

Artrósporos são propágulos assexuados que foram identificados em uma grande variedade de fungos, incluindo várias espécies de *Mucor*. Artrósporos são importantes para a classificação de fungos, e potencialmente úteis para

diferenciação celular (HASHIMOTO e LUMENTHAL, 1978). Bartnicki-Garcia e Nickerson, em 1962 demonstraram que baixos valores de pH, inóculo pesado e altas concentrações de glicose, estimulavam a formação de artrósporos nas espécies *Mucor*. Esses padrões de crescimento por anaerobiose foram constatados, pelos níveis de glicose e alguns componentes de peptona que são imprescindíveis para a forma transitória. Ultimamente, têm demonstrado que há maior formação de artrósporos por *Mucor rouxii* durante o crescimento em meio de cultura, composto por extrato de levedura e peptona, adicionado com acetato de potássio.

Na Figura 3 observa-se o *M. mucedo* crescido a 72 horas de cultivo. Pode-se observar presença de artrósporos nas Figuras 3A, 3C e 3D. Entretanto, há predominância de células leveduriformes apenas na figura 3B.

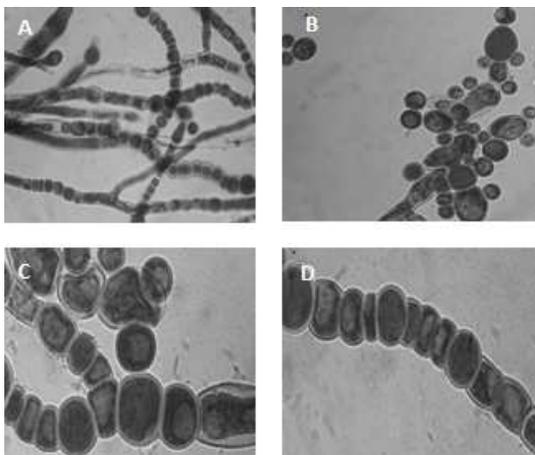


Figura 3. Microscopia óptica do *M. mucedo* cultivado em meio de cultura YPG: Controle (A); Estufa CO₂ (B, C e D). Incubados a 28°C, 72 horas. Aumento de 1000X.

De acordo com Jacobson (1977) a formação de artrósporos estava associada ao crescimento de espécies de *Mucor* em fermentações.

Foram determinantes para o crescimento de *M. racemosus* e *M.*

rouxii, o fluxo de gás N₂. Estudos demonstram um composto volátil produzido por *Mucor racemosus*, essencial para o desenvolvimento das hifas (MOONEY AND SYPHERD, 1976).

Foi claramente demonstrado que são necessárias hexoses para o desenvolvimento do fermento em *M. Rouxii* (Bartnicki-Garcia, 1968).

Contudo, modificações ambientais promovem o dimorfismo, como adição de: oxigênio, CO₂ e hexoses. Uma variedade de outros compostos (por exemplo: álcool phenethyl, PEA) foram relatados alterando a morfologia das células *Mucor* (HEIPIEPER et al. 1994).

Admitindo que o fungo filamentosamente tenha apresentado resposta habitual como as bactérias e leveduras, na presença anaeróbia, portanto, este trabalho tem o intuito de induzir o dimorfismo além de avaliar seu potencial quanto à produção de biossurfactante, na forma de levedura.

A capacidade de redução da tensão superficial é critério para o qual o microrganismo é considerado bom produtor de biossurfactante (YOUSSEF, 2004).

Assim, a Tabela 1 demonstra os resultados obtidos pelo *M. mucedo* para a produção de biossurfactante, na forma leveduriforme; apresentando uma melhor redução da tensão superficial na condição estufa de CO₂, no período de 24 horas, com tensão superficial de 50,03mN/m. A tensão superficial na condição aeróbia foi de 49,03 mN/m, no período de 48 horas, com variação mínima nas 72 horas de cultivo. Estes dados demonstraram que não ocorreram variações significativas, na produção de Biossurfactante, pelo fungo, na forma filamentosamente e leveduriforme.

Outros biossurfactantes *C. sphaerica* demonstraram maior capacidade de

reduzir (LUNA et al., 2008); um dos compostos biossurfactantes mais investigados são os ramnolipídeos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*.

Segundo NITSCHKE et al., 2004; YOUSSEF et al., 2004., uma das importantes propriedades dos biossurfactante é a habilidade de atuarem na redução da tensão superficial de soluções aquosas.

Tabela 1. Tensão Superficial (mN/m) da produção de biossurfactante do *M. mucedo* na forma de levedura.

Condições	24horas	48horas	72horas
Estufa (anaerobiose)	50,03	51,01	55,03
Controle (aerobiose)	52,06	49,03	49,04

CONCLUSÃO

Foi possível constatar alterações estruturais nas células do *M. mucedo* por meio da microscopia óptica, nos intervalos de 24, 48 e 72 horas de crescimento.

Durante as 24 horas de incubação, as amostras controles apresentaram morfologia filamentosa, e presença de artrósporos.

O dióxido de carbono e o meio YPG foram fatores que determinaram a indução do dimorfismo no *M. mucedo*.

A produção de biossurfactante não foi influenciada pelas alterações morfológicas ocorridas nas condições estudadas.

Assim, sugere se novas investigações na produção de biossurfactante com fungos dimórficos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o suporte financeiro fornecido da Universidade

Católica de Pernambuco (UNICAP), Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB), CNPq, CAPES e FACEPE. E a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente com a pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C. J., MIMS, C. W., BLACKWELL, M. - Introductory Mycology. John Wiley & Sons, Pub., 233p.1996.

BARRERA, C. R. - Formation and ultrastructure of *Mucorrouxi*arthrospores. Journal Bacteriol. v. 155, pp. 866 – 895, 1983.

BARTNICKI-GARCIA, S., e W. J. NICKERSON - Induction of yeastlike development in *Mucor* by carbon dioxide. J. Bacteriol. 84:829-840, 1962.

BARTNICKI-GARCIA, S., e W. J. NICKERSON - Nutrition, growth, and morphogenesis of *Mucorrouxii*. J. Bacteriol. 84:841-852, 1962.

BRAUDE, A.I.; DAVIS E.E. & FIERER, J. - Infectious Disease and Medical Microbiology III, 2nd.Edition, Tokyo, W.B. Saunders Company, 1620 p., 1981.

CARLILE, M. J. & WATKINSON, S. C. - The Fungi. 3rd Edition. Academic Press Ltd. Londres.482, p, 1996.

DOMBEK, K.M. e INGRAM, L.O. - Effects of ethanol on the *Escherichia coli* plasma membrane. Journal of Bacteriology, 157, 233±239, 1984.

DUBE, H.C. - A Textbook of Fungi, Bacteria and Viruses. Vikas Publishing House Put Ltd., 239 p, 1978.

- ENDO, A.; TAKESHIMA, H. & KUWABARA, K. - Acetyl CoA Carboxylase Inhibitors From the Fungus *Gongronella butleri*. The Journal of Antibiotics, XXXVIII, p. 599 - 604, 1985.
- GRIFFIN, D. H. - Fungal Physiology. John Wiley & Sons Incorporation Publishers. 458 p, 1994.
- HANSSON, L. AND DOSTAÅLEK, M. - Effect of culture conditions on mycelial growth and production of γ -linolenic acid by the fungus *Mortierella ramanniana*. Applied Microbiology and Biotechnology. 28, 240±246, 1988.
- HASHIMOTO, T., e H. J. BLUMENTHAL - Survival and resistance of *Trichophyton mentagrophytes* arthrospores. Appl. Environ. Microbiol. 35:274-277, 1978.
- HEIPIEPER, H. J., WEBER, F. J., SIKKEMA, J., KEWELOH, H. AND BONT, J. A. M. - Mechanisms of resistance of whole cells to toxic organic solvents. Trends in Biotechnology. 12, 409±415, (1994).
- HESELTEINE, C. W. - Genera of Mucorales With Notes on their Synonymy. Mycology, v. 47, p. 344 - 362, 1955.
- INGRAM, L.O. - Microbial tolerance to alcohols: role of the cell membrane. Trends in Biotechnology, 40, 40±44, 1986.
- LUNA, J. M de et al. Produção de biossurfactante em meio baixo custo formulado com água do mar. Exacta, SP, V.6, n.2, p. 209-215, Jul/Dez, 2008.
- MOONEY, D. T., SYPHERD, P. S. Volatile Factor Involved in the Dimorphism of *Mucor racemosus*. JOURNAL OF BACTERIOLOGY. V. 126, p. 1266-1270, 1976.
- NITSCHKE, M.; FERRAZ, C.; PASTORE, G. M. Selection of microorganisms for biosurfactant production using agroindustrial wastes. BRAZILIAN JOURNAL of MICROBIOLOGY. v. 35, p. 81-85, 2004.
- O'DONNELL, K.L. - Zygomycetes in Culture. Department of Botany, Athens, G.A. 257p, 1979.
- ORLOWSKI, I. M. - *Mucor* Dimorphism. Microbiology Reviews, v. 55, p. 234-258, 1991.
- RUFINO R. D., SARUBBO L. A., CAMPOS-TAKAKI G. M. - Enhancement of stability of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using as substrate industrial residue. World J Microbiol Biotechnol, v. 23(5), p. 729-734, 2007.
- SONG, G.-S., KIM, C.-K., KWON, Y.-J., YANG, H.-C. AND LEE, T.-K. - Studies on fungal lipids containing γ -linolenic acid. 1. Fatty acid composition of *Mucor* sp. Journal of the Korean Society of Food Nutrition. 19 (6), 636±640, 1990.
- TOMBS, M.P. & BLAKE, G.G. - Stability and inhibition of *Aspergillus* and *Rhizopus* lipases. Biochimica et Biophysica Acta, v. 700, p. 81-89, 1982.
- VANDEN BOSSCHE, H., ODDS, F. C., KERRIDGE, D. - Dimorphic Fungi

in Biology and Medicine. Plenum Press, New York, 1993.

WEITZMAN, I., WHITTIER, S., McKITRICK, J. C., DELLA-LATTA, P. - Zygospor: The Last Word in Identification of Rare and Atypical Zygomycetes Isolated from Animal Specimens. Journal of Clinical Microbiology, v. 33, p. 781-783, 1995.

YOUSSEF, N. H.; DUNCAN, K. E.; NAGLE, D.P.; SAVAGE, K.N.; KNAPP, R. M.; MC INERNEY, M. J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganism. Journal of Microbiological Methods, v. 56, p. 339-347, 2004.

PROPÁGULOS DE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM ÁREAS DE RESTINGAS E DUNAS NATURAIS E REVEGETADAS APÓS MINERAÇÃO

Cavalcanti, T.T.W.⁽¹⁾; Silva, D.K.A.⁽²⁾; Souza, R.G.⁽³⁾; Silva, G.A.⁽⁴⁾; Maia, L.C.⁽⁵⁾
thais.t.cavalcanti@gmail.com

⁽¹⁾Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco; ⁽²⁾Pós-graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco; ⁽³⁾Pós-graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco; ⁽⁴⁾Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco; ⁽⁵⁾Departamento de Micologia, Pós-graduação em Biologia de Fungos Universidade Federal de Pernambuco. (CNPq, CAPES, FACEPE)

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi determinar os propágulos infectivos de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em solos de quatro áreas naturais com vegetação de restinga: duas arbóreas (mata controle I e II), uma arbustiva e uma herbácea e em três dunas mineradas e revegetadas há dois, 10 e 22 anos, no litoral da Paraíba. Para avaliação do número de glomerosporos e do número mais provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA, coletas de solo foram realizadas em julho e novembro de 2010, e março de 2011. A restinga praiana apresentou menor número de glomerosporos (49, 21 e 37 glomerosporos 50 mL⁻¹ solo) em todos os períodos de coleta. Por outro lado, no solo da duna recém revegetada foram encontrados os maiores valores de propágulos infectivos de FMA, nos três períodos de coleta (49, 240 e 49 propágulos cm⁻³ solo). Os propágulos de FMA incluem glomerosporos, hifas e raízes colonizadas e a presença desses propágulos no ambiente indica que os FMA estão funcionalmente ativos contribuindo para a recuperação das dunas mineradas.

PALAVRAS-CHAVE: propágulos infectivos; Glomeromycota, glomerosporos

INTRODUÇÃO

As restingas são ambientes costeiros e compreendem aproximadamente 80% da costa brasileira (Lacerda *et al.*,

1993), apresentam vegetação que varia desde herbácea a arbórea com adaptações para suportar temperaturas elevadas, salinidade e seca. Essas áreas vêm sofrendo pressões antrópicas

(Zamith & Scarano, 2006) que causam prejuízo ao ambiente. O processo de mineração é um dos principais fatores de degradação ambiental, afetando a vegetação, a fauna, a flora e a comunidade microbiana do solo.

Os microrganismos do solo desempenham importante papel na ciclagem de nutrientes (Fillip, 2002) sendo diretamente afetados pela atividade mineradora. Dentre os microrganismos presentes no solo, encontram-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) que se destacam pela simbiose mutualística formada com as raízes da maioria das espécies vegetais. Nessa associação, a planta fornece fotossintatos necessários para o crescimento e reprodução do fungo, e estes favorecem o crescimento da planta por aumentar a área de absorção de água e nutrientes, conferindo maior tolerância da planta a estresses bióticos e abióticos (de Souza *et al.*, 2008).

Uma estratégia para minimizar os efeitos da atividade mineradora é a revegetação, que visa a recuperação das áreas através do plantio de mudas sobre o subsolo exposto da área minerada (Caproni *et al.*, 2003), no entanto, esse processo de recuperação é lento (Oliveira *et al.*, 2009). Neste sentido, a presença de FMA no substrato de produção de mudas utilizadas em programas de revegetação é importante, pois algumas espécies vegetais são dependentes da micorrização, e nesses casos, a presença dos FMA se torna indispensável para o sucesso do estabelecimento das mudas em campo.

Devido a importante função desempenhada pelos FMA é essencial avaliar a presença desses simbioses, através dos seus propágulos infectivos, nas áreas em processo de recuperação. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi determinar o número de glomerosporos e propágulos infectivos

dos fungos micorrízicos arbusculares em áreas de dunas naturais e revegetadas após atividade de mineração no litoral da Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O local de estudo compreende áreas de dunas de propriedade da empresa Millennium Inorganic Chemicals Mining, a Cristal Company – Mineração-PB, localizada no Município de Mataraca, Paraíba (6°28'20"-6°30'00"S, 34°55'50"-34°57'10"W). O clima é tropical chuvoso (tipo Am de Köppen), com período de seca curto (quatro meses) e temperatura média anual de 25,5 °C, variando de 23,7 °C, em julho, a 26,8 °C em dezembro. Sete áreas foram estudadas: duas de mata de restinga arbórea preservada (mata I e II), uma de restinga praiana, uma de restinga arbustiva, dunas revegetadas em 1989, 2001 e 2009.

Amostragem

Coletas foram realizadas em julho e novembro de 2010 e março de 2011, períodos chuvoso e início e final do período seco, respectivamente. Em cada área foram determinadas quatro parcelas, e em cada parcela foram coletadas seis amostras simples para compor uma amostra composta, perfazendo quatro amostras/ área e 28 amostras por coleta, totalizando 84 amostras.

Quantificação dos glomerosporos

Glomerosporos foram extraídos do solo via peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) a partir de amostras de 50 mL de solo, seguido por centrifugação em água e sacarose a 50% (Jenkins, 1964), sendo feita a contagem direta em placa canaletada com auxílio de estereomicroscópio.

Potencial de infectividade de FMA no solo

Para esta análise amostras compostas de solo de cada área foram diluídas nas proporções de 0 (sem diluição), 1:10, 1:100 e 1:1000 (Feldmann & Idzack, 1994) utilizando-se areia desinfestada como diluente. Nesse substrato foram colocadas sementes de milho (*Zea mays* L.), sendo utilizadas cinco repetições para cada nível de diluição. Após 30 dias as raízes foram retiradas, diafanizadas com KOH (10%), coradas em azul de Trypan (0,05%) (Phillips & Hayman, 1970) e mantidas em glicerol (50%). Em seguida foi avaliada a presença de colonização micorrízica com auxílio de estereomicroscópio.

Análise estatística

Os dados de número de esporos foram transformados por $\log(x+1)$, submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste LSD a 5% de probabilidade (Statistica, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A área de restinga praiana apresentou menor número de glomerosporos no período chuvoso (julho-2010) quando comparado às demais áreas, não diferindo apenas da mata controle I (Figura 1). A menor densidade de glomerosporos pode estar relacionada às condições limitantes dessa área, principalmente pela proximidade do mar, em que ocorrem fortes ventos, maior incidência de luz, grande movimentação de areia e pouca retenção de água no solo (Trufem *et al.*, 1994; Santos *et al.*, 1995), podendo assim afetar a abundância de esporos no solo. Resultados similares foram observados em Santa Catarina por Córdoba *et al.* (2001), que registraram menor

esporulação em duna mais próxima ao mar.

De modo geral, a área revegetada em 2001 apresentou o maior número de glomerosporos, no início e no final do período seco, quando comparada às demais áreas. A maior esporulação, observada no período seco nessa área, pode estar relacionada à menor disponibilidade de água no solo, uma vez que o aumento na produção de glomerosporos constitui estratégia de sobrevivência em condições estressantes, tais como o déficit hídrico. O número mais provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA foi maior na área de duna revegetada em 2009 em todos os períodos de coleta (Tabela 1). Essa análise indica a capacidade infectiva do solo pela presença de propágulos viáveis de FMA, não apresentando relação direta com o número de esporos recuperados do solo (Stürmer *et al.*, 2010). Isso foi comprovado pelo fato da área revegetada em 2009 não ter apresentado a maior quantidade de glomerosporos, indicando que outros propágulos como hifas e raízes colonizadas estavam contribuindo para a infectividade dos FMA.

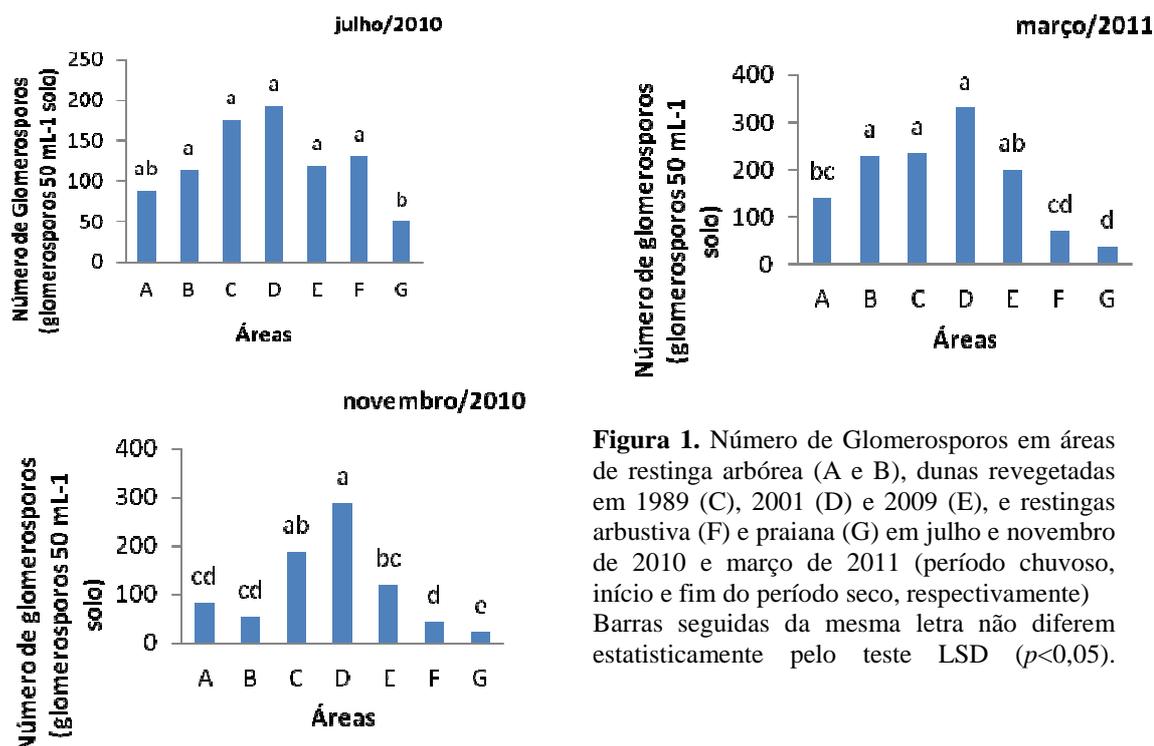


Figura 1. Número de Glomerosporos em áreas de restinga arbórea (A e B), dunas revegetadas em 1989 (C), 2001 (D) e 2009 (E), e restingas arbustiva (F) e praiana (G) em julho e novembro de 2010 e março de 2011 (período chuvoso, início e fim do período seco, respectivamente) Barras seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste LSD ($p < 0,05$).

Tabela 1. Número mais provável (NMP) de propágulos infectivos de FMA em áreas de restinga arbórea (A e B), dunas revegetadas em 1989 (C), 2001 (D) e 2009 (E), restingas arbustiva (F) e praiana (G)

	A	B	C	D	E	F	G
	NMP (propágulos cm⁻³ solo)						
Julho/2010	13,0	33,0	23,0	33,0	49,0	23,0	46,0
Novembro/2010	11,0	46,0	4,0	22,0	240,0	23,0	34,0
Março/2011	7,8	4,5	33,0	17,0	49,0	11,0	11,0

CONCLUSÃO

Mesmo sob estresses abióticos os propágulos infectivos de FMA estão presentes nos ambientes estudados, mostrando que há uma comunidade ativa desses fungos, possivelmente contribuindo para o sucesso da recuperação das áreas que sofreram degradação pela atividade de mineração.

REFERÊNCIAS

- CAPRONI, A.L., FRANCO, A.A., BERBARA, R.L.L., TRUFEM, S.F.B., GRANHA, J.R.D.O. & MONTEIRO, A.B. 2003. Ocorrência de fungos micorrízicos arbusculares em áreas revegetadas após mineração de bauxita em Porto Trombetas, Pará. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38 (12): 1409-1418.
- CÓRDOBA, A.S., MENDONÇA, M.M., STÜRMER, S.L. &

- RYGLEWICZ, P.T. 2001. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along a sand dune stabilization gradient: a case study at Praia de Joaquina, Ilha de Santa Catarina, South Brazil. *Mycoscience* 42: 379-387.
- DE SOUZA, F.A., DA SILVA, I.C.L. & BERBARA, R.L.L. Fungos micorrízicos arbusculares: Muito mais diversos do que se imaginava. In *Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros* (J. Brussaard, J.O. Siqueira & F.M.S. Moreira, eds.), Lavras, UFLA, 2008. p. 501-556.
- FELDMANN, F. & IDCZAK, E. 1994. Inoculum production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries. Pp. 799- 817. In *Techniques for mycorrhizal research* (J.R. Norris; D.J. Read & A.K. Varma, eds.). Academic Press, San Diego, p. 799-817.
- FILLIP, Z. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88: 169-174.
- GERDEMANN, J. W. & NICOLSON, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48: 692.
- LACERDA, L.D.; ARAUJO, D.S.D.; MACIEL, N.C. Dry coastal ecosystems TRUFEM, S.F.B., MALATINSZKY, S.M.M. & OTOMO, H.S. Fungos micorrízicos arbusculares of the tropical Brazilian coast. Pp.477-493. In: *Ecosystems of the World 2B: dry coastal ecosystems Africa, America, Asia and Oceania*. E. van der Maarel (ed.). Elsevier, Amsterdam, 1993.
- OLIVEIRA, J.R.G., SOUZA, R.G., SILVA, F.S.B., MENDES, A.S.M. & YANO-MELO, A.M. 2009. O papel da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) autóctones no desenvolvimento de espécies vegetais nativas em área de dunas de restinga revegetadas no litoral do Estado da Paraíba. *Revista Brasileira de Botânica* 32 (4): 663-670.
- PHILLIPS, J.M. & HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970. 55: 158-161.
- SANTOS, O.M., OLIVEIRA, N.C. & NOVAIS, R.F. 1995. Observações preliminares sobre fungos micorrízicos vesículo-arbusculares em plantas crescendo em dunas na Bahia. *Revista Ceres* 42 (240): 191-202
- STATSOFT. 1997. *Statistica for windows*. Tulsa (CD-ROM).
- STÜRMER, Sidney Luiz, MELLONI, R. & CAPRONI, Ana Lucy. Micorrizas arbusculares em dunas marítimas e em áreas de mineração. P-341-360. In *Micorrizas: 30 anos de pesquisas no Brasil* (J.O. Siqueira, F.A. de Souza, E.J.B.N. Cardoso & S.M. Tsai, eds.), Lavras, UFLA, 2010. p.341-360.

em rizosferas de plantas do litoral Cardoso, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasílica*, 1994. 8 (2): 219-229.

ZAMITH, L.R. & SCARANO, F.R. 2006. Restoration of a restinga sandy coastal plain in Brazil: Survival and

arenoso do Parque Estadual da Ilha do growth of planted woody species. *Restoration Ecology* 14 (1): 87-94.

PROSPECÇÃO DOS CASOS CONFIRMADOS NOTIFICADOS DE TUBERCULOSE NO ESTADO DE PERNAMBUCO EM 2010

Barbosa, M.A.⁽¹⁾; Ferreira, M.J.L.⁽¹⁾; Santos, E.R.R.⁽¹⁾; Santos, E.C.⁽²⁾; Severo-Gomes, B.⁽³⁾
maralves.barbosa@gmail.com

⁽¹⁾Discente do Curso de Especialização em Micologia da Universidade Federal de Pernambuco;

⁽²⁾Discente do curso de graduação em Ciências Biológicas, Univ. Fed. Rural de Pernambuco, Recife, PE, 52171-900;

⁽³⁾Docente do Departamento de Micologia. Universidade Federal de Pernambuco. Entidade financiadora: UFPE.

RESUMO

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, a qual é transmitida predominantemente pelas vias aéreas, esta acomete principalmente os pulmões, mas pode atingir outros órgãos e tecidos. A presente pesquisa teve como objetivo realizar uma prospecção dos casos confirmados notificados de tuberculose no Estado de Pernambuco em 2010. Os dados utilizados neste estudo foram obtidos a partir de levantamento bibliográfico e consultas ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN do Ministério da Saúde referentes ao ano de 2010. Conforme dados SINAN, foram registrados 5.048 casos de tuberculose no ano de 2010 no Estado de Pernambuco. Sendo 4.355 (86%) de casos na forma pulmonar, 527 (11%) de casos na forma extra-pulmonar e 166 (3%) de casos na apresentando ambas as formas pulmonar e extra-pulmonar. Com os resultados obtidos podemos concluir que a forma pulmonar da tuberculose é prevalente no Estado de Pernambuco. O sexo masculino é o mais afetado nas três formas clínicas da tuberculose. A faixa etária mais prevalente é de 20 a 39 anos de idade.

Palavras-chave: Prospecção; Tuberculose; Pernambuco.

INTRODUÇÃO

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou bacilo de Koch, a qual é transmitida predominantemente pelas

vias aéreas, e acomete principalmente os pulmões, mas pode atingir outros órgãos e tecidos (MOREIRA et al., 2004).

Acreditava-se que o controle dessa epidemia poderia ser obtido com o diagnóstico e tratamento da maioria dos casos, epidemiologicamente previstos para determinada área, contudo, a situação atual da tuberculose demonstra que essa meta não foi alcançada (KRITSKI et al., 2000).

O quadro epidemiológico é agravado pela alta mortalidade, decorrente da tuberculose nas nações em desenvolvimento. No Estado de Pernambuco, foi registrada uma mortalidade de 5% dos casos novos notificados, em 2004 (RECIFE, 2006).

Para infecção, em um dado organismo, requer alguns fatores intrínsecos e extrínsecos e cujo conjunto estrutura a sua suscetibilidade e gravidade. Está, portanto, associada ao desemprego e ao subemprego, baixo grau de escolaridade, alimentação deficiente e insuficiente, habitação insalubre e a outros fatores associados à pobreza, constituindo-se uma enfermidade de condicionamentos sociais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

O contágio, quase sempre está relacionado à proximidade com o doente em casa, ocorrendo também em ambientes fechados como no local de trabalho, salas e espaços refrigerados (MOREIRA et al., 2004).

A tuberculose é historicamente um importante problema de saúde pública no mundo. Considerando a estratégia global de redução da morbidade e mortalidade por tuberculose, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu como metas para seu controle a detecção de 70% de todos os casos novos bacilíferos, com 85% de sucesso de tratamento (WHO 2005).

Segundo as estimativas atuais da OMS, ocorrem 110 mil casos novos anuais de tuberculose no Brasil, ou seja, uma taxa de incidência de 62 por 100 mil habitantes, situando o País na 15ª

posição entre os 22 países mais afetados pela doença (WHO, 2005).

A distância deste número para o estimado pela OMS é enorme, e mesmo considerando-se a deficiência diagnóstica e a sub-notificação, fica difícil acreditar que se tenha de 20 a 30 mil casos desconhecidos a cada ano. Sabe-se, pela ausência de um modelo preciso, da dificuldade de estimar-se corretamente o número de casos, o que leva a uma reflexão sobre essas estimativas para que não se venha a recair em equívocos de planejamento e em frustrações quanto ao cumprimento de metas (HIJJAR et al., 2001).

Se o controle da tuberculose não se efetivar de forma satisfatória e, diante da ausência de inovações terapêuticas e profiláticas, seremos obrigados a conviver com as estimativas do Banco Mundial - em 2020 a tuberculose contribuirá com 55% das mortes observadas em adultos nos países em desenvolvimento (HIJJAR et al., 2001).

Em 1995 cerca de 1/3 dos 15 milhões de indivíduos infectados pelo HIV no mundo estavam co-infectados pelo *M. tuberculosis*. Setenta por cento dos indivíduos co-infectados viviam na África, 20% na Ásia e 8% na América Latina. A infecção pelo HIV aumenta a suscetibilidade à infecção pelo *M. tuberculosis*. Em um indivíduo infectado pelo *M. tuberculosis*, o HIV passa a ser um importante co-fator na progressão da tuberculose infecção para doença. A notificação de casos de tuberculose tem aumentado em populações onde a co-infecção HIV e *M. tuberculosis* é freqüente (HARRIES, 1998).

O contágio indireto pelo manuseio de material contaminado e animais pode existir, entretanto, é excepcional. É através da tosse, pela eliminação das gotículas de Flügge, que o contágio se dá no indivíduo sã. A porta de entrada

mais frequente em cerca de 90% dos casos é a via respiratória. Por essa razão, a tuberculose pulmonar é a forma dominante. Outras vias, entretanto, são possíveis, como a digestiva, cutânea, tonsiliana, ocular e outras que possam ter contato direto com o agente agressor. Pode ser classificada em quatro formas: tuberculose pulmonar, tuberculose primária, tuberculose de reativação e tuberculose extrapulmonar (ANTUNES et al., 2001).

De acordo com o acometimento, a localização extrapulmonar pode ser classificada em primária, através da infecção bacteriana diretamente sobre o órgão, ou secundária, que ocorre através da disseminação do foco pulmonar (GARCIA et al., 2004).

A medicação anti-tuberculose é a mesma para as formas pulmonares e extrapulmonares variando apenas o tempo de tratamento (RAMADAN et al., 1995).

Estima-se que no mundo existam cerca de oito milhões de novos casos de tuberculose e cerca de dois milhões de mortes por ano. Na maior parte dos países em desenvolvimento, a tuberculose é um importante problema de saúde pública, abarcando 80% dos casos mundiais da doença. No Brasil, estima-se que cerca de 50 milhões de pessoas estejam infectadas pelo bacilo da tuberculose. Anualmente, são notificados aproximadamente 80 mil casos novos e 4,5 mil mortes em decorrência da doença¹. Na região Nordeste, no ano de 2007, a taxa de incidência da tuberculose pulmonar foi de 39,45 para cada 100 mil habitantes. Em Pernambuco, no mesmo período, foram notificados e confirmados 4046 casos de tuberculose pulmonar, dos quais 1804 apresentavam-se em Recife (MOTA, et al., 2010).

No Brasil, a tuberculose é a terceira infecção oportunista mais frequente no momento do diagnóstico de casos de

AIDS. Em 1984, esta associação correspondia a 13,3% dos casos de AIDS, em julho de 1993, a associação elevou-se para 18,9%. Havia uma projeção do Ministério da Saúde de que no período de 1993 a 1995, apareceriam 87.000 casos novos de AIDS, dos quais 20 a 40% poderiam desenvolver tuberculose (KUSANO, 1996).

A presente pesquisa teve como objetivo realizar uma prospecção dos casos confirmados notificados pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN do Ministério da Saúde em relação a tuberculose no Estado de Pernambuco em 2010.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados neste estudo foram obtidos a partir de levantamento bibliográfico e consultas ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN do Ministério da Saúde referentes ao ano de 2010.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme dados SINAN, foram registrados 5.048 casos de tuberculose no ano de 2010 no Estado de Pernambuco.

Sendo 4.355 (86%) de casos na forma pulmonar, 527 (11%) de casos na forma extrapulmonar e 166 (3%) de casos na apresentando ambas as formas pulmonares e extrapulmonares.

A distribuição em relação ao sexo na forma pulmonar da tuberculose mostrou que dos 4.355 casos, 3.049 (70%) pertenciam ao sexo masculino e 1.306 (30%) pertenciam ao sexo feminino.

Na forma extrapulmonar da tuberculose, dos 527 casos, 307 (58%) pertenciam ao sexo masculino e 220 (42%) pertenciam ao sexo feminino.

Em nos 166 casos de tuberculose com ambas as formas pulmonar e extrapulmonar, verificou-se que 116 (70%) pertenciam ao sexo masculino e 50 (30%) pertenciam ao sexo feminino. Dos 4.355 casos confirmados de tuberculose na forma pulmonar, 408 (9%) apresentaram sorologia positiva para HIV. Nos 527 casos de tuberculose na forma extrapulmonar, 83 (16%) apresentaram sorologia positiva para HIV. E nos 166 casos com ambas as formas da tuberculose, 64 (39%) apresentaram sorologia positiva para HIV.

Em relação à situação de encerramento do quadro clínico na tuberculose pulmonar a cura foi observada em 1.020 casos, o abandono em 236 casos, o óbito por tuberculose em 99 casos, óbito por outras causas em 96 casos, transferência de local de tratamento em 539 casos. Os outros casos foram enquadrados em branco ou sem preenchimento.

Na forma extrapulmonar da tuberculose a cura foi observada em 106 casos, o abandono em 15 casos, o óbito por tuberculose em cinco casos, óbito por outras causas em 15 casos, transferência de local de tratamento em 56 casos. Os outros casos foram enquadrados em branco ou sem preenchimento.

Nos casos com ambas as formas da tuberculose a cura foi observada em 19 casos, o abandono em dois casos, o óbito por tuberculose em três casos, óbito por outras causas em oito casos, transferência de local de tratamento em 27 casos. Os outros casos foram enquadrados em branco ou sem preenchimento.

Em relação à faixa etária foi observado que 8% dos casos se encontram na faixa etária dos < 1 a 19 anos, cerca de 46% entre os 20 a 39 anos, 34% entre os 40 a 59 anos e 11% entre os 60 a 79 anos e 1% acima de 80 anos.

Frente à gravidade da situação mundial e à permanência, em nível preocupante, da epidemia de tuberculose em nosso meio, o país, desde muito, vem sistematicamente tomando apropriadas iniciativas para combater a doença. Basta referir que desde meados da década de 60, o Ministério da Saúde padronizou e passou a distribuir, gratuitamente, em nível nacional, as drogas que integravam os esquemas terapêuticos de maior eficácia daquela época.

No final dos anos setenta com os avanços da quimioterapia da tuberculose o Brasil substituiu os antigos esquemas prolongados pelos novos de curta duração que incluíam rifampicina, isoniazida e pirazinamida, os quais, como os anteriores, são até os dias de hoje, também distribuídos gratuitamente (PERNAMBUCO, 2011). Na Cidade do Recife (PE), em 2002, o coeficiente de incidência de tuberculose foi de 104 por 100.000 habitantes para a população geral e de 135 por 100.000 habitantes para a população geriátrica. No Brasil, neste mesmo período, a referida incidência foi de 45 por 100.000 habitantes e 69 por 100.000 habitantes respectivamente, denotando assim a alta incidência da doença na Cidade do Recife em relação à população brasileira como um todo, e também a maior incidência na população geriátrica em relação à população geral (PERNAMBUCO, 2011).

CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos podemos concluir que a forma pulmonar da tuberculose é prevalente no Estado de Pernambuco. O sexo masculino é o mais afetado nas três formas clínicas da tuberculose. A faixa etária mais prevalente é de 20 a 39 anos de idade.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, A.A.; ANTUNES, A.P. Tuberculose da laringe: estudo retrospectivo e revisão e revisão de literatura. Rev. Bras de Cirurgia de Cabeça e Pescoço. 25(1-2):19-22. 2001.

GARCIA, R.I.D.; CECATTO, S.B.; MENDONÇA R.R.; BARCELOS, C.E.M.; SANTOS, R.O.; RAPOPORT, P.B. Tuberculose e blastomicose laríngeas: relato de três casos e revisão de literatura. Rev Bras Otorrinolaringol. 70(2):255-9. 2004.

HARRIES, A.D. Manual clínico TB/HIV. Genebra: OMS; 1998.

HIJJAR, M. A.; OLIVEIRA, M. J.; TEIXEIRA, G. M. A tuberculose no Brasil e no mundo. Bol. Pneumol. Sanit. vol.9, n.2, pp. 9-16.2001.

KRITSKI A.L, CONDE, M.B, SOUZA, G.R.M. Tuberculose: do ambulatório à enfermaria. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

KUSANO, M.E. Estudo comparativo entre tuberculosos não infectados e infectados pelo HIV no Distrito Federal.

Revista Brasileira de Enfermagem, Brasília (DF) 49(1):41-54, 1996.

MOTA, L.A.A.; OLIVEIRA, L.M. QUEIROZ, R.B. Laryngeal tuberculosis: Literature review . ACTA ORL/Técnicas em Otorrinolaringologia - Vol. 28 (1) 24-6, 2010.

PERNAMBUCO. Governo do Estado de Pernambuco. Secretaria Estadual de Saúde. Coordenação de Tuberculose do Estado de Pernambuco. Indicadores e informações em saúde. Recife: SINAN/MS/SUS. Disponível em: www.saude.gov.br. >.Acesso em: 31 jul. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis control - surveillance, planning, financing. WHO report Geneva; 2005.

RAMADAN, H.H.; WAX, M.K. Laryngeal Tuberculosis. ARCH OtolaryngolHead Neck Surg. 121:109-112. 1995.

SECRETARIA DE SAÚDE DO RECIFE. Corte de Casos de Tuberculose, Recife. Disponível em: www.recife.pe.gov.br/pr/secsaude/ >.Acesso em: 01 ago. 2011.

PROSPECÇÃO E ANÁLISE ESTRUTURAL *IN SILICO*, DOS GENES REPRESENTANTES DA VIA SOS EM *Ricinus Communis*.

Lima, M.O.⁽¹⁾; Belarmino, L.C.^(1,2); Soares-Cavalcanti, N.M.⁽¹⁾; Benko-Iseppon, A.M.⁽¹⁾
olima.marx@gmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil; ⁽²⁾Johann Wolfgang Goethe Universität, Frankfurt am Main, Alemanha. Email ana.benko.iseppon@pq.cnpq.br.
Apoio Financeiro: CNPq/FACEPE/DAAD.

RESUMO

A salinidade afeta negativamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas, com efeitos variando intrinsecamente de acordo com a espécie vegetal. Um dos mecanismos responsivos ao acúmulo de sódio é a exclusão deste íon pela via SOS. O presente estudo objetivou catalogar sequências ortólogas aos genes participantes desta via em *Arabidopsis thaliana*, no genoma expresso da mamona, caracterizando-as estruturalmente. Utilizando sequências proteicas de SOS1, SOS2 e SOS3 de *A. thaliana* como sonda, realizou-se uma busca via tBLASTn por possíveis ortólogos no transcriptoma da mamona, montado a partir de etiquetas de sequências expressas (ESTs – *Expressed Sequence Tags*). Os candidatos obtidos foram então confrontados contra o banco de proteínas não redundantes do NCBI, através da ferramenta BLASTx. Os transcritos foram traduzidos com o auxílio do programa ORF-finder em seus respectivos frames de leitura, sendo então submetidos a um BLASTp, utilizado para identificar proteínas similares com função conhecida, possibilitando assim, uma avaliação da presença e integridade dos domínios. Para tal, os resultados indicaram a presença de um, oito e três candidatos a SOS1, SOS2 e SOS3 respectivamente, após a caracterização detalhada de seus domínios, motivos, assinaturas e sequências consenso.

Bioinformática; Salinidade; Transcriptômica; Mamona.

INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae) pode ser encontrada em quase todas as regiões intertropicais do planeta, devido à sua facilidade de adaptação a diferentes condições edafoclimáticas. No Brasil, esta planta pode ser encontrada em praticamente todas as regiões, inclusive na região nordeste, onde há mais de 4,5 milhões de hectares de solos com aptidão para a sua exploração econômica (Brasil, 1985). A mamona desponta como uma cultura de grande potencial no cenário nacional, com produtividade satisfatória, mesmo

sob condições de baixa precipitação pluvial, despontando como alternativa para o semiárido brasileiro, onde a cultura, mesmo com a produtividade afetada, tem se mostrado resistente ao clima adverso quando se comparam suas perdas com as de outras culturas, surgindo como uma das poucas alternativas de trabalho e renda para o agricultor (Vieira & Lima, 2007). Sob as condições climáticas presentes nas regiões áridas e semi-áridas do nordeste, o aumento do teor de sais solúveis no solo é um processo natural,

pois o déficit de precipitação em relação à evapotranspiração aumenta a concentração de sais nas camadas superficiais do solo; neste processo, o uso da irrigação implica necessariamente na incorporação gradativa de sais no solo, sobretudo nas camadas de atividade radicular, com reflexos depressivos sobre o crescimento e desenvolvimento das culturas (Yeo, 1999). A salinização dos solos afeta até 20% das terras agrícolas irrigadas em todo o mundo, assim como regiões desérticas (Yamaguchi & Blumwald, 2005). A manutenção de terras agriculturáveis será o grande desafio da humanidade, já para um futuro próximo, dadas as previsões de mudanças climáticas, crescimento populacional e maior demanda por uma agricultura mais intensiva (Yeo, 1999). No nordeste brasileiro a área de insuficiência hídrica abrange uma superfície de 150 milhões de hectares, onde a maioria dos perímetros de irrigação apresenta solos com alto teor de salinidade, provocando desde a diminuição nos rendimentos das culturas até o abandono das áreas exploradas. Em Pernambuco, cerca de 20% da área total dos perímetros irrigados encontra-se com problemas de salinidade (Barros *et al.*, 2004).

A alta concentração de sais é um fator estressante, pois reduz o potencial osmótico, proporcionando a ação de diversos íons no protoplasma. A água é osmoticamente retida na solução salina, de forma que o aumento da concentração de sais a torna cada vez menos disponível para as plantas (Ribeiro *et al.*, 2001). Assim, com o aumento da salinidade ocorre uma diminuição do potencial osmótico do solo, dificultando a absorção de água pelas raízes (Amorim *et al.*, 2002; Lopes e Macedo, 2008).

A via SOS (*Salt Overly Sensitive*) constitui um dos mecanismos fundamentais nas respostas vegetais frente aos efeitos causados pelo estresse salino (Zhu, 2000, 2002). Esta via é composta por três genes principais, o *SOS1*, o qual codifica um trocador antiporte de Na^+/H^+ que fica localizado na membrana plasmática e desempenha um papel crítico na extrusão de sódio e no controle do transporte deste íon (Shi *et al.*, 2000; 2002), *SOS2* codifica uma Ser/Thr quinase (Liu *et al.*, 2000) enquanto o *SOS3* codifica uma proteína que possui regiões de ligação e sinalização de Ca^{++} , funcionando como um sensor para a tolerância ao sal.

Em decorrência do estresse salino, há um aumento transitório na quantidade de Ca^{++} que é detectado pela proteína *SOS3*, que por sua vez interage com a proteína *SOS2*, ativando-a (Halfter *et al.*, 2000). O complexo ativo *SOS2/SOS3* fosforila e ativa a proteína *SOS1* que expulsa o sódio e incorpora o hidrogênio à célula. O presente estudo pretende verificar a presença e diversidade de membros desta via em *R. communis* através de uma abordagem *in silico*.

MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia de análise seguiu Soares-Cavalcanti *et al.* (2004). Sequências proteicas completas de *SOS1* (NP_178307), *SOS2* (NP_198391.1) e *SOS3* (NP_197815.1) de *A. thaliana* foram obtidas em formato fasta no banco de dados do NCBI, sendo confrontadas contra o banco de sequências de *R. communis* disponível no website JCVI (John Craig Venter Institute - <http://www.jcvi.org>) com o auxílio da ferramenta tBlastN (Altschul *et al.*, 1990), usando-se um ponto de corte (*e-value*) igual ou menor que e^{-5} . As sequências obtidas foram então

submetidas a um alinhamento contra o banco *nr-protein* do NCBI através da ferramenta BlastX, anotando-se parâmetros referentes às sequências (número de acesso, descrição da proteína, local de expressão, e-value, score, identidade, positividade e o quadro de leitura). Os transcritos foram traduzidos com o auxílio do programa ORF-finder, sendo as proteínas preditas submetidas a um BlastP (Altschul et al., 1997) para identificar proteínas similares com função conhecida, possibilitando uma avaliação da presença e da integridade de domínios conservados por meio do algoritmo rpsBlast integrado à ferramenta BlastP. Para as ferramentas BlastP e rpsBlast foi utilizada a configuração default, com a matriz de alinhamento BLOSUM e o filtro de sequências repetitivas ativo, objetivando à identificação dos genes codificadores dos transcritos. A seguir, as sequências de nucleotídeos dos transcritos foram alinhadas contra o genoma através da ferramenta BLASTn, também com a matriz de alinhamento BLOSUM e o filtro de sequências repetitivas ativo, sendo anotadas as informações do melhor alinhamento e da respectiva sequência de aminoácidos. As sequências peptídicas foram submetidas à ferramenta *jalview* para a verificação e anotação da estrutura e posição dos resíduos conservados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no transcriptoma da mamona indicaram a presença de oito candidatos a genes que codificam trocadores de Na⁺/H⁺ (*SOS1*), dentro dos parâmetros pré-estabelecidos. Na caracterização destas sequências (Tabela 1), através das ferramentas BlastX, ORFfinder e BlastP, foi possível observar que todos os candidatos apresentaram alta similarida-

de com transportadores de Na⁺/H⁺ de *R. communis*. Na análise dos domínios conservados, obtida a partir da tradução dos clusters detectou-se a presença do domínio Na_Hex, característico dos trocadores de sódio e hidrogênio, em sua maioria completamente íntegros. Contudo, apenas uma sequência (RC1_SOS1) pareceu corresponder especificamente ao gene em questão, por conter as 12 assinaturas transmembrana descritas para o grupo, além do domínio característico (Shi et al., 2000; Serrano & Rodriguez-Navarro, 2001). Soares-Cavalcanti *et al.* (2004) encontraram a mesma quantidade de membros de *SOS1* em cana-de-açúcar. Por outro lado, Cavalcanti-Lira & Benko-Iseppon (2009) não encontraram representantes expressos em soja. Especula-se que o gene *SOS1* não estava sendo regulado sob as condições em que foram confeccionadas as bibliotecas de EST na soja. Uma avaliação mais elaborada das sequências de soja mostrou que nenhum dos clusters apresentava a cauda C-terminal característica da proteína *SOS1* de *A. thaliana* (Zhu, 2000), a qual parece ser exclusiva desta espécie, não tendo sido identificada em nenhum outro organismo. Nas buscas aos candidatos ao gene *SOS2* em mamona foi evidenciada previamente a presença de 387 representantes com alta similaridade ao gene *SOS2* de *A. thaliana* considerando-se um *cut-off* de \bar{e}^5 . No entanto, após a análise dos alinhamentos recíprocos e reversos contra o NCBI foi averiguado que apenas dez clusters pertenciam à categoria serina/treonina quinases, apresentando o domínio Pkc_like/NAF. Com relação aos candidatos que apresentavam o domínio completo, após a caracterização dos motivos e da sequência consenso FISL (Figura 1) observou-se que apenas oito clusters eram de fato ortólogos à sequência-

sonda (Tabela 1). Em contrapartida aos resultados obtidos para o *SOS1*, as análises dos candidatos *SOS2* revelaram oito possíveis ortólogos em mamona, quantidade bem similar à observada em estudos anteriores (Soares-Cavalcanti *et al.* 2004; Cavalcanti-Lira & Benko-Iseppon 2009), observando-se ao todo oito sequências apresentando todos os

elementos estruturais e regulatórios procurados (domínio S_TK, motivos alça catalítica, alça de ativação, região de ligação ao ATP, região de ligação ao substrato e sequência consenso FISL), indispensáveis para a funcionalidade das proteínas (Sánchez-Barrena *et al.*, 2007).

Tabela 1. Sequências candidatas que apresentaram alinhamento significativo com os genes *SOS1*, *SOS2* e *SOS3*, incluindo nome do cluster, tipo de domínio encontrado e informações sobre os melhores alinhamentos após BlastP (acesso, e-value, score e descrição da proteína). Abreviações: RCX_SOS1, código atribuído aos clusters candidatas a *SOS1* de *R. communis*; RCX_SOS2, código atribuído aos clusters candidatas a *SOS2* de *R. communis*; RCX_SOS3, código atribuído aos clusters candidatas a *SOS3* de *R. communis*; Na_Hex, *sodium/hydrogen exchanger*, S_TK, *Serine Threonine Kinase*.

Cluster	Domínio	Acesso	e-value	Score	Descrição
RC1_SOS1*	Na_Hex	EEF40533.1	0	2356	Na_Hex plant, provável
RC1_SOS2	S_TKc	EEF40081.1	0	956	CBL-interacting S_TKc, provável
RC2_SOS2	S_TKc	EEF28408.1	0	789	CBL-interacting S_TKc, provável
RC3_SOS2	S_TKc	EEF46883.1	0	806	CBL-interacting S_TKc, provável
RC4_SOS2	S_TKc	EEF44648.1	0	816	CBL-interacting S_TKc, provável
RC5_SOS2	S_TKc	EEF41553.1	0	797	CBL-interacting S_TKc, provável
RC6_SOS2	S_TKc	EEF28664.1	0	745	CBL-interacting S_TKc, provável
RC7_SOS2	S_TKc	EEF35051.1	0	868	CBL-interacting S_TKc, provável
RC8_SOS2	S_TKc	EEF27838.1	0	910	CBL-interacting S_TKc, provável
RC1_SOS3	Efh	EEF39061.1	2,00E ⁻¹²⁰	435	calcineurin B, provável
RC2_SOS3	Efh	EEF30215.1	2,00E ⁻¹²⁶	455	calcineurin B, provável
RC3_SOS3	Efh	EEF37361.1	2,00E ⁻¹²⁷	458	calcineurin B, provável

Além disso, o alinhamento comparativo dos motivos FISL de *A. thaliana* (incluindo a *seed sequence*), *M. truncatula*, *Populus trichocarpa* e *R. communis*, apontaram para uma conservação da região correspondente ao resíduo NAFXXIXSXXXXL, que segundo Guo *et al.* (2001) é caracteristicamente invariável. No que concerne ao gene *SOS3*, os resultados obtidos nas buscas por sequências homólogas revelou a presença de 19 candidatas em mamona, fato sustentado pelos resultados comparativos com os dados disponíveis no NCBI, onde as sequências apresentaram alta similaridade com ligadores de cálcio. No entanto, tais resultados não foram

confirmados pelas análises da presença/integridade dos domínios e conservação da assinatura para N-miristoilação (Figura 2), onde, dos 18 clusters inicialmente obtidos, apenas três foram caracterizados como possíveis ortólogos ao *SOS3* de *A. thaliana* (Tabela 1).

Apesar da maioria dos clusters apresentar alto grau de identidade com proteínas ligantes de cálcio, apenas três sequências foram identificadas como, de fato, ortólogas ao *SOS3*, uma vez que apresentavam o domínio EF-hand e a assinatura para N-miristoilação, função essencial a esta proteína. Estes números são similares aos observados em soja, onde se especula sobre a presença de

duas cópias funcionais de *SOS3*, dado semelhante ao observado por Ishitani *et al.* (2000). No alinhamento múltiplo com as proteínas de *A. thaliana*, *P. trichocarpa*, *M. truncatula* e *R. communis*, a sequência de assinatura

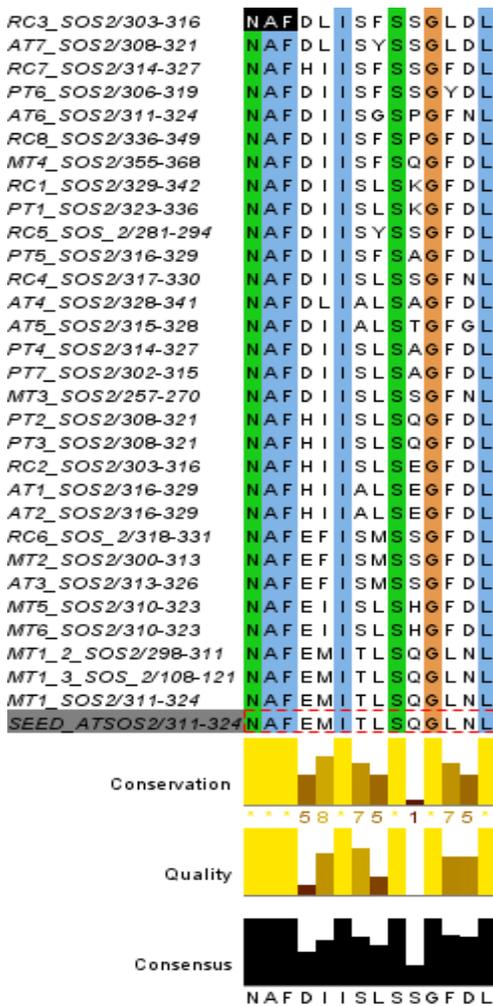


Figura 1. Alinhamento das seqüências correspondentes ao motivo FISL integrante da proteína SOS2 em AT (*Arabidopsis thaliana*), MT (*Medicago truncatula*), PT (*Populus trichocarpa*) e RC (*Ricinus communis*), evidenciando a seqüência consenso NAFXXIXXSXXXL, além de uma representação gráfica da conservação dos sítios (*Conservation*), onde “1” = menos conservado e “*” = Altamente conservado; bem como da qualidade (*Quality*) do alinhamento, apresentando-se também uma seqüência consenso geral da região (*Consensus*). Em destaque, na base do alinhamento, a seqüência-sonda (*seed sequence*) de *A. thaliana*.

para N-miristoilação (Figura 2) foi localizada na porção 5’, exatamente nos sete primeiros aminoácidos, apresentando os resíduos M, G, e S caracteristicamente bem conservados (sítios 1, 2, e 6, respectivamente).

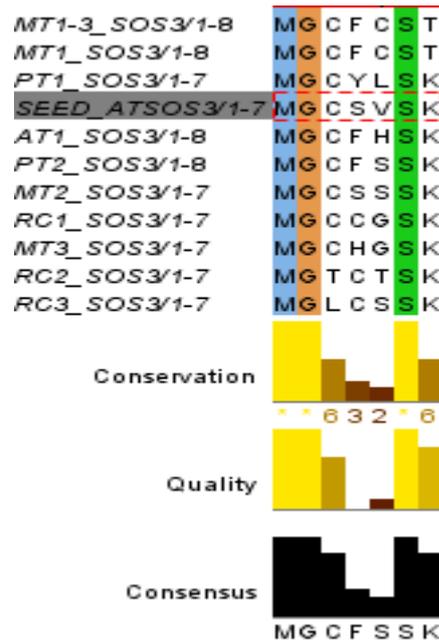


Figura 2. Assinatura para N-miristoilação (MGXXXST/K), essencial para a funcionalidade da proteína SOS3. Em colorido a conservação de resíduos entre os diferentes organismos estudados e as seqüências de mamona, além de uma representação gráfica da conservação dos sítios (*Conservation*), onde 1- menos conservado e “*” = Altamente conservado, bem como da qualidade do alinhamento (*Quality*) e de uma seqüência consenso geral da região (*Consensus*). Em destaque, na base do alinhamento, a seqüência-sonda (*seed sequence*) de *A. thaliana*.

CONCLUSÃO

A mamona apresenta em seu transcriptoma seqüências bastante similares às previamente descritas para dois membros que integram a via SOS, incluindo os domínios conservados, motivos, seqüências consenso e assinaturas, essenciais para sua funcionalidade. O genoma de *R. communis* parece possuir uma via SOS

funcional, similar à de *A. thaliana* e de *Saccharum officinarum*.

Os clusters de *R. communis* mostraram-se mais similares à sequências de genes

com função idêntica ao procurado, e em organismos muito próximos a este, o que garante a confiabilidade das sequências para buscas neste grupo.

REFERÊNCIAS

AMORIM, J.R.A.; FERNANDES, P.D.; GHEYI, H.R.; AZEVEDO, N.C. Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.167-176, 2002.

BARROS, M.F.C. *et al.* Recuperação de solos afetados por sais pela aplicação de gesso de jazida e calcário no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.8, p.59-64, 2004.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais. Brasília, DF: *Secretaria de Tecnologia Industrial*, 1985. 364p. (STI – CIT. Documentos, 16).

CAVALCANTI-LIRA, R. & BENKO-ISEPPON, A.M. Caracterização da via sos (salt overly sensitive) no transcriptoma da soja (*Glycine max*). In: *XVII Congresso de Iniciação Científica I Congresso de Iniciação e Desenvolvimento Tecnológico*, 17. 2009, Recife: UFPE, 2009.

GUO Y. *et al.* Molecular characterization of Functional Domains in the Protein kinase SOS2 that is required for plant salt tolerance. *The Plant Cell*, EUA, v. 13, p. 1383-1399, 2001.

HALFTER, U.; ISHITANI, M.; ZHU, J. K. The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium-binding protein SOS3.

Proceedings National Academy Science, EUA, v.97, p.3735–3740. 2000.

ISHITANI M. *et al.* SOS3 function in Plant salt tolerance requires N-Myristoylation and calcium binding. *The Plant Cell*, EUA, v.12, p. 1667-1677, 2000.

LIU J.P. *et al.* The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings National Academy Science*, EUA, v.97, p.3730–3734, 2000.

LOPES, J.C.; MACEDO, C.M.P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. *Revista Brasileira de Sementes*, v.30, p.79-85, 2008.

RIBEIRO, M.C.C.; MARQUES, B.M.; AMARRO FILHO, J. Efeito da salinidade na germinação de sementes de quatro cultivares de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, v.23, p.281-284, 2001.

SÁNCHEZ-BARRENA, M. J. *et al.* The structure of the C-terminal domain of the protein kinase AtSOS2 bound to the calcium sensor AtSOS3. *Molecular cell*, EUA, v. 26, p. 427-35, 2007.

SERRANO, R., & RODRIGUEZ-NAVARRO. Ion homeostasis during salt stress in plants. *Current Opinion in Cell Biology*, EUA, v.13, p.399-404. 2001.

SHI H.Z. *et al.* The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proceedings*

National Academy Science. EUA, v.97, p.6896–6901, 2000.

SHI, H.Z. et al. The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long distance Na⁺ transport in plants. *Plant Cell*, EUA, v.14, p.465–477, 2002.

SOARES-CAVALCANTI, N. M.; WANDERLEY-NOGUEIRA, A. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Salt overly-sensitive (SOS) genes in the sugarcane transcriptome as compared with *Arabidopsis thaliana* and other crops. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA*, 50. 2004, Recife. Resumos do 50º Congresso Brasileiro de Genética. Florianópolis: Sbg, 2008. p. 1129.

VIEIRA, R. M.; LIMA, E. F. *Importância sócio econômica e melhoramento genético da mamoneira no Brasil - Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro*. 8 p. 2007.

YAMAGUCHI, T.; BLUMWALD, E. Developing salt tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends in Plant Science*, Inglaterra, v.10, p.615–620, 2005.

YEO, A.R. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. *Scientia Horticulturae*, Austrália, v.78, p.159–174, 1999.

ZHU, J.K. Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Current Opinion in Plant Biology*. EUA, v.4, p.401–406, 2000.

ZHU, J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review Plant Biology*. EUA, v.53, p.247–273, 2002.

PROTEÇÃO DE ANIMAIS NA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE: UM PANORAMA

Lima, M.H.C.C.A⁽¹⁾, Silva Netto, G. M.⁽²⁾
lenacarvalho@gmail.com

⁽¹⁾Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Sociologia da UFPE; ⁽²⁾Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Sociologia da UFPE.

RESUMO

A proteção de animais na Região Metropolitana do Recife tem ganhado relevância tanto pelas conquistas no âmbito político quanto na intensificação dos espaços de debate e das práticas referentes à proteção. Existem, porém, poucos dados a respeito desses ativistas e suas ações. Diante disso, este trabalho tem como objetivo traçar um panorama da proteção de animais na Região Metropolitana do Recife, e para tanto, foram aplicados questionários com 98 protetores, a partir dos quais é possível traçar um perfil geral destes atores e de suas formas de atuação, bem como a diversidade interna e os principais desafios enfrentados por tal movimento. É possível perceber, assim, a existência de relações entre esse ativismo e discussões mais gerais da defesa dos animais, como o vegetarianismo. Além disso, nota-se uma tensão entre o atendimento de demandas emergenciais e a mobilização política em torno da causa.

Palavras-chave: Ativismo; Defesa dos animais; Políticas públicas

INTRODUÇÃO

Campanhas, protestos e reivindicações relacionadas à proteção dos animais de companhia têm ganhado espaço frequente nas redes sociais, grande mídia e, aos poucos, tornado-se parte da pauta de políticos e acadêmicos. Mais que uma questão ética ou de solidariedade, a proteção de animais de companhia reúne uma série de ações fundamentais de saúde pública, visto que controle populacional de gatos e cães e prevenção ao abandono de animais nas ruas são as formas mais eficazes de prevenir as zoonoses, recomendadas desde 1992 pela Organização Mundial da Saúde (SANTANA *et al*:s/d). Nesse sentido, compreender quem são e como agem os protetores de animais da Região Metropolitana do Recife torna-se de fundamental importância para construir um diálogo efetivo entre o meio acadêmico, os protetores e a política.

Apesar de sua importância, a causa animal ainda é uma temática periférica no ambiente acadêmico brasileiro, configurando-se assim num debate ainda pouco amadurecido e com informação bibliográfica escassa. Deste modo, dentre outras coisas, faz parte dos objetivos deste trabalho traçar um panorama dos protetores de animais da Região Metropolitana do Recife, dando visibilidade à discussão sobre uma atividade ainda pouco conhecida que tem como um dos seus desafios a busca de legitimidade nos mais diversos espaços sociais. Nesse perfil, foram buscadas, entre outras, variáveis, idade, sexo, renda, consumo de carne e principais atividades realizadas na proteção de animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste artigo, realizamos dois procedimentos: inicialmente, entre março e junho de 2011,

fizemos uma pesquisa bibliográfica sobre os temas da defesa dos animais e da proteção de animais, com a finalidade de construir um panorama inicial, visto que há pouca produção acadêmica a respeito no Brasil. Nesse sentido, foram acessados autores fundamentais para a discussão, como Singer (2008), Regan & Mason (2004), assim como autores brasileiros, como Santana & Oliveira (2006) e Felipe (2008). Em seguida, realizamos uma pesquisa tipo *survey*, com a aplicação de 98 questionários com participantes da rede de proteção de animais da Região Metropolitana do Recife¹. Os questionários foram aplicados com membros de grupos organizados de proteção animal (54,1% da amostra) e com os chamamos “protetores independentes” (45,9% da amostra), que afirmam não participar de grupos ou organizações formais ligadas à causa.

Visto que a maior parte dos protetores não realiza suas atividades de proteção em espaços fixos e são poucas as atividades que reúnem uma quantidade considerável deles em um mesmo local, houve uma dificuldade inicial de acesso presencial aos informantes. Dessa maneira, uma das estratégias encontradas para garantir a pesquisa foi a aplicação de questionários por telefone. A amostra começou de forma acidental, a partir de contatos prévios, e seguiu-se com o método bola de neve, com cada informante indicando mais dois protetores para participar da pesquisa. Tendo em vista a população flutuante de protetores, a dificuldade de acesso aos informantes e tempo estipulado para a construção de dados, optamos por um método não-probabilístico de amostragem, utilizado, em geral, quanto a amostragem

probabilística seria muito e/ou quando a representatividade exata não é necessária (BABBIE, 2003; LEVIN & FOX, 2004).² Se o número de 98 questionários aplicados impossibilitam a generalização para toda população de protetores, os dados são passíveis de tratamentos estatísticos e têm uma grande utilidade para um estudo exploratório, bem como para apontar possíveis caminhos para estudos posteriores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os protetores desenvolvem as mais variadas estratégias de atuação. Tanto no questionário quanto em nossos registros de campo, foi possível identificar uma gama de atividades desenvolvidas, entre as quais as mais citadas foram: esterilização de animais, eventos e campanhas de adoção, recolhimento e lar temporário para animais em situação de risco, alimentação de gatos e/ou cães na rua, auxílio a abrigos e angariação de recursos. Todas essas atividades são custeadas com doações, seja por parte dos próprios protetores, seja por parte de apoiadores da causa. O item “gasto médio de seu dinheiro por mês” informa que 95,9% dos protetores utilizam recursos financeiros próprios nas atividades desenvolvidas.

Perfil Geral

A proteção animal na Região Metropolitana do Recife é uma atividade eminentemente feminina: em nossa amostra as mulheres somam 78,6% do total, enquanto os homens representam 21,4%. A idade dos informantes variou entre 18 e 69 anos, com uma distribuição bastante regular por faixa etária, não

¹ A pesquisa foi realizada por Amaro Xavier Braga Júnior, Arthemísia Ferreira Paulo Santiago, Gilberto da Motta e Silva Netto e Maria Helena Costa Carvalho de Araújo Lima, alunos regulares do curso de doutorado em sociologia do Programa de Pós-Graduação em Sociologia (PPGS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), como exercício final da disciplina Métodos Avançados de Pesquisa Quantitativa, ministrada pelo Prof. Dr. José Carlos Vieira Wanderley. A aplicação dos questionários foi realizada entre maio de 2011 a julho de 2011

² Os problemas centrais que encontramos foram: prazo de entrega do relatório final da pesquisa, disponibilidade de tempo, capacidade de locomoção dos pesquisadores, disponibilidade de tempo dos entrevistados. Cabe lembrar, por outro lado, que os protetores, de um modo geral, foram extremamente solícitos à participação na pesquisa.

apresentando concentração em nenhum dos grupos. 21,4 % têm entre 18 e 27 anos, 19,4% têm de 28 a 36 anos, 19,4% de 37 a 45 anos, 19,4% de 46 a 54 anos e, por fim, 20,4% estão acima dos 55 anos. Não há, portanto, um perfil de idade predominante entre os protetores.

Um importante aspecto é o importante papel que a internet possui na atividade de proteção. 76,3% dos pesquisados afirmam utilizar a internet para repassar mensagens de e-mail relacionadas à causa (eventos, animais disponíveis para adoção, pedidos de ajuda, etc), 75% a utilizam para obter informações e 51,3% fazem campanhas relacionadas ao assunto em redes sociais (Facebook, Orkut, etc.).

No tocante à renda familiar dos respondentes, encontramos grande amplitude nos valores, indo de um salário mínimo a 16 mil reais. Apesar disso, encontramos uma significativa concentração dos protetores em dois grupos de renda, como podemos ver a seguir: 18,4% possuem renda familiar de R\$ 510,00 a R\$ 768,00; 45,9% têm renda de R\$ 1.064,01 a R\$ 4.591,00 e 34,7% possuem rendimentos familiares entre R\$ 4.591,01 e R\$16.000.³

Quanto ao perfil educacional dos protetores de animais da RMR, o ensino médio ou técnico completo é a formação máxima de 31,6% dos informantes. Aqueles com curso superior somam 33,7%. 23,5 % possuem especialização, 11,2% possuem título de Mestre, Doutor ou Pós-

³ A renda familiar pode ser um indicador importante para o entendimento da dinâmica da proteção animal. É uma prática comum entre protetores recorrer a recursos financeiros da família no desenvolvimento de ações, canalizando uma parte dos recursos próprios e familiares para financiar alimentação, remédios, serviços veterinários, transporte, lar temporário etc. Através de conversas informais durante a aplicação do questionário, foi possível perceber como parte dos recursos destinados a manutenção da casa e aqueles relacionados à proteção se confundem, sendo muitas vezes difícil para os respondentes apontar o quanto gastam com as atividades protetivas

Doutor. A ocupação dos informantes apresentou grande variação e, diferente do que se acredita no senso comum, a atividade de proteção animal é realizada por indivíduos que possuem emprego formal. De toda a amostra, apenas duas pessoas são aposentadas, três são donas de casa e três estão atualmente desempregadas, de modo que 91,8% dos informantes exercem atividades profissionais simultaneamente às atividades de proteção. Nas conversas informais durante a aplicação dos questionários, ouvimos diversos relatos de que a proteção, mais que um exercício desenvolvido fora do horário de trabalho, é desenvolvida também no ambiente profissional, nas conversas com colegas de trabalho, checando emails relacionados à causa, fazendo ligações telefônicas, etc, de modo que este engajamento consome significativa parcela do tempo e da atenção dos participantes ao longo da rotina diária. O cotidiano dos protetores é influenciado também em relação aos seus hábitos de consumo.

Proteção, abolicionismo e bem-estarismo: similaridades e diferenças

Um dos aspectos do estilo de vida comumente modificado entre os militantes da causa animal é a alimentação, sendo relativamente comum que se deixe de comer carne (ovolactovegetarianismo), que se deixe de comer carne e derivados animais (vegetarianismo) ou mesmo que se abstenha de utilizar qualquer produto de origem animal (veganismo). Essa preocupação com a alimentação é também percebida entre os protetores da RMR: 53,1% comem carne sem restrições, 32,7% consomem carne com alguma restrição⁴ e

⁴ Estão sendo considerados consumidores com alguma restrição aqueles que afirmam evitar o consumo de carne, mas ainda fazem uso dela. Como não houve nenhum vegano na amostra e os que se afirmaram vegetarianos depois explicaram ser ovolactovegetarianos, resolvemos computar os dados de acordo apenas com o consumo de carne, desconsiderando os outros produtos de origem animal, como leite, ovos e queijo.

14,3% apresentam total restrição ao consumo de carne.

Essa postura de abolir ou evitar o consumo de carne é um dos pontos de aproximação dos protetores de cães e gatos em relação a outros movimentos urbanos de defesa dos animais, que estão, em geral, sob a influência de duas grandes linhas orientação: 1-abolicionismo animal: combate toda forma de exploração e seus adeptos costumam aderir ao vegetarianismo (fim do consumo de alimentos de origem animal) ou ao veganismo (fim do consumo de qualquer tipo de produto de origem animal ou testado em animais); 2- bem-estarismo: busca melhorar a situação dos não-humanos com o fim de sofrimentos desnecessários, como criação intensiva, vivissecção, experimentações para as quais haja formas alternativas ao uso de animais (FELIPE, 2008)⁵.

Ainda no tocante ao consumo de carne, identificamos, a partir da leitura dos dados dos questionários, que a postura de abolir ou evitar o consumo de carne são maiores entre aqueles mais familiarizados com as temáticas centrais da defesa dos animais, a saber: guarda responsável, esterilização, castração, zoonose, vivissecção, carrocinha, tração animal, libertação/abolicionismo animal e bem-estarismo. Ao testar a relação entre o consumo de carne e o grau de conhecimento⁶, obtivemos uma correlação substancial com $\Gamma = 0,646$. Essa

⁵ É importante ressaltar a importância de SINGER (2008) como referência para os movimentos de defesa animal e de REGAN & MASSON (2004) para o movimento abolicionista. Mais que referências acadêmicas, esses autores fornecem para os ativistas uma base filosófica fundamental para a reflexão sobre a exploração dos animais não-humanos.

⁶ O “grau de conhecimento” foi um índice criado a partir da junção de nove variáveis ordinais que mediam conhecimento baixo, médio ou alto sobre as seguintes temáticas: guarda responsável, esterilização, castração, zoonose, vivissecção, carrocinha, tração animal, libertação/abolicionismo animal e bem-estarismo.

correlação pode ser explicada especialmente se levarmos em consideração que os ambientes nos quais se discute as temáticas acima referidas são também os ambientes em que ocorrem mais fortemente os debates relativos à situação dos animais ditos “de consumo” e campanhas em prol do vegetarianismo e/ou veganismo. Assim, podemos dizer que o consumo de carne tende a diminuir na medida em que o conhecimento sobre as temáticas aumenta⁷.

É possível argumentar que a preocupação com o consumo de carne por parte de parcela considerável dos protetores de animais aponta para a existência de problema maior do que aquele relacionado diretamente com cães e gatos. Temos, assim, uma preocupação também com outras espécies, como bois, galinhas e porcos (consumo alimentar), mesmo não sendo estes alvos diretos das ações dos protetores da RMR. Por outro lado, é preciso frisar que, pelo fato de voltarem-se de maneira mais detida para os animais de estimação (gatos e cachorros), as ações dos protetores de animais diferenciam-se de maneira considerável dos que se dedicam prioritariamente ao combate à exploração dos animais nas indústrias de alimentos, entretenimento e laboratórios. Não se trata aqui de estabelecer um juízo sobre a importância relativa de cada uma dessas linhas, mas de perceber como a percepção de problemas diferentes resultam em táticas também distintas.

Abolicionistas, por exemplo, fazem protestos e campanhas em geral chocantes, que podem ser ilustradas com alguns: Em 2008, em Barcelona, 150 manifestantes ficaram nus e pintaram-se de vermelho, como imitação de sangue, em protesto contra a indústria de peles (VEGANBR, 2008); Em 2011, no Brasil, ativistas

⁷ Vale ressaltar que a variável grau de conhecimento foi a única que obteve correlações consideráveis e significância estatística em relação ao consumo de carne, tendo se mostrado inexistentes correlações do consumo de carne com outras variáveis, como tempo de participação nas atividades de proteção ou religião.

incendiaram o prédio que ampliaria o biotério da UFSC (ALF, 2011). Ressaltem-se, ainda, as notícias veiculadas com descrições cruas, em texto e foto, sobre a produção de casacos de pele ou de alimentos como *foie gras*, vitela e carne de frango (www.vidavegetariana.com).

Enquanto isso, os protetores de animais em geral atuam de forma mais discreta, com ações de caráter emergencial (recolhimento de animais em situação de risco, alimentar animais na rua), realizando campanhas de adoção e/ou de levantamento de recursos para a compra de ração, medicamentos, esterilizações e despesas veterinárias. No geral, os problemas enfrentados pelos protetores dizem respeito às condições objetivas de vida de cães e gatos na RMR, com foco na saúde, alimentação, controle populacional e condições dignas de vida. Porém, a canalização de suas energias em ações emergenciais é também uma de suas fraquezas, visto que essa centralização dificulta o engajamento do movimento de proteção na dimensão política do problema.

Formas de atuação e envolvimento político

O baixo grau de envolvimento com atividades político-institucionais ficou bastante claro na pesquisa: 78,6% dos entrevistados afirmaram não desenvolver articulações com o poder público no tocante às ações de proteção animal. Apesar dessa baixa capacidade de articulação do movimento como um todo, alguns grupos de protetores vêm identificando a importância estratégica de ações no campo político, e com isso, estão redirecionando o foco de sua atuação. Neste sentido, um coletivo de protetores conseguiu articular-se com um vereador da cidade do Recife para propor um projeto de lei que, sancionado em dezembro de 2010, vai pôr fim à tração animal nos centros urbanos em um prazo de três anos. Além disso, a partir da articulação com um deputado estadual conseguiram a aprovação da lei nº 14.139/2010,

sancionada pelo governador em setembro de 2010, que proibiu o assassinato de cães e gatos saudáveis pelos Centros de Vigilância Ambiental de Pernambuco.

Após a aprovação desta que ficou conhecida como Lei da Vida, os grupos representados neste coletivo e outros protetores reuniram-se na formação do Movimento de Defesa Animal (MDA). Este novo grupo teve como uma de suas primeiras conquistas no campo político a reativação do Conselho Gestor do CVA-Recife, composto por funcionários do órgão, representantes comunitários e protetores. Este grupo (MDA), criado para realizar uma atuação de caráter majoritariamente político, tem se revezado entre negociações políticas e pressão (através de protestos e articulação com setores da mídia) em prol de causas como a regularização do CVA-Recife, a criação da Promotoria de Justiça de Direito Animal e a retirada dos animais expostos em jaulas no Parque 13 de Maio.

Esta nova dinâmica política é relevante e certamente causará impacto não só na configuração e identidade do movimento de proteção animal, mas, sobretudo no entendimento de que tipo de ação é relevante e eficaz na militância da causa animal. Porém, cabe ressaltar novamente que essa articulação política, apesar dos avanços e conquistas, é uma atividade a que poucos se dedicam, principalmente por conta de problemas emergenciais.

Como não há locais públicos que funcionem como abrigo para animais e o número de gatos e cães em situação de risco é elevado, as atividades de recolhimento e alimentação de animais na rua também fazem parte da rotina daqueles que se voltam para políticas públicas, fiscalizações, denúncias de maus tratos.

Nesse contexto, atuar na proteção de animais pode levar a uma tensão permanente entre viver a causa como um voluntariado ou defender os direitos dos animais pela via política; assumir a responsabilidade pessoalmente ou cobrar o

estado e os tutores de animais para que cumpram seu dever; a urgência de socorrer os animais que precisam de ajuda aqui e agora e a necessidade de ter tempo para se dedicar a reuniões, planejamento e negociações com o poder público. Em nossa amostra, a atividade de lar temporário ou atuação em abrigos é realizada por 65,3% dos informantes. Similarmente, enquanto 34,7% deles não abrigam nenhum animal em suas casas ou propriedades, 30,6% abrigam de 1 a 5 animais por vez em lar temporário e 19,4% abrigam mais de 60 animais por vez.

O que está em questão, com isso, é que o envolvimento em atividades de caráter político exige um tempo do qual os protetores que trabalham com abrigo e/ou lar temporário, por exemplo, pouco dispõem. É cabível ressaltar, ainda, a importância de atividades de sensibilização junto aos tutores de cães e gatos, que também exige tempo e articulação. Para que haja tempo, faz-se necessária alguma redução na carga das atividades de caráter emergencial, mas isso não é simples para os protetores, que, em geral, possuem um envolvimento afetivo com a causa. Nesse sentido, vale dizer que 52% dos informantes afirmaram que se envolveram com a proteção por gostar de animais e 22,4% por pena ou compaixão em relação a eles. Similarmente, ao serem solicitados que resumissem o que é a proteção de animais em três palavras, 39,8% dos informantes fizeram-no primeiramente com termos relacionados a afeto ou a espiritualidade (amor, deus, carinho, etc) e 23,5% disseram palavras relacionadas a cidadania e consciência (responsabilidade, educação, conscientização, etc).

Os dados relativos a gastos pessoais com a proteção animal apontam para este caráter diverso das atividades: 32,6% dos respondentes apontaram a compra de ração como gasto principal, 16,3% citaram contribuição financeira (para grupos e/ou protetores independentes) e 13,3% apontaram os custos com esterilização.

Este último gasto aponta para um problema central no cotidiano dessas pessoas, pois, dada a ausência de uma política pública consistente de esterilização na Região Metropolitana e o difícil acesso à clínica do CVA-Recife, muitos protetores bancam as cirurgias de castração por conta própria em clínicas particulares. Dessa maneira, um programa eficiente e descentralizado de controle populacional é uma das demandas mais recorrentes entre protetores, como pode ser percebido, por exemplo, na mobilização para a instituição de leis para garanti-lo (SANTANA & OLIVEIRA, 2006).

Perceba-se, assim, que o fato de muitos protetores não se envolverem em articulações com o poder público não anula a percepção de que esse problema não é de responsabilidade (ou não apenas) da sociedade civil. Quando perguntados “qual é, hoje, o principal problema em relação aos animais?”, 12,2% apontaram a ausência e/ou falta de aplicação de políticas públicas e leis e 26,5% apontaram como principal problema a falta de controle populacional de cães e gatos, um problema atribuído tanto à população de tutores de animais quanto ao poder público, que tem responsabilidade de ofertar esterilizações gratuitas e em locais acessíveis para a população.

CONCLUSÃO

Os movimentos de proteção de animais da Região Metropolitana do Recife encontram-se em um momento de importante redefinição dos seus limites e formas de atuação. As conquistas no campo político vêm chamando a atenção dos protetores para a importância da articulação com o poder público e os possíveis frutos que isso pode trazer para a vida dos animais não-humanos. Nesse sentido, por mais importantes que sejam as atividades de caráter emergencial (na medida em que ajudam a diminuir o sofrimento de muitos animais), a aprovação da lei estadual que proibiu a eliminação da vida de animais saudáveis e

da lei municipal que põe fim à tração animal trazem a perspectiva de que milhares de vidas animais sejam poupadas, em um curto espaço de tempo, apontando para impactos de longo prazo (PERNAMBUCO, 2010; RECIFE, 2010). Vale ressaltar que tais formas de atuação não são mutuamente excludentes e é comum que sejam realizadas em paralelo, de maneira que o equilíbrio entre elas é o grande desafio, e não a supressão de uma pela outra.

São grandes as demandas pessoais, de grupo e a complexidade política deste momento, de maneira que não é uma tarefa simples definir-se em meio a tal diversidade. A riqueza da atuação (e, portanto, o interesse acadêmico pelo tema) é justamente essa mescla complexa de envolvimento emocional, demandas políticas (ressalte-se aqui o controle populacional como grande reivindicação) e os conflitos internos a serem enfrentados – seja dos grupos organizados entre si, negociando diferenças, seja de um maior envolvimento dos protetores independentes com os demais, seja, ainda, dos grupos organizados com os demais movimentos de defesa dos animais.

REFERÊNCIAS

FELIPE, Sônia T. (2008) “Ética na alimentação: o fim da inocência”. Palestra proferida no Encontro Temático da SVB-Brasília, 16 e 17 de agosto de 2008. Disponível em: http://www.svb.org.br/vegetarianismo/index.php?option=com_docman&Itemid=243 Acessado em outubro de 2011

LEVIN, Jack, FOX, James Alan (2004). Estatística para as Ciências Humanas. São Paulo, Pearson Education do Brasil

REGAN, Tom e MASSON, Jeffrey (2004). Empty cages: facing the challenge of animal rights. Lanham, MD: Rowman & Littlefield, 2004.

SANTANA, L.R.; OLIVEIRA, T.P (2006). “Guarda responsável e dignidade dos animais”. Revista Brasileira de Direito Animal. Instituto Abolicionista Animal, Salvador, v1, n1

SANTANA, L.R et al. (s/d) Controle pelo Ministério Público e pelo poder judiciário das políticas públicas assecuratórias dos princípios e direitos constitucionais aplicáveis à dignidade e bem estar dos animais Disponível em:

http://www.forumnacional.com.br/controle_pelo_poder_judiciario.pdf Acessado em outubro de 2011

SINGER, Peter (2008), Libertação Animal. 2ª edição. Tradução de Maria de Fátima St Aubyn. Porto, Diversos Universos.

Outras referências

Frente de Libertação Animal/ALF (2001). “ALF – Ataque incendiário ao biotério central da UFSC” Disponível em: <http://forum.outerspace.terra.com.br/showthread.php?p=8444910>

VeganBR (2008). “Mais de 100 pessoas tiram a roupa em Barcelona contra o uso de peles” Disponível em: http://veganbr.wordpress.com/category/manifestacoes/page/2/Vida_Vegetariana - <http://www.vidavegetariana.com>

RECIFE (2010). Câmara Municipal do Recife (2010). Aprovado projeto que proíbe carroças na cidade. Disponível em: <http://www.camara.recife.pe.gov.br/noticias/aprovado-projeto-que-proibe-carrocas-na-cidade> Acessado em junho de 2011

PERNAMBUCO (2010). LEI Nº 14.139, DE 31 DE AGOSTO DE 2010. Dispõe sobre o controle de reprodução e regulamentação da vida de cães e gatos encontrados na rua no âmbito do Estado de Pernambuco.

RELAÇÃO DA EFICIÊNCIA FERMENTATIVA COM A DINÂMICA DE POPULAÇÃO DE LEVEDURAS INDUSTRIAIS

Lima, M. C. S.^(1,3); Paes, I. G. F.^(1,4); Duarte, J. T. C.⁽²⁾; SILVA, F.L.A.^(1,4); Barbosa-Neto, A. G.⁽¹⁾; Brasileiro, B. T. R. V.^(1,4).

monique.souza.eng@gmail.com

⁽¹⁾Genetech Bioprodutividade, Incubadora Tecnológica Positiva, DINE/PROSPEQ-UFPE; ⁽²⁾Universidade de Pernambuco, FFPNM, Nazaré da Mata-PE; ⁽³⁾Universidade Católica de Pernambuco, CCT, Recife-PE; ⁽⁴⁾Universidade Católica de Pernambuco, CCBS, Recife-PE.

RESUMO

A fermentação alcoólica pode ser considerada um ambiente complexo constituído por muitas espécies de micro-organismos, com uma característica sucessão de linhagens e espécies ao longo do período de fermentação. O monitoramento microbiológico e o aperfeiçoamento de técnicas que possam identificar quais são estas leveduras, permitem acompanhar o rendimento do fermento e o andamento da eficiência fermentativa. Assim, o trabalho objetiva avaliar a dinâmica de leveduras contaminantes e suas interferências na fermentação. O acompanhamento microbiológico da safra 2010/2011 foi realizado em duas destilarias do Estado da Paraíba. Muitas das leveduras identificadas neste monitoramento são denominadas Nativas, quando da espécie *S. cerevisiae*, e contaminantes ou selvagens, quando não-*S. cerevisiae*, por exemplo, a mais conhecida *Dekkera bruxellensis*. Estas últimas, podem causar danos à fermentação, como redução no rendimento, maior tempo de fermentação, diminuição da viabilidade do fermento selecionado, diminuição do pH e decréscimo na produção de etanol. Por fim, o estudo documentou a ocorrência de picos de contaminação por *Dekkera bruxellensis* e leveduras classificadas como não-*Saccharomyces cerevisiae*, demonstrando assim, a baixa eficiência da fermentação nesses intervalos de contaminação. Recomenda-se a necessidade de garantir a qualidade da matéria-prima, pureza do fermento, controle de pH e da temperatura, limpeza dos equipamentos, como medidas preventivas.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*; Leveduras Selvagens; Parâmetros Industriais.

INTRODUÇÃO

Devido aos efeitos das alterações climáticas e da volatilidade dos compostos oriundos do petróleo, as nações de todo o mundo estão, cada vez mais, adotando políticas para promover o uso de fontes renováveis de energia. Entre as alternativas mais viáveis, o etanol se destaca como um biocombustível de referência, porque sua produção é baseada em uma comprovada plataforma tecnológica (BATISTOTE et al., 2010).

O Brasil, que sempre se destacou como produtor de açúcar ocupa também um lugar de evidência como o primeiro país a produzir e fazer uso de um biocombustível

na sua frota de automóveis. Esse advento é consequência da implantação de um programa que já completou 30 anos, o Proálcool (Programa Nacional do Alcool). A crise do petróleo nos anos 70 motivou o governo a desenvolver uma forma alternativa de substituir a gasolina. Nasceu então o bioetanol, um combustível obtido a partir da fermentação do caldo da cana-de-açúcar, melão ou ambos (ANDRIETTA et al., 2006).

Para a produção de etanol a via biológica é a mais econômica, sendo empregada em praticamente toda a indústria do álcool combustível. Nesse processo, um substrato rico em açúcares, como caldo de cana ou melão, é submetido à ação de uma

levedura, que, através de enzimas específicas, quebra a sacarose dando origem ao etanol e o CO₂. No processo de fermentação alcoólica, a biomassa sofre inúmeras reciclagens e interferências externas advindas do caldo, do ambiente e de outras fontes, tornando-se vulnerável a contaminação por outros microrganismos e mesmo leveduras indesejáveis (BASSI, 2008). A contaminação por leveduras selvagens gera um impacto significativo no rendimento da fermentação.

A Espécie *Dekkera bruxellensis* tem sido associada a contaminações nas indústrias de vinho, cerveja e na produção de álcool combustível causando queda no rendimento fermentativo e na qualidade do produto (TORRES, 2008).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a capacidade fermentativa das leveduras presente no processo fermentativo de destilarias da Paraíba durante a Safra 2010/2011, relacionando a dinâmica da microbiota com a eficiência fermentativa.

MATERIAL E MÉTODOS

Para determinar a eficiência da biomassa, a fermentação foi conduzida em temperatura controlada de 33°C sem agitação. Inicialmente a biomassa coletada foi centrifugada, lavada com água destilada estéril e em seguida inoculada em mosto sintético, elaborado em laboratório para simular o caldo de cana com a concentração inicial de açúcar padronizado em torno de 120g/L (ou 12°Brix), pH de 5.2, e adicionado os antibióticos ampicilina (50µg/mL) e ácido nalidíxico (100µg/mL) minimizando a contaminação bacteriana. Depois de inoculadas foram avaliadas quanto aos dados físico-químicos industriais iniciais da fermentação.

Após 6 horas, as amostras foram novamente avaliadas. Possibilitando a análise da viabilidade celular, concentração

de fermento úmido, açúcar residual, eficiência da levedura ($Y_{p/s}$), rendimento da fermentação, pH, teor alcoólico (°GL) e CO₂ produzido, após submetidos à tratamento através de planilhas elaboradas na plataforma Excel®. A determinação do °Brix foi realizada através da técnica de refratometria e a concentração do açúcar inicial e final das fermentações foi realizada pelo método do ácido denitrosalisílico (ADNS). Para o qual foi preparada uma curva de calibração com uma solução aquosa de glicose na concentração de 2g/L com diluições de 0,5g/L, 1,0g/L, 1,5g/L e 2,0g/L. A determinação do açúcar foi procedida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540nm. O valor do açúcar em g/L será obtido multiplicando-se o valor da leitura de D.O. (densidade óptica) pela diluição e pelo fator da curva de calibração. O controle será preparado com 1mL de água destilada nas mesmas condições (SILVA-FILHO et al., 2005).

Para efeito de melhores resultados foram adicionadas a curva de calibração as diluições de 0,1g/L, 0,25g/L, 0,75g/L da solução aquosa de glicose (Barbosa-Neto et al., 2010). O teor alcoólico foi terminado através da técnica de ebuliometria, através do ebuliômetro modelo 3300.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da fermentação alcoólica na destilaria A (Figura 2) possibilitaram uma compreensão maior da atuação de diferentes espécies e perfis de leveduras no processo. A safra desta destilaria durou cerca de 6 meses, durante os quais de levedura *S. cerevisiae* P1 possuiu maior presença na constituição da microbiota da destilaria (Figura 1). Embora, seja uma levedura adaptada ao processo, sua presença nem sempre é suficiente para garantir uma boa eficiência fermentativa, visto que é observada uma queda na capacidade fermentativa da biomassa (Figura 2), logo na coleta 7 e 9,

embora seja observado na Figura 1, que as coletas 3 e 5 (correspondente a data da coleta 7 e 9 da fermentação) são constituídas 100% pela *S. cerevisiae* P1, porém nos dias que se seguiram, a eficiência fermentativa da biomassa alcançou excelentes níveis. De acordo com Silva-Filho et al. (2005) a estabilidade populacional no ambiente fermentativo depende do uso de linhagens bem adaptadas as condições do processo industrial, o que pode ser comprovado observando a adaptação a *S. cerevisiae* P1 durante o período anteriormente discutido.

Na Figura 2 é possível observar que enquanto a eficiência fermentativa da biomassa fica medianamente em torno de 90%, o mosto de alimentação possui forte tendência para se manter abaixo. Observa-se que a partir da segunda deficiência no mosto de alimentação (Figura 2), na coleta 20 e 25, a microbiota começa a apresentar maior dinamismo, com maior incidência de levedura contaminante (*D. bruxellensis*) (Figura 1), que constituiu aproximadamente 80% da biomassa industrial, corroborando o estudo de Torres (2008), pois, o mesmo afirma que a presença de *D. bruxellensis* está ligada ao baixo rendimento da fermentação.

Na Figura 1, nota-se a dominância do perfil P1 durante a safra, corroborando o estudo de Silva-Filho (2003), pois o mesmo afirma que este perfil de levedura apresenta características de frequência, dominância e bom desempenho fermentativo.

Através da Figura 3, pode ser observada a dinâmica de população durante um período da safra 2010/2011. É possível verificar a predominância de *S. cerevisiae* com perfil P1, assim como a presença de *D. bruxellensis*. Como pode ser observada na figura 4, a eficiência fermentativa do início da safra não conseguiu alcançar os melhores índices, chegando à

aproximadamente 85%. Portanto, pode ser observado que a presença da contaminante *D. bruxellensis* pode, ou não, vir a causar alguma interferência negativa à fermentação.

Por sua vez, houve quatro momentos em que os níveis da eficiência foram comprometidos, chegando a atingir 66% na maior queda (Figura 4), possivelmente a qualidade da eficiência foi comprometida por causa do alto pH no final da fermentação e o elevado açúcar residual, o que pode comprometer a capacidade fermentativa da população de leveduras, assim como descreve Dorta (2006) e Morais (2009).

De acordo com Morais (2009), as células de *S. cerevisiae* são expostas aos estresses oxidativos (formação de radicais livres, alcoólico, hiperosmóticos – altas concentrações de açúcares), que causam perda da atividade de transporte pela membrana celular da levedura, diminuindo o volume de etanol produzido e causando acidez ao meio.

Segundo Dorta (2006), o potencial hidrogeniônico muito elevado do meio influencia diretamente no crescimento da levedura, na taxa de fermentação, na formação de produtos e facilita a contaminação bacteriana, uma vez que a bactéria láctica (a mais presente na realidade da indústria) cresce bem em pH mais elevados.

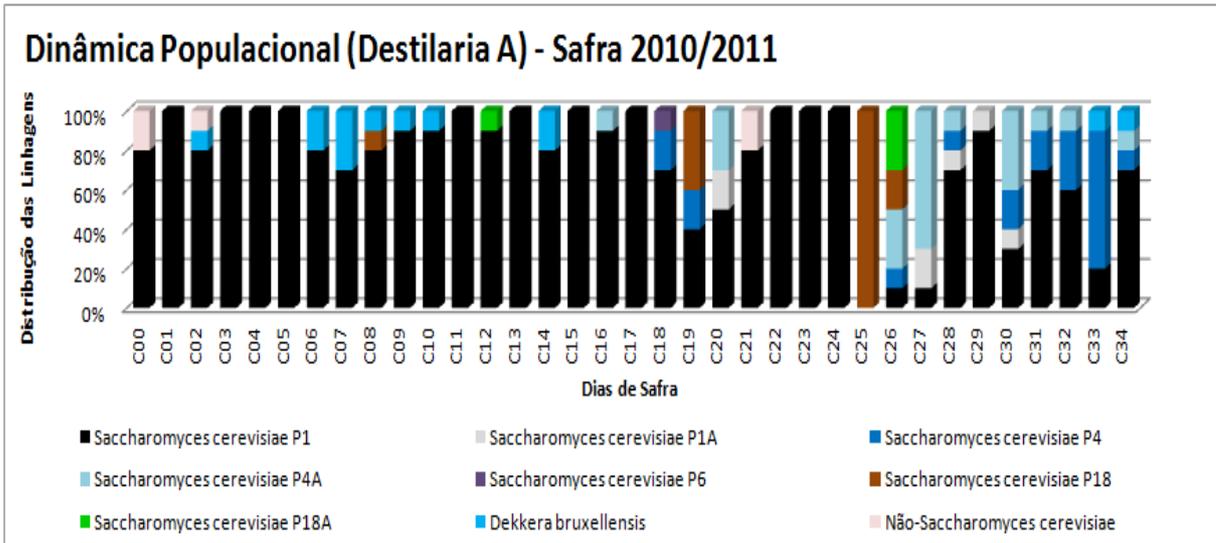


Figura 1. Dinâmica populacional de leveduras da destilaria A. Dados cedidos pela Empresa Genetech.

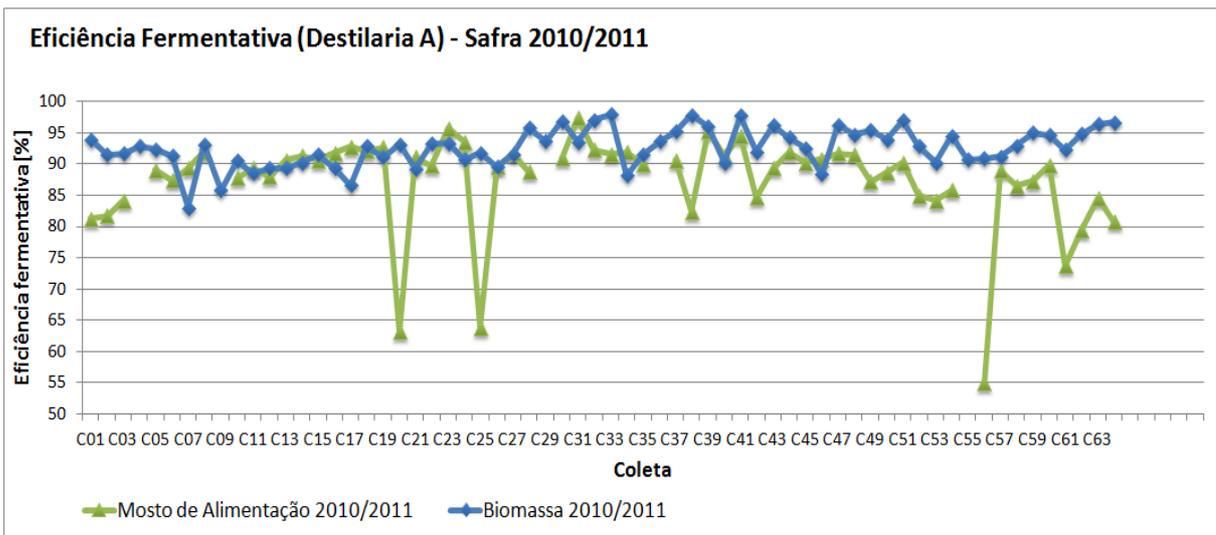


Figura 2. Eficiência da fermentação da destilaria A.

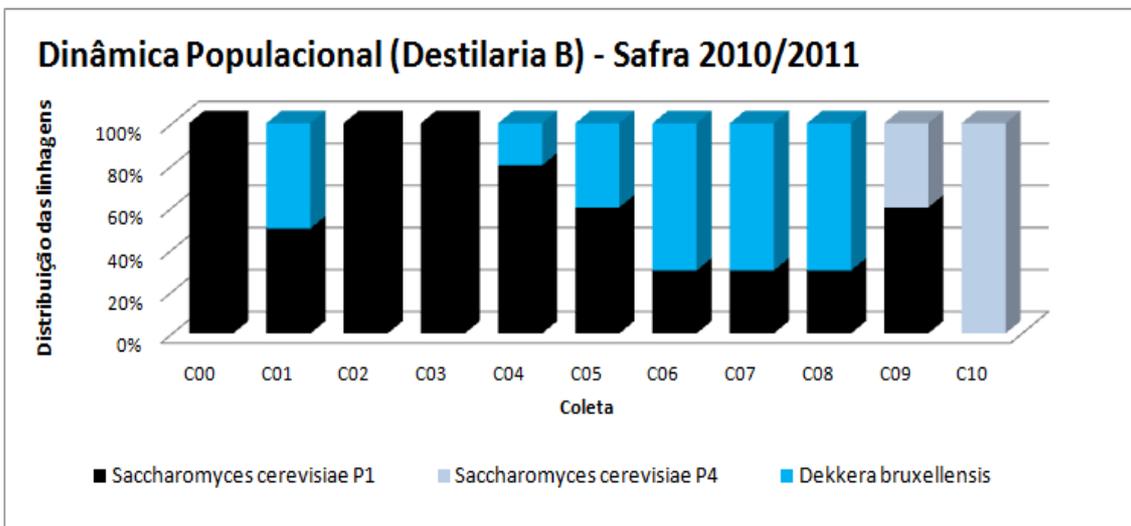


Figura 3. Dinâmica populacional de leveduras da destilaria B. Dados cedidos pela Empresa Genetech.

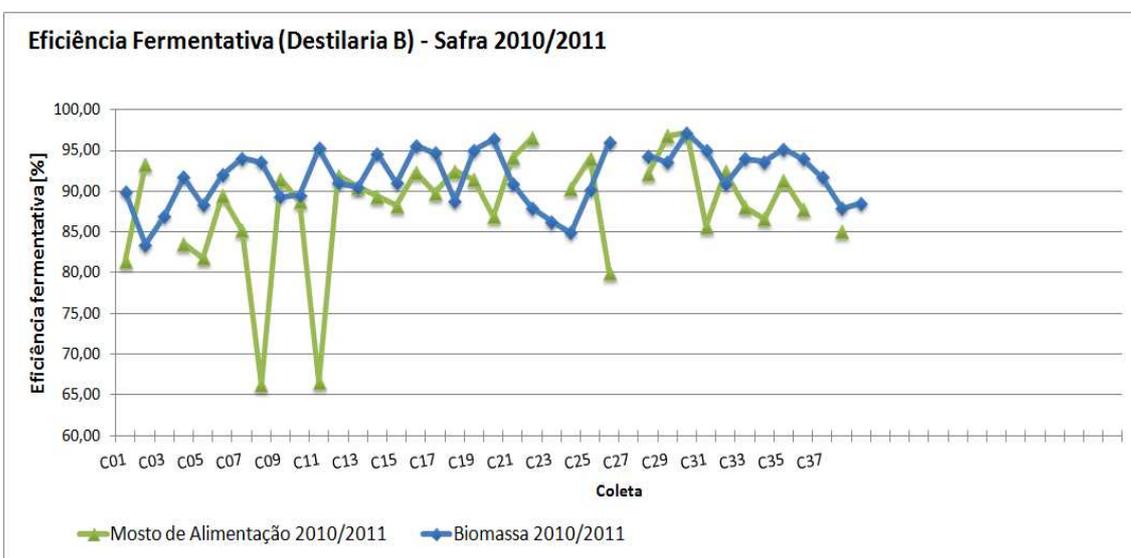


Figura 4. Eficiência da fermentação da destilaria B.

CONCLUSÃO

Através das análises destes dados é possível concluir que:

As linhagens iniciadoras são substituídas ao longo do processo fermentativo da Safra 2010/2011 pelas linhagens nativas;

Os ensaios fermentativos realizados com a biomassa industrial reforçam a substituição das linhagens iniciadoras;

A presença de *Dekkera bruxellensis* nem sempre está relacionado com a queda de produtividade nos intervalos de contaminação e a existência de uma única linhagem *Saccharomyces cerevisiae* não significa boa eficiência na produção;

Para garantir a qualidade da matéria-prima e a pureza do fermento, recomenda-se o controle de pH e temperatura, a limpeza dos equipamentos, como medidas preventivas;

A eficiência fermentativa não é influenciada somente pela presença de leveduras e bactérias contaminantes, podendo ser alterada devido o pH, falta ou excesso de alguns minerais em mosto de melaço ou de caldo de cana, concentração de açúcares, e até mesmo antibióticos.

REFERÊNCIAS

ANDRIETTA, M. G. S.; STECKELBERG, C.; ANDRIETTA, S. R. Bioetanol- Brasil, 30 anos de Vanguarda. Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas. Universidade de Campinas-SP, 2006.

BASSI, ANA PAULA GUARNIERI. Monitoramento de leveduras da fermentação alcoólica através do perfil de sensibilidade as toxinas Killer. Centro de Ciências Agrárias. Bolsa de Iniciação Científica, 2008.

BATISTOTE, M.; CARDOSO, C. A. L.; RAMOS, D. D.; ERNANDES, J. R. Desempenho de Leveduras em Indústrias do Mato Grosso do Sul na Produção de Etanol em Mosto a Base de Cana-de-Açúcar. Ciência e Natura. Universidade Federal de Santa Maria. 2010.

BARBOSA-NETO, AG; BRASILEIRO, BTRV. Caracterização morfológica e avaliação do potencial fermentativo de linhagens de leveduras isoladas no processo de fermentação alcoólica industrial. (Encontro) 12ª Jornada de Iniciação Científica (PIBIC

CATÓLICA/CNPq/FACEPE), Recife – PE, 2010. p. 5-6.

DORTA, C. Sinergismo entre sulfito, ácido láctico, pH e etanol na fermentação alcoólica de *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 e M-26. Universidade Estadual Paulista. Rio Claro, 2006.

MORAIS, M.R. Produção de etanol em meio sintético com recuperação de fermento entre bateladas sucessivas. Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2009.

SILVA-FILHO, E. A. Caracterização Genética de População de Leveduras de destilarias de Alcool Combustível para Otimização do Processo de Fermentação. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE, 2003.

SILVA-FILHO, E.A.; SANTOS, S.K.B.; RESENDE, A.M.; MORAIS, J.O.F.; MORAIS JUNIOR, M.A.; SIMÕES, D.A. Yeast population dynamics of industrial fuel-ethanol fermentation process assessed by PCR-fingerprinting. Antonie van Leeuwenhoek, 88: 13–23, 2005.

TORRES, R. R. N. B.; LIBERAL, A. T.; BALBINO, V. Q.; CARAZZOLLE, M. F.; PEREIRA, G. A. G.; MORAIS JR, M.A. Identificação e análise estrutural do gene da levedura *Dekkera bruxellensis* ortólogo a família dos genes que codificam a enzima piruvato descarboxilase em *Saccharomyces cerevisiae*. Departamento de Genética UFPE, Departamento de Genética Unicamp. 2008.

RELAÇÃO DA PLUVIOSIDADE NOS ANÉIS DE CRESCIMENTO DE *EUCALYPTUS GRANDIS* HILL EX. MAIDEN (MYRTACEAE): CENÁRIOS PARA AULA VIRTUAL

Guedes, H.C.⁽¹⁾; Santana, O.A.⁽¹⁾; Lacerda, D.C.S.⁽¹⁾; Oliveira, J.I.M.⁽¹⁾; Inacio, E.S.B.⁽¹⁾; Imaña-Encinas, J.⁽²⁾
handerson.guedes@hotmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco; ⁽²⁾Universidade de Brasília

RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram relacionar a pluviosidade média anual com o incremento médio anual dos anéis de crescimento de *Eucalyptus grandis* e criar cenários virtuais hipotéticos. Houve uma relação significativa e diretamente proporcional entre a pluviosidade média anual (PMA), dados registrados pelo Instituto Nacional de Meteorologia - INMET, com o incremento médio anual (IMA) dos anéis de crescimento de *Eucalyptus grandis*, dados obtidos através da coleta através do equipamento “Haglof Increment borer”, na qual foi gerada uma equação através de uma análise de regressão entre as variáveis relacionadas. Com isso construído um ambiente interativo, no programa Microsoft Excel, para ser disponibilizado em ambientes virtuais de aprendizagem, podendo criar cenários através da modificação da variável PMA e observação da reação da variável IMA, isso tudo inseridos em um processo de ensino-aprendizagem construtivista.

Palavras-chave: Piaget; EAD; Objetos Educacionais

INTRODUÇÃO

Os anéis de crescimento são zonas de incremento do tecido vegetal, que são marcados anualmente ou em um período regular, por uma parte de crescimento rápido e outra lenta, destacando visualmente na madeira de indivíduos arbóreos (GARTNER et al., 2002).

A literatura descreve que os anéis de crescimento sofrem influências em seu incremento por diversos fatores: i) climáticos, eg. pluviosidade e temperatura (ROBERTSON et al., 2008); ii) ecológicos (HANECA et al., 2009), eg. competição por nutrientes; iii) genéticos (SMITH, 2008), eg. variável espécie por espécie; iv) predação (BOGINO; JOBBÁGY, 2011) eg. herbivoria.

Porém o principal fator para o crescimento e distinção dos anéis durante um determinado período de tempo (> 5 anos) foi o de pluviosidade (ROBERTSON et al., 2008).

Vários trabalhos (GEA-IZQUIERDO et al., 2011; PASHO et al., 2011; SCHARNWEBER et al., 2011) mostraram que em períodos mais distróficos, com seca e altas temperaturas, o indivíduo vegetal fecham seus estômatos, reduzindo assim a capacidade de realização de fotossíntese e conseqüentemente de transformar e absorver carbono, na sua forma de carboidrato, que são as principais moléculas na formação da madeira.

Observando este comportamento, ficou evidente a elaboração de um modelo que pudesse representar matematicamente esta relação, na qual

poderia ser utilizada de forma didática em sala de aula e para preparação de aulas virtuais.

Aulas virtuais foram utilizadas como complemento das aulas presenciais em cursos tradicionais presenciais. Em comparação com cursos que não tiveram uma base virtual de ensino, o sucesso do ensino aprendizagem, mensurados pelas notas finais foram menor do que as que tiveram (SANTANA; IMAÑA-ENCINAS, 2007).

Os objetivos deste trabalho foram relacionar a pluviosidade média anual com o incremento médio anual dos anéis de crescimento de *Eucalyptus grandis* e criar cenários virtuais hipotéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo foi no Campus/Recife da Universidade Federal de Pernambuco, próximo a área da Biblioteca Central (Figura 1), área que continha uma plantação de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden (MYRTACEAE).

Em 24 indivíduos arbóreos de *Eucalyptus* foram coletados os anéis de crescimentos com o equipamento de coleta de incremento de madeira “Increment Borers” Haglöf Sweden AB” (Figura 2).

Após a coleta a amostra de madeira coletada foi enviada a laboratório onde foi desumidificada a uma temperatura ambiente e quantificados e mensurados o tamanho dos anéis de crescimentos através de um paquímetro digital com precisão Graduação 0.02mm/.001, com auxílio de um microscópio Binocular 1000X LM3000B.

O incremento dos anéis mensurados com um paquímetro digital Digimess 0.01mm de gradação, e com isso observados a cada ano seu acréscimo. A

datação seguiu o método de “crossdating” entre os indivíduos de *Eucalyptus* para confirmação da idade final.

Os dados de pluviosidade média anual foram registrados pelas estações convencionais e automáticas do Instituto Nacional de Meteorologia INMET em Recife (Figura 3), sendo os dados publicados no INMET (2011).

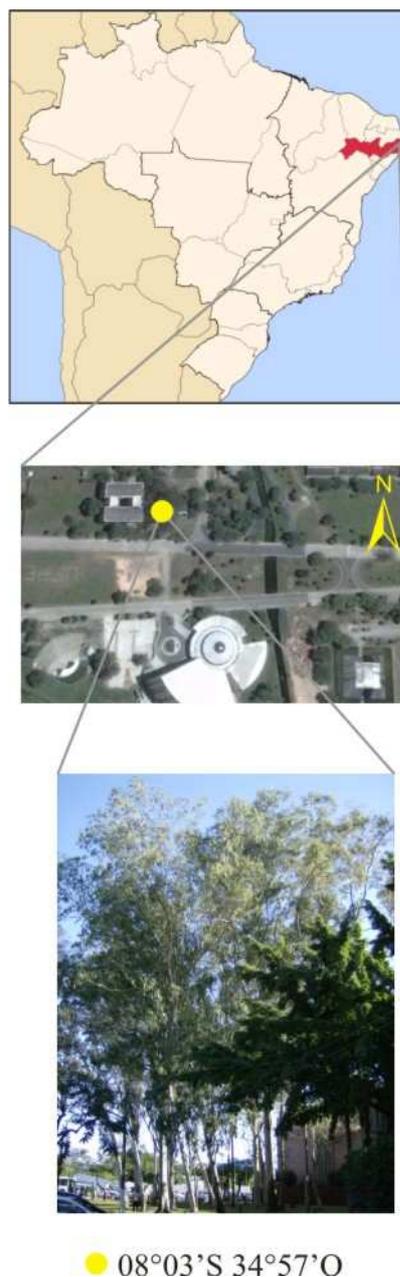


Figura 1. Localização da área de estudo

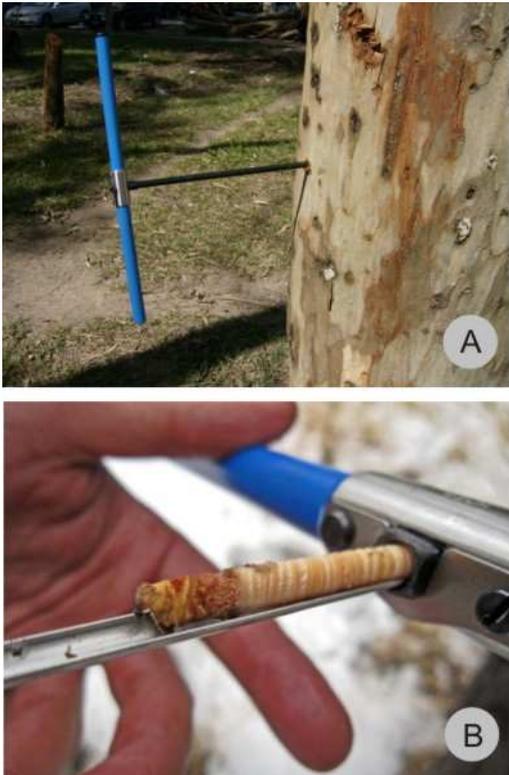


Figura 2. A) Amostragem de coleta do incremento de madeira; B) Incremento de madeira saindo do equipamento de coleta.



Figura 3. Estação automática do INMET (2011).

A relação dos dados médios do incremento anual (IMA) dos anéis de

crescimento com os dados de pluviosidade média anual (PMA) foram efetuadas através da análise de regressão dos dados, em que foram calculados os parâmetros da equação: R^2 = coeficiente de determinação; equação; nível de significância (p) e erro do ajuste, todos calculados através do programa SigmaPlot 9.0.

A partir daí como recurso próprio do programa Microsoft Excel 2007, foi disposto o modelo de maneira didática para o aluno poder intervir no modelo, ou seja, alterando o valor da variável independente ($y = \text{IMA}$) e verificando como ficariam os novos cenários temporais ($x = \text{PMA}$).

Para isso a análise de regressão linear foi utilizada para estimar dados futuros através das variáveis amostradas, utilizando o mesmo programa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em média a pluviosidade média anual (PMA) em Recife foi de 1854 mm (± 152) e com o incremento médio anual (IMA) dos anéis de crescimento dos indivíduos amostrados de *Eucalyptus grandis* foi de 0,65 cm ($\pm 0,09$). Os desvios-padrão tanto para o IMA e para a PMA mostraram um padrão na distribuição de aumento e diminuição dos respectivos valores ao longo dos anos registrados semelhantes (Figura 4). E isto ficou corroborado com a relação significativa ($R^2 = 0,80$; $p < 0,001$) e diretamente proporcional (Figura 5). Ou seja, quanto maior o valor de PMA maior será o IMA, seguindo a equação linear gerada (Figura 5).

Com esta relação pôde criar um ambiente de interação, em que os alunos possam ir a campo e alimentar o ambiente, ou banco de dados, fazendo com que modifique o gráfico final (Figura 6). Por exemplo, na Figura 7, fez-se uma redução a cada ano na PMA

e foi observada o IMA. Este novo cenário gerado permitiu inferir sobre o crescimento da espécie frente a uma distrofia, e sua dependência com a PMA para o desenvolvimento conforme descrito na literatura (SMITH et al., 2008).

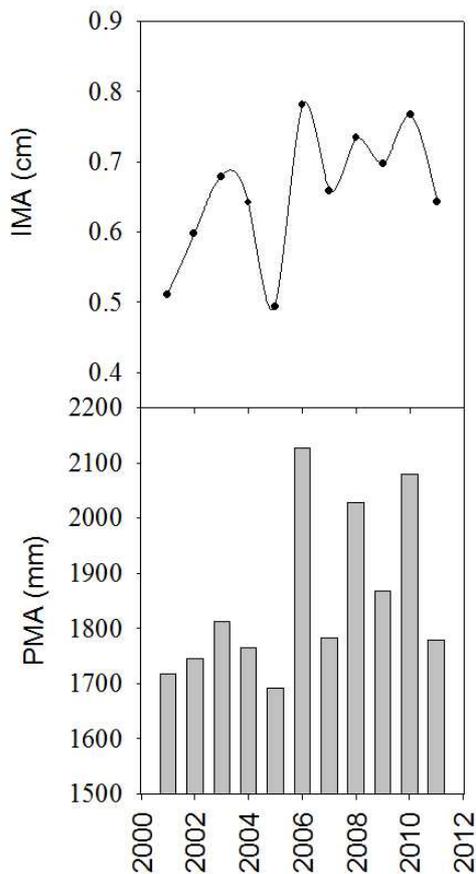


Figura 4. Comparação dos dados das aulas práticas de incremento médio anual dos anéis de crescimento – IMA (cm) e pluviosidade média anual – PMA (mm) em Recife-PE.

Este recurso pode ser disposto em ambientes virtuais de aprendizagem, tendo um tutorial anexado, em que o aluno a distância pode interferir no modelo e verificar como ficará o IMA para a espécie estudada com a modificação da PMA.

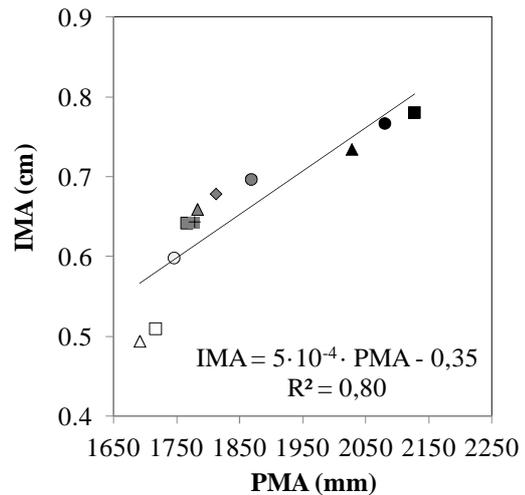


Figura 5. Relação dos dados registrados em campo do incremento médio anual dos anéis de crescimento – IMA (cm) e pluviosidade média anual – PMA (mm) em Recife-PE. Δ = 2006; \square = 2010; \circ = 2008; \blacksquare = 2009; $+$ = 2003; \blacktriangle = 2007; \blacklozenge = 2011; \bullet = 2004; \blacktriangle = 2002; \bullet = 2001; \blacksquare = 2005.

O recurso didático gerado com este trabalho corrobora com a teoria construtivista de Piaget, na qual o aluno constrói o conhecimento de forma autônoma e dirigida, incluindo para a assimilação de novos conceitos a aprendizagem significativa (ANGELA, 2011; SANTANA; IMAÑA-ENCINAS, 2007).

CONCLUSÃO

Houve uma relação significativa e diretamente proporcional entre a pluviosidade média anual (PMA) com o incremento médio anual (IMA) dos anéis de crescimento de *Eucalyptus grandis*, na qual foi gerada uma equação, e com isso construído um ambiente interativo, para ser disponibilizado em ambientes virtuais de aprendizagem, podendo criar cenários através da modificação da variável PMA e observação da reação da variável IMA.

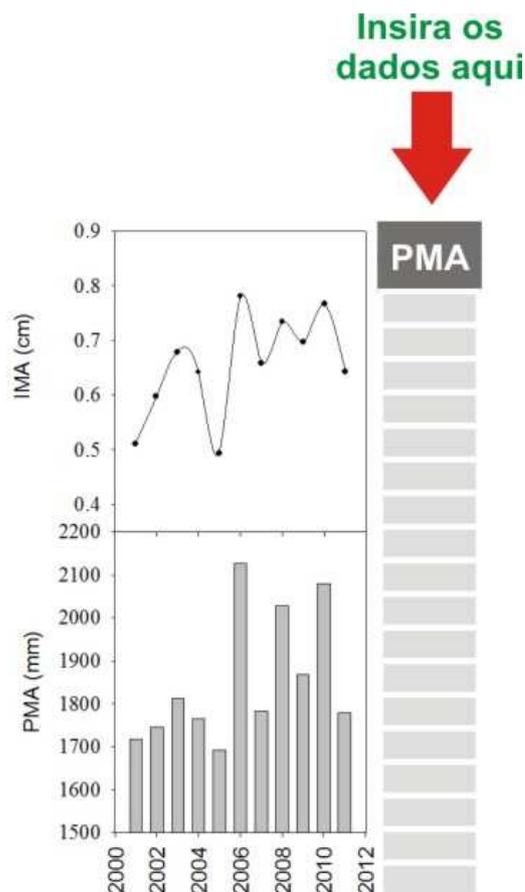


Figura 6. Disposição do layout do programa Microsoft Excel para intervenção na variável PMA = pluviosidade média anual e observação dos gráficos ao lado, de como fica o IMA = incremento médio anual.

REFERÊNCIAS

ANGELA, T. A constructivist approach to new media: An opportunity to improve social studies didactics.

Procedia - Social and Behavioral Sciences, v. 11, p. 185-189, 2011.

BOGINO, S. M.; JOBBÁGY, E. G. Climate and groundwater effects on the establishment, growth and death of *Prosopis caldenia* trees in the Pampas (Argentina). **Forest Ecology and Management**, v. 262, n. 9, p. 1766-1774, 2011.

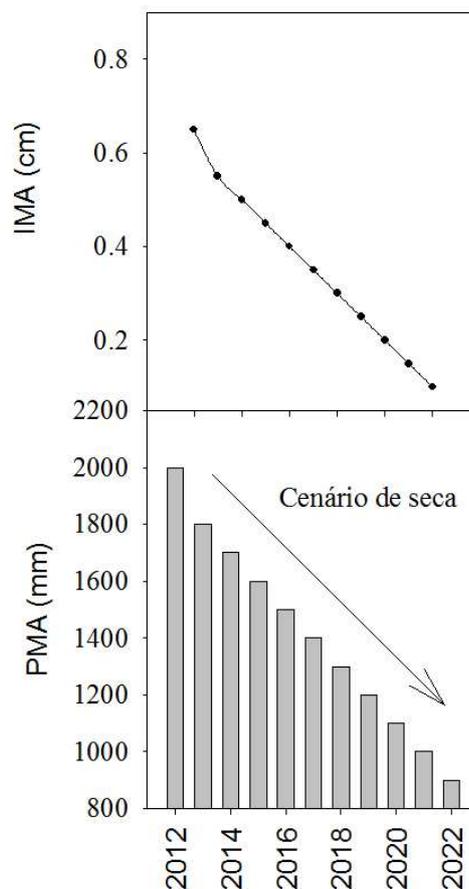


Figura 7. Comparação dos dados de incremento médio anual dos anéis de crescimento – IMA (cm) e pluviosidade média anual – PMA (mm) em Recife-PE, gerados por um cenário hipotético de seca.

GARTNER, B. L.; ALONI, R.; FUNADA, R.; LICHTFUSS-GAUTIER, A. N.; ROIG, F. A. Clues for dendrochronology from studies of wood structure and function. **Dendrochronologia**, v. 20, n. 1-2, p. 53-61, 2002.

GEA-IZQUIERDO, G.; CHERUBINI, P.; CAÑELLAS, I. Tree-rings reflect the impact of climate change on *Quercus ilex* L. along a temperature gradient in Spain over the last 100 years. **Forest Ecology and Management**, v. 262, n. 9, p. 1807-18161, 2011.

HANECA, K.; ČUFAR, K.; BEECKMAN, H. Oaks, tree-rings and wooden cultural heritage: a review of the main characteristics and applications of oak dendrochronology in Europe. **Journal of Archaeological Science**, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2009.

PASHO, E.; CAMARERO, J. J.; LUIS, M.; VICENTE-SERRANO, S. M. Spatial variability in large-scale and regional atmospheric drivers of *Pinus halepensis* growth in eastern Spain. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 151, n. 8, p. 1106-1119, 2011.

ROBERTSON, I.; LEAVITT, S. W.; LOADER, N. J.; BUHAY, W. Progress in isotope dendroclimatology. **Chemical Geology**, v. 252, n. 1-2, p. 1-4, 2008.

SANTANA, O. A.; IMAÑA-ENCINAS, J. Pedagogia construtivista na disciplina metodologia da pesquisa florestal, com a utilização do ambiente virtual Moodle. **Revista de Ensino de Engenharia**, v. 26, p. 8-13, 2007.

SCHARNWEBER, T.; MANTHEY, M.; CRIEGEE, C.; BAUWE, A.; SCHRÖDER, C.; WILMKING, M. Drought matters – Declining precipitation influences growth of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. in north-eastern Germany. **Forest Ecology and Management**, v. 262, n. 6, p. 947-961, 2011.

SMITH, K. T. An organismal view of dendrochronology. **Dendrochronologia**, v. 26, n. 3, p. 185-193, 2008.

REMOÇÃO DE CÁDMIO POR QUITINA E QUITOSANA OBTIDAS DE *Rhizopus arrhizus* COMO ESTRATÉGIA PARA BIORREMEDIAÇÃO.

Freitas, J. H. E. S.^(1,2); Mahnke, L. C.^(1,2); Estevam Alves, M. H. M.^(1,3); Nascimento, A. E.^(1,4)

jhenrique.freitas@hotmail.com

⁽¹⁾Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais – NPCIAMB; ⁽²⁾Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas; ⁽³⁾Mestrado em Desenvolvimentos de Processos Ambientais; ⁽⁴⁾Professora do Centro de Ciências Biológicas e Saúde (CCBS) – Universidade Católica de Pernambuco, Recife - PE.

RESUMO

A contaminação por cádmio é um fator preocupante para a saúde ambiental, pois é um elemento com capacidade cumulativa em cadeias tróficas. Os processos físico-químicos para o tratamento de cádmio podem ser onerosos, sendo necessário o desenvolvimento de tecnologias para a remoção desses elementos. Os microrganismos são considerados ferramentas altamente eficientes para a remoção de metais pesados. Os polímeros quitina e quitosana são facilmente extraídos da parede celular de microrganismos, sendo comumente aplicados na remoção de xenobióticos. O isolado foi cultivado em meio SMM sólido durante 15 dias a 28°C, para produção de biomassa foi feita uma suspensão de esporos de 10⁶ esporos/mL em frascos Erlenmeyers contendo 500mL de meio SMM caldo, sob agitação a 150rpm e 28°C durante 15 dias, para a obtenção de quitina e quitosana seguiu-se o método descrito por SYNOWIECKY & AL-KHATEEB (1997). A utilização dos polímeros, quitina e quitosana apresentaram grandes índices de remoção. O efeito do pH indicou maior remoção em pH 6,0. As modificações

ultraestruturais foram relatadas como resultado da exposição ao cádmio, com variações na eletrondensidade e heterogeneidade. O estudo mostrou que os polímeros extraídos exibem grandes índices de remoção de cádmio, sendo a quitosana melhor sistema removedor que a quitina.

Palavras-chave: Cádmio, *Rhizopus arrhizus*, Quitina, Quitosana.

INTRODUÇÃO

A contaminação por metais pesados hoje é um dos fatores mais preocupantes para a saúde ambiental e dos seres vivos, uma vez que esses elementos não são degradados, sendo assim acumuladas nas cadeias tróficas. São facilmente transportados quando em solução, e muitas vezes, podem alcançar altas concentrações em áreas fechadas por sua própria disposição ou por amplificação biológica (GADD, 2010).

O cádmio é um elemento escasso na crosta terrestre e é amplamente utilizado na fabricação de eletrodos das baterias recarregáveis, na galvanoplastia, pigmentos, ligas metálicas de baixo ponto de fusão, revestimento eletrolítico dos metais, esmaltes e tinturas têxteis, em barras de controle em fissão nuclear, entre outros (HOGAN, 2010). É descarregado para o meio ambiente através da queima de combustíveis fósseis e pela incineração de lixo doméstico. O cádmio também contamina o ar quando se fundem rochas para extrair zinco, cobre ou chumbo. A contaminação dos solos por cádmio se dá principalmente por mineração, poluição atmosférica de indústrias metalúrgicas, queima de combustíveis fósseis, entre outros (ATSDR, 2008; HOGAN, 2010; JARUP & AKESSON, 2009).

Demonstrou-se que os alvos do íon são enzimas e proteínas (ATLI & CANLI, 2007). Nos seres humanos induz a inibição dos sistemas de absorção de nutrientes, inorgânicos e orgânicos pelo organismo humano, sendo tóxicos em

baixas concentrações. Na atualidade, os processos para o tratamento de ambientes contaminados por metais podem ser onerosos e/ou contribuir para formação de novos contaminantes ambientais, assim, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias mais econômicas e práticas para a remoção desses elementos, que são responsáveis por um alto nível de toxicidade para os sistemas vivos (GADD, 2010).

Micro-organismos são elementos fundamentais da biosfera através de suas atividades de transformação e ciclo biogeoquímico de elementos metálicos, bem como nas transformações e decomposição de minerais, e formação dos solos e sedimentos. Transformam metais através de oxidação-redução e metilação e reações de demetilação. Juntos, esses processos afetam a toxicidade e a mobilidade dos metais no meio ambiente (EL-KAMASH et al., 2005; RENSING; ROSEN, 2009). Metais estão diretamente e/ou indiretamente envolvidos em todos os aspectos do crescimento, metabolismo e diferenciação dos microrganismos.

Os micro-organismos, em geral, podem acumular ou transformar elementos metálicos, como resultado de reações enzimáticas específicas ou de mecanismos decorrentes das características e propriedades da parede celular e da membrana plasmática. Dessa forma, podem ser considerados ferramentas altamente eficientes, podendo originar uma tecnologia viável, de baixo custo e eficiente por não gerar subprodutos tóxicos. Dentre os

microrganismos, os fungos recebem atenção especial por sua maior eficiência, em relação às bactérias (GADD, 2010).

Os fungos da Classe Zygomycetes exibem grande importância econômica e ambiental nos processos de biodeterioração, biodegradação (principalmente na reciclagem de lixo e formação de adubo) e na indústria (produção de enzimas, ácidos graxos, antibióticos, conservantes e ácidos láticos) (ALEXOPOULOS et al., 2001). Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos extraídos da carapaça de artrópodes ou da parede celular de micro-organismos. Esses dois polímeros nativos ou quimicamente modificados ocupam uma extensa área de aplicação em vários tipos de indústrias, tecnologia e também na medicina devido as características físico-químicas significativas e convenientes como biodegradabilidade, biocompatibilidade, ação antimicrobiana, dentre outras aplicações (GOOSEN, 1996; ROBERTS, 1992).

Para este estudo, foi avaliada a eficiência de remoção de cádmio pela quitina e quitosana obtidas de *Rhizopus arrhizus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Rhizopus arrhizus foi cultivado em meio Synthetic Medium for Mucoralean (SMM) sólido e incubado em placas de Petri durante 15 dias a 28°C. A produção de biomassa fúngica foi feita a partir de uma suspensão esporíca de 10⁶ esporos/mL inoculada em frascos Erlenmeyers contendo 500mL de meio SMM caldo,

posteriormente colocados em shaker orbital a 150rpm e 28°C durante 15 dias.

A biomassa obtida foi utilizada para extração da quitina e da quitosana. A quitina foi extraída de acordo com método descrito por SYNOWIECKY; AL-KHATEEB (1997). O processo envolve desproteinização por hidróxido de sódio 2% (p/v), seguida de centrifugação, hidrólise ácida de ácido acético 10% (v/v), para obtenção de quitina e lavagens sucessivas com etanol e acetona para a precipitação dos polissacarídeos. A quitina extraída foi testada nas seguintes condições: uma solução de quitina 1% (p/v) foi acrescentada 125mL de uma solução metálica, em frascos de Erlenmeyer, nas concentrações de 0,5mM (100,665mg/L), 1mM (201,33mg/L), 2mM (402,66mg/L), 3mM (603,99mg/L) e 4mM (805,32mg/L), com pH de 2, 3, 4, 5 e 6, que foram colocados sob agitação a 150 rpm, a 28°C, durante 18 horas. A quitosana foi obtida por deacetilação da quitina.

As amostras nas condições citadas foram submetidas à espectrofotometria de absorção atômica para determinação da concentração do metal. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A eficiência de adsorção, q (mg do íon metálico/g de quitina e mg do íon metálico/g de quitosana) foi calculada de acordo com a equação: $q = (C_0 - C_f)/m$, onde C_0 e C_f são as concentrações inicial e final do metal (mg/L), respectivamente e m a quitina e quitosana (g).

Para estudos ultraestruturais, amostras controle e expostas ao cádmio foram submetidas ao método de rotina descrito por De SOUZA, 2000, utilizando-se microscopia eletrônica de varredura – JEOL SEM 5600LV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A biorremediação consiste na utilização da biomassa, cultivada ou obtida como coproduto de fermentações, submetida à secagem, e imobilização, bem como seus derivados, gerando menores custos, redução da produção de resíduos e rejeitos e alta eficiência na remoção de metais em efluentes muito diluídos.

Inúmeros sistemas biológicos têm sido avaliados na remoção de metais pesados de soluções aquosas como forma de controle ambiental (GADD, 2010; OPEOLU et al., 2010; KAR & MISRA, 2004).

Assim, avaliou-se a habilidade de remoção de cádmio pela quitina e quitosana obtidas de *Rhizopus arrhizus*. Os resultados estão apresentados na Figura 01(A-B).

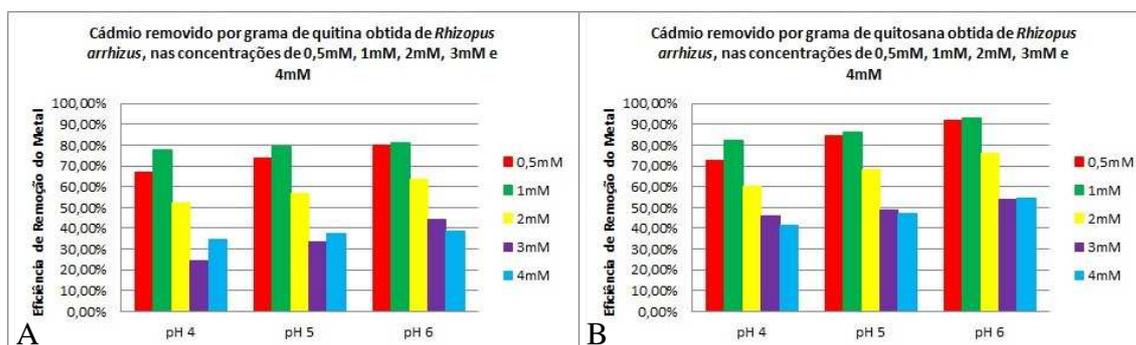


Figura 1. A – Gráfico de remoção de cádmio por grama de quitina; B – Gráfico de remoção de cádmio por grama de quitosana.

Os resultados revelam que a utilização dos polímeros, quitina e quitosana apresentaram grandes habilidades de remoção, sendo a quitosana melhor sistema removedor que a quitina. A quitina e a quitosana são também relatadas como materiais com alto poder adsorvente para xenobióticos (MUZZARELLI et al., 1980). Além disso, o efeito do pH do sistema de remoção foi também avaliado. Valores de pH abaixo de 4,0 induziram precipitação do metal na solução. Os dados obtidos revelam que em valores crescentes de pH a remoção foi mais efetiva. Assim, a maior remoção foi obtida em pH 6,0.

Os resultados obtidos neste estudo são corroborados pela literatura citada, demonstrando eficiências de remoção de cádmio 0,5mM de 80% e 92%; 1mM de 80,9% e 92,8%; 2mM de 63,7% e 75,9%; 3mM de 44,4% e 54% e 4mM de 38,4% e 54,5% para quitina e quitosana, respectivamente. A redução do potencial de remoção diminui para as

maiores concentrações de cádmio, tal fato é positivo, uma vez que nos efluentes naturais o cádmio encontra-se em concentrações baixas.

Modificações ultraestruturais também são relatadas como resultado da exposição a íons metálicos. Variações na eletrondensidade e heterogeneidade foram visualizadas através da microscopia de varredura observadas na figura 02(A-D). Resultados semelhantes são relatados para isolados de *Fusarium* e *Alternaria* (GHARIEB, 2004).

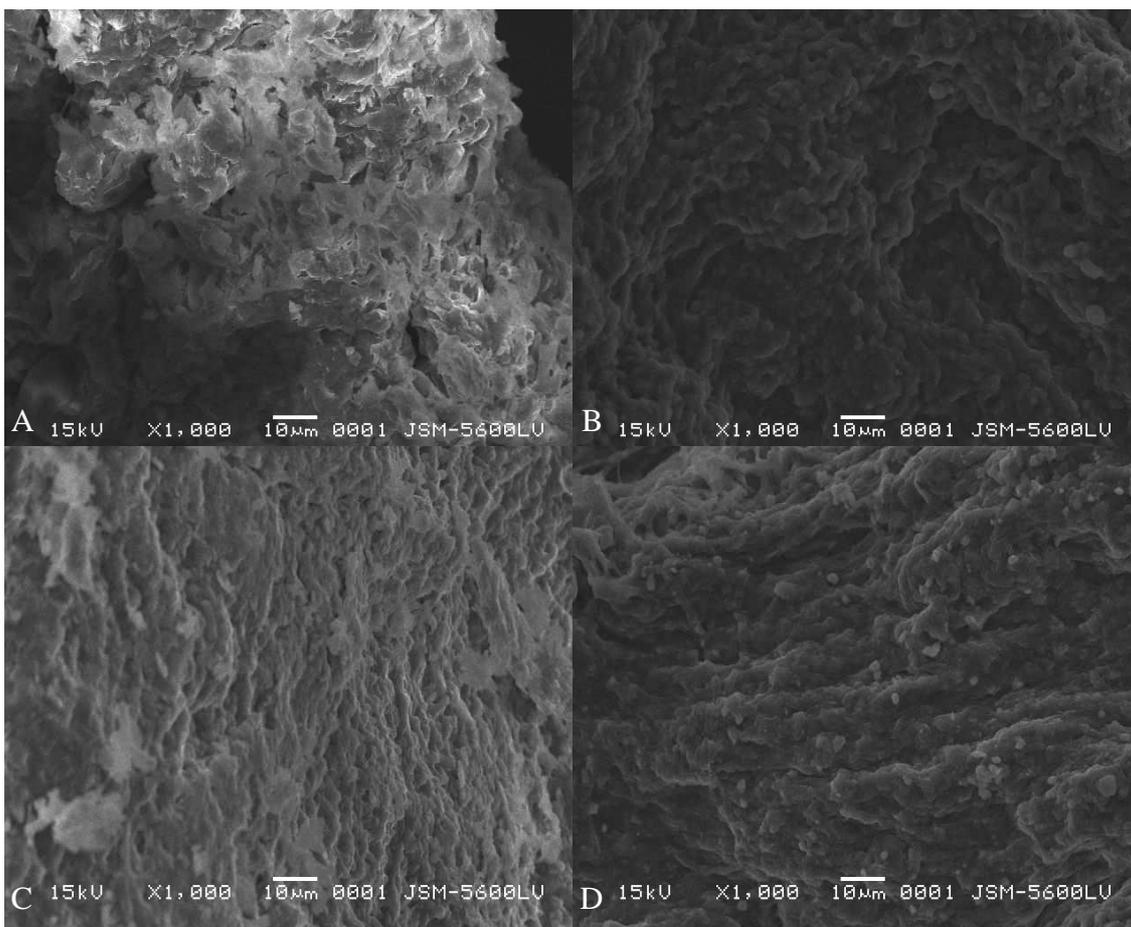


Figura 02. Microscopia Eletrônica de Varredura: A- Quitina de *Rhizopus arrhizus*; B- Quitina de *Rhizopus arrhizus* submetida a 4mM de cádmio; C- Quitosana de *Rhizopus arrhizus*; D- Quitosana de *Rhizopus arrhizus* submetida a 4mM de cádmio.

Pela ausência de materiais celulares e extracelulares, tanto a quitina, quanto a quitosana apresentam grande afinidade ao metal e, por consequência, têm grande capacidade de adsorção. Após a exposição dos esqueletos de quitina e quitosana, observa-se a heterogeneidade dos mesmos, como também, a eletrodensidade que aumenta como fator da adsorção. Para a quitosana, foi observada maior capacidade de adsorção como também maior eletrodensidade que na quitina, pois a presença de grupos iônicos conferem propriedades únicas a este biopolímero.

CONCLUSÃO

O isolado avaliado possui habilidade de remoção para o cádmio em todas as concentrações testadas;

Os polímeros extraídos do isolado exibem grandes índices de remoção do metal pesado, sendo a quitosana melhor sistema removedor que a quitina.

REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. Introductory Mycology. New York, Jonh Wiley & Sons publishers, 2001. 356p;

ATSDR, Draft Toxicological Profile for Cadmium. September. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. p. 450. 2008;

DE SOUZA, W. - Manual Sobre Técnicas Básicas em Microscopia Eletrônica. Rio de Janeiro. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica. 2000. 134p.

EL-KAMASH, E.M., AWWAD, N.S. , EL-SAYED, A.A. Sorption of uranium and thorium ions from nitric acid solution using HDEHP-impregnated activated carbon, Arab. J. Nucl. Sci. Appl. v. 38, p. 44-49. 2005;

GADD, G. M. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. Microbiology; v. 156, p. 609-643. 2010;

GHARIEB, M. M.; GADD, G. M. Role of glutathione in detoxification of metal (loid)s by *Saccharomyces cerevisiae*. BioMetals; v. 17, p. 183–188. 2004;

GOOSEN, M. E. A – “Applications of chitin and chitosan”, Technomic Publishing Company, Lancaster (1996);

HOGAN, C. M. Heavy metal. Encyclopedia of Earth. National Council for Science and the Environment. eds E.Monosson & C.Cleveland. Washington D.C. 2010;

JARUP, L.; AKESSON, A. Current status of cadmium as an environmental health problem. Toxicol Appl Pharmacol.; v. 238, n. 201, p. 8. 2009;

KAR, P., MISRA, M. Use of keratin fiber for separation of heavy metals from water. J. Chem. Technol. Biotechnol. v. 79, p. 1313-1319. 2004;

MUZZARELLI, R.A.A., TANFANI, F., SCARPINI, G. Chelating, film forming, and coagulating ability of the chitosan-glucan complex from *Aspergillus niger* industrial wastes. Biotechnol. Bioeng. v. 22, p. 885-896. 1980;

RENSING, C.; ROSEN, B. P. Heavy metals cycle. Enc Microbiol; p. 205-219. 2009;

OPEOLU, B. O., BAMGBOSE, O., AROWOLO, T. A., ADETUNJI, M. T. Utilization of biomaterials as adsorbents for heavy metals' removal from aqueous matrices. Sci. Res. 2010.

ROBERTS, G. A. F. - “Chitin Chemistry”, The Macmillan Press, London (1992).

Suporte Financeiro: CNPq (Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

REMOÇÃO DO VERMELHO REMAZOL PELA BIOMASSA, QUITINA E QUITOSANA OBTIDAS DE *MUCOR JAVANICUS*

Mahnke, L. C.^(1,2); Freitas, J. H. E. S.^(1,2); Alves, M. H. M.^(1,3); Nascimento, A. E.^(1,4)
laylamahnke@hotmail.com

⁽¹⁾Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais – NPCIAMB; ⁽²⁾Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas; ⁽³⁾Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais; ⁽⁴⁾Professora do Centro de Ciências Biológicas e Saúde (CCBS) – Universidade Católica de Pernambuco, Recife - PE.

RESUMO

A indústria têxtil é grande poluente, sendo descartados os azocorantes, que tem efeitos carcinogênicos e mutagênicos. A utilização da biomassa fúngica e de polímeros da parede celular (quitina e quitosana), são aplicadas a estudos de remoção, sendo, *Mucor javanicus* utilizado para os estudos. O isolado foi inoculado em placas de Petri, contendo meio SMA, sob 28°C, por 15 dias. O meio SMM foi preparado para produção de biomassa. O meio foi inoculado com cinco discos de micélio, durante 20 dias, à 150 rpm, 28°C. As biomassas obtidas foram separadas para os testes utilizados de vivas e inativadas (tratadas com formaldeído), como também para a obtenção da quitina e quitosana pelo método de Synowiecky e Al-Khateeb (1997). Foram adicionadas 200mg das massas em soluções com vermelho remazol nas concentrações de 1mg/L, 10mg/L, 50mg/L, 100mg/L, e 1000mg/L e colocados à 150 rpm, 28°C, por 18 horas. Foi feita a leitura do líquido metabólico em espectrofotômetro no comprimento de onda de 500µm. Em resposta, o isolado demonstrou adaptação ao corante. A melhor remoção foi pela quitosana nas concentrações de 1mg/L, 10mg/L e 50mg/L.

Palavras-chave: Azocorante; *Mucor javanicus*; Biorremediação.

INTRODUÇÃO

Os corantes azo, aqueles que apresentam como grupo funcional a ligação azo, ou seja -N=N-, são utilizados na tinturaria têxtil para corar e pintar fibras naturais e sintéticas, couros e peles, na tipografia a cores, e ainda como aditivos de produtos derivados do petróleo. As indústrias de corantes e as indústrias têxteis são, respectivamente, as maiores produtoras e usuárias de corantes azo. Produzem-se anualmente toneladas destes corantes, sendo cerca de 10 a 15% desses compostos lançados nos efluentes. Assim, os efluentes têxteis se caracterizam por serem altamente coloridos, devido à presença de corantes que não se fixam na fibra durante o

processo de tingimento. A poluição de corpos d' água com estes compostos provoca, além da poluição visual, alterações em ciclos biológicos, afetando principalmente processos de fotossíntese. Além deste fato, estudos têm mostrado que algumas classes de corantes, principalmente a dos azocorantes, e seus subprodutos, podem ser carcinogênicos e/ou mutagênicos (KUNZ et al. 2002; GUPTA & SUHAS, 2009).

Por todos estes motivos, o estudo de novas alternativas para o adequado tratamento de efluentes deve ser considerado como uma prioridade. Assim, surge a remediação biológica como uma alternativa de grande potencial por exibir baixos custos e permitir a remoção dos corantes de

soluções aquosas (GUPTA & SUHAS, 2009; CRINI, 2006; CRINI & BADOR, 2008). O processo de descoloração de águas residuais de corante por biomassa (viva ou morta), e culturas microbianas são objeto de inúmeros estudos (AKSU, 2005; MCMULLAN et al., 2001; FU E VIRARAGHAVAN, 2001a; STOLZ, 2001).

Uma grande variedade de microorganismos incluindo algas, leveduras, as bactérias e fungos filamentosos, bem como moléculas derivadas (quitina, quitosana, polifosfatos) são capazes de descolorir uma ampla gama de corantes com uma alta eficiência (GUPTA & SUHAS, 2009; CRINI, 2006; CRINI & BADOR, 2008). Os estudos servem de base para o entendimento do comportamento celular frente à toxicidade do corante, bem como para a identificação e busca por materiais de origem microbiológica que possam atuar como sorventes biológicos eficientes.

Espécies de fungos da ordem Mucorales, Zygomycets, são amplamente utilizados na indústria e em processos biotecnológicos, por exibirem grande potencial na produção de metabólitos secundários e enzimas extracelulares, além de atuando em processos de biodeterioração e biodegradação e biorremediação. O grupo apresenta como componente principal da parede celular a quitina, que por deacetilação produz a quitosana. Esses polímeros têm sido citados como extremamente importantes em diversas aplicações industriais e biotecnológicas (ALEXOPOULOS et al., 2001). Dessa forma, a utilização da biomassa de fungos desse grupo apresenta grande potencial como material para remoção de xenobióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

O micro-organismo *Mucor javanicus* foi cultivado em meio Synthethic Medium for Mucoralean (SMM) sólido e incubado em placas de Petri durante 15 dias a 28°C. A produção de biomassa fúngica foi feita a partir de uma suspensão esporíca de 10⁶ esporos/mL inoculada em frascos Erlenmeyers contendo 500mL de meio SMM caldo, posteriormente colocados em shaker orbital a 150rpm e 28°C durante 15 dias.

A biomassa obtida foi utilizada para estudos de remoção com a biomassa lavada, inativada com uma solução de formaldeído a 1%, e extração da quitina e da quitosana. A quitina foi extraída de acordo com método descrito por SYNOWIECKY; AL-KHATEEB (1997). O processo envolve desproteinização por hidróxido de sódio 2% (p/v), seguida de centrifugação, hidrólise ácida de ácido acético 10% (v/v), para obtenção de quitina e lavagens sucessivas com etanol e acetona para a precipitação dos polissacarídeos. A quitosana foi obtida por deacetilação da quitina. A biomassa lavada, e inativa, a quitina e a quitosana extraída foi testada nas seguintes condições: uma solução de quitina 1% (p/v) foi acrescentada 125 mL de uma solução contendo corante vermelho remazol, em frascos de Erlenmeyer, nas concentrações de 1 mg/L, 10mg/L, 50mg/L, 100mg/L e 1000mg/L, que foram colocados sob agitação a 150 rpm, a 28°C, durante 18 horas.

As amostras, nas condições citadas, foram submetidas à espectrofotometria para determinação da concentração do corante. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A eficiência de remoção foi calculada de acordo com a equação: $q = (C_0 - C_f)/m$, onde C_0 e C_f são as concentrações inicial e final do

corante (mg/L), respectivamente e m a massa da biomassa lavada, inativa, quitina e quitosana (g).

Para estudos ultraestruturais, amostras expostas ao corante foram submetidas ao método de rotina descrito por De SOUZA, 2000, utilizando-se microscopia eletrônica de varredura – JEOL SEM 5600LV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O setor têxtil, no Brasil, gera aproximadamente 1,4 milhão de trabalhadores e um volume de negócios no valor de US\$ 20 bilhões. Contudo, gera impactos ambientais, devido à presença de corantes de difícil remoção em seus efluentes (JAIN et al., 2003; HO et al., 2003).

Apesar de reconhecer a representatividade do setor para o desenvolvimento econômico nacional e regional, verifica-se a necessidade de tecnologias capazes de minimizarem os danos que o setor pode causar para o meio ambiente. Estima-se que, de uma forma geral, 20% dos corantes têxteis utilizados no tingimento dos tecidos sejam descartados em efluentes devido às perdas ocorridas durante o processo (VIEIRA & VOLESKY, 2000; KHALAF, 2008).

Os resultados obtidos para o potencial de remoção dos corante vermelho remazol pela biomassa de *Mucor javanicus* estão apresentados na Figura 01.

Percentual de remoção do vermelho remazol por *Mucor javanicus*.

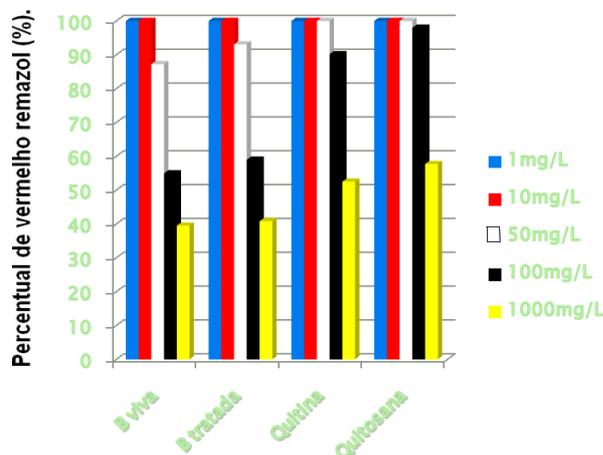


Figura 1. Percentual de remoção do vermelho remazol por biomassa viva, tratada, quitina e quitosana.

Os dados revelam que a biomassa de *Mucor javanicus* é capaz de remover os corantes de solução aquosa. Além disso, o tratamento da biomassa com formaldeído induziu aumento no poder removedor do fungo.

Os ensaios realizados com os polímeros quitina e quitosana, extraídos do fungo, permitem inferir acerca do potencial dos mesmos na remoção dos corantes

testados. Os dados comprovam que a quitosana é mais eficiente na remoção dos compostos.

Entre as inúmeras técnicas de remoção de corante, a adsorção é o processo de escolha e oferece os melhores resultados, uma vez que pode ser usado para remover diferentes tipos de agentes recalcitrantes, incluindo corantes

(WONG et al., 2004; ZUBIETA et al., 2008).

Modificações ultraestruturais também são relatadas como resultado da exposição ao azocorante. Variações na

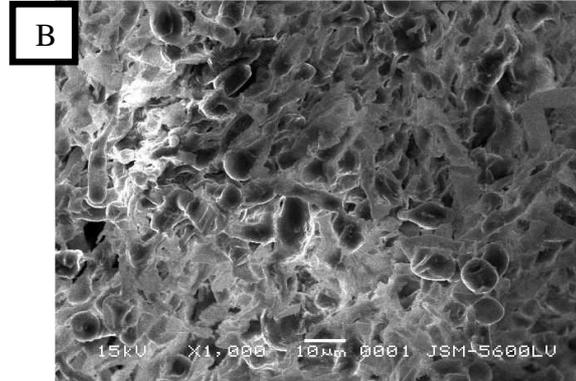
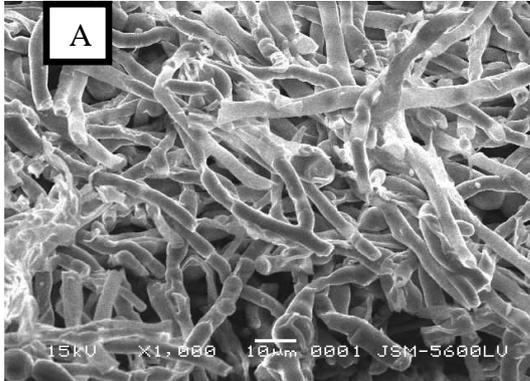


Figura 2. Microscopia Eletrônica de Varredura: A- Biomassa lavada de *Mucor javanicus*; B- Biomassa tratada de *Mucor javanicus* sobre concentração de 1000 mg/L de vermelho remazol.

Após a exposição aos Azocorantes Vermelho remazol, observa-se um aumento na espessura das hifas e também um aumento na eletrodensidade. Observa-se na imagem da biomassa tratada com formaldeído uma maior capacidade de remoção de

corante induzindo maiores espessuras e eletrodensidade nas hifas do que as encontradas em biomassa lavada, levando em consideração o aumento de sítios de ligação após a exposição à inativação do micélio.

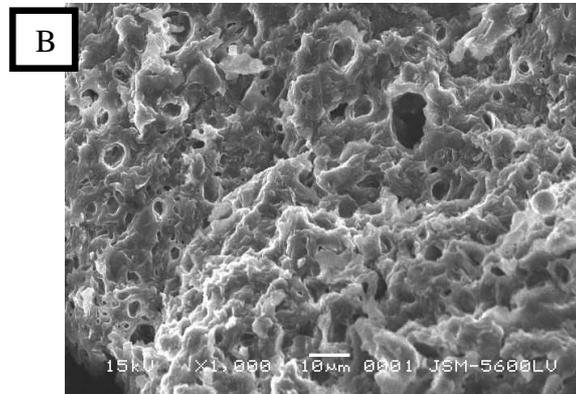
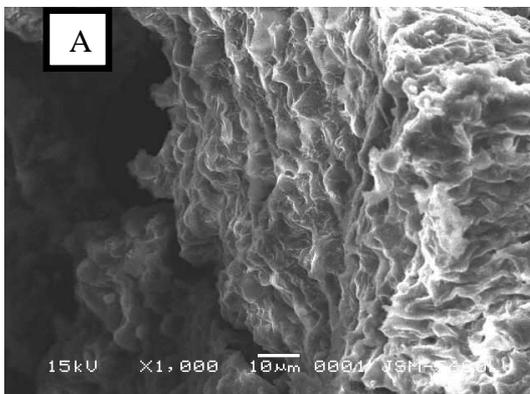


Figura 3. Microscopia Eletrônica de Varredura: A- Quitina de *Mucor javanicus*; B- Quitosana de *Mucor javanicus* sobre concentração de 1000 mg/L de vermelho remazol.

A ausência de material celular e extracelular induz a estes polímeros a uma alta capacidade de remoção sendo apresentado um esqueleto mais eletrodens. A presença de grupos iônicos na quitosana resultou em uma maior remoção comparada à quitina, o que conferiu uma remoção semelhante

nas concentrações testadas do corante vermelho remazol.

CONCLUSÃO

O isolado foi capaz de crescer durante a exposição ao corante testado.

Os ensaios de remoção do corante em solução aquosa demonstrou que o isolado tem potencial, sendo o maior potencial observado para a quitosana em relação a quitina e a biomassa tratada com formol em relação à biomassa lavada.

A análise ultraestrutural revelou variações relativas a exposição ao corante: diferenças na eletrondensidade da superfície celular.

Os dados apresentados revelam que o isolado avaliado foi capaz de remover o corante reativo Vermelho Remazol nas condições testadas.

REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. *Introductory Mycology*. 4ª Ed., John Wiley & Sons, Pub. Co. Inc., London, p. 233, 2001.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochem.* v. 40, p. 997–1026. 2005.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresour. Technol.* v. 97, p. 1061–1085. 2006.

CRINI, G., BADOT, P.-M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature. *Prog. Polym. Sci.* n. 39, p. 399–447. 2008.

DE SOUZA, W. *Manual Sobre Técnicas Básicas em Microscopia Eletrônica*. Rio de Janeiro. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica. 134p. 2000.

FU, Y.Z., VIRARAGHAVAN, T. Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresour.*

Technol. v. 79, p. 251–262. 2001a.

GUPTA, V. K., SUHAS, I. Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. *Journal of Environmental Management*, n. 90, p. 2313–2342. 2009.

KHALAF, M.A. Biosorption of reactive dye from textile wastewater by nonviable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. *Bioresour. Technol.* v. 99, p. 6631–6634. 2008.

KUNZ, A. et al. Novas Tendências no Tratamento de Efluentes Têxteis. *Química Nova*, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.

MCMULLAN, G., MEEHAN, C., CONNEELY, A., KIRBY, N., ROBINSON, T., NIGAM, P., BANAT, I.M., MARCHANT, R., SMYTH, W.E. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v. 56, 81–87. 2001.

STOLZ, A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v. 56, p. 69–80. 2001.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N.A. Production, Properties, and some New Applications of Chitin and Its Derivatives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 43, n. 2, p. 145-171. 2003.

VIEIRA, R. H. S. F. & VOLESKY, B. Biosorption: a solution to pollution? *International Microbiology*, v. 3, p. 17 – 24. 2000.

WONG, Y.C., SZETO, Y.S., CHEUNG, W.H., MCKAY, G. Adsorption of acid dyes on chitosan–equilibrium isotherm analyses. *Process Biochem.* v. 39, p. 695–704. 2004.

ZUBIETA, C.E., MESSINA, P.V., LUENGO, C., DENNEHY, M., PIERONI, O., SCHULZ, P.C. Reactive dyes removal by porous TiO₂–chitosan materials. *J. Hazard. Mater.* v. 152, p. 765-777. 2008.

Apoio Financeiro: CNPq

SAÚDE AMBIENTAL: FERRAMENTA PARA ESTUDAR A SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL

Pereira, I.S.⁽¹⁾; Araújo, A.L.⁽²⁾; Batista-Leite, L.M.A.⁽³⁾
izabelasousa.ufrpe@gmail.com

⁽¹⁾Graduanda Bolsista do Programa de Educação Tutorial-MEC, SESu/SECAD(PET Biologia UAST), da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAST/UFRPE) Fazenda Saco, S/N, Caixa Postal: 063. Zona Rural, Margem Direita da BR-232, Alto Sertão do Pajeú, CEP: 56903-960 Serra Talhada-PE; ⁽²⁾Gerente Municipal do Núcleo de Vigilância em Saúde de Serra Talhada-PE.; ⁽³⁾Professora Adjunto II da UAST/UFRPE.

RESUMO

A Saúde Ambiental é afetada por interações negativas entre os humanos e o ecossistema. Objetivou-se realizar uma revisão de literatura sobre Saúde Ambiental, com intuito de subsidiar projetos e/ou medidas de ações preventivas para a Saúde Pública no Brasil. Foi encontrado, entre os anos de 1984 e 2011, 44 trabalhos. Dentre eles, 26 eram artigos, 10 dissertações, 7 teses e 1 livro, sendo a maioria das publicações das regiões Sul e Sudeste, com 36 publicações entre os anos de 2002 e 2011. Com o estudo realizado pode-se concluir que é necessário se implantar medidas preventivas para minimizar a degradação ambiental, melhorando dessa maneira o bem estar e a qualidade de vida da população, conseqüentemente, a Saúde Pública brasileira.

Palavras chaves: Saúde do ambiente; Saúde da população; Educação.

INTRODUÇÃO

O homem desde o seu surgimento vem alterando o ambiente de acordo com as suas necessidades. Por volta do século XVIII, desde o início da Revolução Industrial, essas mudanças têm sido intensificadas, acarretando em agravos nas condições ambientais.

Os problemas ambientais decorrentes da industrialização e urbanização, como a falta de saneamento básico, a poluição dos mares e rios, a poluição industrial e a ausência de infraestrutura urbana, interferem drasticamente na saúde dos seres humanos (VAZ et al., 2005). De acordo com Ribeiro (2004), esses problemas são comuns no Brasil, devido à falta de planejamento da urbanização

das cidades, levando a ocorrência de diversas patologias, como doenças infectocontagiosas que estão relacionadas à presença de vetores e à contaminação da água e as doenças crônico-degenerativas basicamente, relacionada à poluição ambiental, à má qualidade dos alimentos e ao estresse.

Desta forma, surge a necessidade de estudos voltados à saúde ambiental, definida por Alves (2008), como uma subárea da Saúde Pública que se destina a investigar a interação entre a saúde humana e os fatores ambientais (natural e antrópico) que a determinam, condicionam e influenciam, a fim de contribuir com a melhoria da qualidade de vida do ser humano. As pesquisas nesta área do conhecimento são de

grande relevância científica pelo fato de auxiliarem na busca e no aprimoramento de ações que visem melhorias para a preservação do meio ambiente.

No Brasil, a saúde ambiental é operacionalizada pela Vigilância em Saúde Ambiental que realiza um conjunto de ações que proporcionam o conhecimento e a detecção de mudanças nos fatores determinantes e condicionantes do meio ambiente, que interferem na saúde humana, com a finalidade de identificar as medidas de prevenção e controle dos fatores de risco ambientais relacionados às doenças ou a outros agravos à saúde (BRASIL, 2007).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura sobre Saúde Ambiental, com intuito de subsidiar projetos e/ou medidas de ações preventivas para a Saúde Pública no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

A revisão de literatura foi realizada a partir de material disponível em periódicos nas bases de dados *Scielo* (Scientific Electronic Library Online), Google acadêmico e Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD). Os descritores utilizados na busca de dados foram: saúde ambiental, qualidade de água, doenças veiculadas pelo solo, poluição ambiental e catástrofes.

A coleta de dados foi realizada durante os meses de maio e junho de 2011. A seleção do material bibliográfico foi com base na leitura dos resumos de artigos, dissertações e teses. Foram encontradas contribuições científicas publicadas entre 1984 e 2011 sendo categorizados em três grupos distintos: **Grupo A:** publicações dos anos de 1984 a 1993; **Grupo B:**

publicações dos anos de 1994 a 2002; **Grupo C:** publicações dos anos de 2002 a 2011. A apresentação dos resultados seguirá com o nome do Estado onde a publicação foi realizada, com número de trabalhos publicados com referência ao tema disposto entre parênteses.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos cinco descritores utilizados foram analisados 44 trabalhos, oriundos dos seguintes Estados brasileiros: **A. Região Nordeste-**(Alagoas=1), (Bahia= 1), (Paraíba= 2) e (Rio Grande do Norte= 1); **B. Região Centro-Oeste-**(Distrito Federal= 2) e (Goiás= 1); **C. Região Sudeste -**(Minas Gerais= 1), (Rio de Janeiro= 7) e (São Paulo= 19); **D. Região Sul -**(Santa Catarina= 1), (Paraná= 3) e (Rio Grande do Sul= 5)

Os respectivos trabalhos foram publicados em: artigos (26), dissertação (10), tese (7) e livro (1) e quanto ao ano de publicação: **Grupo A:** 1984-1993 (1); **Grupo B:** 1993-2002 (8); **Grupo C:** 2002-2011 (35). Os estudos retrataram a Saúde Ambiental (13), a qualidade de água (7), doenças veiculadas pelo solo (1), poluição ambiental (20) e catástrofes (3).

Dentre os 13 trabalhos referentes à Saúde Ambiental encontra-se a publicação de Blessmann (2010), ressaltou que incentivos a estudos voltados à Saúde Ambiental se dá em prol da promoção e da proteção à saúde dos cidadãos, cuja expressão material concretiza-se na busca do direito universal à saúde e de um ambiente ecologicamente equilibrado em consonância com os princípios e as diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS), do Sistema Nacional de Meio Ambiente (SISNAMA), do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos (SINGREH) e de

outros afins.

Dessa forma, a Saúde Ambiental em conjunto com outros programas do SUS, como, por exemplo, a Vigilância em Saúde Ambiental, fiscaliza os fatores que promovem a degradação do meio ambiente, visando evitar riscos à saúde humana. A deterioração dos ecossistemas aumenta as chances de surgimento de novas doenças, sendo assim urge a iniciativa de implantação de programas governamentais que propiciem o controle destes riscos, bem como investimentos em programas de educação ambiental.

Segundo Alves (2008), a educação ambiental tem por finalidade promover novas formas de condutas nos indivíduos e respeito ao meio ambiente, cujos objetivos estão direcionados para as questões ambientais em todos os níveis, através da promoção do conhecimento, conscientização, comportamento, habilidades e participação social. A responsabilidade de produzir saúde, não é exclusividade do setor de Saúde. Estudos apontam que os resultados na saúde da população, por meio da melhoria na educação, no transporte, na coleta e no destino dos resíduos, na cultura, no esporte, no lazer e na defesa da qualidade ambiental são muito mais intensos e duradouros do que aqueles propiciados pela prestação de serviços assistenciais (BRASIL, 2007).

A qualidade da água também é um importante fator que deve ser monitorado tendo em vista a cobertura da Saúde Pública. Este controle de qualidade destinada ao consumo humano deve ser realizado desde os sistemas produtores (mananciais, captação e tratamento) aos sistemas de distribuição (reservatório e redes de abastecimentos), que normalmente é realizado pela empresa responsável de saneamento local e monitorada pelas

Secretarias de Saúde Estaduais (D'Aguila, 2000).

Lazzarotto (2005) afirmou que a má qualidade da água consumida pela população está estritamente relacionada com a atuação da vigilância epidemiológica que se destina a estudar à incidência e prevalência das doenças e do impacto das medidas de monitoramento e controle utilizadas, bem como a inter-relação com as ações de saneamento, visando o controle ou a eliminação dos riscos.

Meneses (1993) relatou que quando se tem um bom abastecimento de água esimultaneamente há um direcionamento adequado dos dejetos, maximiza o combate as endemias mais frequentes como: esquistossomose, verminose, shigueloses, febre tifóide, entre outras.

Conforme Charriere et al. (1994) e Kramer et al. (1996), os riscos à saúde relacionados com os recursos hídricos podem ser distribuídos em duas categorias principais: **Categoria 1** - Riscos relativos à ingestão de água contaminada por agentes biológicos (vírus, bactérias e parasitas), através de contato direto ou por meio de insetos vetores que necessitam da água em seu ciclo biológico; **Categoria 2** - Riscos derivados de poluentes químicos e efluentes de esgotos industriais. Os principais agentes biológicos descobertos nas águas contaminadas são as bactérias patogênicas, os vírus e os parasitas.

De acordo com D'Aguila (2000), as bactérias patogênicas encontradas na água e alimentos constituem uma das principais fontes de morbidade em nosso meio e são as responsáveis pelos numerosos casos de enterites, diarreias infantis e doenças epidêmicas (como a febre tifóide), com resultados frequentemente letais. Os vírus comumente encontrados nas águas contaminadas por dejetos humanos são

os da poliomielite e da hepatite infecciosa. O parasita que pode ser ingerido através da água destaca-se o protozoário *Entamoebahistolytica*, causadora da amebíase, encontrado, sobretudo em países quentes e em locais onde existem más condições sanitárias.

Doenças causadas por agentes biológicos ocorrem comumente no Brasil, por ser um país com clima propício a desenvolvimento destes agentes, bem como pela falta de estrutura e fiscalização das cidades, além dos agravantes da escassez de água e alimentos potáveis em algumas regiões do país.

A qualidade da água é um termo que não se restringe à determinação da pureza da mesma, mas às suas características desejadas para os seus diversos usos, portanto para se caracterizar a qualidade da água são utilizados diversos parâmetros, os quais representam as suas características físicas, químicas e biológicas (BILICH et al. 2005). No Brasil, principalmente nas grandes capitais a água a ser consumida pela população passa por um sistema de tratamento onde são avaliadas as suas características, bem como adicionado o cloro. Contudo, após tratamento da água e antes de ser consumida pela população, esta poderá estar contaminada, em virtude da má manutenção da rede de distribuição e dos reservatórios de água.

Os consumidores de forma geral não têm hábito de realizar a manutenção, limpeza e higienização dos reservatórios residências e instalações prediais, e, quando utilizam águas de outras fontes como complemento, não conhecem as limitações e a possibilidade de estar contaminada (D'AGUILA, 2000). Sendo assim, além da necessidade de intensificar a manutenção da qualidade de água e a distribuição de água para população, é importante que haja a implementação de ações educativas que

esclareçam às pessoas como devem ser mantidos os reservatórios de água, e quando a água utilizada não passa por tratamento, se faz necessário informar as possibilidades de desinfecção desta água, para que assim esteja em condições propícias ao consumo.

Com referência a doenças veiculadas pelo solo foi encontrado na publicação de Cassenote et al. (2010), que a concentração de cães e gatos em áreas urbanas, associada a um número cada vez mais crescente da população errantes desses animais, tem um papel epidemiológico importante na contaminação do solo em locais públicos como praças e parques. A disseminação de infecções por variados gêneros de parasitas (nematóides, cestóides e micro-organismos eucariontes) são correntemente descritos como riscos à saúde dos animais, e sob determinadas condições podem ser transmitidos ao homem comprometendo a sua saúde.

Além dos animais, outros fatores representam riscos à saúde humana como a contaminação do solo por agrotóxicos, esgotos despejados em ambientes inadequados, depósitos de lixo domésticos irregulares e escoamento de substâncias químicas tóxicas que podem afetar o sistema gastrointestinal, cutâneo e até mesmo o sistema neurológico. Cassenote et al. (2010) complementa que é necessário desenvolver junto às comunidades, ações centradas em práticas educativas e preventivas, dentre elas: higiene pessoal, saneamento básico e, ainda, implementar de forma rigorosa a legislação que proíbe animais em locais públicos como praias, parques e praças, uma vez que são medidas profiláticas importantes que facilmente podem ser tomadas.

Entre os trabalhos referenciados sobre poluição ambiental, destacou-se os artigos de Braga et al., 2002 e Campos

(2002), que tratam da poluição atmosférica como um dos principais temas de interesse no meio científico. Matsumoto (2001), afirmou que a poluição ambiental é um problema já existente, e não solucionado, nos grandes centros urbanos e que vem se estendendo para outros centros em expansão populacional e industrial.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) em sua Resolução 03/90 de 28/06/1990 definiu poluente atmosférico como sendo qualquer substância presente no ar, que pela sua concentração, possa torná-lo impróprio, nocivo ou prejudicial à saúde da fauna e flora. O nível de poluição do ar, segundo Lyra (2008), é avaliado através da quantidade e do tipo de substâncias poluentes presentes, que dessa forma o tornam nocivo à Saúde Pública, assim como à fauna e à flora.

Atualmente, os efeitos da poluição do ar adversos à saúde humana constituem importante tema de Saúde Pública (TOLEDO, 2010). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2006), dentre os sistemas orgânicos humanos mais estudados em relação à exposição aguda e/ou crônica aos poluentes encontram-se o sistema cardiorrespiratório, o sistema reprodutivo e o sistema nervoso central. Conforme, Maluf (2008), estudos epidemiológicos demonstraram de maneira dramática que níveis elevados de poluição atmosférica estão diretamente associados aos episódios de aumento de morbidade e de mortalidade de origem cardiovascular, carcinogênese, processos alérgicos, doenças infectocontagiosas, doenças endócrinas e, ainda, de mortalidade intrauterina e defeitos congênitos.

Saldiva et al. (1995) ressaltou que em diversos estudos realizados comprovou-se a existência de uma forte associação entre a alta concentração da morbimortalidade de doenças causadas pela

poluição atmosférica com taxas mais elevadas entre os grupos de crianças e idosos. Zanchi (2010) ainda afirmou a existência de um novo grupo que sobressai com índices de altos casos, que é a mulher em estado gestacional, pois a exposição materna aos poluentes pode afetar o desenvolvimento fetal tanto em seres humanos como também entre os animais.

Os poluentes podem ser liberados à atmosfera de duas maneiras: de forma natural (pelos processos biológicos e erupções vulcânicas) e de forma antropogênica (através dos carros e dos dejetos industriais), esta última apresenta uma visão mais ofensiva ao meio ambiente e a saúde humana. Sendo assim, devido a esses fatores e pelos vários efeitos adversos à saúde pública é necessário que haja estímulos a atividades de conscientização da população, bem como um aumento na inspeção do governo e determinação de leis que proíbam e punam o excesso de poluentes liberados para a atmosfera, em virtude da poluição ambiental ser considerada como uma importante causa de patologias. Todavia, não deve ignorar a poluição do solo e das águas, são contribuintes da morbidade e mortalidade dos seres humanos e de diversos animais, bem como ocasionam propiciam mudanças climáticas abruptas e escassez de recursos, tendo como consequência o desequilíbrio dos ecossistemas que afetará a vida mundialmente.

Dentre os trabalhos relacionados aos catástrofes destacou-se a publicação de Marino (2008), onde afirmou que os principais fenômenos relacionados a desastres naturais em território brasileiro são os deslizamentos de encostas e as inundações, que estão associados a eventos pluviométricos intensos e prolongados, repetindo-se a cada período chuvoso mais severo. Mas ainda, não menos importante, destaca-se

os fenômenos como a seca e os incêndios florestais (BID, 2000).

As catástrofes naturais têm sido a causa de frequentes problemas que afetam a saúde das populações, bem como representam obstáculos sérios ao desenvolvimento das comunidades atingidas, à medida que se consomem ponderáveis recursos financeiros para a reparação dos danos sofridos (GUIMARÃES, 1984). O principal efeito negativo que esses desastres podem causar à Saúde Pública é a proliferação de doenças infectocontagiosas como a leptospirose e a cólera, entretanto, podem ocorrer de forma mais contundente a desestruturação psicológica das pessoas residentes em áreas afetadas, além da escassez de alimentos saudáveis.

Conforme dados do EM-DAT (2007), ocorreram 150 registros de desastres no período de 1900 a 2006, do total ocorrido, 84% foram computados a partir dos anos da década de 70, demonstrando um aumento considerável de desastres nas últimas décadas, e como consequência foram contabilizados 8.183 vítimas fatais e um prejuízo de aproximadamente 10 bilhões de dólares. As inundações são os processos que produzem as maiores perdas econômicas e os impactos mais significativos na Saúde Pública, entretanto os deslizamentos de terras geram maior número de vítimas fatais (MARINO, 2008).

Devido ao alto número de vítimas e ao crescente aumento deste número com o passar dos anos, é notória a necessidade de medidas que transformem esses dados. O primeiro passo seria modificar as Políticas Públicas existentes, implantar legislação adequada com fiscalização, melhorar os recursos humanos e financeiros, realizar obras de infraestrutura com incorporação de normas e procedimentos de prevenção e gestão ambiental, criar sistemas de

informação e alerta para população, com ampla abrangência e eficiência, com intuito de preparar a população para que possam agir durante os acontecimentos (CASTRO, 2001).

CONCLUSÃO

A partir da revisão literária realizada neste trabalho é possível afirmar que existe a necessidade de aumentar o número de estudos brasileiros que abordem os fatores que possam afetar a Saúde Ambiental, em todas as regiões brasileiras, principalmente na região Norte do país, onde não houve registro, uma vez que estudos desta natureza podem direcionar a implantação de medidas mitigadoras, além de subsidiar os principais problemas ocorrentes na saúde ambiental.

É importante que as ações sejam de caráter político e legislativo, mas principalmente voltadas para educação em saúde. Assim, a população consciente e com responsabilidade ambiental modificará o panorama atual, e, conseqüentemente diminuirá os riscos adversos à Saúde Pública.

REFERÊNCIAS

ALVES, M. L. **A saúde ambiental e os resíduos de serviços de saúde nos três níveis de complexidade do sistema único de saúde – SUS**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) -Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.

BID (Banco Interamericano de Desenvolvimento). **Panorama dos desastres naturais na América Latina e Caribe**. Washington, 2000.

BILICH, M. R.; LACERDA, M. P. C. **Avaliação da qualidade da água do Distrito Federal (DF)**, por meio de

geoprocessamento. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 12., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia: INPE, 2005. p.2059-2065.

BLESSMANN, D. S. Saúde ambiental: a articulação entre saúde e ambiente na política de saúde ambiental como estratégia de governo da população. Dissertação (Mestrado em Educação) - Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

BRAGA, B. et al. Introdução à Engenharia Ambiental. 2 ed. São Paulo: Prentice Hall, 2002. 305p.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução 03/90 de 28 de junho de 1990. Brasília: CONAMA, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Subsídios para construção da Política Nacional de Saúde Ambiental. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007. 56p.

CAMPOS, V. H. F. et al. An automatic methodology for estimating eddy diffusivity from experimental data. II Nuovo Cimento, v.23, n.1, p.65-84, 2002.

CASTRO, S. M. Estratégias, políticas e práticas para reduzir o risco de perigos naturais e a vulnerabilidade. Disaster Preparedness Management. San Jose, Costa Rica, 2001.

CASSENOTE, A. J. F. et al. Contaminação do solo por ovos de geohelminths com potencial zoonótico na municipalidade de Fernandópolis, Estado de São Paulo, entre 2007 e 2008. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, v.44, n.3, p.371-374, 2010.

CHARRIERE, G. et al. Assessment of the marker value of various components of the coli-aerogenes group of Enterobacteriaceae and of a selection of Enterococcus spp. For the official monitoring of drinking water supplies. J. Appl. Bacteriol., v.76, n.4, p.336-344, 1994.

D'AGUILA, P. S. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do município de Nova Iguaçu. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.16, n.3, p.791-798, 2000.

EM-DAT (EmergencyEventsDatabase). The OFDA/CRED international disaster database. Disponível em: <<http://www.em-dat.net>>. Acesso em: 2 de março de 2007.

GUIMARÃES, C. Administração sanitária das emergências nas catástrofes naturais. Rev. Saúde Públ., São Paulo, v.18, p.516-518, 1984.

KRAMER, M.H. et al. Waterborne disease: 1993 e 1994, Journal AWWA, p.66-80, 1996.

LAZZAROTTO, E. M. Doenças causadas pela falta de saneamento básico. In: SEMINÁRIO NACIONAL ESTADO E POLÍTICAS SOCIAIS NO BRASIL, 2., 2005, Cascavel. Campus de Cascavel: UNIOESTE, 2005.

LYRA, D. G. P. de. Modelo integrado de gestão da qualidade do ar da região metropolitana de Salvador. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

MALUF, M. Efeitos da exposição crônica à poluição atmosférica particulada sobre o desenvolvimento embrionário pré-implantacional in vitro em camundongos. Tese (Doutorado em

Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MARINO, T. B. Metodologia para tomadas de decisão no âmbito de riscos sócio-ambientais de áreas urbanas: desmoraamentos e enchentes em assentamentos precários na bacia do Córrego Cabuçu de Baixo – SP. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MATSUMOTO, E. Estudo da contaminação ambiental atmosférica e de águas superficiais, empregando a fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF) e reflexão total (TXRF). Tese (Doutorado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

MENESES, M. Em busca da teoria política de assistência pública. Rio de Janeiro: Editora Cortez, 1993. 142 p.

OMS (Organização Mundial da Saúde). Air qualityguidelines: global update. Bonn: OMS, 2005.

RIBEIRO, H. Saúde Pública e Meio Ambiente: evolução do conhecimento e da prática, alguns aspectos éticos. Saúde e Sociedade, São Paulo, v.13, n.1, p.70-80, 2004.

SALDIVA, P. H. et al. Air pollution and mortality in elderly people: a time-series study in São Paulo, Brazil. Arch. Environ. Health, v.50, n.2, p.159-163, 1995.

TOLEDO, G. I. F. M. Avaliação da exposição à poluição relacionada ao tráfego na cidade de São Paulo. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

VAZ, M. R. C. et al. Saber ambiental: instrumento interdisciplinar para a produção de saúde. Texto Contexto Enfermagem, Santa Catarina, v.14, n.3, p.391-397, 2005.

ZANCHI, A. C. T. Estudo das alterações no desenvolvimento, no comportamento e na bioquímica cerebral de ratos machos adultos expostos à poluição atmosférica ambiental durante a fase intra-uterina e o período de lactação. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo

SELEÇÃO DE ESPÉCIES DE *PENICILLIUM* ISOLADAS DE SOLO PRODUTORAS DE PROTEASE

Silva, D.C.V.⁽¹⁾; Lopes, D.H.G.⁽¹⁾; Araújo, G.R.⁽¹⁾; Bezerra, J.D.P.⁽¹⁾; Svedese,
V.M.⁽¹⁾; Paiva, L.M.⁽¹⁾; Moreira, K.A.⁽²⁾; Souza-Motta, C.M.⁽¹⁾

dy_carol@hotmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco. (FACEPE); ⁽²⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Unidade Acadêmica de Garanhuns.

RESUMO

O conhecimento da micobiota do solo pode levar ao descobrimento de processos metabólicos utilizados por organismos que poderão ser importantes para interações ambientais e em aplicações biotecnológicas. Os fungos são produtores de uma diversidade de enzimas extracelulares que podem ter aplicação em diversos processos nas indústrias. Entre os fungos citados, espécies de *Penicillium* se destacam por serem amplamente conhecidas pelas características e quantidade de enzimas de interesse industrial produzidas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a produção de protease por espécies de *Penicillium*. As espécies *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune*, *Penicillium purpurogenum* e *Penicillium verruculosum* identificadas, foram transferidas para o centro da placa de Petri contendo o meio de caseína e foram incubadas a 28°C ± 1°C por sete dias, após este período foram visualizados os halos de degradação. Para obtenção dos índices enzimáticos, foi utilizado o Índice de Relação Enzimática (IRE = D/d), em que D equivale ao diâmetro total (halo + colônia) e d equivale ao diâmetro da colônia. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que as espécies *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium commune* os melhores IRE, sendo indicadas para estudos de produção em meio líquido para serem aplicadas em processos biotecnológicos.

Palavras-chave: Fungos; Caseína; Atividade Proteolítica.

INTRODUÇÃO

O solo é um recurso natural essencial para o funcionamento do ecossistema terrestre, e representa um balanço entre os fatores físicos, químicos e biológicos. (PEREIRA et al., 2007). O aporte de matéria orgânica, pH e a umidade são considerados os elementos principais para a formação das comunidades fúngicas do solo que podem variar de 10⁴ a 10⁶ organismos por grama de solo (BRANDÃO, 1992). O conhecimento da micobiota do solo, além de fundamental para o levantamento taxonômico das populações que ali se encontram, pode

levar ao descobrimento de processos metabólicos utilizados por estes organismos que poderão ser importantes para as interações ambientais e em aplicações biotecnológicas (RUEGGER; TAUKE-TORNISIELO 2004).

Os microrganismos são bons produtores de diversas substâncias, sendo bastante utilizados como fontes de enzimas comerciais, devido à sua propriedades fisiológicas e bioquímicas, e pela facilidade de cultivo e manipulação (RODARTE et al., 2011)

Os fungos são produtores de uma diversidade de enzimas extracelulares que podem ter aplicação em diversos

processos nas indústrias. Entre os fungos citados, as espécies de *Penicillium* se destacam por serem amplamente conhecidas pelas características e quantidade de enzimas de interesse industrial produzidas, além de antibióticos e outras substâncias.

As enzimas produzidas por fungos são amplamente utilizadas nas indústrias alimentícias (celulase, protease, amilase), têxteis (amilase e celulase), de couro (protease), de detergentes (protease, celulase e amilase), farmacêuticas, de fermentação e de papel (RUEGGER; TAUK-TORNISIELO, 2004; ALVES et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2006).

Entre as enzimas citadas estão proteases que são enzimas capazes de hidrolisar a ligação peptídica em uma molécula de proteína. São importantes para a indústria, e constituem 60% do mercado total de enzimas industriais. Esta é usada para o processamento de alimentos, produtos farmacêuticos, de couro, tratamentos de resíduos industriais e aditivo detergentes (GERMANO et al., 2003; RODARTE et al., 2011).

Proteases fúngicas têm frequentemente substituídas por outras fontes de enzimas, porque elas são facilmente obtidas, principalmente a partir de espécies de *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* e *Penicillium* (SAMPAIO E SILVA et al., 2011)

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a produção de protease por espécies de *Penicillium* isoladas de solo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do solo

A coleta das amostras de solo foi realizada no município de Toritama-PE. As amostras de solo foram coletadas a 20 cm de profundidade, em três pontos aleatórios, constituindo-se uma amostra.

Isolamento dos fungos

Para obtenção das colônias fúngicas foi realizada a técnica de suspensão sucessiva de acordo com Clark (1965), em que 25 g de amostra de solo foram homogeneizadas em 225 mL de água destilada esterilizada. As diluições (10^{-2} e 10^{-3}) foram plaqueadas em Ágar Sabouraud, acrescido de cloranfenicol (100 mg.L^{-1}) (LACAZ et al., 1991) e as placas foram incubadas a 28°C , durante cinco dias. As colônias fúngicas distintas (características macroscópicas) foram purificadas através da técnica de esgotamento por estrias (RIBEIRO; SOARES, 2002) em Ágar Sabouraud adicionado de cloranfenicol (100 mg.L^{-1}) e incubadas a 28°C durante três dias.

Identificação dos fungos

Após a purificação, as amostras foram transferidas para meios específicos (Ágar Czapeck e Ágar Malte) contidos em tubos de ensaio (18 x 180 mm) para identificação ao nível de espécie observando as características macroscópicas (textura, coloração e diâmetro das colônias) e microscópicas (microestruturas), com base na literatura especializada para identificação de *Penicillium* (DOMSCH et al., 1993; PITT, 1988, 1991; SAMSON; FRISVAD, 2004).

Índice enzimático dos fungos

Fragmentos de cada cultura fúngica com sete dias de crescimento em Ágar Extrato de Malte foram transferidos para o centro da placa de Petri contendo o meio de caseína (LACAZ et al., 1991) e as culturas foram incubadas a $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por sete dias. Após este período, foi adicionada às placas a solução acidificada de cloreto de mercúrio para visualização do halo de degradação. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Para obtenção dos índices enzimáticos, foi utilizado o Índice de Relação Enzimática ($\text{IRE} = D/d$), em que D

equivale ao diâmetro total (halo + colônia) e d equivale ao diâmetro da colônia (TIAGO; SILVA, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas quatro espécies de *Penicillium* (Tabela 1). As espécies identificadas foram *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune*, *Penicillium purpurogenum* e *Penicillium verruculosum*. Resultados semelhantes foram observados por Cavalcanti et al. (2006), que isolaram e identificaram fungos de solo de caatinga na região Xingó.

Das espécies de *Penicillium* testadas, todas apresentaram capacidade de degradar a caseína, que foi observada através da visualização do halo de degradação (Figura 1). Atividade proteolítica foi observada para os gêneros *Acremonium*, *Fusarium* e *Penicillium*, fungos endofíticos de *Annona* spp (SILVA et al., 2006).

Quanto ao índice de relação enzimática (IRE) das espécies testadas, *Penicillium chrysogenum* e *Penicillium commune* apresentaram maior capacidade de degradar a caseína, com índices de relação enzimática semelhantes (IRE=1,47) (Tabela 1). Rodarte et al. (2011) verificaram, em meio sólido, a atividade proteolítica de espécies *Penicillium*, entre estas *Penicillium chrysogenum*, isoladas a partir de frutos de café (*Coffea arabica* L.). Chrzanowska et al. (1993) e constataram que *Penicillium chrysogenum* foi um dos melhores produtores de protease entre varias espécies de *Penicillium* testadas.

Chrzanowska et al., (1995) em estudos sobre as características e purificação de protease produzida por *Penicillium camemberti* observou que a enzima produzida apresentava qualidade comparada à protease produzida por *Penicillium janthinellum*.

Nas espécies *Penicillium verruculosum* e *Penicillium purpurogenum* também foi observada a capacidade de degradar a caseína com índice de relação enzimática, respectivamente (IRE=1,28 e IRE=1,20) (Tabela 1).

Germano et al., (2003) analisaram a produção de protease por *Penicillium* sp. através da fermentação em estado sólido, e observaram uma boa produção desta enzima sugerindo a possibilidade de utilização desta metodologia para a produção de protease, já que o substrato é de baixo custo, viabilizando a produção em escala industrial.

Tabela 1: Índice de Relação Enzimática (IRE) para protease de espécies de *Penicillium*.

Espécies	IRE
<i>Penicillium chrysogenum</i>	1,47
<i>Penicillium commune</i>	1,47
<i>Penicillium purpurogenum</i>	1,20
<i>Penicillium verruculosum</i>	1,28

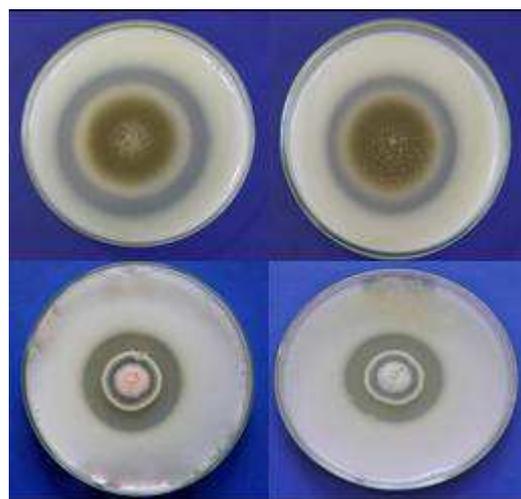


Figura 1: Halo de degradação da caseína das espécies de *Penicillium*.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que as espécies de *Penicillium* apresentaram atividade proteolítica. Os fungos isolados de solo do município de Toritama-PE apresentaram bons índices enzimáticos para protease, e entre estes as espécies que se destacaram foram *P. chrysogenum* e *P. commune* sendo estas indicadas para estudos de produção em meio líquido para serem aplicadas em processos biotecnológicos.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M.H.; CAMPOS-TAKAKI, G.M.; PORTO, A.L.F.; MILANEZ, A.I. Screening of *Mucor* spp. for the production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease. Brazilian Journal of Microbiology, v. 33, p. 325-330, 2002.
- BRANDÃO, M.E. Os componentes da comunidade microbiana do solo. In: CARDOSO, E.J.B.N.; TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P Microbiologia do solo. 1. ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 1-15.
- CAVALCANTI, M.A.Q.; OLIVEIRA, L.G.; FERNANDES, M.J.; LIMA, D.M. Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 20, p. 831-837, 2006.
- CHRZANOWSKA, J.; KOLACZKOWSKA, M.; POLANOWSKI, A. Production of exocellular proteolytic enzymes by various species of *Penicillium*. Enzyme and Microbial Technology, v. 15, p. 140-143, 1993.
- CHRZANOWSKA, J.; KOLACZKOWSKA, M.; DRYJARISKI, M.; STACHOWIAK, D.; POLANOWSKI, A. Aspartic proteinase from *Penicillium camemberti*: Purification, properties, and substrate specificity. Enzyme and Microbial Technology, v. 17, p.719-724, 1995.
- CLARK, F.E. Agar-pl ate method for total microbial count. In: BLANC, C.A.; EVANS, D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER L.E.; CLARK, F.E.; DINAUER, R.C Methods of soil analysis: Chemical and microbiological properties. New York: Madson Inc, 1965. p. 1460-1466.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. Compendium of soil fungi. San Francisco: IHW Verlag, 1993, 859p.
- GERMANO, S.; PANDEY, A.; OSAKU, C. A.; ROCHA, S. N.; SOCCOL, C. R. Characterization and stability of proteases from *Penicillium* sp. produced by solid-state fermentation. Enzyme and Microbial Technology, 32, p. 246-251, 2003.
- GUIMARÃES, L.H.S.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S.C.; MICHELIN, M., RIZZATTI, A.C.S.; SANDRIM, V.C.; ZANOELO, F.F.,; AQUINO, A.C.M.M.; JUNIOR, A.B.; POLIZELI, M.L.T.M. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. Brazilian Journal of Microbiology, v. 37, p. 474-480, 2006.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. São Paulo: Savier, 1991.
- PEREIRA, A.A.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; KASCHUK, G.; CHUEIRE, L.M.O.; CAMPO, R.J.; TORRES, E. Variações qualitativas e quantitativas na microbiota do solo e na

fixação biológica do nitrogênio sob diferentes manejos com soja. Revista Brasileira de Ciências do Solo, v. 31, p. 1397 – 1412, 2007.

PITT, J.I. A laboratory guide to common *Penicillium* species. North Ryde: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1988.

PITT, J.I. A laboratory guide to Common *Penicillium* Species. North Wales: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1991.

RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. Microbiologia prática: roteiro e manual. São Paulo: Atheneu, 2002.

RODARTE, M. P.; DIAS D. R.; VILELA, D. M.; SCHWAN, R. F. Proteolytic activities of bacteria, yeasts and filamentous fungi isolated from coffee fruit (*Coffea arabica* L.). Acta Scientiarum. Agronomy, v. 33, p. 457-464, 2011.

RUEGGER, M.J.S. & TAUKTORNISIELO, S.M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Botânica, v. 27, p. 205-211, 2004.

SAMPAIO E SILVA, T. A.; KNOB, A.; TREMACOLDI, C. R.; BROCHETTO-BRAGA, M. R.; CARMONA, E. C. Purification and some properties of an extracellular acid protease from *Aspergillus clavatus*. World J. Microbiol. Biotechnol., v. 27, p. 2491–2497, 2011.

SAMSON, R.A.; FRISVAD, J.C. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: new

SELEÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS PARA PRODUÇÃO DE LIPASES POR CULTURAS DE *GEOTRICHUM*

Farias, C.M.M.⁽¹⁾; Souza, M.⁽¹⁾; Souza-Motta, C.M.⁽¹⁾; Magalhães, O.M.C.⁽¹⁾
cyndy_mary@yahoo.com.br

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco, CNPq

RESUMO

Espécies de *Geotrichum* vem sendo objeto de estudos devido a sua capacidade de produzir lipases, aumentando assim sua aplicabilidade em escala industrial. Os objetivos deste trabalho foram analisar culturas de *Geotrichum* preservadas sob óleo mineral quanto caracterização e produção de lipases utilizando óleos vegetais como substratos. Foram realizadas a reativação das culturas e a observação das características morfofisiológicas. A atividade lipásica foi realizada utilizando Tween 20 como substrato e em fermentação por cultura submersa óleo de oliva, mamona, pequi, andiroba, dendê, usado de cozinha, girassol, gergelim, copaíba e hortelã como fontes de carbono. Das 18 culturas preservadas sob óleo mineral, 14 permanecerem viáveis. No “screening” em meio sólido apenas a cultura de *G. candidum* URM3135 foi capaz de apresentar halo de degradação de 3,2 mm, entretanto em fermentação submersa com os óleos testados todas as culturas produziram lipases com atividades que variaram de 2,78

a 16,93 U/mL após 96 horas de fermentação, sendo destacado *Geotrichum candidum* URM886. Conclui-se que as culturas de *Geotrichum* estocadas na Micoteca URM são capazes de manter as características morfofisiológicas e a capacidade de produzir lipases, destacando-se *G. candidum* URM 886 uma espécie promissora para produção de lipases com perspectiva de aplicação em escala industrial.

Palavras-chave: *Geotrichum*; Óleo Mineral; Lipases.

INTRODUÇÃO

Geotrichum é uma “levedura artrosporada” ou “fungo leveduriforme”, descrito em 1809 por Link, sendo as espécies isoladas de vários habitats, tais como solo, gramíneas, silagem, plantas, frutas, alimentos para animais, insetos, homem e outros mamíferos (Barnett *et al.*, 1990). Espécies de *Geotrichum* têm sido o objeto de estudos bioquímicos e fisiológicos devido ao potencial biotecnológico, pela capacidade de produzir lipases específicas para ácidos graxos insaturados (Hasan *et al.*, 2006). A importância desses microrganismos na produção de lipases é devida à produção de enzimas extracelulares, tornando fácil a recuperação no caldo ou resíduo fermentado, facilitando o processo de produção e processamento (Alonso, 2001; Said e Pietro, 2004).

Dentre as enzimas, as lipases têm alto interesse biotecnológico, e são aplicadas em escala industrial, na produção de alimentos, detergentes, cosméticos e farmacêuticos (Jaeger e Reetz, 1998) e representam um mercado com grande potencial de crescimento (Mladenoska e Dimitrovski, 2001; Burkert *et al.*, 2004).

Lipases são classificadas como hidrolíticas, glicerol éster hidrolases (E.C.3.1.1.3), que atuam sobre ligações éster-carboxílicos presentes em acilglicéris, liberando diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos e glicerol. Estas enzimas são encontradas

na natureza, a partir de tecidos animais, vegetais e de microrganismos, atuando sobre as ligações éster – carboxílicos presentes em acilglicéris, liberando diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos e glicerol, constituindo uma classe especial de esterases (Jaeger e Reetz, 1998; Pandey *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2003).

O uso de enzimas produzidas a partir desses microrganismos nas indústrias permite o desenvolvimento de processos tecnológicos muito próximos aos eficientes processos tecnológicos executados pela natureza. Tradicionalmente, as lipases eram extraídas do pâncreas de animais, porém devido às dificuldades de acesso ao material de origem animal houve aumento no interesse por lipases microbianas, especialmente as produzidas por fungos (Hasan *et al.*, 2006).

As lipases vêm conquistando uma faixa crescente do mercado de enzimas industriais, pois são amplamente utilizadas nas indústrias de alimentos para modificação do sabor (Saxena *et al.*, 1999; Alonso, 2001; Hasan, 2006), farmacêutica, para digestão de óleos e gorduras nos alimentos (Tamalampudi *et al.*, 2008), detergentes para hidrólise de gorduras (Castro *et al.*, 2004), tratamento residuais para remoção de substâncias oleosas (Maldonado, 2006), medicina para determinação de triglicerídeos no sangue (Teixeira, 2001) e no setor de combustíveis para síntese de ésteres e transesterificação do

óleo para a produção de biodiesel (Pereira, 2004).

Alguns microrganismos produzem baixa quantidade de enzimas dificultando sua aplicação industrial, porém, na maioria dos casos, adotando-se métodos simples como a utilização de um meio de cultura específico e otimizado, ou seja, modificando a composição do meio (fonte de carbono, fonte de nitrogênio, sais e indutores). O desenvolvimento de pesquisas com o uso de substratos de baixo custo para obtenção de enzimas tem sido uma alternativa para reduzir os custos de produção (Bocchini *et al.*, 2005).

Considerando os estudos com espécies de *Geotrichum* e principalmente a importância desses como produtores de lipases, objetivou-se analisar culturas de *Geotrichum* preservadas sob óleo mineral quanto a viabilidade do método de armazenamento, caracterização lipásica, produção de lipases e caracterização bioquímica dessas enzimas utilizando substratos de baixo valor comercial.

MATERIAL E MÉTODOS

Culturas de *Geotrichum*

Foram utilizadas 18 culturas de *Geotrichum*, mantidas e fornecidas pela Micoteca URM, do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Culturas preservadas sob óleo mineral

Método proposto por SHERF (1943), consiste em recobrir culturas jovens cultivadas em meios de cultura específicos para desenvolvimento do fungo a ser preservado, contido em tubo de ensaio, com uma camada de 1 cm de altura de óleo mineral. A manutenção pode ser à temperatura ambiente ou de acordo com a necessidade do fungo, sendo os tubos mantidos

permanentemente na posição vertical para que o óleo não toque nos tampões de algodão (Smith; Onions, 1994).

Para reativação, fragmento da cultura foi transferido para caldo glicosado, incubados a 28°C. Após cinco dias de crescimento, as culturas foram repicadas para Ágar Batata Dextrose (BDA) contido em tubo de ensaio para verificar a viabilidade e pureza.

Condições de crescimento para caracterização lipásica

Para caracterização lipásica, fragmentos de culturas de *Geotrichum* foram inoculados no centro da placa de Petri contendo BDA. Após sete dias de crescimento foi retirado um disco de 5 mm de diâmetro, sendo o mesmo inoculado no centro da placa de Petri contendo meio específico para detecção lipásica.

Screening de lipases em meio sólido

Para determinação da capacidade lipolítica, discos de micélio com 5 mm foram transferidos para o centro da placa de Petri contendo 10g peptona, 5g cloreto de sódio, 2g cloreto de cálcio, 20g ágar e 10mL de Tween 20, ajustado o pH para 7,4, proposto por Sierra (1957) em triplicata.

As culturas foram incubadas em BOD (Biochemical Oxygen Demand) (TECNAL TE424) a 37°C e 28°C, observadas durante 24, 48, 72 e 96 horas, evidenciando-se um halo claro em torno das colônias indicativo de atividade lipolítica. O Índice Enzimático (IE) foi expresso pela média aritmética da relação entre o diâmetro do halo e o diâmetro do crescimento da colônia segundo Hankin *et al.* (1971) e Hankin e Anagnostakis (1975).

Screening de lipases por cultura submersa

A fermentação submersa foi realizada em 50 mL do meio contendo 1% (v/v) de óleo de oliva adicionado de 0,5 %

(p/v) extrato de levedura, pH inicial 6,0 a 6,5 contidos em Erlenmeyers de 250 mL inoculados com discos de micélio de 5mm de diâmetro. Para a fermentação, os Erlenmeyers foram incubados por 96 horas a temperatura de 28°C, em duplicata. Após fermentação, as amostras foram filtradas e o sobrenadante utilizado para dosagem da atividade lipásica segundo o método titulométrico de acordo com a equação determinada por Watanabe (1977).

Para verificar e selecionar o melhor óleo vegetal para produção de lipases, o óleo de oliva foi substituído na mesma proporção pelos seguintes óleos vegetais, mamona, copaíba, piqui, girassol, andiroba, gergelim, dendê, hortelã e óleo de cozinha usado. O experimento foi conduzido nas mesmas condições da metodologia original.

Atividade lipolítica em cultura submersa

Foram utilizados óleos de oliva, mamona, copaíba, piqui, girassol, andiroba, gergelim, dendê, hortelã e óleo de cozinha usado (10% m/v) como substratos para dosagem da enzima, os quais foram emulsionados por três minutos com goma arábica (5% p/v) em água destilada. A 5 mL desta emulsão foi adicionado 1 mL do extrato enzimático bruto, incubado por 1 hora a 37°C, posteriormente titulados com uma solução de NaOH (0,05 M) segundo Watanabe *et al.* (1977). A dosagem da atividade foi realizada utilizando fenolfitaleína como indicador e a média aritmética dos valores foi utilizada para determinação do cálculo da atividade enzimática.

Uma unidade de atividade lipásica foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ácido graxo por minuto nas condições descritas acima que pode ser determinada através da equação segundo Leal (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Reativação e autenticação taxonômica das culturas

Os resultados da viabilidade e da autenticação taxonômica das culturas de *Geotrichum* preservadas sob óleo mineral na Coleção de Culturas Micoteca URM durante o período de 1954 a 2006 estão na Tabela 1. Das 18 culturas de *Geotrichum*, mantidas e fornecidas pela Micoteca URM, 77,77% mantiveram suas características macroscópicas como aspecto variando de algodonosa para rugosa, de cor branca, sendo observados filamentos micelianos hialinos septados e artrosporados e fisiológicas com a assimilação de dextrose, galactose e xilose como fontes de carbono e sulfato de amônio como fonte de nitrogênio, de acordo com BARNETT *et al.* (2000), confirmando as características taxonômicas das 14 culturas viáveis.

O método de preservação sob óleo mineral, mesmo com quatro amostras inviáveis (URM3910, URM4783, URM4361 e URM4118), apresentou-se adequado para a manutenção de culturas de *Geotrichum* uma vez que manteve a viabilidade das mesmas, com estabilidades das características morfofisiológicas após estocagem por até 54 anos, estando esses dados corroborados por FIGUEIREDO (2001) e NAKASONE *et al.* (2004).

Screening de lipases em meio sólido

Das 14 culturas testadas quanto a capacidade lipolítica, nenhuma apresentou detecção lipásica a temperatura de 28°C, porém, apenas *Geotrichum candidum* URM3135 isolado de solo marinho foi evidenciado a formação do halo opaco de degradação com 3,2 mm de diâmetro ao redor da colônia a 37°C.

De acordo com Leite (2009), dos 10 grupos de fungos isolados, apenas a amostra do gênero *Penicillium* sp. (FL-7) mostrou resultado negativo à temperatura de 28°C. Na temperatura de 35°C, verificou-se detecção lipolítica em todas as culturas testadas, com destaque para *Monotospora* sp. (FL-2) e *Chrysosporium* sp. apresentando valores de 10 mm de diâmetro de halo.

Screening de lipases por cultura submersa

Os óleos vegetais, oliva, mamona, copaíba, piqui, girassol, andiroba, gergelim, dendê, hortelã e óleo de cozinha usado, utilizados para a fermentação, mostraram-se bons como substratos para a produção de lipases pelos isolados testados com Atividade Lipolítica (AL) variando de 2,78 a 16,93 U/mL após 96 horas de fermentação (Tabela 2).

Alguns isolados se destacaram em todos os substratos analisados. Nos 10 substratos, *Geotrichum candidum* URM105 se destacou em sete, *Geotrichum candidum* URM886 em cinco e *Geotrichum versiforme* URM887 em sete substratos diferentes. Os meios que continham os óleos de piqui, andiroba, dendê, cozinha usado e gergelim, demonstraram uma produção da AL superior a 10,00 U/mL por esses mesmos isolados. Porém, o isolado *Geotrichum candidum* URM886 destacou-se por apresentar AL superior aos demais, 15,61 U/ml e 16,93 U/mL em óleos de andiroba e gergelim, respectivamente (Tabela 2).

Macedo *et al.* (1997) testaram a produção de lipases por *Geotrichum* sp. em fermentação em meio submerso composto de farinha de soja e trigo em pó como fontes de carbono. No entanto, os autores obtiveram valores de atividade total de 6,22 U/mL sendo semelhante a dados obtidos nos óleos de mamona (6,25 U/mL), dendê (6,24 U/mL) e hortelã (6,24 U/mL) e inferior

aos dos óleos de piqui (13,98 U/mL), andiroba (15,61 U/mL), Cozinha usado (13,53 U/mL), gergelim (16,93 U/mL), por exemplo.

Mladenoska e Dimitrovski (2001) obtiveram atividade lipolítica máxima por *G. candidum*-M2 de 0,45 U/mL após 48h de fermentação e Carvalho *et al.* (2005) obtiveram com cultura de *G. candidum* uma atividade total de 12,8 U/mL, após fermentação em meio submerso composto de óleo de oliva como fonte de carbono. Estes valores são menores aos obtidos neste trabalho para atividade lipolítica total com óleo de andiroba e gergelim.

Os valores obtidos, 15,61 U/mL e 16,93 U/mL, com o isolado *Geotrichum candidum* URM886 nos substratos contendo óleos de andiroba e gergelim, respectivamente, foram maiores que o encontrado por Burket *et al.* (2002) que avaliaram a produção de lipases por *G. candidum* NRRL-Y 552 em óleo de soja obtendo 11,51 U/mL em 48 horas de fermentação.

Segundo Sandoval e Marty (2007), ensaios em placa de Petri são mais sensíveis e permitem que seja realizada uma dosagem quantitativa e direta, mesmo que haja uma baixa quantidade de lipases. Contudo, os resultados obtidos no screening em meio sólido nesse estudo, demonstram que este método não é o ensaio mais indicado para seleção de culturas produtoras ou não de lipases tendo em vista que todas as culturas são produtoras de lipases confirmadas no screening em cultura submersa.

Tabela 1. Viabilidade e autentificação taxonômica de espécies de *Geotrichum* preservadas sob óleo mineral na Coleção de Culturas - Micoteca URM.

Registro URM	Espécie	Ano de estoque	Substrato / Hospedeiro	Viabilidade	Autentificação taxonômica
1104	<i>Geotrichum asteroides</i>	1958	Não informado	+	Confirmada
105	<i>G. candidum</i>	1954	Não informado	+	Confirmada
129	<i>G. candidum</i>	1954	Não informado	+	Confirmada
348	<i>G. candidum</i>	1955	Gualça de peixe	+	Confirmada
490	<i>G. candidum</i>	1956	Não informado	+	Confirmada
3910	<i>G. candidum</i>	1997	Solo da margem de rio Capibaribe	-	Não realizada
4783	<i>G. candidum</i>	2004	Massa de mandioca	-	Não realizada
4361	<i>G. candidum</i>	2001	Solo de cultivo de mandioca	-	Não realizada
4442	<i>G. candidum</i>	2000	Solo de praia	+	Confirmada
886	<i>G. candidum</i>	1957	Excremento	+	Confirmada
4118	<i>G. candidum</i>	1999	Tomate (pós - colheita)	-	Não realizada
972	<i>G. candidum</i>	1957	Excremento	+	Confirmada
2444	<i>G. candidum</i>	1978	Folheto	+	Confirmada
3135	<i>G. candidum</i>	1989	Solo marinho	+	Confirmada
5205	<i>G. candidum</i>	2006	Cavidade Oral de Sagüi	+	Confirmada
4673	<i>G. candidum</i>	2003	Leite de vaca	+	Confirmada
618	<i>G. pulmonale</i>	1955	Não informado	+	Confirmada
887	<i>G. versiforme</i>	1957	Excremento	+	Confirmada

+ = Viável / - = Inviável

Tabela 2. Atividade lipolíticas total (U/mL) produzidas por culturas de *Geotrichum*, utilizando como substratos óleos vegetais.

Óleos Vegetais	Atividade Lipolítica Total													
	<i>G. asteroides</i>	<i>G. candidum</i>											<i>G. pulmonale</i>	<i>G. versiforme</i>
		1104*	4673*	3135*	5205*	129*	972*	105*	2444*	348*	490*	886*		
Oliva	4,51	3,15	3,15	3,15	2,78	3,15	3,4	3,15	4,17	3,82	5,55	3,15	3,4	4,17
Mamona	3,81	5,55	4,51	6,25	5,9	5,55	6,25	5,55	4,51	4,86	4,16	4,86	4,86	6,94
Piqui	7,28	7,98	3,67	3,57	13,98	2,98	12,84	6,59	12,7	6,35	12,94	7,04	6,69	12,94
Andiroba	4,37	7,84	6,35	5,31	14,78	5,5	14,33	7,04	13,98	7,28	15,61	7,49	6,35	14,43
Dendê	4,26	6,24	5,9	4,16	10,75	4,85	13,88	8,19	9,82	4,26	13,39	28	7,84	11,45
C. Usado	5,65	5,9	3,47	3,22	9,57	3,81	13,53	6,00	9,92	6,00	12,00	3,92	8,67	11,1
Girassol	4,84	5,65	3,47	3,81	9,47	2,88	12,35	6,45	9,57	6,00	8,88	5,55	7,04	9,23
Gergelim	3,67	5,41	8,67	3,67	11,66	3,64	13,74	7,49	12,35	7,84	16,93	6,94	9,47	10,16
Copaiba	4,37	5,31	3,67	4,61	8,88	5,2	12,7	6,69	11,21	5,2	8,08	5,41	5,06	10,86
Hortelã	4,61	4,26	3,33	1,54	7,63	2,63	2,63	12,14	4,85	8,08	3,81	10,51	6,24	11,9

* Número de acesso na Micoteca URM (Recife, Pernambuco, Brasil).

CONCLUSÃO

O Longo tempo de estocagem não interfere na produção enzimática de culturas de *Geotrichum* mantidas na Coleção de Culturas - Micoteca URM, pois o isolado *Geotrichum candidum* URM3135 mantida na Coleção de Culturas - Micoteca URM apresentou detecção lipolítica a 37°C.

Em cultura submersa todas as culturas apresentam atividade lipolítica utilizando óleos de oliva, mamona, piqui, andiroba, dendê, usado, gergelim, girassol, copaíba e hortelã. A atividades total das lipases produzidas em óleo de andiroba e de girassol variam de 4,37 a

15,61 U/mL e 3,67 a 16,93, respectivamente, sendo superior ao óleo de oliva (2,78 a 5,55 U/mL), sendo *Geotrichum candidum* URM886 o que apresentou maior atividade lipolítica total de 16,93 U/mL em óleo de girassol, porém, o óleo de andiroba se destacou pois foi o substrato em que teve o maior número de isolados com valor da atividade lipolítica total superior aos demais óleos estudados.

Geotrichum candidum URM886 em substrato andiroba mostrou-se um grande produtor de lipases, mostrando-se uma espécie promissora para ser utilizada em processos biotecnológicos.

REFERÊNCIAS

ALONSO, F. O. M. 2001. Efeito da agitação e aeração na produção de lipases por *Yarrowia lipolytica* (IMUFRJ 50682). Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

BARNETT, J.A., PAYNE, R.W., YARROW, D. 1990. *Yeasts: Characteristics and Identification*. 2ª Ed. Editora Cambridge University Press.

BOCCHINI, D. A. et al. 2005. Use of sugarcane bagasse and grass hydrolysates as carbon sources for xylanase production by *Bacillus circulans* D1 in submerged fermentation. *Process Biochemistry* 40 (12): 3653-3659.

BURKERT, J.F.M., MAUGERI, F., RODRIGUES, M.I. 2004. Optimization of extracellular lipases production by *Geotrichum* sp. using factorial design. *Bioresour. Technol.* 91: 77-84.

CARVALHO, P. O., CAMPOS, P.R.B., D'ADDIO NOFFS, M., OLIVEIRA, J.G., SHIMIZU, M.T., SILVA, D.M. 2003. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. *Química Nova* 26 (1): 75-80.

FIGUEIREDO, M. B. 2001. Métodos de preservação de fungos patogênicos. *Biológico*, São Paulo 63: 73-82.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMMED, A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enz. Micro. Technol.* 39: 51-235.

LEAL, M.C.M.R. 2000. Utilização de enzimas hidrolíticas no tratamento de resíduos da indústria de laticínios. Tese (Doutorado em engenharia química) - Programa de engenharia química da COPRE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

LEITE, M. V. 2009. Fungos filamentosos do lodo de esgoto: impacto na microbiota fúngica e potencial enzimático. Pernambuco. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Pró-reitoria

Acadêmica. Universidade Católica de Pernambuco. (UNICAP).

MACÊDO, G.A., PARK, Y.K., PASTORE, G.M. 1997. Partial purification and characterisation of an extracellular lipase from a newly isolated strain of *Geotrichum* sp. *Revista de Microbiologia* 28: 90-95.

MALDONADO, R. R. 2006. Produção, purificação e caracterização da lipase de *Geotrichum candidum* obtida a partir de meios industriais. Dissertação. Universidade de Campinas.

MLADENOSKA, I., DIMITROVSKI, A. 2001. Lipase production by *Geotrichum candidum*-M2. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia* 20 (1): 39-43.

NAKASONE, K.K.; PETERSON, S.W.; SONG, S.C. 2004. *Maintenance and preservation of cultures*.

PANDAY, A., SOCCOL, C.R., MITCHELL, D. 2000. New developments in solid state fermentation: I bioprocess and products. *Proc. Biochem.* 35: 1153-1169.

PEREIRA, E.B. 2004. Tratamento enzimático para remoção de gorduras dos resíduos gerados por indústrias de produtos avícolas. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

Said, S., Pietro, R.C.L.R. 2004. Enzimas como agentes biotecnológicos. Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, p. 412.

SANDOVAL, G.; MARTY, A. Screening methods for synthetic activity of lipases. *Enzyme and Microbial technology*, v. 40, p. 390-393, 2007.

SELEÇÃO PRELIMINAR DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE PALMA FORRAGEIRA (CACTACEAE) QUANTO A PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES

Bezerra, J.D.P.⁽¹⁾; Silva, D.C.V.⁽¹⁾; Santos, M.G.S.⁽¹⁾; Lopes, D.H.G.⁽¹⁾; Svedese, V.M.⁽¹⁾; Paiva, L.M.⁽¹⁾; Souza-Motta, C.M.⁽¹⁾
jadsondpb@hotmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco. CNPq, FACEPE, FINEP, PROPESQ/UFPE.

RESUMO

Micro-organismos endofíticos produzem enzimas hidrolíticas extracelulares como mecanismos de resistência para superar as defesas do hospedeiro contra invasão microbiana e/ou para obter nutrientes do solo. Tais enzimas incluem pectinases, esterases, celulasas, lipases, proteases e xilanases. As palmas forrageiras são cultivadas com relativo sucesso no semiárido do nordeste brasileiro constituindo-se uma das mais importantes bases de alimentação para bovinos. O presente trabalho teve como objetivo a seleção de fungos endofíticos isolados de palma forrageira quanto à produção de enzimas extracelulares. A detecção da capacidade de produção das enzimas hidrolíticas extracelulares pectinases e celulasas foi avaliada em placas de Petri contendo meio de cultura específico para cada enzima. Fragmentos dos fungos endofíticos cultivados em meio de cultura batata-dextrose-ágar por 7 dias foram transferidos para o centro de

placas de Petri contendo o meio de cultura da enzima específica. Foi mensurado o diâmetro da zona transparente ao redor do meio de cultura para determinar a zona de atividade (ZA). As espécies *Aspergillus japonicus* e *Penicillium glandicola* apresentaram atividade pectinolítica com ZA fraca e muito forte, respectivamente; 14 espécies foram celulase positiva, com destaque para *Xylaria* sp. que apresentou ZA muito forte. Para estudo de atividade enzimática, fungos endofíticos de palma forrageira são indicados.

Palavras-chave: *Opuntia ficus-indica* Mill.; Enzimas Hidrolíticas.

INTRODUÇÃO

Micro-organismos endofíticos colonizam o tecido sadio da planta e permanecem ali em uma fase latente ou de forma mais extensiva, porém assintomática (YATES et al., 1997), sem causar problemas à planta. Quando a colonização leva a uma proteção do tecido da planta ao estresse biótico ou abiótico, estes fungos são chamados de mutualistas (LATCH, 1993), ambos beneficiando-se dessa interação (WANG & DAI, 2010).

A produção microbiana de enzimas atualmente tem sido bastante explorada. Muitas indústrias, na busca de soluções alternativas para o problema do descarte dos resíduos, têm optado pelo uso de microrganismos como agentes redutores de matéria orgânica para eliminação ou redução de compostos tóxicos. Os fungos, em função de suas características de reprodução e crescimento, adaptam-se a diversos substratos, entre os quais efluentes de indústrias processadoras de alimentos, resíduos agrícolas e agroindustriais e resíduos derivados de petróleo (TAVARES et al., 1998).

As pectinases podem ser produzidas, em diferentes combinações, por plantas e microrganismos como fungos e bactérias (SILVA et al., 2005), são muito utilizadas nas indústrias de sucos de frutas para reduzir viscosidade, melhorar e aumentar a eficiência de

filtração e clarificação; no tratamento preliminar da uva em indústrias vinícolas; para melhorar a extração de óleos vegetais e essenciais; tratamento e degomagem de fibras naturais para indústria têxtil, de papel e ração animal (UENOJO & PASTORE, 2007).

As celulases são as enzimas mais utilizadas na indústria têxtil e de papel e celulose, atuam na hidrólise de substratos celulósicos e compreendem um complexo de enzimas celulolíticas (SOUZA et al., 2008). Na natureza existe uma grande variedade de microrganismos que produzem celulases, apenas alguns são conhecidos como verdadeiros celulolíticos, isto é, são capazes de degradar a celulose natural. (ROBSON & CHAMBLISS, 1989).

As palmas forrageiras, pertencentes à família Cactaceae, são plantas suculentas, com folhas muito reduzidas em forma de pequenos apêndices e muito caducas. Não possuem caule e sim pseudocaule em forma de raquetes, as quais variam de forma e apresentam, quando sadias, coloração sempre verde (SCHULTZ, 1943). A forrageira *Opuntia ficus-indica* é conhecida pela sua vasta utilização agrônômica na produção de frutas comestíveis e cladódios, que podem ser utilizados como alimento (forragem) para animais, inclusive para o homem (SCHEINVAR, 1995). Faz parte do rol de atividades agrícolas de sequeiro do semi-árido

nordestino, para suprir a falta de forragem para os animais nos períodos longos de seca. Entretanto, em alguns municípios, principalmente na região da Chapada Diamantina, a palma é utilizada na alimentação humana (GUEDES, 2002, 2004).

Diante do exposto, este trabalho objetivou selecionar fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* Mill. quanto a produção de enzimas hidrolíticas extracelulares.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de palma-forrageira foram desinfestadas para o processamento, no prazo de 24 horas, segundo método descrito por Araújo et al. (2002). Para o isolamento dos fungos endofíticos, foram utilizados 45 fragmentos das raquetes desinfestadas, de aproximadamente 0,5 cm², e transferidos para placas de Petri contendo o meio batata-dextrose-ágar (BDA) suplementado com o antibiótico cloranfenicol (100 mg L⁻¹) (cinco fragmentos por placa de Petri) e incubados à temperatura ambiente (26±2 °C).

Para identificação dos fungos endofíticos, foram realizados microcultivos e observados os aspectos macro e micro-morfológicos das estruturas somáticas e reprodutivas, comparando-se os resultados com base em literatura específica (ELLIS, 1971; SAMSON & FRISVAD, 2004; DOMSCH et al., 2007).

A detecção da capacidade de produção das enzimas hidrolíticas extracelulares pectinases e celulasas avaliada em placas de Petri contendo meio de cultura específico para cada enzima (NEROTTI & AZEVEDO, 1988; UENOJO & PASTORE, 2006). Fragmentos das culturas dos fungos endofíticos cultivados em BDA por 7 dias, foram

transferidos para o centro de placas de Petri contendo o meio de cultura da enzima específica. Foi mensurado o diâmetro da zona transparente ao redor do meio de cultura para determinar a zona de atividade (ZA). Para interpretação da atividade enzimática, foram considerados: ZA entre 0.9 e 1 muito fraca, 0.89-0.80 fraca, 0.79-0.70 forte e ZA menor que 0.69 muito forte, segundo Serda & Yucel (2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos são importantes produtores de enzimas, são relativamente fáceis de serem cultivados em ambiente controlado e altamente sensíveis às alterações genéticas, o que permite obtenção de linhagens melhoradas quanto a produção e qualidade da enzima (SANTOS, 2007). Os fungos endofíticos isolados foram selecionados para serem avaliados quanto à capacidade de produção de enzimas hidrolíticas extracelulares. A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos após o cultivo dos fungos em meios específicos para detecção da capacidade de produzir as enzimas: pectinase e celulase.

Dos isolados testados, apenas *Aspergillus japonicus* e *Penicillium glandicola* apresentaram atividade pectinolítica com ZA de 0,84 (fraca) e 0,61 (muito forte), respectivamente. Teixeira et al. (2000), verificando a capacidade de produção de pectinases por *A. japonicus* em meio líquido com diferentes concentrações de substratos, demonstraram que as melhores atividades enzimáticas desse fungo foram obtidas em diferentes concentrações de pectina. Yoon et al. (2007), utilizando espécies de *Penicillium* para detecção de atividade enzimática, observaram que *P. glandicola* apresentou atividade

pectinolítica fraca ou nenhuma atividade, diferindo dos resultados encontrados no nosso estudo em que *P. glandicola* apresentou atividade enzimática muito forte.

Tabela 1: Zona de Atividade Enzimática de fungos endofíticos de *O. ficus-indica* (palma forrageira).

Fungos endofíticos	Pectinas es	Celulas es
<i>Aspergillus japonicus</i>	0,84	0,70
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	0,46
<i>Fusarium lateritium</i>	-	0,89
<i>Nigrospora sphaerica</i>	-	0,77
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	-	0,62
<i>Penicillium glandicola</i>	0,61	0,52
<i>Pestalotiopsis guepinii</i>	-	0,64
PF300	-	0,35
<i>Phomopsis archeri</i>	-	-
<i>Xylaria</i> sp.	-	0,20

*Zona de Atividade (ZA) em cm.

Entre as culturas testadas, apenas *Phomopsis archeri*, não apresentou atividade celulolítica. *Fusarium lateritium* apresentou ZA entre 0.89-0.80 (fraca), *Nigrospora sphaerica* e *A. japonicus* apresentaram ZA entre 0.79-0.70 (forte), as demais culturas apresentaram ZA menor que 0.69 (muito forte), destacando-se *Xylaria* sp.1, isolado PF300 e *Cladosporium cladosporioides* que apresentaram, respectivamente, índice enzimático de 0,20, 0,35 e 0,46. Espécies do gênero *Xylaria*, encontradas desenvolvendo-se em tecidos vegetais, são relatadas como potenciais produtoras de enzimas

celulolíticas (WEI et al., 1996). *Cladosporium cladosporioides* quando isolado do solo de Estação Ecológica não apresentou atividade celulolítica (RUEGGER & TAUKE-TORNISIELO, 2004), diferindo dos nossos resultados. Por outro lado, Grandi & Silva (2006) em estudo de fungos associados a *Caesalpinia echinata* isolaram *C. oxysporum* decompondo o folheto, demonstrando a capacidade celulolítica desse gênero.

CONCLUSÃO

Fungos endofíticos de *Opuntia ficus-indica* (palma forrageira) apresentam atividades pectinolítica e celulolítica e são indicados para estudos de produção de enzimas extracelulares.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI JUNIOR, W.; ELSAS, J.D. V.; VUURDE, J.W.L.; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. Applied and Environmental Microbiology, v.68, p.4906-4914, 2002.
- DOMSCH, K.H.; GAMS, W.; ANDERSON, T-H. Compendium of soil fungi. Eching: IHW-Verlag, 2007. 672p.
- ELLIS, M.B. Dematiaceus Hyphomycetes. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608p.
- GRANDI, R.A.P.; SILVA, T.V. Fungos anamorfos decompositores do folheto de *Caesalpinia echinata* Lam. Revista Brasileira de Botânica, v.29, n.2, p.275-287, 2006.

- GUEDES, C.C. Broto de palma - sabor e nutrição: livro de receitas. Recife: SEBRAEPE / FAEPE, 2004. 48p.
- GUEDES, C.C. Culinária com broto de palma. João Pessoa: Universitária, 2002. 53p.
- LATCH, G.C.M. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. Agriculture, Ecosystems and Environments. v.44, p.143-156, 1993.
- NEROTTI, E.; AZEVEDO, J.L. Técnicas semiquantitativa de avaliação da produção de celulases em *Humicola* sp. Revista de Microbiologia, v.19, p.78-81, 1988.
- ROBSON, L.M.; CHAMBLISS, G.H. Cellulases of bacterial origin. Enzyme and Microbial Technology, v.11, p.626-644, 1989.
- RUEGGER, M.J.S.; TAUKTORNISIELO, S.M. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Botânica, v.27, n.2, p.205-211, 2004.
- SAMSON, R.A.; FRISVAD, J.C. *Penicillium* Subgenus *Penicillium*: new Taxonomics Schemes, Mycotoxins and Other Extrolites. Studies in Micology, v.49, p. 1-260, 2004.
- SANTOS, S. F. M. Estudo da produção de pectinase por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato. 2007. 151p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- SCHEINVAR, L. Taxonomy of utilized *Opuntia*. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Ed.). Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. Roma: FAO, 1995. p. 20-27.
- SCHULTZ, R.A. Introdução ao estudo da botânica sistemática. 2 ed. Porto Alegre: Livraria O Globo, 1943. 562p.
- SERDA, S.K.; YUCEL, A. Phospholipase and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. Mycoses, v.45, p.160-165, 2002.
- SILVA, D.; TOKUIOSHI, K.; MARTINS, E. S.; DA SILVA, R.; GOMES, E. Production of pectinase by solid-state fermentation with *Penicillium viridicatum* RFC3. Process Biochemistry, v. 40, p.285-289, 2005.
- SOUZA, H.Q.; OLIVEIRA, L.A.; ANDRADE, J.S. Seleção de Basidiomycetes da Amazônia para produção de enzimas de interesse biotecnológico. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.28, p.116-124, 2008.
- TAVARES, V.B.; SIVIERI, K.; CERON, C.R.; DA SILVA, R.; TRABUCO, E. Utilização de resíduo líquido de indústria de processamento de suco de laranja como meio de cultura de *Penicillium citrinum*: depuração biológica do resíduo e produção de enzima. Química Nova, v.21, n.6, p.722-725, 1998.
- TEIXEIRA, M.F.S.; FILHO, J.L.L.; DURÁN, N. Carbon sources effect on pectinase production from *Aspergillus japonicas* 586. Brazilian Journal of Microbiology, v.31, p.286-290, 2000.
- UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Isolamento e seleção de microrganismos pectinolíticos a partir de resíduos provenientes de agroindústrias para produção de aromas frutais. Ciência

Tecnologia Alimentar, v.26, n.3, p.509-515, 2006.

UENOJO, M.; PASTORE, G.M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. *Química Nova*, v.30, n.2, p.388-394, 2007.

WANG, Y.; DAI, C-C. Endophytes: a potencial resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. Review article. *Ann Microbiol.* Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/vw872r3128177121/fulltext.pdf>. Acesso em 24 de outubro de 2010.

WEI, D.L.; KIRIMUR, K.; USAMI, S.; LIN, T.H. Purification and Characterization of an Extracellular β -glucosidase from the Wood-Grown Fungus *Xylaria regalis*. *Current Microbiology*, v.33, p.297-301, 1996.

YATES, I.E.; BACON, C.W.; HINTON, D.M. Effects of endophytic infection by *Fusarium moniliforme* on corn growth and cellular morphology. *Plant Diseases*, v.81, p.723-728, 1997.

YOON, J.H.; HONG, S.B.; KO, S.J.; KIM, S.H. Detection of Extracellular Enzyme Activity in *Penicillium* using Chromogenic Media. *Mycobiology*, v.35, n.3, p.166-169, 2007.

GUPTA, R. 1999. Microbial lipases: potential biocatalysts for the future industry. *Current Science* 77: 101-115.

SHERF, A. F. 1943. A method for maintaining *Phytophthora septentrionalis* in culture for long periods without transfer. *Phytopathology*. 33: 330-332.

SIERRA, G.A.A. 1957. Simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonine van Leeuwenhoeck* 28: 15-22.

SMITH, D.; ONIONS, A. H. S. 1994. The Preservation and Maintenance of Living Fungi. 2^o ed, Reino Unido; Cab International, p.122.

TAMALAMPUDI, S., TALUKDER, M.R., HAMA, S., NUMATAB, T., KONDO, A., FUKUDA, H. 2008. Enzymatic production of biodiesel from *Jatropha* oil: a comparative study of immobilized-whole cell and commercial lipases as a biocatalyst. *Biochem. Eng. J.* 39 (1): 185-189.

WATANABE, N., OTA, Y., MINODA, Y., YAMADA, K. 1977. Isolation and identification of alkaline lipases producing microorganisms, cultural conditions and some properties. *Agric. Biol. Chem.* 41: 1353-1348.

SEXUAL DIMORPHISM IN TITYUS PUSILLUS POCOCK, 1893 (SCORPIONES, BUTHIDAE)

Lira, A.F.A. (1); Barbosa, F.S. (1); Albuquerque, C.M.R. (1)

sargametal@hotmail.com

(1) Departamento de Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Prof. Moraes Rego S/N, Cidade Universitária, 50570-420. Recife, PE, Brasil

ABSTRACT

Morphological characters of adult male and female scorpions, *Tityus pusillus* showed sexual dimorphism.

Key-words: Gender; Morphology; Size

Palavras chave: Gênero; Morfologia; Tamanho

INTRODUCTION

Sexual dimorphism, particularly differences on size between males and females, has been reported for many animals' (SHINE, 1989; RANTA et al. 1994; BROWN, 1996; HERREL et al. 1999; WALKER AND RYPSTRA, 2001; DAVID et al., 2003; BLANCKENHORN, 2005; WANGKULANGKUL et al., 2005; ESPERK AND TAMMARU, 2006; OZKAN et al., 2006). Under the influence of natural and sexual selections, males and females often differ in costs and benefits of achieving some particular body sizes (CROWLEY, 2000; GAFFIN AND BROENELL, 2001; KLADT, 2003; MATTONI, 2005).

Morphometry and sexual dimorphism have also been described in many scorpion species (HARADON, 1984; KOVARIK, 2004; OZKAN et al., 2006; LOURENÇO, 2002). The character often used to distinguish the sex are the size of pectine and the number of pectinal tooth of which males always have larger pectine and more number of pectinal tooth than females (SISSOM, 1990; GAFFIN AND BROWNELL,

2001; OZKAN et al., 2006). The importance of the male's pectines is for mate location, courtship, and reproduction which are consistent with the high degree of sexual dimorphism evidence in most species of scorpions (GAFFIN AND BROWNELL, 2001; KLADT, 2003; MATTONI, 2005).

Tityus Koch, is the largest genus of all scorpion families comprising dangerous species, accounting for many deaths and injuries in the tropics every year (STOCKMAN AND YTHIER 2010). Species from this genus are widely distributed in the Americas and can be found from Central Argentina (OJANGUREN AFFILASTRO 2005) to the Dominican Republic (ARMAS AND ABUD ANTUN 2004). In Brazil, by far the largest and most populous country in South America, lethal sting have been attributed to three species of this genus, *Tityus serrulatus*, *T. bahiensis* and *T. stigmurus* (LOURENÇO AND VON EICKSTEDT 2003). Features that suggest sexual dimorphism in *Tityus* are varied, and is commonly reported differences in the size and thickness of the metasoma and pedipalp, and the length of the body. *Tityus pusillus* is a

scorpion found in areas of Atlantic forest of northeastern Brazil, including recently by Albuquerque et al. (2009) the list of species that can cause injuries in humans. The characters shown in the literature (LOURENÇO, 2002) and sexual dimorphic relate only the greatest length of the metasoma of male middle and basal lamina of the dilated combs not in females, which does not facilitate the identification of sex in all animals. In order to contribute to clarification of the sexual dimorphism of *T. pusillus*, we analyzed 30 specimens from the collection

arachnology Federal University of Pernambuco.

MATERIAL AND METHODS

Morphological characters were determined from 15 adult males and 15 adult females (Figure 1) for Arachnological collection of Federal University of Pernambuco. Each scorpion was measured for 11 morphological characters (Table 1) using a digital caliper. Pectinal teeth were counted under a stereomicroscopic.



Figure 1. Dorsal view of male (1) and female (2) of *Tityus pusillus*

RESULTS AND DISCUSSION

Measurements of carapace, sternite, pedipalp, metasoma, and pectinal organ are the common parameters used for sex discrimination in scorpions (LAMORAL, 1979; HARADON, 1984a, 1984b; STOCKWELL, 1985; SISSOM, 1990; SISSOM AND FET, 1998; KOVARIK, 1998, 2003, 2004; GAFFIN AND BROWNELL, 2001; HENDRIXON, 2001; KARATAS AND KARATUS, 2001, 2003; QUIROGA et

al., 2004; OZAN et al., 2006; PRENDINI et al., 2006). Our results revealed that *T. pusillus* females had wider carapace and larger mesosoma than males. Since females are in charge of parental care by harboring the developing juveniles on their back, the broader body of adult females would be a benefit for the survival of their juveniles as well as for producing the larger number of offspring (BOONCHAM et al. 2007). The larger pedipalp which includes chela, patella

and femur and the heavier roughness on the cutting edge of movable finger in *T. pusillus* adult male could help to secure the female chelae during courtship and mating as reported in many scorpion species in Family Buthriuridae (MATTONI, 2005). In this study, *T. pusillus* males had a pair of pectines significantly longer and had pectinal tooth number more than females. These unique sexual dimorphic characters were reported as well in many other scorpion species such as *Centruroides thorelli* by Sissom (1990), *Paruroctonus mesaensis* by Gaffin and Brownell (2001), *Mesobuthus eupeus* by Karatas and Karatus (2001, 2003), *P. ovchinnikovi* by Prendini et al. (2006)

and *Androctonus crassicauda* by Ozan et al. (2006). The overall character of pectines found in *T. pusillus* males is potentially vital to the reproductive success since the function of the pectine is recently concluded as chemo- and mechanoreceptors (KLADT, 2003). During normal movement of the scorpions, the pectines are swept or tapped against the substrate. Polis and Farley (1979) suggested that a possible role of the pectine is for selecting a suitable place for the spermatophore deposition whereas Gaffin and Brownell (1997) reported that the main function is their specialization for sensing chemical deposits on the substrate.

Table 1. Measurements of 11 structures of both male and female of *Tityus pusillus*.

Structures	Female (N=15)	Male (N=15)
	Mean \pm SD (mm)	Mean \pm SD (mm)
Carapace length	3.75 \pm 0.24	3.32 \pm 0.22
Mesosoma length	8.73 \pm 1.41	7.51 \pm 1.48
Metasoma length	16.4 \pm 1.49	17.27 \pm 1.74
Pedipalp length	12.68 \pm 0.75	13.57 \pm 1.19
Segment V of metasoma length	4.24 \pm 0.28	4.42 \pm 0.43
Segment VII of mesosoma length	2.35 \pm 0.32	2.18 \pm 0.41
Movable finger length	4.13 \pm 0.32	3.81 \pm 0.41
Segment V of metasoma width	1.71 \pm 0.16	1.66 \pm 0.19
Chela width	1.26 \pm 1.18	1.37 \pm 0.20
Segment VII of mesosoma width	3.44 \pm 0.35	2.68 \pm 0.32
Number of pectinal teeth	15-18	16-20
Total length	28.89 \pm 2.72	28.1 \pm 3.07

In this study we found marked differences in the lengths of the mesosoma, seventh segment mesosomal, pedipalp and variation in the number of teeth pectens that had not been previously reported as dimorphic in *T. pusillus*, these structures along the

length of the metasoma, allow the identification between the sexes. Based on these results we hope to help for a correct diagnosis of sex in this species and contribute to studies for which this distinction is important.

REFERENCES

- BLANCKENHORN, W. U. Behavioural causes and consequences of sexual size dimorphism. *Ethology*, v. 111, p. 997-1016, 2005.
- BOONCHAM, U.; SITTICHICHAROENCHAI, D.; PRADATSUNDARASAR, A.; PRASARNPUR, S.; THIRAKHUPUT, K. Sexual dimorphism in the Asian giant forest scorpion *Heterometrus laoticus* Coujizn, 1981. *NU Science Journal*, v. 4, n. 1, p. 42-52, 2007.
- BROWN, C. A. Research Note Interpopulation and intersexual variation in pectine tooth count in *Centruroides vittatus* (Scorpionida, Buthidae). *The Journal of Arachnology*, v. 24, p. 262-264, 1996.
- COUZIEN, H. W. C. Revision of the genus *Heterometrus* Hemprich & Ehrenberg (Scorpionidae, Arachnida). *Rijksmuseum of Natural History at Leiden*, v. 184, p. 1-196, 1981.
- CROWLEY, P. H. Sexual dimorphism with female demographic dominance: age, size, and sex ratio at maturation. *Ecology*, v. 81, p. 2592-2605, 2000.
- DAVID, J. R.; GIBERT, P.; MIGNON-GRASTEAU, S.; LEGOUT, H.; PETAVY, G.; BEAUMONT, C.; ESPERK, T.; TAMMARU, T. Determination of female-biased sexual size dimorphism in moths with a variable instar number: The role of additional instars. *European Journal of Entomology*, v. 103, p. 575-586, 2006.
- GAFFIN, D.; BROWNELL, P. Response properties of chemosensory peg sensilla on the pectines of scorpions. *Journal of Comparative Physiology*, v. 181, p. 291-300, 1997.
- GAFFIN, D.; BROWNELL, P. Chemosensory Behavior and Physiology. In Brownell, P. and Polis, G. (ed.) *Scorpion Biology and Research*, Oxford University Press, p. 184-203, 2001.
- HARADON, R. M. New and redefined species belonging to the *Parauroctonus baergi* group (Scorpiones, Vaejovidae). *The Journal of Arachnology*, v. 12, p. 205-221, 1984a.
- HARADON, R. M. New and redefined species belonging to the *Parauroctonus borregoensis* group (Scorpiones, Vaejovidae). *The Journal of Arachnology*, v. 12, p. 317-339, 1984b.
- HENDRIXSON, B. E. A new species of *Vaejovis* (Scorpiones, Vaejovidae) from Sonora, Mexico. *The Journal of Arachnology*, v. 29, p. 47-55, 2001.
- HERREL, A.; SPITHOVEN, L.; VAN DANNE, R.; DE VREE, F. Sexual dimorphism of head size in *Gallotia galloti*: Testing the niche divergence hypothesis by functional analysis. *Functional Ecology*, v. 13, p. 289-297, 1999.
- KARATAS, A.; KARATUS, A. First record of *Mesobuthus eupeus* (C.L.Koch, 1839) from central Anatolia (Scorpiones: Buthidae). *Scorpions in Memory of Gary A. Polis*, p. 297-299, 2001.
- KARATAS, A.; KARATUS, A. *Mesobuthus eupeus* (C.L.Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. *Euscorpius*, v. 7, p. 1-6, 2003.

- KLADT, N. Mechanoreception by cuticular sensillae on the pectines of the scorpion *Pandinus cavimanus*. Dipomathesis Institute of Zoology, Bonn, Department of Neurobiology, p. 1-73, 2003.
- KOVARIK, F. Review of Scorpionida from Thailand with descriptions of *Thaicharmus mahunkai* gen. et sp. n. and *Lychas krali* sp. n. (Buthidae). Acta Society Zoolology Bohemoslov, v. 59, p. 187-207, 1995.
- KOVARIK, F. Three genera and species of Scorpiones (Buthidae) from Somalia. Acta Society Zoolology Bohemoslov, v. 62, p. 115-124, 1998.
- KOVARIK, F. Scorpions of Djibouti, Eritrea, Ethiopia, and Somalia (Arachnida, Scorpiones), with a key and descriptions of three new species. Acta Society Zoolology Bohemoslov, v. 67, p. 133-159, 2003.
- KOVARIK, F. A review of the Genus *Heterometrus* Ehrenberg, 1828, with Descriptions of Seven New Species (Scorpiones, Scorpionidae). Euscorpius, v. 15, p. 1-60, 2004.
- LAMORAL, B. H. The scorpions of Namibia (Arachnida: Scorpionida). Annals of the Natal Museum, v. 23, p. 497-784, 1979.
- MATTONI, C. I. Tergal and Sexual anomalies in Bothriurid scorpions (Scorpiones, Bothriidae). The Journal of Arachnology, v. 33, p. 622-628, 2005.
- OZKAN, O.; ADIGUZEL, S.; KAR, S. Parametric values of *Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) (Scorpiones: Buthidae) from Turkey. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 12, p. 549-559, 2006.
- PRENDINI, L. Two new species of *Hadogenes* (Scorpiones, Ischnuridae) from South Africa, with a redescription of *Hadogenes bicolor* and a description of the phylogenetic position of *Hadogenes*. The Journal of Arachnology, v. 29, p. 146-172, 2001.
- PRENDINI, L.; VOLSCHENK, E. S.; MAALIKI, S.; GROMOV, A. V. A 'living fossil' from Central Asia: The morphology of *Pseudochactas ovchinnikovi* Gromov, 1998 (Scorpiones: Pseudochactidae), with comments on its phylogenetic position. Zoologischer Anzeiger, v. 245, p. 211-248, 2006.
- POLIS, G. A.; FARLEY, R. D. Behavior and ecology of mating in the cannibalistic scorpion *Paruroctonus mesaensis* Stahnke (Scorpionida: Vaejovidae). The Journal of Arachnology, v. 7, p. 33-46, 2003.
- QUIROGA, M.; SOUSA, L.; PARRILLA-ALVAREZ, P.; MANZANILLA, J. The first report of *Tityus* (Scorpiones: Buthidae) in Anzoategui State, Venezuela, a new species. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, v. 10, p. 10-33, 2004.
- RANTA E.; LAURILA, A.; ELMBERG, J. Reinventing the wheel: Analysis of sexual dimorphism in body size. Oikos, v. 70, p. 313-321, 1994.
- SHINE, R. Ecological causes for the evolution of sexual size dimorphism: A review of the evidence. Quarterly Review of Biology, v. 64, p. 419-461, 1989.

SISSOM, W. D. Redescription of the scorpion *Centruroides thorelli* Kraepelin (Buthidae) and description of two new species. The Journal of Arachnology, v. 23, p. 91-99, 1990.

SISSOM, W. D.; FET, V. Redescription of *Compsobuthus matthiesseni* (Scorpiones, Buthidae) from Southwestern Asia). The Journal of Arachnology, v. 26, p. 1-8, 1998.

SOLEGLAD, M .E.; FET, V. The scorpion sternum: structure and phylogeny (Scorpion: Orthosterni). Euscopius, v. 5, p. 1-34, 2003.

STOCKWELL, S. A. A new species of *Heteronebo* from Jamaica (Scorpiones,

Diplocentridae). The Journal of Arachnology, v. 13, p. 355-361, 1985.

WALKER, S. E.; RYPSTRA, A. L. Sexual dimorphism in functional response and trophic morphology in *Rabidosa rabida* (Araneae: Lycosidae). The American Midland and Naturalist, v. 146, p. 161-170, 2001.

WANGKULANGKUL, S.; THIRAKHUPT, K.; VORIS, H. K. Sexual size dimorphism and reproductive cycle of the little file snake *Acrochordus granulatus* in Phangnga Bay, Thailand. Science Asia, v. 31, p. 257-263, 2005.

SÍNTESE E ATIVIDADE CITOTÓXICA DE 5-ARILIDENO-2,4-TIAZOLIDINEDIONAS NA LINHAGEM DE CÉLULAS HEP2

Souza, I.S.⁽¹⁾; Nascimento, S. C.⁽¹⁾; Silva, T.G.⁽¹⁾; Militão, G.C.G.⁽¹⁾; Albuquerque, J.F.C.⁽¹⁾
isaraivasouza@bol.com.br

⁽¹⁾Departamento de Antibióticos – (1)Universidade Federal de Pernambuco –Cidade Universitária – 50670-901.

RESUMO

Tiazolidínicos são compostos que apresentam importantes atividades biológicas, dentre elas, antibacteriana, antifúngica, anti-artrítica, antidiabética, e antitumoral. Este trabalho teve como objetivos, a síntese e a avaliação da atividade citotóxica frente a células neoplásicas dos compostos 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona derivados do sistema 3,4-metilenodioxibenzaldeído. A síntese do 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona, foi realizada por condensação de Knoevenagel (entre uma reação de adição nucleofílica de um composto de hidrogênio ativo “ácido”, a um grupo carbonila, seguida por uma reação de desidratação, onde uma molécula de água é eliminada); com rendimentos entre 65% e 77%. Para os testes citotóxicos, foram utilizadas células HEP2 (obtidas de carcinoma epidermóide de laringe humano). Os testes foram realizados em concentrações de 10, 5, 2,5 e 1,25 µg/mL. Os compostos testados 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona; apresentaram uma ótima porcentagem de inibição celular, com uma IC50 de 1,657 µg/mL para células da linhagem HEP2. Compostos tiazolidínicos vêm, nos últimos anos, sendo considerados, extremamente eficientes para a terapêutica

antitumoral. Destacou-se o potencial destes compostos, para atividade antiproliferativa para células HEP2.

Palavras-chaves: composto; knoevenagel; neoplasia.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma das causas de letalidade mais freqüente, apenas superado pelas doenças cardiovasculares (CRUZ et al 1987). As neoplasias malignas constituem um problema crescente de saúde pública no mundo. No Brasil, tem sido dada atenção ao problema através de ações eminentemente curativas centradas em hospitais especializados.

A mortalidade por doenças infecto-parasitárias diminuiu cerca de dez vezes no Brasil, no período de 1940-1980, enquanto o coeficiente de mortalidade por câncer no mesmo período não se alterou.

A pesquisa de produtos naturais no campo da cancerologia tem proporcionado a descoberta de várias substâncias de uso na terapêutica antineoplásica. Os progressos na Oncologia médica deve-se a produtos com novas estruturas e novos mecanismos de ação (GUESS et al 1965).

Nos Estados Unidos um programa de pesquisa de novos antitumorais foi iniciado, nos anos 50, pelo NCI (National Cancer Institute), tratava-se de detectar a atividade antitumoral "in vivo" e "in vitro" de extratos brutos provenientes de plantas de várias origens (ROGERO et al 2000).

No Brasil, segundo (ROGERO et al 2000) a pesquisa com plantas é um grande desafio, pois a rica variedade de flora brasileira tem sido devastada e em vários casos sofre modificação pela cultura moderna.

Os agentes antineoplásicos atualmente utilizados, em particular os que são citotóxicos, afetam, em sua maioria, apenas uma das características das células cancerosas, o processo de divisão celular, sendo, portanto, apenas antiproliferativos. Esses fármacos não exercem nenhum efeito inibitório específico sobre o poder invasivo, a perda da diferenciação ou o poder metastático. Além disso, como seu efeito principal é exercido sobre a divisão celular, eles irão afetar todos os tecidos normais que se dividem rapidamente, produzindo então, em maior ou menor grau, os conhecidos efeitos colaterais de uma quimioterapia (SILVA et al 1996). A terapia atual para o câncer depende principalmente do uso de cirurgia, irradiação e quimioterapia, a evolução na compreensão da biologia da transformação maligna e das diferenças no controle da proliferação da célula normal e cancerosa tem proporcionado a descoberta de novos alvos, permitindo a continuação de estudos envolvendo o entendimento dos mecanismos de ação de fármacos utilizados para o tratamento do câncer (SILVA et al 1994).

Aos núcleos imidazolidínico e tiazolidínico, devido à sua reatividade química e conseqüente afinidade por biomacromoléculas, são atribuídos diversas atividades biológicas, fato que direcionou várias pesquisas na busca de novos agentes biologicamente ativos das séries 5-arilideno-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona e 5-benzilideno-3-(4-flúor-benzil)-4-tioxo-imidazolidina-2-diona (TAVEDAGNA et al 1983).

As tiazolidinonas são substâncias heterocíclicas com anel pentagonal substituídas nas diversas posições do anel, derivadas das tiazolidinas que possuem nas diversas posições do anel, derivadas das tiazolidinas que possuem heteroátomos de nitrogênio e enxofre em sua estrutura. (UAIKI, et al 1995).Essas substâncias, vêm sendo consideradas ao longo do tempo, novas alternativas de terapêutica, para vários tipos de câncer,além de problemas relacionados a diabetes,convulsões, edemas, inflamações etc.(VAZ et al 1992).

Em relação a atividade citotóxica,pode-se afirmar que o uso de avaliação “in vivo” como bioensaios para monitoramento de purificação tem sido excessivamente difícil,frustrante e, em muitos casos não há sucesso.Por esta razão,considerável esforço tem sido devotado nos primeiros estágios do programa do NCI(VAZ et al 1992).As vantagens do uso de cultura de células está na homogeneidade de resposta;o baixo custo da execução; o fato de que as células “in vitro” se constituem um sistema fechado,não influenciado pelo organismo “in loco”;a possibilidade de estudar diretamente modificações morfológicas e bioquímicas das células.Tudo isto traz a possibilidade de testar muitas amostras a várias doses,contemporaneamente, e também acompanhar as possíveis modificações estruturais que deve sofrer as células tratadas com produtos que possuem atividade citotóxica (XORENFREUND, E.; BABICH, H.; MARTIN. A, 1988).

De acordo com o Órgão Internacional de Padronização (International Standard Organization), ISO 10993, o ensaio de citotoxicidade *in vitro* é o primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de qualquer material para uso em dispositivos biomédicos e depois de comprovada a sua não toxicidade é que o estudo da biocompatibilidade do

produto pode ter continuidade realizando-se os ensaios necessários em animais de laboratório. A técnica de MTT 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 formazana, produto formado pela redução de tetrazolium MTT (ZAIGHY, et al 1988). A redução de MTT ocorre principalmente na mitocôndria através da ação da succinato desidrogenase fornecendo então uma medida de função mitocondrial. Para a realização do ensaio necessita-se de reagentes, sendo estes:MTT (3-(4,5-dimethylthiazolone-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide);(Sigma) Dimetil Sulfóxido DMSO – (Synth)

- Tampão Fosfato PBS – Preparado a partir de 50 rol de tampão fosfato, 950 rol de água Destilada e 99 NaCl (Merck).

Em geral, são disponíveis duas categorias de linha celular:a linha primária e a contínua,que é caracterizada pela potencialização teórica de sobreviver a infinitas passagens “in vitro”.Para que a citotoxicidade seja eficiente é necessário a repicagem das células,o congelamento,o descongelamento das mesmas quando da sua utilização e o preparo das diluições dos produtos testes.

Atualmente,uma abordagem promissora na pesquisa e desenvolvimento de antineoplásicos é a descoberta de fármacos anti-angiogênicos capazes de limitar o crescimento tumoral e reduzir ou impedir a disseminação metastática.

Este trabalho teve como objetivos a síntese, da série 5-irilideno-tiazolidina-2,4-diona derivada do sistema 3,4-metilenodioxibenzaldeído;empregando-se a condensação de Knoevenagel (**Figura 1**); e a avaliação citotóxica da linhagem da célula HEP2 (carcinoma

epidermóide de laringe humano); verificando-se dessa forma, o processo da morte da célula neoplásica.

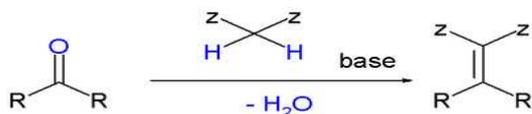


Figura 1. Condensação de Knoevenagel

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos compostos

As 5-arilideno-2,4-tiazolidinedionas foram obtidas utilizando-se reações de condensação de Knoevenagel, onde o carbono metilênico da porção 2,4-tiazolidinediona é adicionado ao carbono carbonílico do sistema 3,4-metilenodioxibenzaldeído, com a correspondente eliminação de uma molécula de água, conforme a Figura 2.

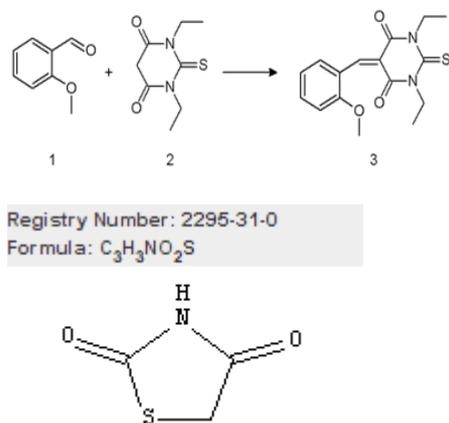


Figura 2. Esquema sintético de obtenção das 2,4-tiazolidinedionas

Atividade Citotóxica

O composto sintetizado, foi submetido a testes de atividade citotóxica; a qual foi realizada pelo método colorimétrico do MTT (ZAYRA, M.T., J. IMMUNOL. METHODS ; ALLEY M.C. Cancer Research, 48,589,2008). A suspensão celular com 10⁵ células/mL (HEP2), foi

distribuída em placa de cultura com 96 poços e incubadas a 37°C, em atmosfera úmida (5% de CO₂), durante 24h. Em seguida a substância teste (6,25 a 50 µg/mL) foi adicionada à placa. Após 72h foi adicionado MTT e a placa mantida na estufa, sendo logo em seguida adicionado DMSO. A leitura óptica foi realizada em leitor automático de placas (450nm). A CI₅₀ e respectivos intervalo de confiança 95% foram determinados a partir de regressão não-linear utilizando o programa SigPlot versão 11.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 5-arilideno-2,4-tiazolidinedionas foram obtidas com rendimentos que variaram entre 65% a 77%, de acordo com a natureza do grupo substituinte ligado ao anel benzênico do sistema 3,4-metilenodioxibenzaldeído; confirmando os dados de (ZHANG et al 2005).

A condensação de Knoevenagel, é caracterizada, por ser uma reação de adição nucleofílica de um composto de hidrogênio ativo “ácido” a um grupo carbonila, seguida por uma reação de desidratação na qual uma molécula de água é eliminada. O produto é, comumente, um conjugado *alfa, beta* e *nona*. A obtenção de 5-arilideno-2,4-tiazolidina-2,4-diona derivada de aldeídos, conduz teoricamente, aos isômeros de configuração *Z* e *E*. Entretanto o estudo das constantes de acoplamento vicinal entre o hidrogênio etilênico e o grupo carbonila, obtidas em experimentos de RMN das substâncias sintetizadas, foram compatíveis com o acoplamento apenas do isômero na configuração *Z*. O que é atribuído a intensa repulsão eletrônica entre os grupos ligantes X e o oxigênio-4 do anel 2,4-tiazolidinediona.

Experimentos de modelagem molecular, através do desenho das estruturas empregando-se o programa

Spartan for Windows, versão 4.0, no qual a geometria otimizada pelo método AM1, corroboraram com os experimentos sintéticos, onde os respectivos isômeros *Z* representam os mínimos energéticos dentre os estereoisômeros configuracionais *E* e *Z* (ZHANG et al 2008).

A citotoxicidade em células de câncer de laringe humano HEP2 foi analisada através do ensaio do MTT. O 5 arilideno-tiazolidina-2,4-diona; nas concentrações testadas (10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL e 1,25 µg/mL) inibiu o crescimento celular de forma dose-dependente durante um período de 72h.

O valor da IC50 para (5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona); foi 1,657 µg/mL. O composto sintetizado, apresentou atividade antiproliferativa promissora, já que de acordo com o National Cancer Institute U.S.A (NCI) acima de 60,45% de inibição de crescimento celular; é considerado ativo (ZHANG et al 2005). Nossos resultados, então de acordo com estudos anteriores de ((ZHANG et al 2008); onde foi verificado que o composto tiazolidínico, foi ativo em células tumorais do sarcoma 180. O composto tiazolidínico, possui a capacidade de ligar-se ao DNA, bloqueando as enzimas topoisomerase I e II; responsáveis pela divisão celular (ZYMOVICH, et al 1982) o que pode estar ligado ao seu poder citotóxico.

CONCLUSÃO

A metodologia para a obtenção das 5-arilideno-2,4-tiazolidinedionas foi eficiente e regioesletiva levando apenas aos isômeros *Z*, e em bons rendimentos. Suas estruturas foram caracterizadas por RMN, sendo que estas correlacionaram com os experimentos de modelagem molecular.

Concluimos que o composto 5-arilideno-tiazolidina-2,4-diona; apresentou citotoxicidade em células cancerígenas HEP2.

REFERÊNCIAS

CRUZ, A.S.; CUPPOLONI, K.M.; MARTINEZ, C.H.O.; GOMES, L.F.S. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, v. 47, n. 1/2, p. 51-57, 1987.

GUESS, W.L.; ROSENBLUTH, S.A.; SCHIMIDT, B.; AUTIAN, J. *J.Pharm Sci*, v. 54, p. 1545-1547, 1965.

ROGERO, S.O.; SOUZA-BAZZI, A.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S.; FERNANDES, K.C.; HIGA, O.Z. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, v. 59, n. (1/2), p. 1-5, 2000.

ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; SAIKI, M.; CORREA, O.V.; COSTA, I. *Toxicology in Vitro*, v. 14, n. 6, p. 497-504, 2000.

SILVA, C. G.; GRANCHI, D.; VERRI, E.; SAVARINO, L.; CAVEDAGNA, D.; PIZZOFERRATO, A. *Biomaterials*, v. 17, p. 1259-1264, 1996.

SILVA, P., A. American Type Culture Collection: Catalogue of Cell Lines & Hybrydomas. 8th ed. Rockville, 1994.

TAVEDAGNA, D. Cell Culture Test Methods. ASTM-STP 810 S.A. Brown ed. American Society for Testing and Materials, 1983.

UAIKI, M. United States Pharmacopeia, USP XXIII, Rockville, Twinbrook Parkway, v. 23, p. 97-99, 1995.

VAZ, C.O.V International standard: Biological Evaluation of Medical

Devices – Part 5: Tests for Cytotoxicity:
in vitro methods.
ISO 10993-5, 1992.

XORENFREUND, E.; BABICH, H.;
MARTIN-ALGUACIL, N. *Toxicology*
in vitro, v. 2, p.1-6, 1988.

ZAIGHY, M.; MOSMANN T.,
J. Immunol. Methods; Alley M.C.,
Cancer Research, 48, 589, 1988.

ZAYRA, T.; MELOS, J.L.R.; ECHEVAR
RIA, A. Síntese de 5- arilideno-2,4-
tiazolidinedionas *Condensação de*
Knoevenagel; v.21, p.112-117, 2008.

ZHANG, R.; KRENTZ, A.J ; BAILEY,
C. J.. *Drugs*, 2005, 65, 385.

ZHANG, X.; ZHANG, R.; ZHAO, H.;
etal Preclinical Pharmacology of the
Natural Product Anticancer Agent
Bryostatin 1 *Cancer*
Research, v.56, p.802-8, 2008.

ZYMOVICH, S.; VERINI, M. A. Cultura
de tecido na pesquisa de substâncias.
Rev. Ins. Antibiot., v.21, p. 193-204,
1982.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE MARCADORES MOLECULARES E ELEMENTOS REGULATÓRIOS

Narciso, M.G. ⁽¹⁾; Bevitori, R. ⁽¹⁾; Mello, R. ⁽¹⁾; Souza, T.L. ⁽¹⁾; Menezes, I.P.P. ⁽¹⁾
narciso@cnpaf.embrapa.br

⁽¹⁾Departamento de Biotecnologia, Embrapa Arroz e Feijão, Goiania-GO.

RESUMO

Este trabalho visa a mostrar um sistema de informação sobre marcadores moleculares (MM), um outro sobre elementos regulatórios (ER) e um conjunto de ferramentas que possibilita consultas nas duas bases de dados simultaneamente, MM e ER. Será feita uma introdução sobre MM e ER, a forma de construção dos sistemas de informação para MM, ER e as ferramentas de integração entre estas duas bases de dados, os resultados obtidos por estes sistemas e a conclusão sobre as vantagens destes sistemas. Assim, o objetivo deste trabalho é mostrar os sistemas MM, ER e a integração entre estes para geração de conhecimento. Estas bases são sobre arroz, feijão, e Arabidopsis thaliana, mas pode ser usadas para outras culturas, com pouco esforço de adaptação. Vale a pena mencionar que estas bases (MM e ER) são sobre arroz, feijão, e Arabidopsis thaliana, mas pode ser usadas para outras culturas, com pouco esforço de adaptação.

Palavras-chave: Marcadores Moleculares, Sistema de Informação, Elementos Regulatórios, Integração entre Bases de Dados.

INTRODUÇÃO

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados como ferramentas na identificação e discriminação de

genótipos, em análises de diversidade genética, na construção de mapas genéticos e no mapeamento de QTLs, entre outras aplicações. Desta forma, esforços têm sido feitos na identificação

de marcadores moleculares (MM) e na caracterização de genótipos e populações utilizando-se esses marcadores. Uma vez que existam informações sobre estes MM, estas podem ser armazenadas de forma estruturada, o que permite fácil recuperação e aplicação dos dados. Um dos enfoques deste trabalho é o desenvolvimento de um banco de dados de MM de feijão e arroz, que permite o armazenamento estruturado das características genotípicas de acessos e populações e a recuperação destas informações através de um sistema de busca, assim como a obtenção de saídas em formato de arquivo html ou csv (comma separated value), que é facilmente lido por uma planilha Excel ou Calc, disponíveis para diversos fins de análise.

Um outro objetivo deste trabalho é descrever sobre elementos regulatórios, que são pequenas sequências que atuam na expressão de genes e também em rotas metabólicas e assim tem grande importância em ser estudado, visto que pode ser aplicado a temas de interesse como resistência a estresse hídrico, doenças e pragas, aumento de produtividade, etc. Genes responsáveis pelas características descritas tem como fatores que ajudam sua expressão ou não elementos regulatórios, também chamados de cis elementos. Uma base de dados sobre este tema foi feita, bem como uma interface para acessos diversos e recuperação de dados.

Muitas vezes os marcadores moleculares e os elementos regulatórios se relacionam de alguma maneira. Para isso, foi construído um conjunto de ferramentas que possibilita o usuário a fazer consultas por palavras chaves, tal como é feito nas buscas oferecidas pelo site do Google, e assim poder obter resultados de duas bases distintas porém com possibilidade de ser integradas.

Assim, outro objetivo é mostrar uma forma de integração entre bases de dados distintas.

MATERIAL E MÉTODOS

O sistema sobre MM foi construído usando-se a linguagem PHP (PHP, 2011), JavaScript e sistema gerenciador de banco de dados MySQL (MYSQL, 2011). Para inserir dados na base de dados, foi feita uma interface para ler dados manualmente ou por arquivo do tipo texto ou cvs (comma separated values) e então inserir os dados na base de dados sobre MM. A interface web, que permite acesso ao sistema, feita em PHP e HTML, e a base de dados são executados no servidor web da Embrapa Arroz e Feijão. O programa JavaScript é executado no computador do usuário para montagem de formulário e verificação de correto preenchimento de dados, notificando se algum dado foi preenchido incorretamente. A forma de acesso ao sistema, bem como os dados que o sistema fornece como resultados são conforme especificação de pesquisados e técnicos da Embrapa Arroz e Feijão envolvidos na criação do sistema e sua construção é de acordo com técnicas de Engenharia de Software (Pressman et al, 2010) e Interface Homem-Computador (Baranauskas, 2009). Além de dados sobre marcadores, o sistema armazena também dados sobre fenótipos, relacionados aos marcadores. Assim, exemplificando, em um dado resultado da consulta, na qual aparecem os acessos e seus marcadores, basta “clicar com o mouse” em um acesso (BRS Campeiro, por exemplo) que uma outra janela no navegador aparecerá para mostrar dados fenotípicos deste acesso. Sobre a integração entre as bases de dados, seja o exemplo de consulta: quais são os MM de um dado gene e

quais são os elementos regulatórios que influenciam uma dada característica, como a resistência a seca, por exemplo. Para fazer esta consulta, faz-se necessário acessar duas bases de dados distintas. Assim, o mecanismo de busca, feito em PHP (pode ser feito em JSP também) faz a busca nas duas bases e encontra dados sobre os genes, MM e cis elementos sobre os genes. O sistema identifica palavras-chaves a partir da consulta, tal como é feita no site do Google, e retorna os dados obtidos, em formato csv ou HTML. Assim, tem-se um mecanismo de busca para duas bases distintas. Este mecanismo pode ser usado em mais bases de dados distintas, caso venha a existir, bastando para isso uma configuração adicional.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Serão apresentados os sistemas de informação sobre MM, inicialmente, e depois sobre ER e o mecanismo de busca entre as bases.

Um dos maiores desafios atuais dos pesquisadores é a organização da informação, de forma que ela esteja acessível para as análises diversas. Este sistema mantém as informações sobre marcadores moleculares organizadas e possibilita a recuperação selecionada desses dados através de filtros. As consultas são realizadas por cultura (feijão e arroz) e, posteriormente por variedades ou acessos. A busca ainda se dá por tipo de marcador e, por fim, por tipo de saída (HTML ou CSV, para ser lido por programas de planilha eletrônica). A Figura 1 ilustra as opções do sistema.



Banco de Dados de marcadores moleculares por

Escolha uma espécie, suas variedades e seus locos e r

Escolha uma espécie:	-Especies-
Escolha os acessos/variedades:	- Acesso/Variedade -
Escolha o tipo de Marcador:	- Tipo de Marcador -
Escolha os Marcadores:	- Marcadores -
Escolha o tipo de saída:	-HTML/Arquivo CSV-

OK Help

Figura 1 – Opções de consulta aos dados armazenados

A Figura 2 ilustra o preenchimento do formulário para a busca de dados sobre marcadores SSR ou microssatélites de feijão. Este sistema funciona como uma árvore: ao se escolher uma espécie, por exemplo o feijão, aparecem os acessos ou variedades disponíveis para o feijão. Escolhendo-se o(s) acesso(s), surgem opções de marcadores disponíveis para esses acessos (SSR, SNP, etc.) e, posteriormente, marcadores armazenados para esses acessos (por exemplo, BM 154 e BM 155). A última escolha é o formato do arquivo de saída: html ou csv (Figura 3). Feitas as escolhas, o sistema apresenta os dados existentes na base de dados (Figura 4). Os dados que estão sendo apresentados na Figura 4 são fictícios e têm o propósito de ilustração de uma possível resultado do sistema.

Escolha uma espécie: feijao

Escolha os acessos/variedades: BRS Campeiro, BRS Esplendor, BRS Estilo, BRS Grafite, BRS Majestoso

Escolha o tipo de Marcador: SSR

Escolha os Marcadores: BM 153, BM 154, BM 155, BM 156, BM 157

Escolha o tipo de saída: HTML

OK Help

Figura 2. Exemplo de preenchimento do formulário de busca

Abriu "marcadores.csv"

Você selecionou abrir:

marcadores.csv

Tipo: Arquivo de Valores Separados por Vírgulas do Microsoft Office
Site: http://200.17.55.25

O que o Firefox deve fazer?

Abrir com o: Microsoft Office Excel (aplicativo padrão)

Download

Memorizar a decisão para este tipo de arquivo

OK Cancelar

Escolha os Marcadores: feijao, BRS Campeiro, BRS Esplendor, BRS Estilo, BRS Grafite, BRS Majestoso

Escolha o tipo de saída: Arquivo .CSV

OK Help

Figura 3. Exemplo de escolha de resultados de saída (no caso, CSV)

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Tipo(s) de Marcador(es) Utilizados: SSR								
2	Nome da Espécie: feijao								
3	AZ301561, AZ301561		BM 154	BM 154	BM 155	BM 155	BM 157	BM 157	
4	Alelo1	Alelo2	Alelo1	Alelo2	Alelo1	Alelo2	Alelo1	Alelo2	
5	BRS Grafite	158	158	158	158	175	175	158	158
6	BRS Majes	158	158	158	158	172	172	158	158
7									
8									

Figura 4. Exemplo de resultado de consulta em formato CSV, carregado em planilha Excel

Os dados podem ser inseridos no sistema pelo usuário gerador, que também decide se os disponibiliza total ou parcialmente para outros usuários. O usuário que insere os dados no sistema é o único que pode alterá-los ou removê-

los, o que garante a integridade das informações armazenadas. Por estar instalado no servidor da Embrapa Arroz e Feijão, os dados ficam assegurados tanto de perdas devido a falhas nos computadores individuais, quanto de acessos indesejados por usuários externos ao sistema. Vale a pena mencionar que este sistema é software livre e qualquer um pode usar sem restrições. O sistema pode ser adquirido através de contato com os autores.

Sobre o sistema de informação sobre elementos regulatórios, será apresentado sobre ERD (Early Responsive to Dehydration), o qual é importante quanto a elementos regulatórios sobre seca ou resistência à deficiência hídrica.

Sequencia Cis	CisActing	Variedade	ERD
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD1
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD6
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD10
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD16
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD15
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD13
CATGTG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD4
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD1
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD6
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD10
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD16
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD15
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD13
CACATG	MYC	Arabidopsis Thaliana	ERD4

Figura 5. Resultado de uma busca por palavras (drought)

A busca ilustrada na Figura 5 mostra uma série de ERDs e também as variedades e dados sobre cis-elementos (sequência e cis Acting). Para fazer uma busca dessa sem ter um sistema, seria necessário obter todos os genes relativos a ERD, obter a sequência upstream e com esta gerar um resultado que conteria todos os links. Com todos estes links, seriam feitas consultas em todas as páginas para então saber qual tem alguma característica ligada à seca

(drought). Outros resultados que o usuário pode ter é quanto a consultas por cis-elementos conhecidos e funções. Um exemplo de saída, em HTML, seria tal como ilustra a Figura 6. Outras consultas são com respeito a busca por cis-elementos comuns entre ERDs (o que os ERDs cadastrados no sistema têm em comum) e busca por cis-elementos por ERDs (o que cada ERDs tem com respeito a cis-elementos). Com estes resultados fica mais fácil visualizar a participação de cada cis-elementos em um dado conjunto de ERDs. A interface web e o banco de dados vazio podem ser disponibilizados ao público, bem com todo o procedimento de captura de dados e sua inserção no banco de dados para consulta pelo sistema.

Nome do ERDS	CisActing	Especie	Sequência Cis
ERD1	-10PEHVPSBD	Arabidopsis Thaliana	TATTCT
ERD1	14BPATERD1	Arabidopsis Thaliana	CACTAAATTGTCAC
ERD1	2SSEEDPROTBANAPA	Arabidopsis Thaliana	CAAAACAC

Figura 6. Trecho de um resultado de uma consulta por Cis-Elementos e sua função

O sistema que faz varredura entre as bases de dados possui um repositório de dados que guarda as os nomes das bases de dados disponíveis para consulta e também os dados sobre tabelas de cada base e suas variáveis. Com estes dados sobre as bases de dados, o sistema consegue buscar os dados sobre palavras-chaves digitadas e então faz as buscas pedidas.

A página inicial deste sistema está ilustrada na Figura 7.



Figura 7. Busca por ERD/cis elementos em arabidopsis e Oryza sativa

Os resultados podem ser apresentados em formato HTML ou CSV. Um exemplo de um trecho dos resultados apresentados está mostrado a seguir

Os resultados obtidos com as palavras-chaves drought, arabidopsis, oryza e erd foram

Sequencia CIS	Cis Acting	Variedade	ERD
CATGTG	MYC	Arabidopsis thaliana	ERD 1
CATGTG	MYC	Oryza sativa	ERD 5
CATGTG	MYC	Arabidopsis thaliana	ERD 6
CATGTG	MYC	Oryza sativa	ERD 15
CATGTG	MYC	Arabidopsis thaliana	ERD 10
CATGTG	MYC	Oryza sativa	ERD 16

Figura 8. Trecho de resultado da busca por ERD/cis elementos em arabidopsis e Oryza sativa

CONCLUSÃO

A informação, quando organizada e acessível, amplia a possibilidade de geração de conhecimento, por expandir sua aplicação para além dos objetivos para os quais ela foi primariamente produzida. A utilização de ferramentas de informática é crítica para o armazenamento seguro da imensa quantidade de dados moleculares gerados diariamente nos laboratórios de biotecnologia. Além disso, sistemas de informação para MM como o aqui desenvolvido são essenciais para a integração dos dados moleculares com

os dados fenotípicos gerados por outras áreas de conhecimento, contribuindo para a consolidação do uso de informações genéticas avançadas à rotina dos programas de melhoramento de plantas e às ações de curadoria dos bancos de germoplasma.

Sobre o mecanismo de busca em bases de dados diferentes, este é simples de usar, isto é, basta inserir palavras-chaves e então este sistema faz a varredura nas bases de dados configuradas (MM e ER) e então os resultados são apresentados, que podem gerar conhecimento, pelo fato de correlacionar temas distintos (MM e ER).

Os sistemas apresentados são software livre e podem ser adquiridos por contato aos autores.

REFERÊNCIAS

Baranauskas, M. L. Interface Homem-Computador. Publicações Unicamp-SP, 2009.

Dean, C., Schimidt, R. Plant genomes: a current molecular description. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.46, n.xxx, p. 395-418, 1995.

Pressman, R. Engenharia de Software. Ed McGraw Hill, 2007.

PHP. Disponível em www.php.net. Visitado em 20 de agosto de 2011.

MYSQL. Disponível em www.mysql.org. Visitado em 20 de agosto de 2011.

TERMITOFAUNA (INSECTA: ISOPTERA) EM REMANESCENTE DE MATA ATLÂNTICA INSERIDO EM CANAVIAL DA ZONA DA MATA SUL DO ESTADO DE PERNAMBUCO

Couto, A.A.V.O.⁽¹⁾; Dutra, D.S.⁽¹⁾; Bezerra, D.M.⁽¹⁾; Albuquerque, A.C.⁽¹⁾; Oliveira, M.P.⁽¹⁾
alane.couto@gmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco

RESUMO

A Mata Atlântica encontra-se atualmente reduzida a pequenas 'ilhas' de floresta em grande parte de sua área de distribuição original. A devastação deste bioma tem contribuído para que um grupo de grande importância ecológica, os cupins, venha a ser considerado praga, ocasionando danos tanto em meio urbano quanto em culturas de importância econômica como é o caso da cana-de-açúcar. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito que a proximidade com o canavial exerce sobre a taxocenose de térmitas em um remanescente de Mata Atlântica na zona da Mata Sul do Estado de Pernambuco. Foram demarcados 3 transectos de 200m², distantes 10, 50 e 300m do canavial. Cada transecto foi dividido em 20 setores e em 10 setores intercalados os cupins foram procurados. Para cada transecto foi obtido riqueza e diversidade e para cada gênero encontrado foram determinados os Padrões de Ocorrência (PO) e Dominância (PD). A proximidade com o canavial agiu negativamente sobre a riqueza e diversidade de térmitas. Dos 19 gêneros encontrados, 5 foram encontrados anteriormente em associação com a cultura de cana-de-açúcar. Recomenda-se o

acompanhamento periódico do remanescente de Mata Atlântica, bem como do canavial ao seu entorno, a fim de se evitar possíveis infestações.

Palavras-chave: Cupins; Efeito de borda; Cana-de-açúcar.

INTRODUÇÃO

Os cupins ou térmitas, insetos pertencentes à Ordem Isoptera, encontram-se amplamente distribuídos entre as regiões tropicais e subtropicais do mundo entre as latitudes de 52° N e 45° S (Fontes e Araújo, 1999 e Eggleton, 2000).

No Brasil ocorrem cerca de 300 espécies distribuídas entre as famílias Kalotermitidae, Serritermitidae, Rhinotermitidae e Termitidae (Constantino, 1999).

Importantes ecologicamente constituem juntamente com as formigas enorme parte da biomassa em ecossistemas tropicais, funcionando como consumidores primários decompositores (Zorzenon e Potenza, 1998). Também atuam favorecendo a porosidade do solo devido a construções de túneis e galerias, o que contribui para um melhoramento da aeração do terreno e maior infiltração das raízes vegetais (Wood e Sands, 1978; Dangerfield Maccarthy e Ellery, 1998; Jouquet et al., 2005).

Apesar do essencial papel ecológico desempenhado, os cupins são mais conhecidos pelos prejuízos que causam ao danificarem culturas de importância econômica, bem como as estruturas de edificações rurais ou urbanas que levam madeira como matéria-prima. Em grande parte, os problemas ocasionados pelos cupins é devido à devastação das florestas – seu habitat natural. (Menezes et al, 2007).

O rápido crescimento e a dispersão geográfica das populações nos principais países tropicais, bem como a

expansão da chamada fronteira agrícola, tendem a deixar as áreas de florestas remanescentes imersas em paisagens dominadas por pastagens, plantações e áreas urbanas (Tabarelli, Pinto e Leal, 2009). É o que tem ocorrido a Mata Atlântica, considerada um dos maiores repositórios de biodiversidade do planeta e um dos 34 hotspots mundiais de biodiversidade, que são regiões de elevada riqueza biológica, que abrigam a maior parte da biodiversidade do planeta e estão sob alto grau de ameaça com 70% ou mais da vegetação original já destruída (Backes e Irgang, 2004 e International Conservation, 2010).

O Bioma Mata Atlântica encontra-se atualmente reduzido a pequenas ‘ilhas’ de floresta em grande parte de sua área de distribuição original (Tabarelli, Pinto e Leal, 2009). No Nordeste, esta fragmentação se deu de forma acentuada. Nos estados de Pernambuco e Alagoas, por exemplo, grandes extensões de canaviais e pastagens substituíram as florestas, restando menos 10% e 4% da sua cobertura original, respectivamente (Backes e Irgang, 2004 e Tonhasca Junior, 2005). Dentro desta perspectiva, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito que a proximidade com o canavial exerce sobre a taxocenose de térmitas em um remanescente de Mata Atlântica.

MATERIAL E MÉTODOS

As atividades de campo foram realizadas entre dezembro de 2009 e janeiro de 2010 na Usina União Indústria S/A, localizada no município

de Primavera a 81,6 km do Recife, Zona da Mata Sul do Estado de Pernambuco (CONDEPE/FIDEM, 2010).

Foram demarcados três transectos paralelos, distantes 10, 50 e 300 metros da borda do remanescente de Mata Atlântica próximo ao canavial. Cada transecto, medindo 200 m² (100 x 2 m), foi dividido em 20 setores de 10 m² (5 x 2m) e em dez setores intercalados, os cupins foram procurados em todos os possíveis microhabitats (solo, serrapilheira, sob pedras, madeira em diferentes estágios de decomposição, sob/sobre casca de árvore, ninhos e trilhas), com esforço amostral de 90 minutos/pessoa/setor (adaptado de Florencio e Diehl, 2006). Uma vez coletadas, as amostras foram acondicionada em recipientes plásticos individuais e levadas ao Laboratório de Térmites (LABOTERMES) na Universidade Federal Rural de Pernambuco, para posterior triagem e identificação.

Após a triagem, para a qual se utilizou bandejas, pincéis e pinças, acondicionaram-se os espécimes em frascos de vidro, devidamente etiquetados, contendo álcool a 80%. Em seguida, as amostras foram submetidas à identificação em nível genérico utilizando chaves dicotômicas (Constantino, 1999; Constantino, 2002).

Para cada transecto foram calculados os índices de diversidade de Shannon-Wiener e Simpson com o auxílio do programa Bioestat 5.0.

Para a complementação das análises faunísticas foram determinados para cada gênero, de acordo com o transecto os padrões de ocorrência e dominância.

O Padrão de ocorrência (PO) foi obtido a partir do número de setores em que o gênero foi encontrado, dividido pelo número total de setores avaliados multiplicado por 100. Os gêneros foram categorizados de acordo com o seu padrão de ocorrência em: raro, quando

presente em 1% a 10% dos setores; esporádico, em 11% a 40%; comum, em 41% a 70%; freqüente, em 71% a 99%, e constante quando presente em 100% dos setores avaliados.

O Padrão de dominância (PD) foi obtido a partir do número de ocorrências de cada gênero dividido pelo número total de ocorrências por transecto multiplicado por 100. Os gêneros foram categorizados como raro, quando a ocorrência variou de 1% a 10% do total; acessório, de 11% e 49%; e dominante, quando a ocorrência do gênero variou de 50% a 100% do total de ocorrências de térmitas por local.

Por fim, a combinação dos padrões de ocorrência e de dominância por transecto foi utilizada como uma indicação da abundância de cada gênero. Assim, um gênero foi considerado comum, quando constante e dominante em um transecto; intermediário, quando: a) raro, esporádico, comum ou freqüente e dominante; b) raro, esporádico, comum, freqüente ou constante e acessório; c) esporádica, comum, freqüente ou constante e raro; e, finalmente, raro, no caso de ter padrão de ocorrência raro e dominância também raro (adaptado de Florencio e Diehl, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados ao todo 19 gêneros de cupins (Tabela I), distribuídos entre as três principais famílias de ocorrência no Brasil (Kalotermitidae, Termitidae e Rhinotermitidae).

Em todos os transectos a família Termitidae foi dominante, representando 80% dos gêneros encontrados, seguida pelas famílias Rhinotermitidae (15%) e Kalotermitidae (5%).

A menor riqueza e diversidade foram observadas no primeiro transecto, seguido pelo segundo e terceiro (Tabela

I). Esse resultado é devido ao fato dos primeiros transectos sofrerem uma maior influência do chamado “efeito de borda”, que são modificações das condições microclimáticas na zona de transição entre floresta e área modificada (no presente estudo, esta área é representada pelo cultivo de cana-de-açúcar). Tais modificações são

oriundas da maior penetração da luz e maior velocidade do vento, o que provoca acentuada elevação da temperatura, redução da umidade e aumento da turbulência do ar (Tonhasca Junior, 2005).

Quanto à abundância registrada, os gêneros encontrados variaram entre as categorias intermediário e raro.

Tabela 1 - Número de setores (N) em que o gênero foi coletado, frequência (%) dos padrões de ocorrência (PO) e de dominância (PD) e categorias (C: C – constante; I - intermediário ou R - raro) dos gêneros de térmitas coletados em remanescente de Mata Atlântica da Usina União Indústria, Primavera, PE, entre dezembro de 2009 e janeiro de 2010.

Família/Subfamília/Gênero	Transectos											
	(10m)				(50m)				(300m)			
	N	PO	PD	C	N	PO	PD	C	N	PO	PD	C
Kalotermitidae												
<i>Calcaritermes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	3	R
Termitidae												
Apicotermitinae												
<i>Anoplotermes</i>	3	30	10	I	4	40	14	I	3	30	10	I
<i>Aparatermes</i>	4	40	13	I	-	-	-		2	20	7	I
<i>Grigiotermes</i>	1	10	3	R	2	20	7	I	-	-	-	-
<i>Ruptitermes</i>	4	40	13	I	1	10	4	R	-	-	-	-
<i>Tetimatermes</i>	1	10	3	R	1	10	4	R	2	20	7	I
Nasutitermitinae												
<i>Armitermes</i>	1	10	3	R	-	-	-	-	1	10	3	R
<i>Diversitermes</i>	3	30	10	I	2	20	7	I	2	20	7	I
<i>Embiratermes</i>	1	10	3	R	2	20	7	I	6	60	19	I
<i>Nasutitermes</i>	10	100	33	I	10	100	36	I	7	70	23	I
<i>Velocitermes</i>	-	-	-	-	2	20	7	I	-	-	-	-
Termitinae												
<i>Amitermes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	3	R
<i>Cavitermes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	3	R
<i>Microcerotermes</i>	-	-	-	-	1	10	4	R	-	-	-	-
<i>Neocapritermes</i>	1	10	3	R	1	10	4	R	1	10	3	R
<i>Orthognathotermes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	3	R

Rhinotermitidae												
<i>Coptotermes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	3	R
<i>Heterotermes</i>	-	-	-	-	1	10	4	R	2	20	7	I
<i>Rhinotermes</i>	1	10	3	R	1	10	4	R	-	-	-	-

Tabela 2. Valores de riqueza e diversidade de Shannon-Wiener e Simpson de acordo com o transecto estudado em remanescente de Mata Atlântica da Usina União Indústria, Primavera, PE, entre dezembro de 2009 e janeiro de 2010.

	Transecto 1 (10m)	Transecto 2 (50m)	Transecto 3 (300m)
Riqueza	11	12	14
Índice de diversidade de Shannon-Wiener	0.8878	0.9180	1.0261
Índice de diversidade de Simpson	0.8267	0.8240	0.8783

No primeiro transecto, dos onze gêneros encontrados, seis foram categorizados como raro e cinco como intermediários; no segundo transecto, dos doze gêneros encontrados, seis foram categorizados como raro e seis como intermediários; no terceiro transecto, dos catorze gêneros encontrados, sete foram categorizados como raro e sete como intermediários.

A maior frequência de gêneros categorizados como raros no terceiro transecto, foi decorrente, provavelmente, da maior riqueza observada. Apesar de serem gêneros distintos, muitos deles apresentam hábitos semelhantes, resultando em disputa pelos mesmos recursos (competição interespecífica). Segundo Odum (1988), a competição entre espécies semelhantes ecologicamente pode levar a diminuição do número de indivíduos de uma população que passa a ficar restrita a pequenas áreas. Sendo assim, a menor incidência de gêneros, categorizados como raros nos transectos demarcados a 10 metros da borda do fragmento de Mata Atlântica, é decorrente provavelmente da menor riqueza observada, uma vez que apenas

populações capazes de adaptar-se a condições adversas são encontradas neste local.

CONCLUSÃO

Compondo a termitofauna do fragmento de Mata Atlântica estudado, foram identificados dezenove (19) gêneros de cupins distribuídos entre as famílias Termitidae, Rhinotermitidae e Kalotermitidae.

A proximidade com o canal exerceu uma ação negativa sobre a termifauna da área estudada, sendo este fato refletido pela menor riqueza e diversidade observada no primeiro transecto (demarcados a 10 metros da borda) em relação à riqueza e diversidade apresentada pelos últimos transectos (demarcados a 50 e a 300 metros da borda).

Os gêneros *Amitermes*, *Nasutitermes*, *Cylindrotermes*, *Neocapritermes* e *Heterotermes* merecem destaque por terem sido anteriormente registrados ocasionando algum dano à cultura de cana-de-açúcar. Ressalta-se ainda o fato de todos estes gêneros terem sido registrados no transecto mais próximo

ao canalial. Remenda-se, portanto, um acompanhamento periódico do remanescente de Mata Atlântica, assim como do canalial ao seu entorno a fim de se evitar possíveis infestações.

REFERÊNCIAS

Agência Estadual de Planejamento e Pesquisas de Pernambuco. Perfil Municipal. Disponível em: <http://www.portais.pe.gov.br/c/portal/layout?p_1_id=PUB.1557.57>. Acesso em: 06/01/2010.

BACKES, P e IRGANG, B. Mata Atlântica: As árvores e a Paisagem. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. 396 p.

CONSTANTINO, R. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. Papéis Avulsos de Zoologia. v. 40, p. 387-448. 1999.

CONSTANTINO, R.. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. Journal of Applied Entomology, v. 126, p. 355-365. 2002.

DANGERFIELD, J. M.; MACCARTHY, T. S. e ELLERY, W. N. The mound building termite *Macrotermes michaelseni* as an ecosystem engineer. Journal of Tropical Ecology, v. 14, Part 4, p. 507-520, jul. 1998.

EGGLETON P. Global patterns of termite diversity. In: ABE, T.; BIGNELL, D.E. e HIGASHI, M.: Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology. Kluwer Academic Publications, Dordrecht, 2000. p. 25-51.

FLORENCIO, D. F. e DIEHL, E. Termitofauna (Insecta, Isoptera) em Remanescentes de Floresta Estacional

Semidecidual em São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Entomologia, v. 50, n. 4, p. 505-511, dez. 2006.

FONTES, L. R.; ARAUJO, R. L. Os cupins. In: MARICONI, F. A. M. (coord.) Insetos e outros invasores de residências. Piracicaba: FEALQ. 1999. Cap. 2, p. 35-90.

INTERNATIONAL CONSERVATION. Biodiversity Hotspots. Disponível em: <<http://www.biodiversityhotspots.org/xp/Hotspots/Pages/default.aspx>>. Acesso em: 20/01/2010.

JOUQUET, P.; BARRÉ, P.; LEPAGE, M. e VELD, B. Impact of subterranean fungus-growing termites (Isoptera, Macrotermitiane) on chosen soil properties in a West African Savanna. Biology and Fertility of soils, Berlin, v. 41, n.5, p. 365-370, Jul. 2005.

MENEZES, E. B; AQUINO, A. M; MENEZES, E. L. A; CORREIA, M. E. F; SOUZA, J. H; SOUZA, R. M. Cupins: taxonomia, biologia, ecologia e sua importância nos sistemas agropecuários. Embrapa Agrobiologia. 2007. 53p.

ODUM, E.P. Ecologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1988. p. 434.

TABARELLI, M.; PINTO, S. R. e LEAL, I.R. Floresta Atlântica nordestina: Fragmentação, degeneração e perda de biodiversidade. Ciência Hoje. v. 44, n. 263. 2009.

TONHASCA JÚNIOR, T. Ecologia e história natural da Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Intendência, 2005.

ZORZENON, F. J. e POTENZA, M. R. Cupins: pragas em áreas urbanas.

Boletim Técnico do Instituto Biológico.
n. 10. São Paulo, 1998. 40p.

M.V. Production Ecology of ants and
termites. Cambridge: Cambridge
University. 1978. p. 245-292.

WOOD, T. G. e SANDS, W. A. The roles
of termites in ecosystems. In: BRIAN,

UMA NOVA PROPOSTA DE BUSCA POR TANDEM REPEATS

Narciso, M.G(1); Yamagishi, M.E.B.(2)

narciso@cnpaf.embrapa.br

(1)Biotechnology Department, Embrapa Arroz e Feijão, Goiania-GO; (2)Bioinformatic Department,
Embrapa Informática Agropecuária, Campinas-SP.

RESUMO

Tandem Repeats (TR) são sequências onde os mesmos padrões se repetem consecutivamente e têm sido usado como marcadores genômicos (microsatélite e minissatélite) há muitos anos. Recentemente, novos estudos têm associado TR a importantes processos regulatórios o que aumentou consideravelmente o interesse em TR. A redução exponencial do custo de sequenciamento causado por novas tecnologias resultou em proliferação de projetos relacionados a genoma e assim a busca por marcadores moleculares, tais como microsatélites e minissatélites (TR) e SNPs, se torna cada vez maior. Assim, é importante ter um algoritmo mais rápido para busca de TR em genoma e também que forneça o maior número possível de TR. Neste trabalho é proposta uma nova estratégia para se obter TR de forma mais rápida e também com eficiência. Esta nova proposta, que será chamada de ConvolutionTR, reduz o tempo de busca por TR em torno de 30% a 50% em relação a outros enfoques conhecidos da literatura e também consegue obter uma quantidade maior de TR.

Palavras-chave: Tandem Repeats, Algoritmo, Desempenho.

INTRODUÇÃO

Com a conclusão de diversos projetos relacionados a genomas, vieram à tona alguns fatos inesperados como, por exemplo, a constatação que, aproximadamente, 50% dos genomas de mamíferos são compostos por sequências repetitivas (Bannert & Kurth, 2004). Nas plantas essa proporção pode alcançar fenomenais 90% (Kazazian, 2004; SanMiguel et al., 1996). As sequências repetitivas podem ser classificadas como tandem repeats

(TR) ou interspersed repeats. São exemplos do primeiro grupo os microsatélites, minissatélites e telômeros; do segundo grupo, os elementos genéticos móveis ou, simplesmente, transposons. Há aplicações instrumentais para os dois grupos. Os minissatélites são utilizados como marcadores moleculares em estudos de melhoramento genético de plantas e de animais para identificação de genes de interesse científico ou econômico (Lander & Botstein, 1989; Sharma et al., 2007), ou, mais

comumente, em testes de paternidade (Botstein et al., 1980; Rocheta et al., 2007); já os transposons têm aplicações na regulação gênica e terapia genética (Ivics & Izsvak, 2006).

Identificar as seqüências repetitivas em um genoma pode ser visto como um problema de alinhamento múltiplo de seqüências, que é um problema NP-Hard (Wang & Jiang, 1994; Jiang et al., 2000). O simples alinhamento local de duas seqüências já é um problema computacionalmente caro (Waterman & Smith, 1981), e exigiu o desenvolvimento de heurísticas como o FASTA (Wilbur & Lipman, 1983) e o BLAST (Altschul et al., 1990) para acelerar, e, conseqüentemente, tornar viável a busca em bases de dados gigantescas.

Há uma coleção significativa de softwares para identificar seqüências repetitivas. Talvez o mais popular seja o Tandem Repeat Finder (<http://tandem.bu.edu/trf/trf.html>).

Entretanto, dada a complexidade do problema de identificar as seqüências repetitivas, a quantidade de novos softwares e metodologias cresce a cada ano (Zhi et al., 2006; Price et al., 2005; Kurtz et al., 2001). Uma observação a ser feita é que cada um destes softwares não consegue obter todas as seqüências possíveis ou ainda são limitados a um tamanho máximo de seqüência (não conseguem rodar para um genoma de arroz, por exemplo) ou necessitam de grande quantidade de processamento e memória para serem executados. Enfim, existem limitações nos algoritmos e assim ainda são necessárias pesquisas com a finalidade de se obter algoritmos que possam ser executados de forma a obter todos os TR de uma seqüência, por maior que ela seja, e também em tempo razoável.

Este trabalho mostra um algoritmo, de propósito geral, para se obter todas as TR, qualquer que seja o tamanho, em uma seqüência qualquer. Uma das vantagens deste algoritmo é que não necessita de estrutura de dados complexas e também não necessita de grande quantidade de memória e é executado rapidamente, conforme poderá ser visto nos resultados a serem mostrados neste trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

A ideia central deste algoritmo é como uma seqüência é comparada com ela mesma, defasada de k posições. Assim, para o caso do DNA, se k for igual a 1, será possível obter as repetições de uma mesma base nitrogenada A, T, C ou G (período da seqüência é igual a 1). Se k for igual a 2, será possível obter a repetição de sequencias de duas bases (por exemplo, AT, CT, GC, AG, etc.). Se k for igual a 3, será possível obter uma seqüência de repetições de 3 bases (pelo menos uma destas é diferente e o período é 3), e assim por diante, valendo para $k = n$. Para exemplificar, seja a seqüência abaixo.

TCGGATGATTTTTTATAG

Comparando a mesma seqüência com o atraso de uma posição, tem-se o seguinte:

```
T C G A T G A T T T T T T A G
  T C G A T G A T T T T T T A
0 0 0 0 0 0 0 1 1 1 1 1 0 0
```

A primeira e segunda linhas são as mesmas com um atraso de uma base da primeira em relação a segunda linha. A terceira linha é composta somente por 0 e 1, e 0 indica comparação de bases diferentes e 1 indica comparação de bases iguais. Observe que existe uma seqüência de TTTTTT e a terceira linha indica 111110. Por causa do atraso das

duas seqüências, o número de valores iguais a 1 é uma unidade a menos que a quantidade da repetição. Neste caso, para 6 repetições (TTTTTT), tem-se 5 repetições de 1 (11111). De forma análoga, seja a seqüência abaixo, para exemplificar a repetição de uma seqüência repetida de duas bases.

GATGATATATATATATC

Se compararmos esta seqüência com ela mesma com o atraso de duas bases, tem-se a seguinte comparação.

```

G A T G A T A T A T A T A T A T C
  G A T G A T A T A T A T A T A
0 0 0 0 0 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 0

```

Observe que novamente, temos uma seqüência (ATATATATATAT), com período de duas bases e frequência de 6 repetições. Observe que se teve 10 repetições de 1 (1111111111) na terceira linha, que mostra a comparação entre as duas seqüências com atraso de duas bases. Como o atraso é de duas bases, e tem-se 10 repetições, então basta dividir 10 por 2 (número do atraso, que indica o período da seqüência desejada). Assim, tem-se 5, que é a frequência da seqüência menos 1 (o atraso).

Assim, de forma geral, se tiver uma seqüência de período p, e frequência de repetições f, e k for o número do atraso, tem-se que, se o número n de comparações iguais a 1 obtidos for igual a $n = (f * k - k) = (f - 1) * k$ e $k = p$, então temos uma seqüência periódica, com período p (igual ao atraso k) e frequência f. Matematicamente, seria

$$f = (n/k) + 1 \quad e \quad p = k$$

O valor da divisão de n/k deve ser transformado para inteiro, desprezando-se a casa decimal.

Com esta ideia central, é possível de se fazer um algoritmo rápido para se obter as seqüências de repetições desejadas. Pode-se fazer uma laço de repetição

(loop) com i variando de 1 a S (período máximo de busca) e comparar a seqüência com ela mesma com o atraso i. De forma geral, seria seqüência (j) versus seqüência (j - i) (uma comparação), j variando de i a F, F é a posição final da seqüência (tamanho da seqüência). Assim, para cada valor de i, ter-se-ia seqüências de 1 ou 0, resultado da comparação, e cada uma das seqüências de 1 seria avaliada para ver se a divisão da frequência desta seqüência por i seja exata ou a parte inteira maior que um valor pré-estabelecido. Observe que se procura a seqüência de período mínimo i (múltiplos de i não valem).

Um detalhe a ser levado em conta é que se podem ter períodos nos quais existem outros períodos. Por exemplo, seja a seqüência abaixo.

AAAAATAAAAATAAAAATAAAAATAAAAAT

A seqüência tem um período AAAAAT. Porém, este período tem o período AAAAA. Assim, quando no atraso de uma base (k = 1), o algoritmo vai encontrar a seqüência AAAAA. Quando o atraso for igual a 6 (k = 6), o algoritmo vai encontrar a seqüência AAAAAT. O algoritmo mostra todos esses períodos e frequências desde que sejam mínimos. Assim, mostraria os períodos A e AAAAAT, com a respectiva posição de início. Fica a cargo de quem vai analisar ver qual o período mínimo que começa na dada posição que vai ser considerado.

Sobre período mínimo, para melhor entendimento, seja a seqüência CAAAAAAAAT. Essa seqüência poderia ter os períodos A (frequência 10), AA (frequência 5), AAA (frequência 3), porém, como o período mínimo é 1, então esse é o valor que será mostrado pelo algoritmo. Se uma seqüência é múltipla de uma que foi já obtida, então esta seqüência que se repete será descartada em favor da que

tiver um período mínimo (claro que se referem as mesmas bases da seqüência em estudo).

O algoritmo para este tipo de análise de seqüência para obter tandem repeats seria.

Algoritmo ConvolutionTR

Ler a sequencia de interesse. Seja F o tamanho da seqüência.

TamanhoMinimoDaFrequencia = 5;
// altere aqui se quiser uma frequência maior

Repita para i = 1, 2, ..., S, S é o período máximo desejado

contador_de_1 = 0;

Repita para j = i, i+1, i+2, ...F - i

Se (sequencia(j) = sequencia(j - i))

então contador_de_1 = contador_de_1 + 1;

senão

contador_de_1_anterior = contador_de_1;

contador_de_1 = 0

Fim_Se

Se (contador_de_1 = 0 e (i+contador_de_1_anterior / i) >= TamanhoMinimoDaFrequencia)

então

pos = j - i*

contador_de_1 + i;

//

// Imprimir resultado parcial

imprimir (“posicao inicial >>” + pos)

repita para r = pos, pos +1,...j-1

imprima

(sequência(r))

fim_repita

Fim_Se

Fim_Repita para j

Fim_Repita para i

Acima está o algoritmo, de forma simplificada, do que seria para se obter tandem repeats de uma seqüência.

Obviamente, outros detalhes, como, por exemplo, verificar se a seqüência obtida é múltipla de uma outra seqüência já obtida anteriormente, não estão descritos acima por amor a simplicidade.

O que geralmente se tem são seqüências grandes, cujo tamanho podem ser de dezenas de bytes a alguns GB. Assim, não é possível ler uma seqüência muito grande em uma só variável (infelizmente) e executar o algoritmo acima. O que é feito é ler a seqüência por partes, do início ao fim, e para cada parte lida executar o algoritmo acima. Para se fazer isso, tem que se considerar a seqüência anterior lida e a posterior a ser lida pois uma seqüência pode ter começado no final da seqüência anteriormente lida ou ainda, não terminar na seqüência atual. Enfim, tem mais casos a serem considerados. Assim, imagine um arquivo que tenha uma seqüência com 1.000.000 de bases. Admita que esse tamanho seja dividido 100 leituras de 10.000 bases. Imagine, sem perda de generalidade, que se deseja obter seqüências de até 100 bases como período e que se esteja na leitura do décimo pedaço da seqüência total. Assim, tem-se que se levar em conta se a seqüência anterior, ao ser analisada, terminou em algum atraso k com o valor 1. Se terminou, isso significa que a seqüência de 1 ainda pode continuar na seqüência atual que está sendo analisada. Então, todas as seqüências parciais de 1 que vieram da seqüência anterior deverão ser guardadas (claro que aquelas que se referem ao final da seqüência anterior e que vão continuar na seqüência atual). Esse detalhe tem que ser adicionado ao algoritmo acima, pois ele é para o caso de quando a seqüência é pequena suficiente para ser guardada em uma variável. O desempenho do algoritmo será tanto melhor quanto maior for a parcela da seqüência total que puder ser

armazenada na variável (quanto mais memória, melhor).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O algoritmo da proposta deste trabalho foi feito usando a linguagem C e pode ser executado em qualquer plataforma, após ser compilado, visto que só depende de bibliotecas de C que existem em todos os compiladores. Este programa então foi comparado com alguns sistemas para se obter tandem repeats, que podem ser vistos em

http://en.wikipedia.org/wiki/Tandem_repeat. Estes sistemas são TRF (Tandem Repeat Finder), disponível em <http://tandem.bu.edu/trf/trf.html>,

MREPS, disponível em <http://bioinfo.lifl.fr/mreps/>, SWAN (Structure Word Analyser), disponível em <http://favorov.imb.ac.ru/swan/>, PHOBUS, disponível em http://www.ruhr-uni-bochum.de/spezzoo/cm/cm_phobos.htm

O ambiente computacional no qual foram feitos os testes (comparação) é CentOS linux, v 5.5, kernel 2.6.18-194.3.1.el5, 64 bits, 16 Intel(R) Xeon(R) CPUs, 2.80GHz cada CPU, cache igual a 8192 KB.

As Tabelas 1, 2 mostram comparações entre a nova proposta e o algoritmo TRF para tempo de execução e também para TR obtidos quanto à sua frequência.

Tabela 1. TRF x ConvolutionTR – tempo de execução (s)

Sequences	TRF (s)	ConvolutionTR (s)
Seq 1	1067	570
Seq 2	107	66
Seq 3	300	187
Seq 4	61	41

Na tabela acima, as sequências são:

Seq 1 – DNA da variedade Nipponbare (arroz)

Seq 2 – cromossomo 1 da variedade Nipponbare –

Seq 3 – DNA de Arabidopsis thaliana (At)

Seq 4 - Cromos. 5 de Arab thaliana

Tabela 2. Frequência de TR x número de sequências repetidas em relação ao DNA da variedade Nipponbare (arroz) e período de TR maior ou igual a 12

Freq TR	TRF	ConvolutionTR	Phobus
4	60312	238004	233819
5	10912	57941	57117
6	3624	20359	19825
7	1661	9924	9510
8	941	5154	4932
9	626	3179	3046
10	424	1997	1941
11	319	1310	1281
12	223	960	944
13	167	744	730
14	140	631	616
15	146	579	579
16	118	467	458
17	103	414	406

Tabela 3. Comparação de tempo de execução e número de TR obtidos por algoritmos (DNA de Nipponbare)

Software	Tempo(s)	Número de TR
ConvolutionTR	548	149014
Mreps	30	18460
Phobos	1013	146591
TRF	964	82663

Tabela 4. Tempo de execução para se obter todos os TR de período entre 2 e 100 e frequência acima 8 (DNA Nipponbare)

Software	Tempo(s)	Número de TR
Swan	13912	2706
Phobos	985	15347
Swan	13912	2987
ConvolutionTR	542	15691
TRF	964	3781
Mreps	19	3448

Tabela 5. Tempo de execução para se obter todos os TR de período entre 1 e 100 e frequência acima 8 (DNA Nipponbare)

Software	Tempo(s)	Número de TR
ConvolutionTR	178	60982
Mreps	17	23791
Phobos	331	59619
TRF	692	31396
Swan	14112	9800

Tabela 6. Tempo de execução para se obter todos os TR de período entre 2 e 100 e frequência acima 8 (DNA Arabdopsis thaliana)

Software	Tempo(s)	Número de TR
Phobos	261	3739
Swan	670	1098
ConvolutionTR	173	3777
TRF	692	649
Mreps	17	2345

Com os resultados das tabelas 1, 2 e 3, mostrados na seção anterior, pode-se perceber que a nova proposta é superior tanto em tempo quanto de execução quanto em termos de se obter TR. Isto ocorre pelo fato do algoritmo somente necessitar de comparar a seqüência lida com ela mesma com um dado atraso k , para se obter TR de período k , tal como foi mencionado na seção "Method". Esta comparação leva a se obter todos os tandem possíveis para o período (atraso k) em questão. Esse é o grande mérito desta proposta. Possivelmente

podem existir propostas que tenham um tempo de execução menor, mas em termos de qualidade de resultado, a proposta terá todos os tandem possíveis na seqüência.

Os algoritmos comparados têm outras considerações quanto ao funcionamento para se obter TR de uma seqüência. Considerações estatísticas (TRF, SWAN) levam um tempo para serem computadas (mais instruções computacionais) e não conseguem obter todos os TR mas conseguem obter um razoável número de TR, porém em tempo considerável. Phobos foi o melhor destes, e teve um bom desempenho comparativo. Porém, devido a simplicidade da nova proposta, o que implica em menos instruções computacionais para serem realizadas, não teve um desempenho que pudesse ser melhor que a nova proposta. Mreps teve um ótimo desempenho em termos de tempo mas obteve menos de 1% de TR que a nova proposta ou Phobos tiveram.

CONCLUSÃO

A nova proposta apresentada possui um desempenho muito bom, quando comparados a algumas propostas existentes na literatura. É relativamente simples de implementar e pode ser usada para se obter qualquer tipo de seqüência repetitiva, não importa o quão complexa e quão grande esta seja.

REFERÊNCIAS

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. and Lipman, D. J. (1990) "Basic local alignment search tool", J. Mol. Biol., 215, 403-410;
- Bannert, N. & Kurth, R. (2004) "Retroelements and the human genome:

new perspectives on an old relation”, PNAS, 101, 14572-79;

Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R.W (1980) “Construction of Genetic-Linkage map in man using restriction fragment length”, American Journal of Human Genetics, 32, 314-331;

Freeman, J. L., Perry, G. H., Feuk, L., Redon, R., McCarroll, S. A., Altshuler, D. M., Aburatani, H., Jones, K. W., Tyler-Smith, C., Hurles, M. E., Carter, N. P., Scherer, S. W., Lee, C. (2007) “Copy number variation: New insights in genome diversity”, Genome Res., 16, 949-961;

Ivics, Z. and Izsvak, Z. (2006) “Transposons for gene therapy!”, Current Gene Therapy, 6, 593-607;

Kazazian Jr., H. H. (2004) “Móbile Elements: Drivers of Genome Evolution”, Science, 303, 1626-1632;

Jiang, T., Kearney, P. and Li, M. (2000) “Some open problems in computational molecular biology”, J. of Algorithms, 34, 194-201;

Kazazian Jr., H. H. (2004) “Móbile Elements: Drivers of Genome Evolution”, Science, 303, 1626-1632;

Katti, M. V., Ranjekar, P. K. and Gupta, V. S. (2001) “Differential Distribution of Simple Repeats in Eukaryotic Genomes Sequences” Mol. Biol. Evol., 18, 1161-1167;

Kim, D. S., Huh, J. W. and Kim, H. S. (2007) “Transposable elements in human cancers by genome-wide EST alignment”, Genes & Genetic System, 82, 145-156;

Kurtz, S., Choudhuri, J. V., Ohlebusch, E., Schleiermacher, C., Stoye, J. and Giegerich, R. (2001) “REPuter: The

Manifold Applications of Repeat Analysis on Genomic Scale”, Nucleic Acids Research, 29, 4633-4642;

Lafreniere, R. G., Brown, C. J., Rider, S., Chelly, J., Taillon-Miller, P., Chinault, A. C., Monaco, A. P. and Willard, H. F. (1993) “2.6 Mb YAC contig of the human X inactivation center region in Xq13:Physical linkage of the RPS4X, PHKA1, XIST and DXS128E genes”, Hum. Mol. Genet., 2, 1105-1115;

Lander E. S. and Botstein D. (1989) “Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps”, Genetics, 121, 185-199;

McClintock, B. (1950) “The origin and behavior of mutable loci in maize”, PNAS, 36, 344-355;

Pevzner, P. and Tesler, G. (2002) “Genome Rearrangements in Mammalian Evolution: Lessons from Human and Mouse Genomes”, Genome Res., 13, 37-45;

Price, A. L., Jones, N. C. and Pevzner, P. A. (2005) "De novo identification of repeat families in large genomes", Bioinformatics: 21, Suppl 1, i351-i358;

Rocheta, M., Dionisio, F. M., Fonseca, L., Pires, A. M. (2007) “Paternity analysis in excel”, Computer Methods and Programs in Biomedicine, 88, 234-238;

SanMiguel, P., Tikhonov, A., Jin, Y. K., Motchoulskaia, N., Zakharov, D., MelakeBerhan, A., Springer, P. S., Edwards, K. J., Lee, M., Avramova Z. and Bennetzen, J. L. (1996) “Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome”, Science, 274, 765-768;

Sharma, P. C., Grover, A., Kahl, G. (2007) "Mining microsatellites in eukaryotic genomes", Trends in Biotechnology, 25, 490-498;

TANDEM. Site disponível em http://nar.oxfordjournals.org/content/35/suppl_1/D80.full?ijkey=6fvSXFrtjnLj36M&keytype=ref. Site visitado em 02/05/2011.

Xin, B. and Liu, L. F. (1996) "DNA rearrangements mediated by inverted repeats", PNAS, 93, 819-823;

Wang, L. and Jiang, T. (1994) "On the complexity of multiple sequence alignment", J. Comput. Biol., 1, 337-348;

Warburton, P. E., Giordano, J., Cheung, F., Gelfand, Y. and Benson, G. (2004) "Inverted Repeat Structure of Human Genome: The X-Chromosome Contains a Preponderance of Large, Highly Homologous Inverted Repeats that Contains Testes Genes", Genome Research, 14, 1861-1869;

Waterman, M. S. and Smith, T. F. (1981) "The identification of common molecular subsequences", J. Mol. Biol., 147, 195-197;

Zhi D., Raphael B. J., Price A.L., Tang H., Pevzner P. A. (2006) "Identifying repeat domains in large genomes", Genome Biol:

VARIAÇÃO ESTOMÁTICA EM MICRORREGIÕES DA FOLHA DE *HANCORNIA SPECIOSA* GOMES

Costa, V.B.S.⁽¹⁾; Maciel, V.E.O.⁽¹⁾; Almeida, G.M.A.⁽¹⁾; Chagas, M.G.S.⁽²⁾; Lucena, I.⁽¹⁾; Silva, M.D.⁽²⁾; Pimentel, R.M.M.⁽¹⁾

vanessabastos_simoes@hotmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, CNPq; ⁽²⁾Universidade Federal de Pernambuco

RESUMO

Os estômatos são as células responsáveis pelas trocas gasosas nos vegetais. *Hancornia speciosa* Gomes é uma espécie brasileira que ocorre, predominantemente, em regiões com clima seco, como o Nordeste e Norte do país. Indivíduos desta espécie são encontrados em regiões costeiras, nas restingas, considerado um ambiente com características adversas para os vegetais. O objetivo deste estudo foi verificar a variação estomática em regiões distintas da folha de *Hancornia speciosa*. Folhas de indivíduos de *H. speciosa* foram coletadas em fragmento de restinga, litoral sul de Pernambuco. Fragmentos das porções mediana, ápice e base das folhas foram dissociados em NaCl, para confecção de lâminas semipermanentes da epiderme seguindo metodologia usual em anatomia vegetal. As análises foram realizadas através de imagens digitais. Nestas imagens foram realizadas as análises de densidade, número e índice estomático, através de programa de análise de imagens. Teste de variância (ANOVA) foi realizado para identificar possíveis variações nos parâmetros analisados entre as porções da lâmina foliar. Analisando folhas distintas, pode-se verificar variância significativa no número de estômatos e na densidade estomática, entretanto, não houve variância significativa

entre as diferentes porções de uma mesma folha. Esta variação entre as folhas demonstra a elevada plasticidade da espécie.

Palavras-chave: Epiderme; Densidade Estomática; Restinga

INTRODUÇÃO

Hancornia speciosa Gomes, popularmente conhecida como mangabeira, é uma espécie da família Apocynaceae, caracterizada por apresentar folhas simples, alternas e opostas, com flores hermafroditas, e frutos arredondados aromáticos utilizados na alimentação humana. Nativa do Brasil, *H. speciosa* é característica do clima seco do Nordeste e Norte do país, atingindo também regiões de Cerrado que apresentam elevadas temperaturas. No Nordeste brasileiro, a mangabeira está estabelecida na faixa litorânea, em ecossistemas de restinga, com solos pobres em nutrientes, de textura arenosa e fácil drenagem (FERREIRA *et al.* 2003). A mangabeira, assim como outras espécies típicas de restinga, vem sofrendo com a ação antrópica, desde a expansão imobiliária e até mesmo com o cultivo de monoculturas (ROSA *et al.*, 2005).

O ambiente de restinga possui uma vegetação característica e aclimatada as suas condições edáficas, essas condições do ambiente litorâneo podem ser consideradas limitantes para o estabelecimento das espécies vegetais, sendo eles: elevada temperatura, alta incidência luminosa, elevados níveis de salinidade (FRANCO *et al.* 1984, HENRIQUES *et al.* 1984), deficiência de nutrientes e baixa disponibilidade de água no solo. Os vegetais expostos a tais condições, como *H. speciosa*, apresentam variações morfoanatômicas que configuram uma estratégia para o estabelecimento e sobrevivência do indivíduo ao

ambiente. A folha, órgão vegetal de maior plasticidade, é o principal órgão do vegetal que apresenta variações em sua estrutura morfoanatômica, que geram condições para a permanência do vegetal no ambiente.

Nas folhas as células responsáveis pelas trocas gasosas são os estômatos, através do mecanismo de fechamento e abertura do ostíolo, estas células regulam a entrada de CO₂, e a saída de água e O₂ (Ecologia Funcional. FCTUC. 2009). Em situações adversas, como encontradas em regiões de restinga, os vegetais podem regular melhor as trocas gasosas através de uma variação na densidade estomática. Quando há um aumento nesta densidade ocorre uma maior absorção de Co₂ e conseqüentemente, maior perda de água, podendo ocasionar uma diminuição da temperatura interna da folha (Ecologia Funcional. FCTUC. 2009).

Diante do exposto, esta pesquisa objetiva verificar a variação estomática em diferentes folhas de *Hancornia speciosa* e em diferentes porções de uma mesma folha.

MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo localiza-se em um fragmento de vegetação de restinga, na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) de Nossa Senhora do Outeiro de Maracáipe, no município de Ipojuca, litoral sul de Pernambuco. Foram selecionados três indivíduos de *Hancornia speciosa* distribuídos aleatoriamente na área de vegetação e, de cada indivíduo foram coletados três folhas maduras, sendo consideradas

folhas maduras aquelas dispostas a partir do quinto nó, a contar do ápice dos ramos.

O material botânico coletado foi acondicionado em sacos plásticos etiquetados e levado ao Laboratório de Fitomorfologia Funcional (LAFF) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Em laboratório o material foi fixado em FAA 50 (JOHANSEN, 1940). Para análise da epiderme, folhas inteiras foram lavadas em água destilada e fragmentada em três porções: ápice, mediana e base. A região mediana da folha foi dividida em duas áreas, sendo uma próxima a nervura e a outra a borda da folha. As porções da folha foram imersas em solução de hipoclorito de sódio a 20, 30 ou 50%, até sua completa dissociação. Os fragmentos epidérmicos obtidos foram lavados em água destilada, corados com safranina e azul de metileno e montados em glicerina 50% (JOHANSEN, 1940; KRAUS & ARDUIN, 1997) e as lâminas lutadas com esmalte de unha incolor.

Foram analisados os parâmetros densidade, número e índice estomático e número de células fundamentais da epiderme. A densidade estomática foi calculada dividindo-se o número de estômatos total pela área foliar total. O índice estomático (Si) foi calculado com a utilização da seguinte fórmula: $Si (\%) = [Sn / (Sn + Em)] \times 100$, sendo Sn o número de estômatos e Em o número das demais células da epiderme (CUTTER, 1986).

As análises dos caracteres foram realizadas em imagens digitais, obtidas com câmera CCD acoplada ao microscópio óptico, através do programa *Image Tool* (WILCOX et al., 2002).

Para a análise de variações nas médias dos caracteres funcionais avaliados foi empregada a Análise de Variância

(ANOVA), utilizando o software Statistica 6.0 (Statsoft 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie analisada apresenta folhas com estômatos apenas na face abaxial da epiderme (Figura 1), sendo classificada como hipoestomáticas, apresentando também raros estômatos na região da nervura principal (Figura 1E). Os estômatos são do tipo paracítico, segundo a literatura este tipo estomático é comum a família Apocynaceae (Metcalf & Chalk, 1957).

A densidade e o número de estômatos não apresentaram variação significativa entre as porções da lâmina foliar analisadas, para ambos os parâmetros a porção mediana da folha apresentou os maiores valores (377,70 estômatos/mm² e 67,88, respectivamente), enquanto que a região da borda os menores valores (336,41 estômatos/mm² e 60,55, respectivamente) (Tab. 1).

A densidade dos estômatos é uma característica que varia de acordo com o ambiente (MELO *et al.*, 2004). Pesquisas indicam que a densidade estomática é maior em plantas submetidas a deficiência hídrica (MENEZES *et al.*, 2003), à elevada salinidade (FLOWERS *et al.*, 1986) e a altas temperaturas (SACHS *et al.*, 1993). Segundo Pereira *et al.* observa-se um aumento na densidade estomática de plantas exposta ao sol devido a diminuição do tamanho foliar.

Zanenga-Godoy & Costa (2003) realizaram estudo com espécies do gênero *Cattleya* e encontraram diferenças significativas na densidade média dos estômatos, entre as espécies e também entre as regiões da folha. Analisando a possível variação entre as diferentes partes da folha (ápice, borda, porção mediana e base).

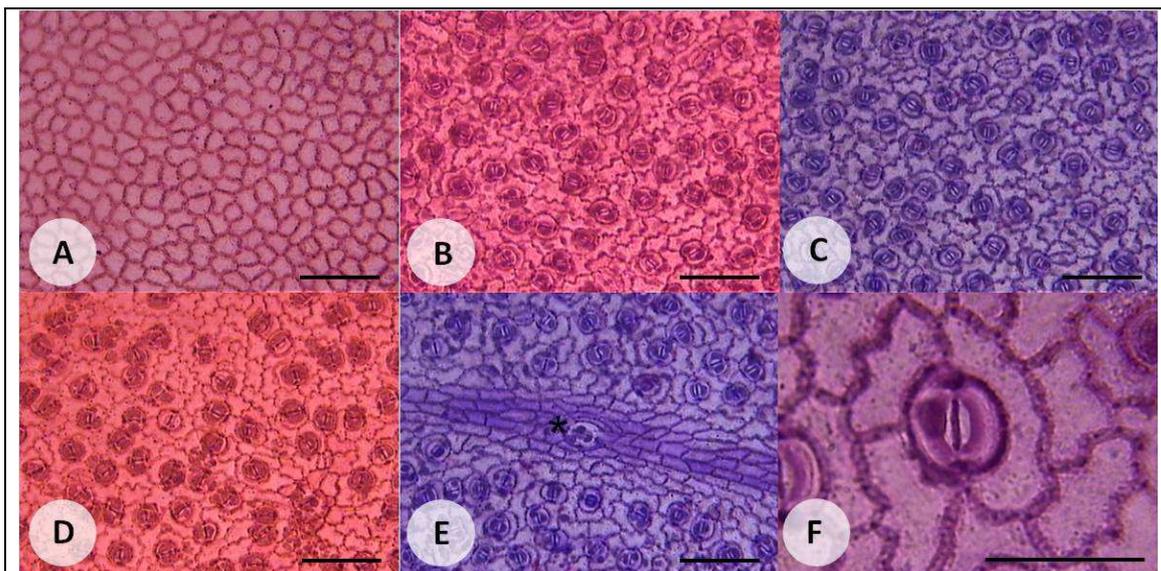


Figura 1. A, Face adaxial da base, com ausência de estômatos; B, Fase abaxial da base; C, Face abaxial da borda; D, face abaxial do ápice; E, Face abaxial da porção mediana, com a presença de estômato na região da nervura; F, Face abaxial da base, evidenciando estômato. *Estômato na nervura. Barras: A-E, 100µm; F, 50µm

Tabela 1. Valores quantitativos de células epidérmicas, da face abaxial em *Hancornia speciosa*.

Porções da lâmina	Número de estômatos	Número de células fundamentais	Índice estomático	Densidade estomática
Ápice	60,77 ± 7,80 a	183,55 ± 24,77 a	184,55 ± 24,77 a	337,65 ± 43,37 a
Borda	60,55 ± 7,53 a	189,55 ± 9,50 a	190,55 ± 9,50 a	336,41 ± 41,86 a
Mediana	67,88 ± 3,48 a	179,88 ± 13,76 a	180,88 ± 13,76 a	377,16 ± 19,33 a
Base	63,66 ± 5,43 a	179,66 ± 15,02 a	180,66 ± 15,02 a	353,70 ± 30,17 a

*letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Em uma análise do número de estômatos em diferentes regiões de folhas distintas, observou-se que houve variação significativa na borda entre as folhas 2 e 3; e na base entre as folhas 1 e 3 (Tabela 2). Nas outras regiões não houve diferença significativa.

Tabela 2. Comparação do número de estômatos/campo (0,18 mm²) entre as regiões e folhas analisadas em *Hancornia speciosa*.

Repetições	Ápice	Borda	Mediana	Base
F1	55,33 ± 10,69 a	62,66 ± 2,08 ab	70,66 ± 0,57 a	69,00 ± 4,58 a
F2	61,00 ± 6,08 a	52,66 ± 6,02 b	67,33 ± 3,51 a	63,33 ± 1,52 ab
F3	66,00 ± 2,64 a	66,33 ± 6,02 a	65,66 ± 4,04 a	58,66 ± 3,78 b

*letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05).

De acordo com o teste de variância (ANOVA) houve variação significativa na densidade estomática na borda entre

as folhas 2 e 3; e na base entre as folhas 1 e 3 (Tabela 3). Nas outras regiões não houve diferença significativa.

Tabela 3. Comparação dos dados de densidade estomática média (n. mm²) entre as regiões e folhas analisadas em *Hancornia speciosa*.

Repetições	Ápice	Borda	Mediana	Base
F1	307,40 ± 59,40 a	348,14 ± 11,56 ab	392,59 ± 3,20 a	383,33 ± 25,45 a
F2	358,88 ± 33,79 a	292,59 ± 33,48 b	374,07 ± 19,51 a	351,85 ± 8,48 ab
F3	366,66 ± 14,69 a	368,51 ± 33,48 a	304,81 ± 22,45 a	325,92 ± 21,03 b

*letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A espécie estudada apresenta elevada densidade estomática (Tabela 3), segundo Fahn & Cutler (1992), esta característica pode estar associada a estratégias de redução dos efeitos nocivos da luz solar e déficit hídrico.

Em relação ao índice estomático (%) não houve variação significativa entre as médias das folhas em nenhuma das regiões estudadas.

Tabela 4. Comparação do índice estomático (%) entre as regiões e folhas analisadas em *Hancornia speciosa*.

Repetições	Ápice	Borda	Mediana	Base
F1	196,00 ± 4,35 a	193,33 ± 10,59 a	183,66 ± 3,78 a	190,00 ± 4,35 a
F2	187,00 ± 40,26 a	191,33 ± 12,01 a	174,66 ± 21,73 a	174,33 ± 17,24 a
F3	170,66 ± 17,92 a	187,00 ± 8,54 a	184,33 ± 13,57 a	177,66 ± 19,55 a

*letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam semelhança estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05).

O índice estomático pode ser constante para as espécies, sendo a umidade o fator que mais exerce influência (Cutter, 1986).

Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro através de bolsas de estudo e aprovação de projetos.

CONCLUSÃO

Houve diferença significativa entre as folhas, demonstrando a elevada plasticidade fenotípica da espécie.

O padrão de variância significativa entre os caracteres número de estômatos por campo e densidade estomática se repetiu, na borda entre as folhas 2 e 3 e na base entre as folhas 1 e 3.

Através do estudo realizado não podemos afirmar quais fatores ambientais/genéticos teve maior influência entre os dados apresentados.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, à Fundação de Amparo à Ciência e a Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento

REFERÊNCIAS

CUTTER, E. G. 1986. Anatomia vegetal: parte I: células e tecidos. 2^a ed. São Paulo: Roca.

CUTTER, E. G. 1986. Anatomia vegetal: parte II: órgãos – experimentos e interpretação. 1^a ed. São Paulo: Roca.

ECOLOGIA FUNCIONAL. FCTUC. 2009. Correlação entre a densidade estomática e as condições ambientais. Disponível em: <<https://woc.uc.pt/botanica/getFile.do?tipo=2&id=3559>> Acesso em: 02 setembro 2011.

FAHN, A. & CUTLER, D. F. 1992. Xerophytes. Gebrüder Borntraeger. Berlin.

- FERREIRA, E. G., SANTOS, E. S., ARAÚJO, I. A., FRANCO, C. F. O. 2003. Avaliações Biométricas de Plantas e Físico-Químicas de Frutos de Mangabeira de Pomares Nativo e Cultivado. I Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Mangaba.
- FLOWERS, T. J.; HAJIBAGHERI, M. A.; CLIPSON, N. T. W. Halophytes. 1986. *The Quarterly Review of Biology*, Chicago, 61: 313-337.
- FRANCO, A. C., VALERIANO, D. M., SANTOS, F. M., HAY, J. D., HENRIQUES, R. P. B., MEDEIROS, R. A. 1984. Os microclimas das zonas de vegetação da praia da restinga de Barra de Maricá, Rio de Janeiro. *In Restingas: Origem, estrutura e processos.* (L.D. Lacerda, D.S.D. Araujo, R. Cerqueira & B. Turcq, orgs.). CEUFF, Niterói, p.413-425.
- HENRIQUES, R. P. B., MEIRELLES, M. L., HAY, J. D. 1984. Ordenação e distribuição de espécies das comunidades vegetais na praia da restinga de Barra de Maricá, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica*. 7:27-36.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw Hill Book Co. Inc., New York.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Seropédica. RJ: EDUR.
- METCALFE, C. R.; & CHALK, L. 1957. *Anatomy of Dicotyledons*. Clarendon Press, Oxford, v. I. New York.
- MELO, H. C., CASTRO, E. M., ROMERO, J. L., ALVES, J. D., FRIES, D. D., MELO, L. A., MAGALHÃES, P. C. 2004. Influência da aplicação de cálcio e alagamento do solo sobre características anatômicas das folhas de milho (*Zea mays* L.) "saracura" BRS-4154. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 3(3), p.333-342.
- MENEZES, N. L.de; SILVA, D. da C.; PINNA, G. F. de M. 2003. Folha. *In: Anatomia Vegetal.* (APPEZZATO-DAGLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.). Viçosa: UFV. 438 p.
- DANIELA CARVALHO PEREIRA, D. C., BARROS, C. F., SCARANO, F. R. 2009. *In situ* variation in leaf anatomy and morphology of *Andira legalis* (Leguminosae) in two neighbouring but contrasting light environments in a Brazilian sandy coastal plain. *Acta bot. bras.* 23(1): 267-273.
- ROSA, M.E.C, NAVES, R. V., JÚNIOR, J. P. O. 2005. Produção e crescimento de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes substratos. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 35 (2): 65-70.
- SACHS, T.; NOVOPOLANSKY, N.; KAGAN, M. L. 1993. Variable development and cellular patterning in the epidermis of *Ruscus hypoglossum*. *Annals of Botany*, London, 71: 237-243.
- STATSOFT. Statistica for Windows. 2001. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>. Acesso em: 09 agosto 2011.
- WILCOX, D. B.; DOVE, D.; MCDAVID, D.G. 2002. *Image Tool*. University of Texas Health Science Center, Texas.

ZANENGA-GODOY, R. & COSTA, C. G. 2003. Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl.

(Orchidaceae) do Planalto Central brasileiro. Acta bot. bras. 17(1): 101-118.

VARIAÇÃO NICTIMERAL DE EUPHAUSIACEA AO LARGO DO ARQUIPÉLAGO SÃO PEDRO E SÃO PAULO

Lima, C.D.M.⁽¹⁾; Silva, A. P.⁽¹⁾; Schwamborn, R.⁽¹⁾

cynthia_dayanne@hotmail.com

¹Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Oceanografia, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 Cidade Universitária, Recife - PE - CEP: 50670-901

RESUMO

Os eupausiáceos são crustáceos pelágicos marinhos facilmente reconhecidos pelas suas brânquias expostas. Este trabalho tem como objetivo estudar a composição e a variação nictimeral de eupausiáceos durante o mês de julho ao largo do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP). As amostras de zooplâncton foram feitas mediante arrastos oblíquos com rede Bongô com malha de 300 micrômetros desde 150 metros de profundidade até a superfície em 8 estações. Foram indentificadas 4 espécies : *Thysanopoda tricuspidata*, *Euphausia similis*, *Euphausia tenera* e *Stylocheiron robustum*. A máxima densidade de espécies foi encontrada durante as amostras noturnas, o que pode estar relacionado com o padrão de migração vertical das espécies. O maior número de indivíduos identificados encontrava-se em estágio de larva (caliítopis e furcília) indicando que as águas próximas do ASPSP oferecem condições ambientais propícias à reprodução desse grupo.

Palavras-chave: Eufausiáceos; zooplâncton; migração vertical.

INTRODUÇÃO

Eufausiáceos são crustáceos pelágicos pertencentes à superordem Eucarida e todas as 85 espécies conhecidas atualmente são marinhas (Ruppert et. al., 2005; Castellanos et. al., 2002). São facilmente reconhecidos pelas suas brânquias que ficam expostas, pois não há uma câmara branquial, que está presente, por exemplo, nos decápodes (Brandão, 2007). A forma do corpo do “krill”, como eles são chamados; lembra a de um camarão, com uma carapaça bastante desenvolvida e fundida com todos os segmentos torácicos. O ciclo de vida de algumas espécies de eupausiáceos inclui a liberação dos ovos

na água; outras espécies mantêm os ovos presos aos pleópodos, formando uma cesta branquial, sendo encubados por um curto período de tempo; os pleópodos também são utilizados na natação, pois são grandes e possuem muitas cerdas (Ruppert et. al., 2005). A forma de eclosão é a larva náuplio, que sofre mudas, passando pelas fases de caliítopis e furcília, que contém numerosos estágios; juvenil e finalmente o adulto (Brandão, 2007). Embora esse grupo tenha como uma de suas características, a presença de oito pares de pereópodos, o oitavo e o sétimo par é geralmente reduzido

(Ruppert et. al., 2005). A dieta é variada podendo se alimentar de zooplâncton, fitoplâncton ou sedimentos de fundo. A grande maioria dos eufausiáceos é bioluminescente, no qual se acredita que essa característica é uma adaptação para formação de cardume e corte em ambientes afóticos. Um ponto bem interessante desses crustáceos holoplânctônicos é a capacidade de continuar sofrendo ecdises, mesmo após a maturidade sexual, possibilitando que ele diminua de tamanho quando há pouca oferta de alimento (Ruppert, et. al., 2005 e Castellanos et. al., 2002). O hábito de formar grandes concentrações, juntamente com o seu tamanho corpóreo, os torna acessíveis a uma grande variedade de predadores. Constituem uma parte muito importante na dieta de outros animais, pois é evidenciado que são o único grupo em que todas as espécies possuem concentrações maiores de vitamina A do que qualquer outro invertebrado, desempenhando um papel fundamental nos ecossistemas marinhos, um elo entre a produção primária e os níveis mais elevados da teia trófica (Brandão, 2010; Menezes, 2007). Estudos demonstram que este grupo apresenta migração vertical e que frequentemente atravessa distâncias superiores a 200 m á noite, este padrão noturno de algumas espécies, ratifica os eufausiáceos como elos importantes entre as cadeias alimentares pelágicas superficiais e as mais profundas (Boltovskoy, 1999; Ruppert, et. al., 2005). Em águas tropicais, os eufausiáceos participam ativamente das cadeias de detritos fornecendo pelotas fecais em abundância durante a noite, estas podem ser remineralizadas pelas bactérias e

utilizadas como fonte de nutrientes, enquanto que durante o dia são predados pelo micronécton não migrador, abaixo da zona eufótica (Brandão, 2010). A importância desses organismos na oceanografia não se dá apenas do ponto de vista biológico, mas também físico e químico, por apresentar uma distribuição definida e serem bons indicadores de massas de água (Menezes, 2007). Embora poucos eufausiáceos estejam restritos a padrões de distribuição, eles frequentemente estão associados a massas particulares de água e ambientes (Boltovskoy, 1999).

As ilhas oceânicas brasileiras são conhecidas pelo seu alto percentual de endemismo, consequência da dispersão de espécies oceânicas, já que estas ilhas nunca estiveram vinculadas aos continentes, outra característica é a pequena biodiversidade, resultado de seu isolamento (Serafini, et al., 2010).

O Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) faz parte da Zona Econômica Exclusiva do Brasil, da região Nordeste, se caracteriza por ser uma região oceânica tropical; apresentando baixa produtividade biológica pela sua pequena dimensão e consequentemente baixa variedade de habitats (Brandão, 2007). É considerado um dos menores conjuntos de ilhas oceânicas do mundo, e é a única ilha oceânica de águas profundas formada por rochas ígneas de origem plutônica, e não vulcânica (Serafini et. al., 2010). Formado por um grupo de pequenas ilhas rochosas que se elevam de profundidades abissais até poucos metros acima da superfície, desabitadas e desprovidas de qualquer tipo de vegetação, localizadas a cerca de 1.100

quilômetros do litoral do Estado do Rio Grande do Norte (00° 56' N e 29° 22' W), em uma região privilegiada para o desenvolvimento de pesquisas meteorológicas e oceanográficas – o oceano Atlântico Tropical (Serafini et al., 2010; Brandão, 2007). Suas quatro maiores ilhotas estão separadas por pequenos canais, formando entre si uma enseada em forma de ferradura com profundidade entre 4 e 25 m (Menezes, 2007). O sistema de correntes que banha o arquipélago é influenciado principalmente pela Corrente Sul Equatorial (CSE), que flui no sentido Leste-Oeste alcançando velocidades superiores a 6 km.h⁻¹ ao passar pelas ilhotas, carregando águas superficiais oriundas do Golfo da Guiné e da região de Cabo Verde e Serra Leoa (Macedo-Soares, 2008).

O objetivo do trabalho é estudar a composição e variação nictimeral dos eufausiáceos de acordo com a sua densidade e no Arquipélago de São Pedro e São Paulo a partir de análises de amostras zooplânctônicas coletadas no Navio Oceanográfico Cruzeiro do Sul em julho de 2010.

MATERIAL E MÉTODOS

A expedição foi realizada em julho de 2010 pelo Navio Oceanográfico Cruzeiro do Sul onde foram coletadas 16 amostras de zooplâncton. Em cada estação foram efetuados arrastos oblíquos em profundidades de 150 m com rede Bongô com abertura de malha de 300 µm em 16 estações. Devido ao tempo destinado para a identificação ter sido insuficiente, 8 amostras foram selecionadas para a realização deste trabalho, sendo 4 diurnas e 4 noturnas.

Um fluxômetro foi acoplado na rede a fim de estimar o volume de água filtrado no arrasto. O material coletado foi transferido para frascos contendo formalina 4% para fixação e posterior contagem e identificação em laboratório. Este material foi analisado no Laboratório de Zooplâncton da Universidade Federal de Pernambuco onde as amostras foram colocadas em um béquer e diluídas em 500 ml de água, sendo retiradas 3 subamostras de 8 ml com o auxílio de uma concha de acrílico. Para a triagem e contagem do zooplâncton foram utilizados câmaras de Bogorov e lâminas em microscópio Estereoscópico composto Zeiss e óptico Zeiss. A manipulação dos organismos foi feita com estiletos. Os eufausiáceos foram identificados até a menor unidade taxonômica possível utilizando bibliografia especializada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 4 espécies pertencentes a 3 gêneros de eufausiáceos, todos pertencentes a família Euphausiidae (Tabela 1).

As densidades totais médias observadas foram de 0,89 ind.m⁻³ para o período diurno (variando entre 0,63 e 1,36 ind.m⁻³), e 1,58 ind.m⁻³ para o período noturno (variando entre 0,88 e 1,38 ind.m⁻³). Os valores de densidade mais elevados no período noturno podem ser explicados pelo padrão de migrações verticais, com ascensão no período noturno (Boltovskoy, 2001). Todas as espécies encontradas no ASPSP já foram registradas em águas oceânicas do Atlântico Sul por Gibbons (1997). Todos os adultos encontrados pertenciam à espécie *Thysanopoda*

tricuspidata, todos os outros eram larvas distribuídas entre os estágios de calíptopis e furcilia. Em um ambiente verdadeiramente oceânico onde se encontra o ASPSP, o grande número de

larvas indica que o Arquipélago oferece condições ambientais propícias à reprodução dos eupausiáceos, demonstrando a sua importância como um local de desenvolvimento larval.

Tabela 1. Densidade média de Euphausiacea por período do dia (diurno e noturno) – julho de 2010, ao largo do Arquipélago São Pedro e São Paulo. (E = Estação/Período do dia).

Indivíduos/m ³	E68/4h02	E69/6h58	E78/10h48	E79/13h35	E88/15h25	E81/18h40	E82/20h38	E83/23h25
<i>Thysanopoda tricuspidata</i> Milne-Edwards, 1837	0,46	-	-	-	-	-	0,06	-
<i>Thysanopoda</i> sp. Milne-Edwards, 1830	0,17	-	0,22	0,33	0,24	0,45	0,55	0,45
<i>Euphausia similis</i> G. O. Sars, 1883	-	0,19	0,39	-	-	-	0,06	-
<i>Euphausia tenera</i> Hansen, 1905	-	-	-	-	-	0,45	-	-
<i>Euphausia</i> sp. Dana, 1852	0,25	0,44	0,28	0,33	1,13	0,84	1,38	1,14
<i>Stylocheiron robustum</i> Brinton, 1962	-	-	-	-	-	0,06	-	-
<i>Stylocheiron</i> sp. G. O. Sars, 1883	0,42	0,44	-	-	0,12	0,19	0,06	0,40
Total	0,88	0,63	0,88	0,67	1,36	1,81	2,05	1,59

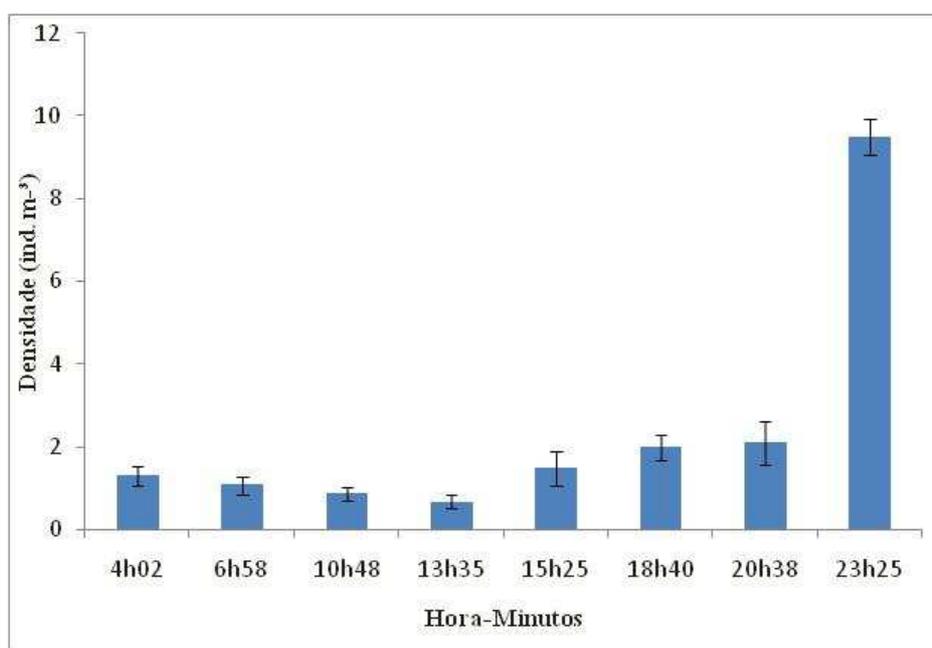


Figura 1: Média e desvio padrão da densidade de eupausiáceos coletados em julho de 2010, ao largo do Arquipélago São Pedro e São Paulo, em oito períodos do dia durante 24h.

É amplamente conhecido que eupausiáceos habitam camadas mais profundas durante o dia e ascendem para a superfície à noite, executando a migração vertical (Menezes, 2007). A densidade de organismos

significativamente maior no período noturno confirma a existência de um padrão de migração vertical. O gênero *Euphausia* esteve presente em todos os períodos do dia. *Euphausia tenera* e *Stylocheiron robustum* só foram

registrados no período noturno; ou seja, além de uma maior densidade, no período noturno também foi observado uma maior diversidade de espécies.

CONCLUSÃO

A maior parte dos indivíduos identificados foi de larvas, indicando que o Arquipélago oferece condições ambientais propícias à reprodução de eupausiáceos. A maior densidade e diversidade no período noturno confirmam que esses organismos apresentam variação nictimeral.

Este estudo poderá ser complementado com os resultados das identificações correspondentes às outras estações do ano na região do ASPSP.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Marinha do Brasil e a tripulação do NHO Cruzeiro do Sul responsáveis pela coleta de plâncton; a Érika Pinho Correia e Tâmara Almeida pelo auxílio na análise dos dados e apoio durante os dias de trabalho e ao Laboratório de Zooplâncton-UFPE onde as amostras foram triadas.

REFERÊNCIAS

- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; **BARNES, R. D.** Zoologia dos Invertebrados. 7^a ed., Ed. Roca, São Paulo, 1145 p. **2005**.
- BRANDÃO, M. C. Variação espaço-temporal das larvas de Decapoda do Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 121p. 2010.
- BRANDÃO, M. C. Variação espacial de Euphausiacea (Crustacea) (“krill”) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo: verão de 2004. Relatório de Estágio Supervisionado II (Graduação em Engenharia de Aquicultura) Universidade Federal de Santa Catarina. 33p. 2007.
- MENEZES, B. S. Variação espaço-temporal e nictimeral de Euphausiacea (Crustacea) (“*Krill*”) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo: inverno e primavera de 2003. Relatório de Estágio Supervisionado II (Graduação em Engenharia de Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina, 38p. 2007.
- MACEDO-SOARES, L.C.P. Ecologia do ictioplâncton no Arquipélago São Pedro e São Paulo. Monografia (Graduação em Engenharia de Aquicultura). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 54p. 2008.
- SERAFINI, T. Z.; DE FRANÇA G. B.; ANDRIGUETTO-FILHO J. M. Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. Revista da Gestão Costeira Integrada. v. 10, n. 3, p. 281-301. 2010.
- GIBBONS, M. J. Pelagic biogeography of the South Atlantic Ocean. Marine Biology. v. 129, p. 757-768. 1997.
- CASTELLANOS, I. e GASCA, R. Eufáusidos (Crustacea: Malacostraca) del centro y sur del Mar Caribe mexicano. Revista de Biología Tropical. v. 50 n. 1, p.77-85. 2002.
- BOLTOVSKOY, D. South Atlantic Zooplankton. Leiden, Backhuys Publishers, 1706p. 1999.

VARIAÇÕES AO NÍVEL DE COMUNIDADE EM DUAS ÁREAS DE MATA ATLÂNTICA SOB DIFERENTES NÍVEIS DE PERTURBAÇÃO NO PARQUE ESTADUAL DOIS IRMÃOS, PERNAMBUCO, BRASIL.

Silva, J. S. ⁽¹⁾; Couto, A. A. V. O. ⁽¹⁾; Arruda, A. R. ⁽¹⁾, Moraes, B. L. C. ⁽¹⁾; Moura, C. C. M. ⁽¹⁾; Vega, E. S. F. ⁽¹⁾; Serafim Filho, G. L. ⁽¹⁾; Muniz, S. L. ⁽¹⁾
josivan.biologia@gmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós Graduação em Ecologia, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900, Dois Irmãos, Pernambuco, Brasil.

RESUMO

Estudos sobre as comunidades em áreas de Mata Atlântica são relevantes no intuito de conhecer a estruturação dos ecossistemas e assim fornecer dados para subsidiar estratégias de manejo e conservação. Neste sentido o presente estudo objetivou avaliar a composição e diversidade da comunidade de duas áreas de Mata Atlântica sob diferentes níveis de perturbação. O estudo foi realizado nas dependências do Parque Estadual Dois Irmãos, Recife, Pernambuco. Estabeleceu-se dois quadrantes de 12 m², um em área mais preservada e outro em área antropizada, distantes aproximadamente 500 metros entre si. O levantamento dos dados faunísticos e florísticos foi realizado por seis coletores de 08:00h às 11:00h e 14:00h às 17:00h. Encontrou-se na área com maior perturbação antropogênica 31 morfoespécies animais e 13 morfoespécies vegetais no primeiro dia de amostragem e 29 morfoespécies animais no segundo dia. Na área com menor impacto encontrou-se 24 morfoespécies animais e 23 morfoespécies vegetais no primeiro dia de amostragem e 16 morfoespécies animais no segundo dia. As áreas estudadas diferiram significativamente entre si. A maior riqueza de fauna na área antropizada pode estar relacionada à diminuição da competição interespecífica ocasionado pelo distúrbio sofrido na área, e a tentativa das espécies em se estabelecerem neste novo ambiente.

Palavras-chave: Ecologia; Antropização; Fauna e Flora.

INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica está entre os biomas com maior riqueza e diversidade do planeta (Câmara, 2001; Mittermeier *et al.*, 2000). Essa grande diversidade biológica se expressa desde os mais variados tipos vegetacionais até na constituição dos solos, como também na composição da fauna e flora (Cecchi & Soares, 1990).

Originalmente, a Mata Atlântica de Pernambuco se estende por uma área de aproximadamente 1.781.100 ha, que representava 18% da área total do

Estado. Atualmente, devido à exploração e manejo inadequado, o bioma sofreu uma intensa redução restando apenas 152.400 ha, que representa 1,54% da área do Estado (Capobianco, 2002; Sampaio & Gamarra-Rojas, 2002).

As comunidades ecológicas podem ser compreendidas como um conjunto de populações de espécies que dividem o mesmo espaço em um tempo determinado. A ecologia de comunidades, por sua vez, procura as explicações de como as espécies estão agrupadas e qual é a distribuição delas na natureza e também as formas em que

estes grupos de espécies podem correlacionar-se com variáveis ambientais e com outras populações (Begon *et al.*, 2006).

A ecologia oferece diferentes metodologias para inferir características das comunidades, desta forma, pode-se estabelecer a composição de espécies, abundância, riqueza e equitabilidade (Begon *et al.*, 2006). No entanto as comunidades não são estáticas em um tempo e espaço, sendo possível constatar mudanças temporais ou após algum distúrbio, uma vez que as espécies mantêm complexas relações entre si (Ricklefs, 1993).

Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar a composição e diversidade da comunidade de duas áreas de Mata Atlântica do Parque Estadual de Dois Irmãos, sob diferentes níveis de perturbação.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no município do Recife, Pernambuco, nas dependências do Parque Estadual de Dois Irmãos (8°00'32.54"S e 34°56'59.51"O).

A mata do Parque situa-se no centro urbano do Recife e destaca-se por sua influencia sobre o clima local, por conta da umidade proveniente de sua grande extensão de área verde, rebaixando a temperatura como consequência da evapotranspiração dos vegetais (Lima e Corrêa, 2005). Lima e Corrêa (2005) afirmam ainda que a Mata de Dois Irmãos representa um dos mais importantes resquícios de Mata Atlântica da Região Metropolitana do Recife, possuindo uma expressiva cobertura vegetal, apesar das alterações sofridas ao longo de todo o seu perímetro.

As informações sobre a riqueza e a diversidade ecossistêmica na área de estudo foi estabelecida através de

quadrantes 3x4m, apresentando área total de 12 m². Os quadrantes distaram aproximadamente 500 metros entre si, sendo marcados a partir de um ponto central com o auxílio de GPS (Garmin), localizados a 250 metros sudeste- noroeste às margens do Açude do Prata.

Um total de dois quadrantes foram estabelecidos, sendo um no interior do fragmento da mata (área não antropizada) e outro na área de borda do mesmo fragmento de mata (área antropizada).

Posteriormente ao estabelecimento das parcelas foram registradas informações referentes à distribuição dos organismos, identificação, quantificação e classificação das morfoespécies vegetais e animais, bem como observações referentes à conservação de cada área amostral.

As observações ocorreram nos turnos da manhã (08:00 as 11:00h) e da tarde (14:00 as 17:00h), dados faunísticos foram atualizados ao fim do segundo dia de observação.

O levantamento das morfoespécies vegetais foi realizado através da observação quanto ao indivíduo, se arbóreo, arbustivo ou herbáceo. Para a presença de animais, a identificação e quantificação se deram também por morfoespécies, com informações quanto ao substrato utilizado e distribuição. Para animais sociais, tais como cupins e formigas, foi considerado o número de ocorrência de colônias dentro das parcelas e não o número de indivíduos.

O procedimento amostral foi submetido a uma repetição, nas mesmas áreas demarcadas anteriormente, como proposta para a verificação da distribuição espaço-temporal da fauna.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontradas na área com maior nível de perturbação antropogênica uma riqueza de 31 morfoespécies animais e 13 morfoespécies vegetais no primeiro dia de amostragem e 29 morfotipos animais no segundo dia. Na área com menor impacto encontrou-se 24 morfoespécies animais e 23 morfoespécies vegetais no primeiro dia de amostragem e 16 morfoespécies animais no segundo dia. Essa maior riqueza de fauna na área antropizada pode estar relacionada à diminuição da competição interespecífica ocasionado pelo distúrbio sofrido pela área, e a tentativa das espécies em se estabelecerem neste novo ambiente, permitindo a co-existência de um maior número de diferentes animais. Além disso, os animais localizados nesta área estão mais habituados com a presença antrópica, sendo mais facilmente visualizados pelos coletores.

Na área menos impactada houve uma maior riqueza, todavia uma menor abundância de plantas herbáceas. Estes resultados se deve ao estágio sucessional deste ambiente, pois o estresse sofrido por este permite a existência de um menor número de espécies R estrategistas.

Na área onde se observou um maior nível de antropização, verificou-se a presença de 69 espécimes pertencentes a 15 diferentes Classes ou Ordens, sendo as mais abundantes as Ordens Coleoptera, Lepdoptera e Hymenoptera e o Classe Gastropoda na primeira amostragem. Na segunda amostragem foi observado a presença de 44 espécimes distribuídas entre 9 Classes ou Ordens, destacando-se as Ordens Hymenoptera, Diptera, Lepdoptera e Odonata.

Em relação à área considerada mais preservada, observou-se no primeiro dia de amostragem 37 espécimes

distribuídos em 7 Classes ou Ordens, sendo mais abundantes as Ordens Diptera e Hymenoptera e a Classe Arachnida, e no segundo dia 59 espécimes pertencentes a sete Ordens, com maior expressividade para as Ordens Hymenoptera e Diptera e a Classe Arachnida. Em ambos os dias de amostragem foram registradas seis ordens similares.

Algumas ordens de inseto são reconhecidamente bons indicadores de qualidade ambiental. As ordens Lepdoptera e Odonata estão geralmente presentes em ambientes preservados, porém foram observados com grande abundância no ambiente impactado. Isto pode estar relacionado à presença de um corpo hídrico próximo à parcela da área antropizada, enquanto que a parcela localizada na área preservada distou mais de 50 metros do corpo hídrico mais próximo, não favorecendo a reprodução dos representantes destas ordens.

No que refere à classificação da fauna por guildas tróficas encontrou-se no primeiro dia de amostragem 74% de consumidores primários, 23% de consumidores secundários e 3% de detritívoros na área com maior nível de perturbação antropogênica. No segundo dia de amostragem encontrou-se 54% de consumidores primários e 46% de consumidores secundários. Para a área com menor nível de perturbação antropogênica foi registrado 29% de consumidores primários, 50% de consumidores secundários e 20% de consumidores primários e secundários no primeiro dia de amostragem e 71% de consumidores primários, 14% consumidores secundários e 14% consumidores terciários no segundo dia de amostragem. Na maior parte das áreas amostradas houve um maior percentual de consumidores primários o que é esperado principalmente em ambientes terrestres uma vez que esta

condição sustenta a cadeia trófica. Além disso, poderia justificar esta predominância, o fato deste nível trófico normalmente está localizado próximo ao seu recurso alimentar, ou seja, à vegetação, sendo mais facilmente visualizados pelo pesquisador. Por fim, a presença humana poderia inibir a presença de consumidores de outros níveis tróficos.

Em relação à distribuição temporal, na área com maior nível de perturbação antropogênica 20% das morfoespécies animais ocorreram pela manhã, 27% no período da tarde e 53% pela manhã e tarde. Já na área com menor nível de perturbação antropogênica 46%, 12% e 42% de morfoespécies animais ocorreram pela manhã, tarde e manhã e tarde respectivamente. Por sua vez, no segundo dia de amostragem, a área com maior nível de perturbação apresentou 24%, 34% e 41% das morfoespécies animais pela manhã, tarde e manhã e tarde respectivamente. Todavia, na área com menor nível de perturbação 9%, 24% e 67% de morfoespécies animais ocorreram pela manhã, tarde e manhã e tarde respectivamente.

Quanto ao substrato utilizado pelas morfoespécies animais na área com maior nível de perturbação antropogênica, encontrou-se os seguintes resultados: 10% das espécies estavam utilizando serrapilheira, 52% caule de árvores, 19% Folhagem e 19% estavam se deslocando (em voo) no primeiro dia de amostragem; e 14% das espécies estavam utilizando serrapilheira, 18% caule de árvores, 32% folhagem e 36% estavam se deslocando (em voo) no segundo dia de amostragem. Todavia, para a área com menor nível de perturbação antropogênica foram encontrados os seguintes resultados: 33% das espécies estavam utilizando serrapilheira, 29% caule de árvores, 17% folhagem e 21% estavam se deslocando (em voo) no

primeiro dia de amostragem e 16% das espécies estavam utilizando serrapilheira, 16% caule de árvores, 5% folhagem e 63% aéreo (em voo) no segundo dia de amostragem.

Baseando-se nos índices de diversidade de Shannon-Wiener e Simpson a área com maior nível de perturbação antropogênica apresentou-se mais diversa que a área com menor nível de perturbação. Quanto aos Índices de similaridade de Jaccard e Bray-Curtis, utilizados para comparar as áreas mais e menos impactadas, encontrou-se uma similaridade de 33,3% e 66% respectivamente. Observou-se também que houve um decréscimo na diversidade com aumento do nível de perturbação ambiental, todavia, o inverso foi observado para a riqueza específica.

Normalmente associa-se o aumento no nível de perturbação ambiental ao decréscimo da diversidade e riqueza específica. No entanto, o aumento no nível de perturbação até certo ponto pode ocasionar um aumento na diversidade.

Uma vez que o nível de perturbação em um dado ambiente é mínimo, a diversidade é reduzida devido à exclusão competitiva entre as espécies. Caso o nível de estresse continue aumentando, a competição diminui, resultando em um aumento da diversidade. Porém, se o distúrbio chega a níveis elevados, as espécies começam a ser eliminadas e então a diversidade diminui novamente. Logo, a diversidade é máxima em níveis intermediários de estresse, o que poderia explicar os resultados encontrados no presente estudo.

Os resultados obtidos tanto pelo Índice de similaridade de Jaccard quanto pelo de Bray-Curtis demonstraram que as áreas estudadas diferem entre si.

Os índices de similaridade de Jaccard e Bray-Curtis diferem pelo primeiro

tratar-se de um índice binário, o qual leva em consideração apenas os dados de presença e ausência, enquanto o Índice de similaridade de Bray-Curtis trata-se de um índice quantitativo onde, portanto, são considerados a existência de dados de abundância. Essa diferença de natureza (binária e quantitativa) pode explicar a diferença de valores obtidos pelos dois índices (Pinto-Coelho, 2000). Quanto às morfoespécies vegetais, na área mais impactada foram registrados 110 indivíduos pertencentes a 13 morfoespécies; enquanto na área mais preservada foram observados 46 indivíduos distribuídos em 24 morfoespécies. Estas morfoespécies foram agrupadas em categorias de acordo com os estratos (herbáceo, arbustivo e arbóreo). Para a área com maior nível de perturbação antropogênica foram encontradas as seguintes porcentagens: 52% de morfoespécies de porte arbóreo, 24% de morfoespécies herbáceas e 24% de morfoespécies arbustivas. Na área de menor nível de perturbação foram observados 72% morfoespécies arbóreas e 2% de morfoespécies herbáceas, 26% de morfoespécies arbustivas. Segundo Brighenti & Oliveira (2011), espécies herbáceas são resistentes a intempéries, apresentam rusticidade, sendo geralmente estrategistas R, o que explica a maior densidade na área antropizada.

CONCLUSÃO

A diferença no nível de perturbação entre as duas áreas estudadas se mostrou um fator determinante na alteração da riqueza e diversidade encontradas. Além disso, os diferentes níveis de perturbação foram responsáveis por alterações na composição, abundância e distribuição dos organismos reportados, uma vez que a maior disponibilidade de recursos e intempéries promove o

surgimento de novos microhabitats na área antropizada o que poderia levar a ocorrência de uma maior riqueza.

REFERÊNCIAS

BEGON M., TOWNSEND C. & HARPER J. Ecology: from individuals to ecosystems. Quarta ed. Oxford: Blackwell Publishing,. 2006. 738 p.

BRIGHENTI, A. M. & OLIVEIRA, M. F. Biologia e Manejo de Plantas Daninhas. 2011. Disponível em: <<http://omnipax.com.br/livros/2011/BMPD/BMPD-cap1.pdf>>. Acesso em: 01 set. 2011.

CÂMARA, I.G. Megabiodiversidade do Brasil. Rio de Janeiro: Sextante. 2001. 206 p.

CAPOBIANCO, J.P.R. Biomas Brasileiros. In: CAMARGO, A.; CAPOBIANCO, J.P.R.; OLIVEIRA, J.A.P. (Ed). Meio Ambiente Brasil – Avanços e Obstáculos pós-Rio – 92. São Paulo: Estação Liberdade: Instituto Socioambiental; Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas. 2002.

LIMA, M. G. C.; CORRÊA, A. C. D. Apropriação de uma unidade de conservação de Mata Atlântica no espaço urbano de Recife – PE: O caso da Reserva de Dois Irmãos. Revista de Geografia (UFPE). Vol. 22, N. 1, p. 67-77. 2005.

MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N.; MITTERMEIER, C.G., Hotspots: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. México: Cemex. 2000. 430p.

PINTO-COELHO, R. M. Fundamentos em Ecologia. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000. 252p.

SAMPAIO, E.V. de S.B.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L. Usos das plantas em Pernambuco. In. TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (Eds) Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Apresentação Cláudio Marinho. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e

Meio Ambiente, Editora Massangana. v. 2. 2002.

SOUZA, A. C. R.; ALMEIDA Jr ,E.B.; ZICKEL, C. S. Riqueza de espécies de sub-bosque em um fragmento florestal urbano, Pernambuco, Brasil. Biotemas, v. 22, n. 3, p.57-66. 2009.

YEAST CONTAMINATION ELIMINATION OF IN VITRO ACROCOMIA ACCULEATA EMBRYO GERMINATION

Houllou-Kido, L. M.⁽¹⁾; Souza, R. A.⁽¹⁾; Santos, E. C. P.⁽¹⁾; Silva, J. J. P.⁽²⁾; Medeiros, M. J. L.⁽³⁾; Borrelly, G.⁽¹⁾; Santos, M. G.⁽³⁾
laureen.hk@gmail.com

⁽¹⁾ Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste; ⁽²⁾ Cooperativa de Produção Agropecuária e Industrial Patrimônio LTDA.; ⁽³⁾ Universidade Federal de Pernambuco. Financiamento: FACEPE, MCT.

RESUME

Macaw palm (*Acrocomia aculeata*) is an oleaginous palm tree that is highly productive and adapted to semiarid ecosystems, *A. aculeata* oil is an alternative to be used biodiesel production. Such characteristics make macaw palm a potential crop to be used by farmers from semi-arid regions, but its propagation is still problematic. This paper reports the yeast elimination efficiency of fungicide treatment on *in vitro* germinated *Acrocomia* plants. The explants were cultured on MS medium and different explants (embryo with cotyledon and embryo without cotyledon) were tested. After 30 days of culture, some embryos with cotyledon presented plant conversion. However, in all explants (embryo with cotyledon and embryo without cotyledon) was observed yeast contamination. All contaminated plants were transferred to MS medium with fungicide. Plants were kept in this medium during one week and transferred to MS medium without fungicide. No contamination was observed after this process in the stages of plant development and *in vitro* root development. The explant size (embryo with cotyledon and embryo without cotyledon) was no relevance to avoid endophytic contamination.

Key-words: Macaw Palm; Yeast; Endophytic Contamination

Palavras-chave: Macaíba; Levedura; Contaminação Endofítica

INTRODUCTION

Oil palm (*Acrocomia aculeata*.) is a perennial monocotyledonous tree, native to Brazilian ecosystem. It is one of the most potential plant species that can be used to biodiesel production. As

bioenergy can play an important role in the future, the project viability depends on other economical uses the plant source can produce in a determined area. *Acrocomia* satisfies satisfactory all these conditions. *Acrocomia* palm grows to heights of 8m to 12m. As each palm can

produce 45kg of fruits/year and, with correct cultivation, the harvest could be around 22 ton/Ha per year. However, conventional breeding of oil palm, to obtain the maximum production, is time cost. Often takes about 20 years per generation and is extremely costly. Other main problem of this culture is the long dormancy of the seeds (around 350 day). This has made *in vitro* germination and propagation of oil palm an important aspect in the development of biofuels industry. Several explant sources have been used in tissue culture of oil palm including mature seed embryos, seedlings, roots, young leaves, and inflorescences; however, one of the most important problems to *in vitro* plant tissue establishment is the endophytic contamination. In this work were studied the relationship between explant and fungicide protocols to control endophytic yeast contamination in *Acrocomia aculeata*.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material

Seeds were obtained from mature fruits from COOPAVIL, Condado district of Pernambuco State, Brazil. The fruits were collected in field and storage in plastic bags to transport. In the laboratory (LAPAB - Laboratory of Biofabric Applied Research) in CETENE. The pulp was removed and the seed surface sterilization was

realized as described below. On laminar flow, the seeds were surface sterilized for 1 min. in 70% ethanol; followed by dipping in a commercial sodium hypochlorite solution at 1.5% for 5 minutes. After this treatment, the seeds were washed four times in distilled and autoclaved water. Explants used in this experiment were embryo with cotyledon and embryo without cotyledon (Figure 1). Embryos (with or without cotyledon fragment) were isolated with sterile bistoury and clamp (Figure 1).

These explants were transferred to a semisolid medium. The basic medium composition were tested MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), JADS (Correia et al, 1995) and DKW (Driver and Kuniyuki, 1984). All explants were kept in grow room with 16 h. photoperiod and light/ temperature controlled. All explants were transferred to fresh medium each 30 days. The embryo development were analyzed every 30 days. *In vitro* contaminated explants were sent to Microbiological Laboratory of UFPE, Vitoria campus, for identification. After microorganism identification, all plants contaminated were transferred to medium supplemented with 1 g. L⁻¹ of Bendazol. The plants were kept in this conditions during one week. After this period, all plants were transferred to medium without fungicide to evaluate the efficiency of Bendazol treatment. All plants were again kept in grow room with 16 h. photoperiod and light/ temperature controlled.



Figure 1. Aspect of *Acrocomia aculeata* cut seed exposing the embryo and isolated embryos.

RESULTS AND DISCUSSION

It was observed that there is no difference between embryo development in all basic medium composition (DKW, JADS and MS) tested (Table 1).

Table 1. *In vitro* explant development of *Acrocomia aculeata* in different medium composition (DKW, MS and JADS) after 30 days.

Development	Medium	No Development	Medium	Total seeds
21	9-DKW	2		23
	7-MS			
	5-JADS		2-JADS	

In the other hand, embryos with cotyledon initiated development early than embryos without cotyledon. These results indicate that cotyledon can contribute to stimulate embryo development. It is possible that the cotyledon have some component (hormone, nutrient) that is not available in any medium composition tested (MS, JADS and DKW). The first plant conversion was observed after 20 days in culture. These results are considered satisfactory when compared with others palms species.

As example, *Howea forsteriana* presented *in vitro* germination after 2 months (Chin et al. 1988). In the other hand, *in vitro* germination of *Phoenix dactylifera* was obtained after four days (Costa and Aloufa, 2010). These results also indicates that time to *in vitro* germination is palm specie dependent.

Fungal endophytes are quite common in nature and some of them have been shown to have adverse effects against insects, nematodes, and plant pathogens. However, the main problem observed to convert embryo to plants was endophytic contamination with yeast. These contaminations were observed in embryos with and without cotyledon. These results indicate that the explant size did not is a relevant factor to avoid these contamination. The endophytic contamination affects seed and embryo development and viability. In wheat, *Fusarium* endophytic contamination reduces the seed germination in susceptibility cultivar to only 20%. However, the use *Bacillus mojavensis* RRC 101 increased seed potential germination to 82% (Bacon and Hinton, 2007).

Embryos converted in plants kept in medium supplemented with bendazol (1gr. L⁻¹) during one week did not present any sing of contamination when transferred to medium without fungicide. These plants developed normally (Figure 2) and were transferred to acclimatization.

The *in vitro* plant establishment is frequently jeopardized by endophytic contaminants (Nathan et al. 1992; Atehortua et al. 1999; Dias and Rodrigues 2001), making it important to develop techniques that can make micropropagation a more viable alternative. As so, the strategy used in *A. aculeata* present a great potential to reduce or solve this problem.



Figure 2. Aspect of *Acrocomia aculeata* explants *in vitro* cultivated. A. Embryo with part of cotyledon. B. Embryo without cotyledon.



Figure 3. Plant obtained from embryo development and Bendazol treatment.

CONCLUSION

The viability of *in vitro* germination of *Acrocomia aculeata* can be optimized by avoiding the endophytic contamination using a simple treatment with fungicide (bendazol).

The sizes of the explant (embryo with part of the cotyledon and embryo without cotyledon) have no influence on *in vitro* avoidance of endophytic embryo contamination.

The basal medium MS, JADS and DKW constitutions have no influence on *in vitro* embryo germination.

The presences of part of the cotyledons associated with the embryo have a positive influence on initial *in vitro* development.

REFERENCES

- ATEHORTUA, L.; URREA, A.L.; GIL, U.; MORA, B.; VALENCIA, C.; CORRALES, M.; CARMONA, A.; VALLEJO, A. Heliconia Tissue Culture. Bulletin of Heliconia Society International, Cali, v. 9, p. 16-17. 1999.
- BACON, C. W.; HINTON D. M. Potential for control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* and related species using the bacterial endophyte *Bacillus mojavensis* Biocontrol Science and Technology; v. 17, n.1/2, p. 81-94. 2007.
- CHIN, H. F.; KRISHNAPILLAY, B.; ALANG, Z.C. Braking dormancy in kentia palm seeds by infusions techniques. Pertanika, Selangor ,v. 11, n.1, p. 137 – 141. 1988.
- CORREIA D.; GONÇALVES, A.N.; COUTO H.Y.Z.; RIBEIRO, M.C. Efeito do meio de cultura líquido e sólido no crescimento e desenvolvimento de gemas de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* na multiplicação *in vitro*. IPEF, Piracicaba, n. 48/49, p. 107-116. 1995.
- COSTA, N. M. DE S.; ALOUFA, M. A. I. Influence of light on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *in vitro* seed germination. Ciência e Agrotecnologia, Lavras,v. 34, p.1630 – 1633. 2010.
- DIAS, M.A.; RODRIGUES, P.H.V. FONTES de explantes e contaminantes isolados em cultivo *in vitro* de helicônia. Revista Brasileira de Horticultura Ornamental, Campinas, v.7, p. 165-168. 2001.
- DRIVER, J.A.; KUNIYUKI, A.H. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. HortScience, Alexandria,v. 19, p. 507-509. 1984.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tabacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Copenagen, v.15, p.473-497. 1962.

NATHAN, M.S.; GOH, C.J.; KUMAR, P.P. *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. Hortscience, Alexandria, v. 27, p. 450-452. 1992.

CONHECIMENTO DOS ESTUDANTES DA REDE PÚBLICA DE ENSINO SOBRE A CAATINGA, SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO

Silva, M.M.G.⁽¹⁾; Melo, V.G.⁽¹⁾; Freire B.B.⁽²⁾; Batista-Leite, L.M.A.⁽³⁾
morgana.uast@gmail.com

⁽¹⁾Graduando Bolsista do Programa de Educação Tutorial (PET BIOLOGIA), Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural do Pernambuco (UAST/UFRPE). Fazenda Saco S/N. Zona Rural, Margem Direita da BR-232, Alto Sertão do Pajeú, Serra Talhada-PE, Caixa Postal: 063. CEP: 56.903-970; ⁽²⁾Graduando do Curso de Engenharia de Pesca da UAST/UFRPE; ⁽³⁾Professora Adjunto II da UAST/UFRPE.

RESUMO

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, localizado praticamente em toda região Nordeste, com considerável endemismo e grande capacidade de adaptação as condições adversas do clima Semiárido. Porém, o desconhecimento por parte da população sobre a importância da preservação deste bioma, tem contribuído para sua intensa degradação e uso desenfreado de seus recursos naturais. Dessa forma, o presente trabalho objetivou analisar o nível de conhecimento de estudantes do Ensino Fundamental II da rede pública de Serra Talhada-PE, além de aprimorar o conhecimento e promover uma conscientização acerca de sua preservação, importância ambiental e ecológica. Foram aplicados questionários contendo perguntas objetivas e discursivas sobre definição, localização, animais, plantas e preservação da Caatinga. Em seguida, foram realizadas palestras educativas com 233 educandos, onde foi possível observar que a maioria dos estudantes apesar de estar inserido no bioma tem informações equivocados, restringindo sua definição “a mata seca, com árvores secas”. Contudo, demonstraram conhecer razoavelmente a sua fauna e a sua flora. Portanto, torna-se imprescindível a inclusão desse tema nos Projetos Políticos Pedagógicos do Ensino Fundamental, com intuito de investir na Educação Ambiental, visando à conscientização e maior valorização desse ecossistema.

Palavras Chaves: Bioma, Educação Ambiental, Conscientização.

INTRODUÇÃO

O Semiárido brasileiro apresenta uma área de aproximadamente 969.589,4 km² e encontra-se localizado em maior proporção no interior da região Nordeste. Compreende basicamente oito Estados e parte do Norte de Minas Gerais, representando assim, 11% de todo território brasileiro (Küster, 2006). Apresenta ainda como principal ecossistema predominante o bioma Caatinga, caracterizado por um clima Semiárido, apresentando chuvas irregulares, solos férteis e uma vegetação aparentemente seca.

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, que segundo Barbosa & Barbosa (2011) é vista por muitos como um ecossistema carente de recursos. Porém, este bioma apresenta uma relativa riqueza

biológica e ecológica, além de diversidade faunística e florística, com grande endemismo (Küster, 2006).

Além disso, a Caatinga possui grande importância e potencialidade para o Nordeste, uma vez que se adaptou as condições adversas do Semiárido nordestino, de forma que consegue diminuir os extremos de temperatura, estocar água – recurso esse, muitas vezes escasso nessa região, além de oferecer habitat para uma diversidade de seres vivos (Küster, 2006).

Entretanto, apesar de ser tão importante, a Caatinga vem sendo modificada diariamente por ações antrópicas, devido ao uso desordenado de seus recursos naturais. Segundo dados da Agenda 21 de Pernambuco de 2002, aproximadamente 80%

da Caatinga sofreu algum tipo de modificação devido as atividades humanas, especialmente por projetos de irrigação, pecuária, extração de lenha, etc. Suzuki (2006), por sua vez, ressaltou que estudos realizados pelo IBAMA demonstraram que somente em Pernambuco, 265 mil caminhões carregados de lenha são transportados por ano para suprir a demanda energética do Estado, o que se refere a 65.000 hectares de área desmatada.

É de suma importância a continuidade de estudos acerca da Caatinga, bem como o fortalecimento de programas de Educação Ambiental, a fim de levar maior conhecimento e conscientização sobre a relevância desse ecossistema. Dessa forma, o presente trabalho objetivou analisar o nível de conhecimento de estudantes do Ensino Fundamental II da rede pública de Serra Talhada-PE, além de aprimorar o conhecimento e promover uma conscientização acerca de sua preservação, importância ambiental e ecológica.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

O município Serra Talhada, Estado de Pernambuco, apresenta uma área territorial de 2.979,991 km² e população de 79.241 habitantes. Encontra-se localizado no Sertão Pernambucano, na microrregião do Pajeú, apresentando clima Semiárido Quente e vegetação predominante Caatinga Hiperxerófila (Censo 2010, IBGE). Serra Talhada é considerada um Pólo Educacional, uma vez que, além de possuir várias escolas públicas e privadas, dispõe ainda de algumas Instituições de Ensino Técnico e Superior como o Centro Tecnológico do Pajeú, a Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAST-UFRPE),

Faculdade de Integração do Sertão (FIS), Faculdade de Formação de Professores de Serra Talhada (FAFOPST), bem como a Universidade do Vale do Acaraú (UVA).

Coleta dos Dados

O presente estudo foi realizado com estudantes do sexo masculino e feminino do Ensino Fundamental II (6º ao 9º ano) da Escola Estadual Irnerio Ignácio, localizada no bairro Borborema e do Colégio Municipal de Aplicação localizado no bairro Nossa Senhora da Penha, ambos pertencentes ao município de Serra Talhada-PE. Os dados foram obtidos durante o mês de junho de 2011, através de uma atividade de extensão intitulada “Ações Educativas em Prol do Meio Ambiente” realizada pelo Grupo do Programa de Educação Tutorial (PET BIOLOGIA UAST), da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UAST/UFRPE).

Os procedimentos metodológicos utilizados foram aplicação de questionário individual, com o intuito de analisar o conhecimento prévio dos estudantes acerca do bioma Caatinga, seguido de palestra educativa dialogada. O questionário individual foi elaborado com questões objetivas e discursivas: *a. Dados pessoais*: idade, série e turma; *b. Conhecimentos específicos sobre a Caatinga*: conceito, localização, animais, plantas e sua preservação. O tempo de aplicação foi de 15 minutos.

Após a aplicação dos questionários foi realizada uma atividade de Educação Ambiental por meio de uma palestra educativa dialogada objetivando esclarecê-los e conscientizá-los sobre o meio ambiente e o Bioma Caatinga, fazendo uso de uma linguagem simples e apropriada,

visando atingir da melhor forma o público alvo. As palestras educativas foram ministradas em uma hora.

Para a produção das palestras foi utilizado o Programa Computacional PowerPoint Windows e apresentação realizada com auxílio do recurso audiovisual (Data Show).

Os resultados obtidos nos questionários aplicados foram registrados em um banco de dados e tabulados numa planilha do Programa Computacional Excel Windows, sendo transcritos alguns fragmentos mêmicos, conforme metodologia de Batista-Leite (2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa foi realizada com 233 estudantes matriculados no Ensino Fundamental II. O Colégio de Aplicação (53,2%) e a Escola Estadual Irnerio Ignácio (46,8%). A representação geral da amostra foi 40,8% formada por homens e 59,2% por mulheres, com uma faixa etária entre 9 e 18 anos.

Ensino Fundamental II do Colégio Aplicação

Foram entrevistados 124 estudantes do 6º ao 9º ano, sendo 62,9% mulheres e 30,1% homens, com idades entre 9 e 18 anos.

Inicialmente, os estudantes foram questionados se sabiam o que era Caatinga: 83,87% afirmaram saber. Destes, 41,35% se referiram a Caatinga como sendo uma “mata seca”, ou “região de clima quente com mato seco” e 53,85% responderam de forma satisfatória, conforme o seguinte fragmento mêmico:

[...] é um bioma brasileiro que contém vários tipos de animais e plantas [...]

Menino, 12 anos

Quanto à localização do bioma Caatinga: 99,18% acertaram citando a

região Nordeste e 0,82% responderam de forma inadequada, localizando a Caatinga nas regiões “Centro Oeste” e “Sul”, o fato deles estarem inseridos na região pode ter influenciado a resposta. Quanto aos animais que vivem na Caatinga: 70,97% disseram conhecer. No entanto, 14,77% citaram animais pertencentes a outros biomas como “elefante” e “zebra” e 84,09% apontaram animais típicos da Caatinga. Quando foram questionados se conheciam as plantas (flora) típicas da Caatinga: 87,10% dos estudantes declararam saber. Destes, 88,89% responderam adequadamente e 11,11% mencionam espécies de plantas introduzidas como a algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.). Contudo, este fato pode ser justificado pela grande dispersão desta espécie nos habitats do Semiárido.

Por fim, os estudantes foram indagados se sabiam como preservar a Caatinga: o percentual daqueles que disseram não ter conhecimento (47,58%) e dos que afirmaram saber (49,19%) foram bem próximos, demonstrando assim a necessidade de melhores esclarecimentos. Dos estudantes que apresentavam conhecimento de como preservar a Caatinga: 88,52% responderam adequadamente, conforme o seguinte meme:

[...] não poluindo, não fazendo queimadas, não desmatando [...]

Menina, 11 anos

Ensino Fundamental II da Escola Irnerio Ignácio

Foram entrevistados 109 estudantes, sendo 55% mulheres e 45% homens, com faixa etária entre 9 a 16 anos.

Os educandos foram questionados sobre a definição do bioma Caatinga: 67,89% declararam saber. No entanto, apenas, 25,68% definiram corretamente e 66,22% não responderam

adequadamente, conforme os fragmentos mêmicos:

[...] é aquele cerrado ou plantas bem secas [...] Menina, 13 anos
[...] Caatinga é mato seco [...] Menino, 10 anos

Quanto à localização do bioma Caatinga: 94,23% responderam adequadamente e 5,77% se equivocaram marcando as regiões Sul e Centro Oeste.

Quando argüidos sobre os animais que vivem na Caatinga: 21,95% citaram erroneamente animais pertencentes a outros biomas e 75,61% responderam satisfatoriamente.

Contudo, relacionaram animais domésticos e selvagens (Tabela 1).

Os animais mais citados pelos educandos da Escola Irnero Ignácio pode-se destacar cobra, pássaro e gado, enquanto que para os estudantes do Colégio Aplicação foram mencionados cobra, tatu e preá, demonstrando que os estudantes de ambas escolas apresentam um bom conhecimento sobre a fauna da Caatinga.

Com relação às plantas (flora) tipicamente encontradas no bioma Caatinga: 70,13% dos estudantes afirmaram conhecer as plantas encontradas neste ecossistema e responderam adequadamente. Todavia, 21,95% citaram espécies pertencentes a outros biomas (Tabela 2).

É importante destacar que a 4ª espécie mais citada foi a algaroba, planta não nativa da Caatinga, mas que apresenta uma ampla distribuição nesta região, o que pode ter contribuído para as citações dos estudantes. Pegado et al. (2006) em seu estudo realizado na Caatinga registrou que a algaroba compete com as espécies nativas preexistentes, apresentando densa distribuição.

Referente ao modo de preservar a Caatinga: 45,87% relataram não ter

conhecimento e 50,46% afirmaram saber. Destes, 12,73% não responderam satisfatoriamente, enquanto que 78,18% relataram corretamente, enfatizando o fim das atividades de desmatamento, queimadas e poluição.

Quanto às espécies de plantas mais citadas, destacou-se o mandacaru para ambas as escolas (Tabela 2), o que pode está relacionado ao fato dessa espécie ser bastante conhecida como o símbolo de resistência do Sertão nordestino.

Tabela 1. Animais mais citados nos questionários da Escola Irnero Ignácio e do Colégio de Aplicação de Serra Talhada-PE, durante junho de 2011.

Animais	Nº de Citações Colégios	
	Irnero Ignácio	Aplicação
Asa	2	3
Branca		
Bode	13	6
Cachorro	9	1
Camaleão	3	9
Cavalo	10	4
Cobra	23	25
Elefante	3	2
Gado	21	10
Galinha	8	-
Jumento	11	5
Lagartixa	1	6
Lagarto	2	10
Leão	10	2
Macaco	6	-
Onça	15	3
Pássaro	23	6
Peba	9	10
Preá	3	12
Raposa	7	3
Tatu	11	20
Tiú	2	7
Urubu	4	11
Veado	2	8

Tabela 2. Plantas mais citadas nos questionários da Escola Irnero Ignácio e do Colégio de Aplicação de Serra Talhada-PE, durante junho de 2011.

Plantas	Nº de Citações Colégios	
	Irnero Ignácio	Aplicação
Algaroba	21	11
Aroeira	2	2
Cacto	7	71
Cansação	3	-
Catingueira	3	1
Coroa de frade	5	4
Faveleiro	6	3
Juazeiro	9	3
Jurema	3	2
Mameleiro	4	-
Mandacaru	53	62
Milho	5	-
Palma	-	4
Palmito	3	-
Umbuzeiro	10	6
Xerófilas	-	7
Xiquexique	8	47

Comparando o nível de conhecimento dos estudantes acerca do bioma Caatinga, verificou-se que os educandos do Colégio de Aplicação detém melhor conhecimento sobre as questões levantadas, do que os educandos da Escola Irnero Ignácio (Fig. 1), este fato pode está relacionado à diferença de métodos didáticos aplicados em ambas escolas. No primeiro contato, a maioria dos estudantes do Colégio de Aplicação demonstrou ter estudado o bioma em outra oportunidade na sala de aula,

enquanto que os educandos da Escola Irnero Ignácio revelaram-se em sua maioria desconhecedores do tema abordado.

Quanto às palestras educativas realizadas em ambas as escolas, foi perceptível o envolvimento e participação dos estudantes. Porém, verificou-se uma maior interação e debate entre os educandos do Colégio de Aplicação, uma vez que os mesmos se sentiram mais a vontade para discutir e trocar conhecimentos.

No entanto, nota-se em geral, que apesar dos estudantes estarem inseridos no bioma Caatinga, pouco sabem a respeito do seu verdadeiro valor, apresentando muitas vezes pensamentos equivocados e relativo desinteresse, isto pode ser fundamentado pelo fato do assunto ser pouco trabalhado em sala de aula pelos educadores, uma vez que a maioria dos livros didáticos dão uma maior ênfase a outros biomas como o Cerrado e Amazônia e quando tratam da temática da Caatinga, o fazem de maneira pontual.

Barbosa & Barbosa (2011) ressaltaram a importância de se fazer uma revisão metodológica e de conteúdos, para que os estudantes possam ser instruídos a valorizarem melhor o bioma onde habitam.

Além disso, a Educação Ambiental é outro ponto de grande relevância para promover conscientização e diminuição dos índices de degradação, pois como Grün (1996) ressaltou: “uma educação que não seja ambiental, não pode ser considerada Educação”.

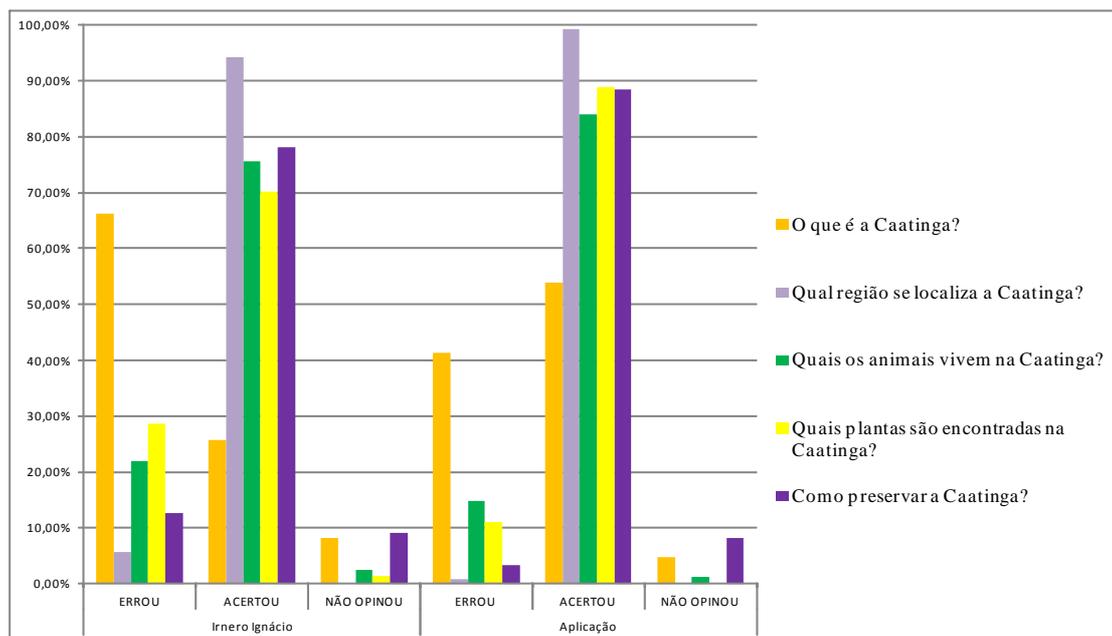


Figura 1. Nível de conhecimento sobre a Caatinga dos Estudantes da Escola Irnerio Ignácio e do Colégio de Aplicação, durante junho de 2011.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos traduzem a relevância da continuidade de estudos dessa natureza, uma vez que muitos estudantes expressaram não possuir conhecimento acerca do bioma, enquanto outros demonstraram certo desinteresse pelo assunto.

Assim, a educação ambiental representa uma importante ferramenta para melhorar a situação da educação nas escolas públicas do País, com o intuito de levar conhecimento e despertar neles uma posição mais consciente acerca da conservação e preservação dos recursos naturais do ecossistema ao qual estão inseridos, uma vez que, é na escola que se encontra a base para a formação de cidadãos críticos, participativos e conscientes.

REFERÊNCIAS

KÜSTER, A. Tecnologias Apropriadas para Terras Secas - Manejo sustentável de recursos naturais em regiões semi-

áridas no Nordeste do Brasil: *Manejo sustentável da Caatinga*. In:____Fortaleza: Fundação Konrad Adenauer, GTZ, 2006. pp.23,172-174.

AGENDA 21 DO ESTADO DE PERNAMBUCO DE 2002. Disponível em: <http://www.kas.de/wf/doc/kas_11586-1522-1-30.pdf?080618184714>. Acesso em: 14 set. 2011.

SUZUKI, N. A Caatinga é um dos biomas mais ameaçados do planeta. Revista ECO 21 ed. 114. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <<http://www.eco21.com.br/textos/textos.asp?ID=1341>>. Acesso em: 14 set. 2011.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2011. Serra Talhada. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acessado em 14 set. 2011.

BARBOSA, J. A. A.; BARBOSA, R. K. V. C. “Visões Biológicas de um Semiárido”: A Diversidade Biológica da Caatinga na Ótica de Alunos da Rede Pública de Ensino no Agreste Paraibano. *Revista de Biologia e Farmácia* v.06, nº01, p. 176-184, 2011.

BATISTA-LEITE, L. M. A. *Estudo etnocarcinológico dos catadores de Cardisoma guanhumii Latreille, 1825 (CRUSTACEA, BRACHYURA, GECARCINIDAE) do estuário do rio Goiana, Pernambuco, Brasil.* 129f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – ênfase Zoologia), Universidade Federal da Paraíba, 2005.

PEGADO, C. M. A. et al. Efeitos da invasão biológica de algaroba - *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. *Revista Acta Botanica Brasilica.* São Paulo, v. 20, nº 04, p. 887-898, 2006.

GRÜN, M. Ética e Educação Ambiental, a conexão necessária. São Paulo: Papirus, 1996.

CONSUMO DE GLICOSE NA PRODUÇÃO DE BACITRACINA POR BACILLUS LICHENIFORMIS EM MEIOS ALTERNATIVOS CONTENDO SORO DE LEITE

Vieira, A. M.⁽²⁾; Alencar, A. A.⁽¹⁾; Alves da Silva; C. A.^(1,3,4).
amandinha.mota@hotmail.com

⁽¹⁾Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais; ⁽²⁾Licenciatura em Ciências Biológicas; ⁽³⁾Engenharias Ambiental e Química; ⁽⁴⁾Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais,-Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife-PE

RESUMO

O gênero *Bacillus* é composto por bactérias encontradas em diferentes tipos de habitats, adaptados a diferentes condições climáticas, de temperatura, salinidade e também pressão biótica, que influenciam em sua atividade e distribuição geográfica. O soro é um subproduto da fabricação do queijo, caseína e outros produtos de leite acidificado. Estudos comprovam que aproximadamente 75% a 85% do volume do leite destinado ao processamento de queijos geram o soro, com uma elevada demanda de O₂ (BOD), cujos valores oscilam entre 30 a 60 g de O₂/litro. Dados estatísticos da FAO registraram no Brasil em 2000 uma produção de aproximadamente 4.140.000 toneladas de soro de queijo. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o consumo de glicose durante a produção do antibiótico bacitracina por *Bacillus licheniformis* em meios alternativos contendo o substrato soro de leite. A cinética de produção ocorreu em shaker orbital a 150 rpm, 96h, 37°C. Os resultados obtidos indicaram que o consumo de glicose ocorreu durante as primeiras 48h do processo fermentativo, período em que ocorrem a fase exponencial e início da fase estacionária do crescimento. Nesse intervalo de tempo, os níveis de glicose foram reduzidos de 3,16g/L para 0,18g/L.

Palavras-chave: consumo glicose, produção bacitracina, *Bacillus licheniformis*.

INTRODUÇÃO

O *Bacillus licheniformis* é uma bactéria encontrada na maioria dos solos, principalmente em solos pobres em nutrientes, como pântanos e desertos. É comum também em alimentos, incluindo produtos naturais agrícolas, como cereais. É uma espécie comumente utilizada na indústria biotecnológica para produção de vários bioprodutos, dentre eles: enzimas, inseticidas, surfactantes e antibióticos peptídicos (BOER, PRIEST e DIDERICHSEN, 1994; CLERCK e VOS, 2004; REY et. al., 2004; BHUNIA, DUTTA e CHAUDHURI, 2010; DONG et. al., 2010; SONGSIRIRITTHIGUL et. al., 2010; LIU et. al., 2011).

A Bacitracina é um antibiótico polipeptídico produzido por bactérias do gênero *Bacillus licheniformis* e *B. subtilis*, realizando a inibição da biossíntese da parede celular de bactérias gram-positivas, e sintetizada através de mecanismos não-ribossomais pelo *B. licheniformis* (ISHIHARA et. al., 2002).

Em adição, bacitracina de zinco, junto com sulfato de neomicina e polimixina, são os ingredientes comuns na formulação de pomadas para o tratamento de infecções oftalmológicas e queimaduras leves (SIN e WONG, 2003).

A glicose é usualmente uma excelente fonte de carbono para o crescimento bacteriano, interferindo na síntese de muitos metabólitos secundários, dentre eles a bacitracina. Em alguns micro-organismos, foi relatado um efeito inibitório da glicose com a redução do pH (AWAIS et. al., 2007; TABBENE et. al., 2009).

Sendo também, um monossacarídeo cuja fórmula molecular é $C_6H_{12}O_6$, sendo encontrada na natureza na forma livre ou combinada. É uma das fontes

de carbono mais utilizada por diversos micro-organismos no processo de reprodução celular (NIELSEN, 2001; O'BRIEN, WRIGTH, 2011).

O soro de leite é um resíduo proveniente da fabricação do queijo, tendo uma coloração verde-amarelada, conteúdo de sólidos totais geralmente em torno de 6,0-6,5 % (m/v) e uma demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de no mínimo 30.000 (PINTADO, MACEDO e MALCATA, 2001). É de extrema importância utilização na industrial e ecológica, pois já foi comprovado que o despejo de 250 mil litros de soro no ambiente equivale à poluição causada por uma cidade de 50 mil habitantes (CARDOSO et. al., 2008).

Muitos metabólitos secundários de grande importância econômica são produzidos em pequenas quantidades pelos micro-organismos, sendo necessário muitas vezes acrescentar a composição do meio de produção, algumas substâncias que tendem a aumentar essa produção, como fontes de carbono e de nitrogênio suplementares (PELTON, 2002).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o consumo de glicose por *B. licheniformis* (UCP1010) em meio alternativo à base de soro de leite, para a produção de bacitracina

MATERIAL E MÉTODOS

Micro-organismo: *B. licheniformis* (UCP 1010), mantido a 37°C, isolado de solos contaminados por petróleo no porto da cidade do Recife e catalogada na Coleção de Culturas do Núcleo de Pesquisas em Ciências Ambientais (NPCIAMB), Universidade Católica de Pernambuco.

A cultura foi mantida em meio Ágar Nutritivo (AN), contendo (g.L⁻¹): peptona (10g), extrato de carne (3,0g),

NaCl (5,0g), Ágar (20g), água destilada q.s.p. 1000mL, pH 7,0.

Resíduo

Soro de leite obtido de indústrias de laticínios do Agreste de Pernambuco, cujo pH inicial foi de 6,1.

Produção da Bacitracina

O pré-inóculo bacteriano foi realizado em caldo nutritivo, shaker orbital, 37°C, 150rpm, durante aproximadamente 16h, até que se atingisse uma densidade óptica (600nm) de valor de 1,0.

Posteriormente, foram retirados foram retirados 25mL do pré-inóculo e transferidos para frascos Erlenmeyers de 500mL, contendo 250mL do meio alternativo, formulado com base no meio proposto por Hendlin (1949), composto por (g.L-1): L-ácido glutâmico (10g), K₂HPO₄ (0,5g), KH₂PO₄ (0,5g), MgSO₄.7H₂O (0,2g), MnSO₄.7H₂O (0,01g), FeSO₄.7H₂O (0,01g), água destilada q.s.p. 1000mL. O ácido glutâmico foi substituído por soro de leite na concentração de 40% (v/v), tendo sido adicionada a glicose, na concentração de 20g/L. O pH inicial dos meios foi ajustado para 7,0.

Na formulação dos meios de produção alternativos foi utilizado o soro de leite obtido previamente em indústrias de laticínios do Agreste de Pernambuco, cujo pH inicial foi de 6,1. Após o recebimento, o soro foi imediatamente congelado em volumes de 500mL e mantido a -5°C para ser utilizado no decorrer do trabalho.

Após preparados, os meios foram autoclavados a 121°C, durante 15 minutos. Os ensaios foram incubados em agitador orbital por 96 horas, com agitação de 150rpm, na temperatura de 37°C.

De acordo com Farzana e colaboradores (2004), K₂HPO₄ e KH₂PO₄ são

empregados como agentes tampão; MnSO₄.7H₂O e MgSO₄.4H₂O como cofatores das enzimas, FeSO₄.7H₂O utilizado para auxiliar a ação dos íons manganês, enquanto a glicose compõe os meios de produção como fonte adicional de carbono. Para avaliação do consumo de glicose, amostras foram coletadas a cada 4 horas, durante todo o processo de fermentação.

Além do consumo de glicose, foram realizados testes para comprovação da produção do antibiótico pelo microrganismo. A determinação da atividade antibiótica foi realizada pelo método de difusão em disco, de acordo com a metodologia descrita por KIRBY e BAUER (1966), utilizando *Micrococcus flavus* (UFPEDA323) como microrganismo-teste. Os resultados indicaram que a produção do antibiótico teve início após 24h do crescimento microbiano, tendo sido obtida a melhor atividade antibiótica após 72h.

Para a determinação da concentração de glicose, utilizou-se o kit comercial Labtest Glicose PAP Liquiform[®], cuja metodologia baseia-se no método enzimático-colorimétrico. Foram utilizados três tubos de ensaios, identificados com as letras B (Branco), T (Teste) e P (Padrão), e em cada tubo adicionadas as quantidades dos reativos de acordo com a tabela 1:

Tabela 1 - Quantidade de reativo utilizada para teste de avaliação do consumo de glicose.

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	---	0,01mL	---
Padrão	---	---	0,01mL
Reagente 1	1,0mL	1,0mL	1,0mL

Nos tubos indicados como teste, foi adicionada a amostra do líquido metabólico resultante do processo fermentativo para produção de bacitracina. Após a preparação dos

tubos, o material foi misturado vigorosamente e incubado em banho-maria a 37°C durante 15 minutos, com o nível de água superior ao nível dos reagentes nos tubos de ensaio, conforme indicação do fabricante.

Em espectrofotômetro, foram determinadas as absorvâncias dos testes e do padrão a 505nm, zerando-se o aparelho com o branco. Após realizada a leitura, a glicose foi expressa em g/L.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação do consumo de glicose indicou maior consumo durante as primeiras 48h do processo fermentativo, período em que ocorrem a fase exponencial e início da fase estacionária do crescimento (Figura 1). Nesse período, os níveis de glicose no meio de produção reduziram de 3,16g/L para 0,18g/L. Após 52h de crescimento microbiano, os níveis de glicose decrescem, atingindo 0,1g/L no final do processo fermentativo.

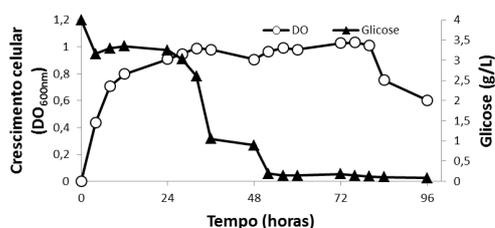


Figura 1. –Crescimento celular e consumo de glicose por *B. licheniformis* (UCP1010), durante o processo fermentativo para produção de bacitracina.

Observou-se que a máxima produção da bacitracina e o maior consumo de glicose ocorreram na fase estacionária do crescimento, fase em que são produzidos os metabólitos secundários, dentre eles os antimicrobianos peptídicos (KHALIL et. al., 2009). A produção do antimicrobiano não foi observada durante a fase exponencial, o que

confirma que os microrganismos crescem rapidamente quando os nutrientes são abundantes, mas a produção de antibióticos geralmente ocorre após ter cessado o crescimento (CARVALHO et. al., 2010).

A produção de moléculas bioativas, dentre elas os antibióticos, é uma das áreas de aplicação farmacológicas mais exploradas da biotecnologia. Diferentes constituintes presentes nos meios de cultura, como fontes de carbono, nitrogênio e sais, além de pH, temperatura e estado físico do meio, podem influenciar a produção dessas moléculas. Geralmente, a produção de metabólitos secundários é observada em meios ricos, capazes de manter um rápido crescimento, e onde os nutrientes provavelmente reprimem a formação das enzimas inibidoras da síntese desses metabólitos (AZEVEDO, PIMENTA e VIEIRA, 2004; TABBENE et. al., 2009).

A glicose sempre interfere na biossíntese de antibióticos, dentre eles a bacitracina (TABBENE et. al., 2009). Liu et. al. (2011), ao buscar uma produção eficiente de acetoina, um aromatizante produzido por *B. licheniformis*, utilizando 100g/L de glicose, observa que a concentração de glicose cai rapidamente depois de 8h e chega a zero após 36h. A glicose também foi utilizada por Awais et. al. (2007), que obtiveram bacitracina de *B. subtilis* a 30°C, usando meio sintético, acrescido de glicose na concentração de 50g/L, após 24h de crescimento.

As espécies de *Bacillus* possuem um grande potencial para a produção de antibióticos, sendo, portanto, necessário o isolamento e identificação dos metabólitos para estudos químicos detalhados, a fim de determinar sua composição e estruturas (KUTA, NIMZING e ORKA`A, 2009).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, foi possível concluir que:

- a glicose é uma fonte de carbono muito utilizada em ensaios de crescimento bacteriano, sendo facilmente degradada e rapidamente metabolizada pelos microrganismos.

- o consumo ocorre principalmente durante a fase exponencial e início da fase estacionária de crescimento, período em que os níveis de glicose decresceram consideravelmente, passando de 3,16g/L para 0,18g/L.

- *B. licheniformis* (UCP1010) possui potencial de crescimento em meios contendo soro de leite e glicose como fontes de nutrientes.

Tais resultados confirmam a utilização da glicose como uma rica fonte de carbono, podendo ser empregada em associação com resíduos industriais na formulação de meios de baixo custo para produção de diversos metabólitos microbianos.

REFERÊNCIAS

AWAIS M. et. al. Isolation, identification and optimization of bacitracin produced by *Bacillus sp.* Pakistan Journal of Botany, 39(4), 1303-1312, 2007.

AZEVEDO, R. C. L. S.; PIMENTA, F. C.; VIEIRA, J. D. G. Determinação da atividade antimicrobiana de *Actinoplanes* isolados do solo de cerrado goiano e o efeito citotóxico do extrato etanólico bruto dos isolados. Revista de Patologia Tropical, 33(2), 217-226, 2004.

BAUER A. et. al. Antibiotic susceptibility by a standardized disk

method. Amer. J. Clin. Path., v. 45, p. 493-496, 1966.

BHUNIA, B., DUTTA, D.; CHAUDHURI, S. Selection of suitable carbon, nitrogen and sulphate source for the production of alkaline protease by *Bacillus licheniformis* NCIM-2042. Notulae Scientia Biologicae, 2(2):56-59, 2010.

BOER, A. S.; PRIEST, F.; DIDERICHSEN, B. On the industrial use of *Bacillus licheniformis*: a review. Applied Microbiology and Biotechnology, 40:595-598, 1994.

CARDOSO, I. C. et. al. Fermentação do soro do leite por *Aspergillus Niger* para produção enzimática. In: 4 Semana do Servidor e 5 Semana Acadêmica, Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

CARVALHO, A. L. U. et. al. Growth, sporulation and production of bioactive compounds by *Bacillus subtilis* R14. Brazilian Archives of Biology and Technology, 53, 643-652, 2010.

CLERCK, E. D.; VOS, P. D. Genotypic diversity among *Bacillus licheniformis* strains from various sources. FEMS Microbiology Letters, 231: 91-98, 2004.

DONG, W. et. al. Optimization of the growth culture medium with traditional Chinese herbs and conditions of *Bacillus licheniformis* SH003. Paper presented at 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, 18-29/Jun, Chengdu, China, 2010.

ISHIHARA et. al. Distribution and variation of bacitracin synthetase gene sequences in laboratory stock strains of *Bacillus licheniformis*. Current Microbiology, 45, 18-23, 2002.

KHALIL, R. et. al. Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus megaterium* 19 strain. Pakistan Journal of Nutrition, 8(3):242-250, 2009.

KUTA, F. A., NIMZING, L., ORKA`A, P. Y. Screening of *Bacillus* species with potentials of antibiotics production. Applied Medical Informatics, 24, 42-46, 2009.

LIU, Y. et. al. Efficient production of acetoin by the newly isolated *Bacillus licheniformis* strain MEL09. Process Biochemistry, 46, 390-394, 2011.

PINTADO, M.E.; MACEDO, A.C.; MALCATA, F.X. Review: Technology, Chemistry and Microbiology of Whey Cheeses. Food Science and Technology International, v. 7, n. 2, p. 105-116, 2001.

REY, M. W. et. al. Complete genome sequence of the industrial bacterium *Bacillus licheniformis* and comparisons with closely related *Bacillus* species. Genome Biology, 5:R77, 2004.

SIN, D. W.; WONG, Y. Analytical methodologies for identifying a polypeptide antibiotic. Trends in Analytical Chemistry, 22, 2003.

SONGSIRIRITTHIGUL, C. et. al. Expression and characterization of *Bacillus licheniformis* chitinase (ChiA), suitable for bioconversion of chitin waste. Bioresource Technology, 101:4096-4103, 2010.

TABBENE, O. et. al. Optimization of medium composition for the production of antimicrobial activity by *Bacillus subtilis* B38. Biotechnol. Prog., 25, 2009.

DÉFICIT HÍDRICO EM PLÂNTULAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*, L.)

Muniz, L.R.⁽¹⁾; Costa, L.E.N.⁽¹⁾; Lima, C.D.M.⁽¹⁾

lu.muniz@hotmail.com

⁽¹⁾Universidade Federal de Pernambuco

RESUMO

A água é de fundamental importância para a planta, sua disponibilidade tem efeito sobre vários tipos de cultura e sua falta pode ocasionar danos no desenvolvimento, no crescimento, na produção e na qualidade dessa produção. Para se constatar os danos causados pela diferenciação na disponibilidade de água, o feijoeiro foi escolhido por ser uma planta sensível ao estresse hídrico, sendo possível observar as consequências desse déficit com maior robustez. Foram aplicados dois tratamentos, umidade baixa (T1) e umidade média (T2). O experimento durou 15 dias, onde, por meio de duas análises, observou-se a média do comprimento da parte aérea, do número de folhas por tratamento, da área foliar e da massa fresca e seca. Foram apresentadas diferenças nas médias entre os tratamentos. Em T1 a extensão da área foliar, por exemplo, foi de 159,93 cm² enquanto que em T2 o valor foi maior, 218,54 cm².

Comparado os resultados dos dois tratamentos, pôde se inferir que a deficiência hídrica altera de modo significativo nos processos morfofisiológicos da planta, reduzindo o comprimento da parte aérea, diminuindo o número de folhas, a extensão da área foliar e a quantidade de matéria seca.

Palavras-chave: Estresse Hídrico; Feijão.

INTRODUÇÃO

A água é um componente de maior abundância na natureza, porém é considerada como sendo o principal fator limitante para o desenvolvimento das plantas (Kramer, 1969). A deficiência hídrica se manifesta nas plantas vasculares, inicialmente sobre os estômatos e a medida que a dessecação se intensifica, ocorre a desidratação do protoplasma e a redução da capacidade fotossintética (BRIX, 1962, BOYER, 1970, LARCHER et al, 1981). Considerando que a planta é constituída de 90% de água, essa condição hídrica dos vegetais está muito relacionada aos processos fisiológicos que são de suma importância para a planta. Processos como transpiração, fotossíntese, respiração e crescimento são muito influenciados pelas alterações ocorridas

na fase hídrica das folhas. Esses processos se originam da passagem da água dentro da planta resultando em uma diferença de potencial hídrico. (CASA GRANDE, 2001; HSIAO, 1973). Plantas cultivadas sob condições adequadas de suprimento hídrico são, normalmente, resistentes ao déficit, mas se essa ausência hídrica ocorre de forma rápida, os mecanismos morfofisiológicos são severamente afetados, pois a planta necessitará adaptar-se rapidamente a nova situação; no entanto, se o déficit ocorre de maneira gradual e no início do ciclo, a planta se adaptará mais facilmente (SANTOS E CARLESSO, 1998). A murcha das folhas em resposta ao déficit hídrico, por exemplo, reduz a perda de água pela folha e a sua exposição à luz incidente, diminuindo, assim, o estresse pela folha e o estresse gerado pelo calor sobre as folhas. Em condições de déficit hídrico a planta

está sujeita a alteração de comportamento vegetal para continuar a viver, entrando em conflito entre a conservação da água e a taxa de assimilação de CO₂ para produção de carboidratos (TAIZ & ZEIGER, 2004). A disponibilidade hídrica no solo é avaliada pelas consequências geradas no grau de translocação de fotoassimilados na planta. A redução da fotossíntese, ocasionada pelo déficit hídrico, pode acarretar no comprometimento do desenvolvimento e peso dos grãos, pois a menor produção de carboidratos implica em menor quantidade de matéria seca. (GALBIATTI, 2004). Como em outras culturas, o feijoeiro é sensível aos estresses hídricos por possuir uma condição de baixa recuperação após um período de estresse e por possuir um sistema radicular pouco desenvolvido (OLIVEIRA et al., 2005). A magnitude dos danos provocados pelo estresse depende da duração, intensidade, frequência e época de sua ocorrência. Em sementes, a deficiência hídrica provoca redução da germinação; no período vegetativo, ocorre, além de outros efeitos, a redução de área foliar; durante a floração provoca abscisão de flores, com conseqüente redução do número de vagens por planta e, no enchimento de grãos, reduz o número de grãos e peso de vagens (GUIMARÃES, 1998). O feijoeiro apresenta mecanismos de adaptação à seca para manutenção da hidratação da planta. Essa adaptação à deficiência hídrica favorece o desenvolvimento do sistema radicular, como conseqüência do dano sofrido pela parte aérea (KRAMER & BAYER, 1995, SUBBARAO et al., 1995). Esse trabalho teve como objetivo observar o crescimento e desenvolvimento de uma planta exposta a diferentes condições de déficit

hídrico; além de avaliar a sua habilidade em adaptar-se a essas condições. Para melhores resultados, foi utilizado o feijoeiro; planta sensível ao déficit.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. Utilizaram-se plantas jovens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) divididas em 2 tratamentos: umidade média (regado 3 vezes por semana) e umidade baixa (regado uma vez por semana). Ambos os grupos, com 4 potes, continham areia lavada e duas plântulas de feijão em cada pote. A rega foi efetuada com água mineral (50ml). O experimento teve uma duração de 15 dias e contou com 2 análises. Na primeira, registrada no 7º dia do tratamento, determinou a parte aérea das plantas, medindo-se a distância vertical entre a superfície do solo e o último nó da haste principal das plantas; e o número de folhas em cada recipiente. A segunda análise, ocorrida no 15º dia, consistiu nos parâmetros observados na primeira análise, acrescidos de: extensão da área foliar, determinada cortando-se as folhas na altura do pecíolo e relacionando o peso de um quadrado de 25cm² com o peso total das folhas; e a pesagem da parte aérea e radicular separadamente, feita através de balança analítica, para a obtenção da massa fresca e da massa seca (após 72h na estufa à 70°C). Para análise dos dados foram feitas médias dos potes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira análise evidenciou-se que plântulas do T1 possuíam em média 10,17 cm de altura da parte aérea (P.A) e 3,25 folhas; e na segunda análise

observou-se uma altura de 10,35 cm e 6,5 folhas. Plântulas do T2 tiveram na primeira análise 12,53 cm de altura da P.A e 6,5 folhas. Quanto à segunda análise, o crescimento foi de 15,76 cm e o número de folhas 10. O déficit de água limitou tanto o crescimento (deteve-se a alguns milímetros) quanto o desenvolvimento de folhas nas plântulas do T1, o que fica evidente quando se compara a altura e o número de folhas em ambos os tratamentos (Tabela 1). Como os processos morfológicos e fisiológicos são dependentes da turgescência dos tecidos (que são sensíveis a redução de água no solo), como consequência há uma redução brusca no número de folhas (afeta a taxa fotossintética) e na altura das plantas.

Tabela 1: Valores médios do número de folhas e da altura das plantas (*Phaseolus vulgaris*) submetidas à baixa e média umidade nas duas análises. T1= Tratamento 1 (umidade baixa); T2= Tratamento 2 (umidade média); P.A.= Parte aérea.

	NÚMERO MÉDIO DE FOLHAS		ALTURA MÉDIA DA P.A. (cm)	
	1ª análise	2ª análise	1ª análise	2ª análise
T1	3,25	4	10,17	10,35
T2	6,5	10	12,53	15,76

A média da área foliar de plantas do T1(159,93 cm²) é muito inferior à de plantas T2, como demonstrado na Tabela 2. A resposta mais notável nas plantas expostas ao déficit hídrico consiste no decréscimo da produção da área foliar, como pode ser evidenciado no T1. A diminuição da área foliar é uma adaptação ao déficit hídrico, uma vez que a área foliar é um importante fator de produção e determina o uso da água pelas plantas. Ao contrário de

plântulas do T2, plântulas do T1 tiveram seu potencial de produtividade severamente inibido quando exposta ao déficit.

Tabela 2: Média da área foliar (cm²) de planta de feijão (*Phaseolus vulgaris*) sob efeito de 2 tratamentos. T1= Tratamento 1 (umidade baixa); T2= Tratamento 2 (umidade média).

	Área foliar
T1	159,93 cm ²
T2	218,54 cm ²

O peso médio da massa fresca em T1 da parte aérea (3,93g) e radicular (1,18g), apresentou significativa redução se comparado ao grupo T2, evidenciando a diminuição da umidade além de, demonstrar que em resposta a essa falta, há uma diminuição da parte aérea e, por consequência, um decréscimo das trocas gasosas e na utilização de energia pela planta, assim, uma proporção maior de assimilados vegetais é distribuída para o sistema radicular, induzindo o aprofundamento das raízes para melhor aproveitamento do solo, como pode ser observado na Figura 1.

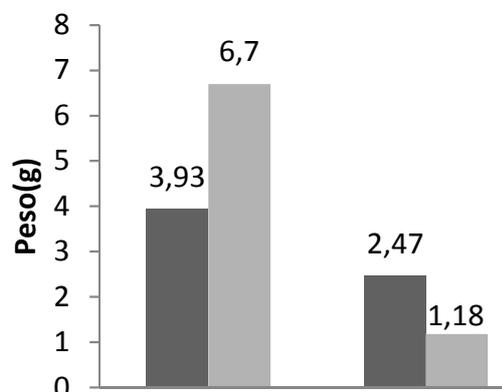


Figura 1: Peso médio da massa fresca da parte aérea e radicular. P.A= Parte aérea; P.R= Parte radicular; 1x = baixa umidade (Tratamento1); 3x= média umidade (Tratamento 2).

O acúmulo de massa seca é o reflexo da fotossíntese (incorpora matéria orgânica na planta), assim, fatores que interfiram na fotossíntese irão afetar o peso da massa seca, tais como a disponibilidade hídrica. A planta apresenta mecanismos para diminuir a perda de água reduzindo a parte aérea e investindo no crescimento da parte radicular, contudo, esse crescimento não implica em maior robustez da raiz, como indica a Figura 2.

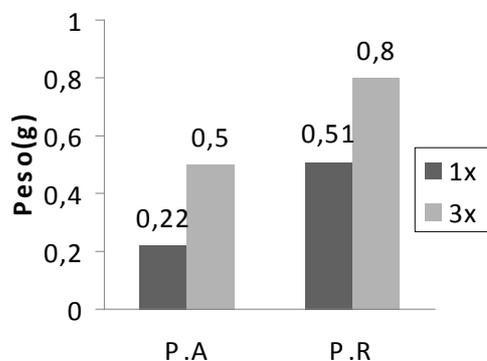


Figura 2: Peso médio da massa seca da parte aérea e radicular. P.A=Parte aérea; P.R=Parte radicular; 1x = baixa umidade (Tratamento1); 3x= média umidade (Tratamento 2).

CONCLUSÃO

Através da avaliação do crescimento, número de folhas, massa seca e área foliar pode-se observar que a água está intimamente relacionada com o crescimento dos vegetais, pois com a redução desta ocorrem alterações significativas no desenvolvimento das plantas (redução do comprimento da parte aérea, do número de folhas, da área foliar e do conteúdo de matéria orgânica).

REFERÊNCIAS

BOYER, J.S. Differing sensitivity of photosynthesis to low water potential in corn and soybean. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 46, p. 226-239, 1970.

BRIX, H. The effect of water stress on the rates of photosynthesis and respiration in tomato plants and loblolly pine seedlings. *Physiologia Plantarum*, North Carolina, v.15, p. 10-20, 1962.

CASAGRANDE, E.C.; FARIAS, J.R.B.; NEUMAIER, N.; OYA, T.; PEDROSO, J.; MARTINS, P.K.; BRETON, M.C. & NEPOMUCENO, A.L. Expressão gênica diferencial durante déficit hídrico em soja. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v.13, p.168-184, 2001.

GALBIATTI, J.A.; et al. Efeitos de diferentes períodos de irrigação no desenvolvimento, produção e qualidade de sementes na cultura do milho (*Zea mays* L.). *Engenharia Agrícola*, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 301-308, 2004.

GUIMARÃES, C.M. *Efeitos fisiológicos do estresse hídrico*. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1998.

HSIAO, T.C. Plant response to water stress. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v. 4, p. 519-70, 1973.

KRAMER, P.J. *Plant and Soil Water Relationship: Modern Synthesis*, New York : McGraw Hill, 1969. p. 538.

KRAMER, P.J. & BOYER, J. S. *Water relations of plants and soils*. New York: Academic Press, 1995.

LARCHER, W.; MORAES, J.A.P.V. & BAUER, H. Adaptative responses of leaf water potential, CO₂ - gas exchange and water use efficiency of *Olea europaea* during drying and rewatering. In: MARGARIS N. S. & H. A. MOONEY (Eds). *Components of Productivity of Meterranean - Climate Regions - Basic and Applied*. London: Dr. W. Junk Publishers, The Hague, p. 77-8, 1981.

OLIVEIRA, F. G.; et al. Índice de estresse hídrico diário do feijoeiro irrigado com água salina. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, p. 6-10, 2005.

SANTOS E CARLESSO. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológicos das plantas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SUBBARAO, G.V.; JOHANSEN, A.C.; SLINKARD, R.C.; RAO, N.; SAXENA, N.P.; CHAUHAN, Y.S. Strategies for improving drought resistance in grain legumes. *Critical Review in Plant Science*, Pearl River, v.14, p.469-529, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 719.

DEGRADAÇÃO DO PETRÓLEO POR CONSÓRCIO BACTERIANO ISOLADO DE MANGUEZAL POLUÍDO POR ATIVIDADE PETROLÍFERA

**Silva, D. S. P.⁽¹⁾; Santos, P. N. F.⁽¹⁾; Luz, E. L. P.⁽¹⁾; Cruz, G. G.⁽¹⁾; Silva, P. A.⁽¹⁾;
Cavalcanti, D. L.⁽¹⁾; Almeida, D. G.⁽¹⁾; Maciel, J. M.⁽¹⁾; Sousa, M. F. V. Q.⁽¹⁾**
cyberdeora@yahoo.com.br

⁽¹⁾Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco.

RESUMO

A biorremediação é um conjunto de tecnologias que tem o propósito de minimizar ou eliminar poluentes através do uso de micro-organismos. O presente trabalho objetivou avaliar o processo de degradação do petróleo pelo consorcio bacteriano UFPEDA C10, utilizando a técnica de bioestímulo. As bactérias foram isoladas do manguezal do rio São Paulo – Bahia, e pertencem a Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da UFPE. Inicialmente, os micro-organismos foram avaliados pela técnica do indicador redox 2,6 diclorofenol-indofenol (DCPIP) para verificação da potencialidade de degradação do petróleo e em seguida aclimatados a concentrações crescentes (1% a 10%) de petróleo. Para a técnica de bioestímulo foram empregadas duas formulações de meio de Büshnell Haas (BH): normal e modificado, em que a concentração de nitrato de amônio foi triplicada. Os resultados mostraram que o Consorcio bacteriano C10 apresenta potencialidade de degradar o petróleo. Nos ensaios de bioestímulo em frascos foi observado que o meio BH modificado propiciou maior

concentração de biomassa, porém o teor de óleos e graxas foi maior que no meio BH normal, sendo, portanto, que o consórcio realiza, de forma satisfatória, a degradação do petróleo sem necessitar de adição extra de fonte de nitrogênio.

Palavras-chave: Biorremediação; Bioestímulo; Aclimatação.

INTRODUÇÃO

Em qualquer lugar em que o petróleo esteja sendo explorado, produzido, estocado, refinado e transportado, existe o risco de derrames acidentais que podem vir a causar danos à fauna e a flora, e ainda alterar o meio ambiente. Ocasionalmente esses acidentes envolvem grandes volumes de produtos sendo geralmente catastróficos, embora rotineiramente costumam ser pequenos e crônicos (BURGER, 1997; SOUZA, 2003).

A Biorremediação é uma tecnologia criada para tratar locais contaminados mediante o uso de agentes biológicos capazes de modificar ou decompor poluentes alvos. O benefício desses processos é a possibilidade da mineralização do poluente, isto é, a transformação em gás carbônico, água e biomassa.

Nos últimos anos tem sido dada atenção à obtenção de consórcios microbianos, que, comparativamente às culturas puras, têm-se mostrado mais efetivos na degradação do petróleo e derivados. Os consórcios, geralmente, apresentam maior capacidade de assimilar um grande número de hidrocarbonetos, como fonte de carbono, devido a complementariedade metabólica entre os membros.

A presença de elevadas concentrações de hidrocarbonetos no ambiente, que podem ser utilizados como fonte de carbono para o crescimento dos micro-organismos, faz com que outros nutrientes, tal como o nitrogênio, torne-

se limitante. A determinação da quantidade de nitrogênio é essencial para o processo de biorremediação, pois o nitrogênio está intimamente relacionado ao metabolismo dos micro-organismos, sendo essenciais na biossíntese de proteínas, componentes da parede celular e ácidos nucleicos pelos micro-organismos (SOUZA, 2003).

Uma das técnicas usadas na biorremediação é o bioestímulo, que consiste em introduzir nutrientes em um sistema poluído com a finalidade de acelerar o processo de biodegradação (PUTZKE; PUTZKE, 2002).

Para a obtenção de resultados satisfatórios, é de fundamental importância o conhecimento dos princípios e das aplicações dessas técnicas, sendo necessários estudos mais aprofundados sobre as melhores condições de processo no sentido de otimizar custos.

A presente pesquisa visa estudar a utilização de consórcios microbianos, nativos de local poluído por petróleo, para avaliar o processo de biodegradação do petróleo utilizando-se a técnica de bioestimulação.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra de petróleo

O petróleo utilizado nos experimentos é proveniente da Bacia do Recôncavo Baiano extraído do Campo de Candeias – Bahia.

Micro-organismos

As bactérias: UFPDA 148, UFPDA 150, UFPDA 161, UFPDA 163, que fazem parte do consórcio C10, foram isoladas de amostras coletadas no Manguezal do Rio São Paulo, pertencente ao Município de São Francisco do Conde, na Bahia, local de evidente contaminação por petróleo.

Cada isolado foi depositado na Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco e, atualmente, encontram-se em via de identificação, porém já foi verificado que todas as bactérias do consórcio são gram-negativas.

Potencialidade para biodegradação

As linhagens pertencentes ao consórcio C10 foram selecionadas pela técnica do indicador redox 2,6 diclorofenol - indofenol (DCPIP) (HANSON; DESAI; DESAI, 1993). Placas multipoços foram utilizadas contendo 250 µl do meio Büshnell Haas- BH (tabela 1), 25 µl de suspensão microbiana padronizada em 10^{10} UFC/mL na escala de Mac Farland, 5 µl de petróleo e 3 µl do indicador DCPIP. Dois controles foram utilizados, o negativo (abiótico) e o positivo, no qual a glicose foi utilizada em substituição ao petróleo. Para o consórcio C10, constituído pelas quatro bactérias, foi utilizado o teste de Hanson adaptado para frascos de Erlenmeyer (GOMES, 2004).

O indicador 2,6 DCPIP atua como acceptor de elétrons nesse processo de oxidação-redução, promovendo a mudança de coloração do meio de cultivo de azul para incolor, quando reduzido.

TABELA 1: Composição do meio mineral Büshnell Haas (Fonte: ATLAS (1995))

COMPONENTES	QUANTIDADES
K ₂ HPO ₄	1,00g
KH ₂ PO ₄	1,00g
NH ₄ NO ₃	1,00g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20g
FeCl ₃ .2H ₂ O	0,05g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,02g
Ágar	15,00g
Água destilada	1L
(pH=7 ± 0,2)	

Ensaio de Aclimação

A aclimação do consórcio foi realizada em frascos de Erlenmeyer (500mL), contendo o meio mineral de Büshnell Haas (BH), 20% (v/v) do inóculo padronizado a 10^{10} UFC/mL pela escala de Mac Farland e concentrações crescentes, 1%, 4%, 7% e 10%, de petróleo como fonte de carbono, totalizando um volume de 100 mL. Os frascos foram mantidos sob agitação de 150 rpm, e temperatura de 30°C. As transferências para as maiores concentrações ocorreram a cada 48 horas. Esta etapa de aclimação é de suma importância a sobrevivência da cultura microbiana a concentrações elevadas do poluente.

Ensaio de Bioestímulo

Foram utilizados frascos de Erlenmeyer (250 mL) contendo 70% do meio BH ou BH modificado, onde a concentração de nitrogênio no meio foi triplicada, 20% do inóculo previamente aclimatado e 10% da fonte oleosa, totalizando um volume de 50mL. Os experimentos foram realizados a temperatura de 30°C, sob agitação de 150 rpm. A intervalos de 24h foram realizadas amostragens para as determinações de pH e biomassa, e a análise do teor de óleos e graxas foi efetuada ao final do ensaio, após sete dias. O pH foi medido por potenciometria; a biomassa foi determinada através da medida de peso seco de células, obtido pela filtração de 20mL de amostra; e a .

A intervalos de 24h foram realizadas amostragens para as determinações de pH, medido por potenciometria; e biomassa, determinada através da medida de peso seco de células, obtido pela filtração de 20mL de amostra. Ao final do ensaio, após sete dias, foi realizada a determinação de óleos e graxas por método gravimétrico, conforme APHA (2005) e análise

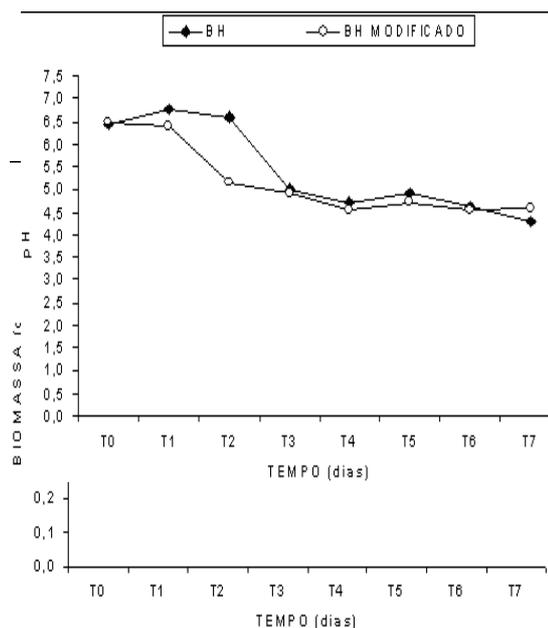
cromatográfica através do cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (CG-EM), modelo ShimadzuTM 17A/QP 5050A.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as linhagens individuais submetidas ao teste de Hanson ocasionaram um tempo de descoloração do meio de cultivo, contendo o indicador 2,6 DCPIP, de sete dias. A associação das quatro bactérias no consórcio reduziu o tempo de viragem do indicador para apenas dois dias.

Gomes (2004) sugere que esta redução de tempo na oxidação biológica é devido à ação sinérgica da associação microbiana que favoreceu o processo de biodegradação.

No ensaio de biodegradação com o meio BH normal, o perfil de biomassa do consórcio bacteriano mostrou um decréscimo na quantificação até o quarto dia, com posterior ascensão após o quinto dia até o final do ensaio. No meio BH modificado houve um decréscimo logo no primeiro dia, havendo posteriormente dois tempos em que se verificou a concentração máxima de biomassa (0,9 g/l e 0,78 g/l) com decréscimo no final do ensaio. De acordo com os resultados de biomassa mostrados no meio BH modificado houve maior crescimento microbiano, cerca de 8,0 % mais do que no meio BH normal, durante os sete dias de ensaio (Figura 1). porém segundo Santelices et al (1977) nem sempre uma biomassa elevada indica necessariamente uma alta taxa de biodegradação, principalmente quando se trata de uma mistura de hidrocarbonetos, onde a degradação ocorre através de cometabolismo, em que uma espécie de micro-organismo utiliza a fonte de carbono disponível produzindo intermediários metabólicos



que por sua vez serão utilizados por outras espécies microbianas.

Figura 1 - Perfis de biomassa do consórcio C10 ao longo de sete dias, em meios BH, normal e modificado, contendo 10% de petróleo.

Quanto ao pH, nos dois meios testados, os valores apresentaram perfis semelhantes, mantendo-se na faixa entre 4,9 a 4,2 a partir do terceiro dia até o fim dos ensaios (Figura 2). A queda de pH, observada a partir do primeiro ou segundo dia de ensaio, pode ser interpretada como um indicativo de biotransformação, com provável produção de ácidos orgânicos proveniente do processo de biodegradação de hidrocarbonetos (HAHN; LOERH, 1992).

Figura 2 - Valores de pH medidos nos meios BH normal e BH modificado, durante os ensaios de bioestímulo.

Durante as análises observou-se uma redução no teor de óleos e graxas, nos ensaios de bioestímulo em frascos

contendo uma concentração inicial de 10% (v/v) de petróleo. Os resultados obtidos, no final dos experimentos, mostram que no meio BH os teores residuais de óleos e graxas foi 40,95% menor que o obtido com o meio BH modificado (Figura 3).

No trabalho de Melo (2004), utilizando frascos agitados contendo meio de cultura com a mesma concentração inicial de borra de petróleo (10% (v/v)) incubados por 12 dias, observou-se um teor de óleos e graxas residuais de 61,8%, valor semelhante ao obtido no ensaio com o meio BH modificado.

O perfil cromatográfico foi obtido com a finalidade de constatar o consumo de hidrocarbonetos, constituintes do petróleo, pelo consórcio microbiano aclimatado. Verifica-se um decréscimo nos perfis de concentração, evidenciando a ocorrência da biodegradação.

Dentre os hidrocarbonetos investigados no petróleo, 15 constituintes foram evidenciados com maior precisão pela metodologia utilizada no sistema GC-

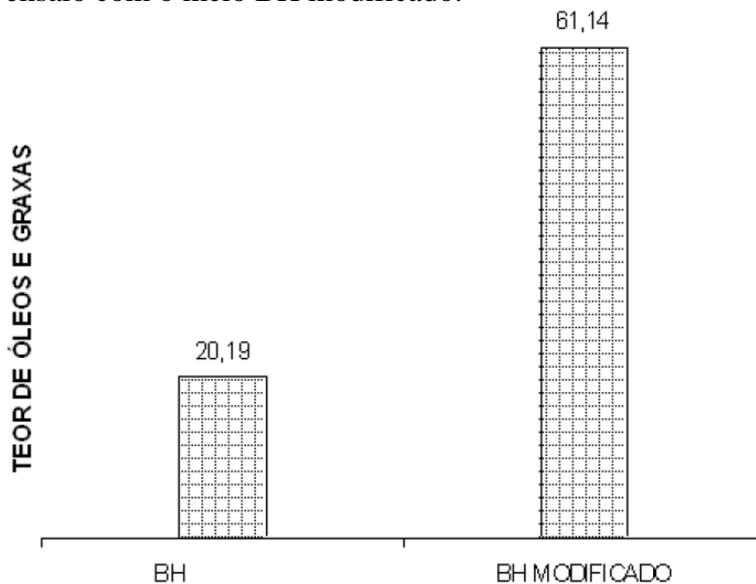


Figura 3 - Teores residuais de óleos e graxas obtidos nos meios BH normal e BH modificado.

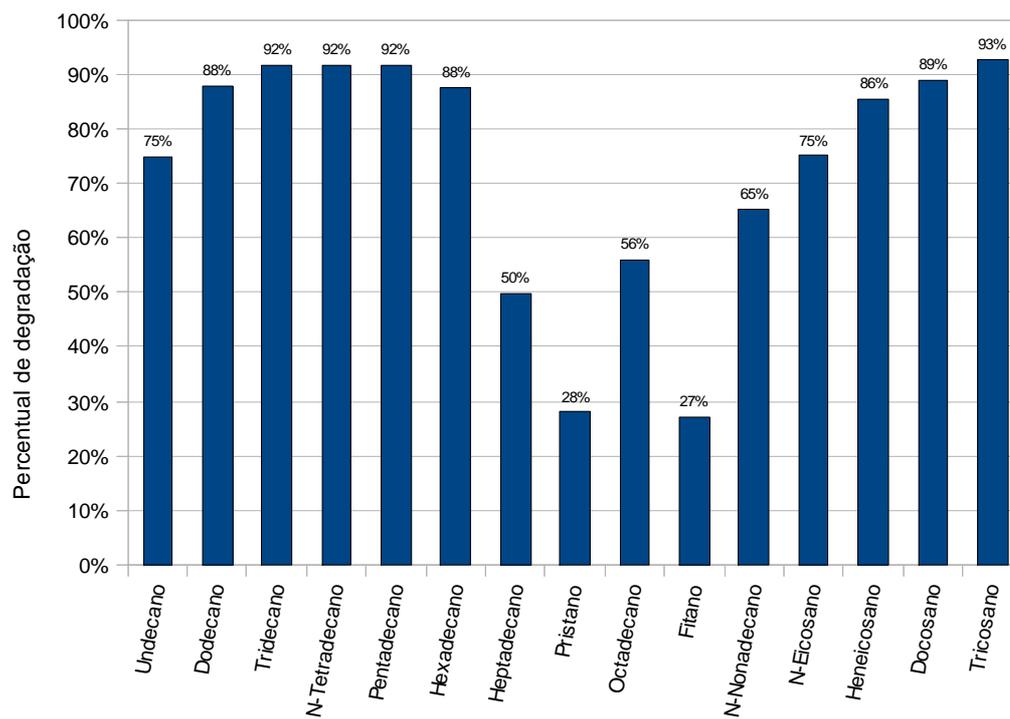


Figura 4: Percentuais de degradação de hidrocarbonetos do petróleo, após 7 dias de ensaios com o consórcio C10.

EM. Com o uso do consórcio em estudo foi obtido degradação de todos os hidrocarbonetos na faixa de C₉H₂₀ a C₂₃H₄₈, como pode ser visto na Figura 4.

CONCLUSÃO

Através do resultado apresentado é possível evidenciar a potencialidade das bactérias: UFPDA 148, UFPDA 150, UFPDA 161, UFPDA 163 em degradar o petróleo, havendo um aumento na degradação dessa fonte oleosa quando as mesmas estão em consórcio.

Triplmando-se a concentração do constituinte do meio provedor de nitrogênio (NH₄NO₃) não estimulou a biodegradação do petróleo por este consórcio nas condições empregadas, reduzindo assim custos adicionais.

A degradação de aproximadamente 79% do petróleo foi satisfatória considerando-se o tempo de experimento e o baixo custo do procedimento, sendo, portanto, o consórcio C10 promissor para biorremediação *ex situ* do petróleo.

REFERÊNCIAS

APHA (American Public Health Association); AWWA (American Water Works Association); WPCF (Water Environment Federation). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th edition, Washington, DC. Part 1000-4000, 4 - 138, 2005

BURGER, J. Oil Spills. New Brunswick, New York, Academic Press, 1997.

GOMES, E. B. Biodegradabilidade de Querosene de Aviação Movimentado

pelo Terminal Portuário e Suape-PE. 109. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia de Produtos Bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, 2004.

HAHN, W. J.; LOERH, R. C. Biological Treatment of Petroleum Oily Sludges. SPE – Society of Petroleum Engineers – Premian Basin Oil and Gas Recovery Conference, Midland, Texas, march 18-20, U.S.A, p. 519-530, 1992.

HANSON, K. G.; DESAI, J. D.; DESAI, A. J. A Rapid and Simple Screening Technique for Potential Crude Oil Degrading Microorganisms. Biotechnology Techniques, v. 7, nº 10, 745-748, 1993.

MELO, J. M. Avaliação do Impacto do Aumento das Concentrações Celulares na Biodegradação de Resíduos Oleosos de Petróleo. 167f. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Os Reinos dos Fungos. Ed. Edunisc-RS, v. 2, p.629-638, 2002.

SANTELICES, B. et al. Estudios ecologicos en la zona costera afectada por contaminación del 'Northern Breeze', 11. Comunidades de playas de rocas. Medio Ambiente 2: 65-83, 1977.

SOUZA, E. S. Desenvolvimento de Métodos de Biorremediação Aplicados a Derrames de Petróleo em Água do Mar – Testes Laboratoriais. 80f. Tese de Doutorado em Engenharia de Reservatório e de Exploração de Petróleo, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2003.



Casa do Laboratório
BioLogicus

analítica

minds
ENGLISH SCHOOL



LUNA ARTE
PRESENTES E DECORAÇÕES

SBS
LIVRARIA INTERNACIONAL



BIOSYSTEMS



UPEEA FASA
Livraria e Editora GRÁFICA



Tudo de bom pra você.



CRBIO^S
Conselho Regional de Biologia 5º região



laborsul
Produtos Científicos



genotech
bioprodutividade

gen
Grupo Editorial Nacional



ROCA



UNICAP 60
ANOS