

Volume 1

1



**I CONICBIO**  
Congresso Internacional  
de Ciências Biológicas

**II CONABIO**  
Congresso Nacional  
de Ciências Biológicas

**VI SIMCBIO**  
Simpósio de  
Ciências Biológicas



UNIVERSIDADE  
**CATÓLICA**  
DE PERNAMBUCO

**ANAIS 2013**

## Sumário

COMISSÃO ORGANIZADORA.....	4
3º CONCURSO JOVENS CIENTISTAS.....	7
2º CONCURSO DE FOTOGRAFIAS.....	14
PROGRAMAÇÃO .....	16
SEGUNDA-FEIRA, 11 de novembro de 2013 .....	16
TERÇA-FEIRA, 12 de novembro de 2013 .....	18
QUARTA-FEIRA, 13 de novembro de 2013.....	20
QUINTA-FEIRA, 14 de novembro de 2013.....	24
MINI-CURSOS (PRÉ-CONGRESSO) .....	27
TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS.....	29
A.....	29
B-D.....	533
E-J.....	941
L-P.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
Q-Z.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>

1. Apresentação <http://www.unicap.br/simcbio/>
2. Corpo editorial
3. Normas para publicação [http://www.unicap.br/simcbio/?page\\_id=1036](http://www.unicap.br/simcbio/?page_id=1036)
4. Endereço de contato
5. Edição atual <http://www.unicap.br/simcbio/>
6. Edições anteriores <http://www.unicap.br/simcbio/>

# COMISSÃO ORGANIZADORA

Pe. Dr. Pedro Rubens Ferreira Oliveira, S.J. (Reitor UNICAP)  
**Presidente Honorário**

Dra. Bereneuza Tavares Ramos Valente Brasileiro – UNICAP  
**Presidente do Comitê Organizador**

Aranildo Rodrigues de Lima (Diretor CCBS – UNICAP)  
**Vice-Presidente do Comitê Organizador**

## **Secretária**

Bióloga Bruna Piereck Moura – UNICAP

## **Comitê de Honra**

Governador do estado – Presidente Honorável  
Representante da ONU  
Presidente da ALEPE  
Comissão Meio Ambiente

## **Comitê Executivo, Consultivo e do Programa Científico**

Dra. Bereneuza Tavares Ramos Valente Brasileiro – UNICAP  
Dr. Luiz Vital Fernandes Cruz da Cunha – UNICAP  
Dra. Aline Elesbão do Nascimento – UNICAP  
Dra. Kaoru Okada – UNICAP

## **Comitê Científico**

Dra. Aline Elesbão do Nascimento – UNICAP  
Dra. Arminda Saconi Messias – UNICAP  
Dr. Arsenio Jose Areces Mallea – Fisheries Center Research, MIP (Cuba)  
Dra. Bereneuza Tavares Ramos Valente Brasileiro – UNICAP  
Dr. Cledir Rodrigues Santos- Universidade do Minho (Portugal)  
Dra. Cristina Maria de Souza Motta – UFPE  
Dra. Ester Ribeiro Gouveia – UFPE  
Dra. Galba Maria de Campos Takaki – UNICAP  
Dra. Goretti Sonia-Silva – UNICAP  
Dra. Kaoru Okada – UNICAP  
Dr. Luiz Vital Fernandes Cruz da Cunha – UNICAP  
Dr. Fábio José de Araújo Pedrosa – UNICAP/UPE  
Dr. João Lúcio de Azevedo – ESALQ/USP/CBA  
Dr. Múcio Luiz Banja Fernandes – UPE / FAFIRE  
Dr. Nelson Manuel Viana da Silva Lima – Universidade do Minho (Portugal)  
Dra. Patrícia Muniz de Medeiros – UFBA  
Dr. Rômulo Romeu da Nóbrega Alves – UEPB  
Msc. Sérgio Mendonça de Almeida, S.J. – UNICAP  
Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque – UFRPE

### **Coordenação de Mesa-Redondas e Conferências**

Dr. Bruno Severo Gomes – UFPE  
Dra. Cristina Maria de Souza Motta – UFPE  
Dr. João Lúcio de Azevedo – ESALQ/USP/CBA  
Dr. Múcio Luiz Banja Fernandes – UPE / FAFIRE  
Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque – UFRPE

### **Coordenação de Minicursos**

Dra. Patrícia Muniz de Medeiros – UFBA

### **Coordenação dos Jovens Cientistas**

Dr. Luiz Vital Fernandes Cruz da Cunha – UNICAP  
Msc. Sérgio Mendonça de Almeida, S.J. – UNICAP

### **Coordenação de Atividades Culturais e Sociais**

Dra. Arminda Saconi Messias – UNICAP

### **Coordenação de Monitores**

Msc. Aduino Gomes Barbosa Neto

### **Coordenação de Painéis e Fotografias**

Dr. Fábio José de Araújo Pedrosa – UNICAP/UPE

# 3º CONCURSO JOVEM CIENTISTA

## **CAPÍTULO I – Do Concurso**

**Artigo 1º** – O Concurso é destinado a estudantes cursando o ciclo II (5ª à 8ª série) do Ensino Fundamental ou Ensino Médio da rede pública e privada. O Concurso Jovens Cientistas, promovido pelo Curso de Ciências Biológicas da Universidade Católica de Pernambuco, tem por finalidade:

- Despertar e incentivar nos jovens o interesse pela pesquisa científica e promover o desenvolvimento da criatividade e da capacidade inventiva nos alunos para despertar vocações;
- Desenvolver habilidades de comunicação, interpretação de dados científicos e investigação;
- Promover a integração de estudantes, professores e comunidade escolar por intermédio de trocas de experiências didático-pedagógicas;
- Colocar em evidência trabalhos de reconhecido destaque científico, tecnológico e valor educacional;
- Favorecer a compreensão da natureza como um conjunto dinâmico, passível de ser investigada de forma sistemática e racional;
- Desenvolver capacidades de aprender a conhecer, aprender a fazer e aprender a ser.

## **CAPÍTULO II – Do Trabalho e sua Inscrição**

**Artigo 2º** – Submeter o trabalho à análise da comissão organizadora do evento, mediante o preenchimento e envio do formulário de inscrição on-line, dentro dos prazos previamente estipulados, de acordo com as seguintes normas:

- Poderão submeter trabalhos grupos de alunos da educação básica, sob supervisão de um professor-orientador vinculado a uma instituição de ensino;
- Cada grupo deverá ser composto por um professor-orientador e por no mínimo 3 (três) e no máximo 6 (seis) estudantes regularmente matriculados em escolas de educação básica, que deverão expor o trabalho na ocasião do evento, caso o mesmo seja pré-selecionado;

- Os professores-orientadores preferencialmente deverão ficar responsáveis pelo preenchimento e envio do formulário de inscrição;
- Cada professor-orientador poderá inscrever até 3 (três) trabalhos diferentes, desde que não sejam com os mesmos estudantes. Caso contrário, os trabalhos serão automaticamente desclassificados;
- Cada professor-orientador dos trabalhos selecionados receberá, via e-mail, dentro do prazo estipulado, uma notificação sobre o aceite ou não dos respectivos trabalhos submetidos;
- O trabalho a ser inscrito deverá ser original abordando qualquer tema de Ciências Biológicas dentro do tema central “Biodiversidade e Floresta: desafios e perspectivas”.

**Parágrafo 1** – O trabalho deverá ser desenvolvido obedecendo aos critérios da metodologia científica.

**Artigo 3º** – As inscrições para o concurso serão realizadas no período de (a definir) de 2013, em 2 etapas:

**Parágrafo 1** – A primeira etapa consiste no cadastro dos dados do participante. Para realizá-lo, será necessário o preenchimento de todos os campos do formulário de inscrição on-line que se encontra no site, aceitar os termos do regulamento e clicar no botão “enviar”.

**Parágrafo 2** – Na segunda etapa, após enviar todos os dados do formulário de inscrição, o participante deverá anexar e enviar o arquivo do resumo do trabalho dentro do prazo estipulado, para avaliação e seleção da comissão organizadora e expor o trabalho no dia 13 de novembro de 2013, das 08h às 12h, no **Salão Receptivo do bloco G – UNICAP**.

**Parágrafo 3** – Os resumos (**máximo de 200 palavras**) dos trabalhos serão avaliados de acordo com seguintes aspectos: clareza da redação do resumo, caráter investigativo, criatividade, relevância para a comunidade e adequação ao nível de escolaridade dos alunos expositores. Todos os trabalhos submetidos deverão obrigatoriamente conter:

- **TÍTULO** correspondente ao conteúdo com até 10 palavras, com letras maiúsculas, tamanho 12 e em negrito;
- Logo abaixo do título, os **nomes completos** dos autores em negrito, com tamanho 10, sendo colocado o primeiro nome – sobrenome (somente a primeira letra em maiúscula), separando os nomes dos autores com ponto-e-vírgula e informando o e-mail do último autor (Professor/Orientador) Ex: Joana Silva; Mateus Barbosa mateus@gmail.com;
- Dever-se-á incluir a instituição de ensino (nome da escola).

**Parágrafo 4** – O nome do arquivo deve obrigatoriamente seguir o seguinte padrão: Primeiro nome-último nome-JovensCientistas.doc. Por exemplo, o nome Rafael de Alcântara Machado:**Rafael Machado-JovensCientistas.doc**

**Parágrafo único** – A efetivação da inscrição será realizada somente após o cumprimento de TODAS as etapas. Para participar do 3º CONCURSO JOVENS CIENTISTAS, cada aluno participante deverá entregar **1 Kg de alimento**, apenas **no dia (a definir) de 2013**, no Salão Receptivo da **Universidade Católica de Pernambuco**. Fica automaticamente desclassificado o aluno que realizar parte das etapas. Os resumos APROVADOS serão DIVULGADOS no site do I Congresso Nacional de Ciências Biológicas / IV Simpósio de Ciências Biológicas, **a partir de 20 de outubro de 2011**.

### **CAPÍTULO III – Apresentação dos Trabalhos**

**Artigo 4º** – A exposição dos trabalhos para o público em geral, acontecerá no dia 11 de novembro de 2011, das 08h às 16h, no Salão Receptivo, 1º andar, bloco G - UNICAP.

**Artigo 5º** – No dia da exposição, os alunos expositores deverão estar no local com **01 (uma) hora de antecedência** para montar seu estande na respectiva data citada no Artigo 4º no período das 07h às 08h.

**Artigo 6º** – Os alunos expositores devem usar fardamento escolar no dia da exposição.

**Artigo 7º** – Encargos com transporte dos expositores não serão de responsabilidade da comissão organizadora do evento.

**Artigo 8º** – Por uma questão de estética visual e economia de espaço dos painéis, sugere-se que as informações dispostas nos cartazes sejam colocadas em forma de tópicos, gráficos ou esquemas que possam servir de referências para as explanações dos expositores. Aconselhamos não produzir cartazes com demasiadas informações escritas ou excessivo número de fotografias; os detalhamentos devem ser explicados pelos estudantes durante a exposição do trabalho.

**Artigo 9º** – Cada grupo ficará responsável em confeccionar o tarja título de seu respectivo trabalho, de acordo com as especificações recomendadas.

**Artigo 10º** – Ao final das apresentações, é responsabilidade dos alunos a desmontagem, deixando o espaço limpo.

**Artigo 11º** – A equipe que se ausentar da exposição antes dos horários previstos, cometer atos de indisciplina ou não cumprir com as determinações dos itens prescritos terá a sua nota diminuída pela Comissão Organizadora.

**Artigo 12º** – Fica a critério dos componentes da equipe informações ou empréstimo de materiais a outras instituições. Quando isso ocorrer, a equipe deverá comunicar ao professor orientador.

**Artigo 13º** – Fica proibida toda e qualquer atividade que possa colocar em risco a integridade física e moral das pessoas (que denote incentivo à violência, exploração da sensualidade, apologia às drogas, de cunho publicitário, político), do espaço físico e do patrimônio da Instituição.

**Artigo 14º** – Será proibida a exposição no estande de: quaisquer sistemas que produzam som maior do que 80 dB; sistemas que produzam sons contínuos ou trilhas musicais que não sejam indispensáveis à apresentação e compreensão do projeto.

**Artigo 15º** – Serão vedadas na forma da lei as práticas que coloquem em risco a função ecológica, provoquem a extinção de espécies ou submetam os animais à crueldade. Os trabalhos a serem apresentados devem atender:

**Parágrafo 1** – à Lei Estadual Nº 11.977, DE 25 DE AGOSTO DE 2005, que institui o Código Estadual de Proteção aos Animais;

**Parágrafo 2** – à Lei de Biossegurança nº 11.105 de 24 de março de 2005.

**Parágrafo 3** – às Resoluções do Conama/MMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente) – [www.mma.gov.br/conama/](http://www.mma.gov.br/conama/)

**Parágrafo 4** – à Política Nacional da Biodiversidade.

**Artigo 16º** – Fora dos horários de exposição, só poderá permanecer no local o pessoal da segurança e da comissão organizadora.

#### **CAPÍTULO IV – Da Avaliação e Classificação dos Trabalhos**

**Artigo 17º** – Os trabalhos apresentados serão avaliados por membros da comissão avaliadora, professores/pesquisadores de reconhecida experiência profissional, vinculados às instituições realizadoras do evento. Os membros da comissão avaliadora, após lerem o resumo e observarem in loco a exposição do trabalho, atribuirão notas de 0 a 10 para cada um dos 9 (nove) itens considerados na ficha de avaliação. Além disso, deverão fazer observações que considerarem pertinentes (pontos positivos/negativos e sugestões) na ficha de avaliação que, posteriormente, será entregue aos professores-orientadores de cada trabalho após a entrega de Prêmios na **sala de recepção do** auditório GII, 1º andar, **bloco G – UNICAP**.

**Parágrafo Único** – A análise dos trabalhos será feita por especialistas escolhidos pela Comissão Organizadora do **2º Concurso Jovens Cientistas**. A nota final será obtida por meio do cálculo de média aritmética do total de critérios avaliados.

#### • QUANTO À FINALIDADE E PRODUTO DO TRABALHO

1. **Caráter investigatório:** Existe um problema bem definido? Foram elaboradas e testadas hipóteses? Os procedimentos de coleta e análise de dados utilizados foram adequados para resolver o problema proposto? As conclusões estão de acordo com o problema proposto?
2. **Criatividade:** capacidade de criar soluções ou idéias inovadoras tendo em vista as condições e recursos disponíveis que, muitas vezes implica um certo abandono de idéias rígidas preexistentes sobre o problema. Pode se referir à maneira de propor o problema; as técnicas utilizadas para elucidar os aspectos envolvidos (testar as hipóteses), as variáveis utilizadas, enfim, a maneira inovadora de pensar/agir sobre uma problemática proposta.

3. **Relevância:** importância teórica e/ou prática do trabalho para a comunidade na qual foi produzido ou como contribuição para o avanço do conhecimento em determinada área do saber.
4. **Adequação ao nível escolar dos expositores:** por exemplo, pode parecer inadequado que crianças de 10 a 12 anos falem sobre mecanismos de reações orgânicas, um conteúdo extremamente abstrato e que, em geral, crianças dessa idade teriam grande dificuldade de compreender e explicar. Pode acontecer o contrário, um tema muito trivial ser apresentado por estudantes de séries mais avançadas. Em ambos os casos há uma aparente inadequação dos conteúdos tratados em relação ao nível escolar dos estudantes. Isso não quer dizer que crianças menores não possam abordar temas tradicionalmente mais avançados e que adolescentes não possam aprofundar detalhes sobre assuntos considerados triviais. Antes de tudo se faz necessário considerar a criatividade e a forma de abordagem utilizada no estudo.
5. **Organização:** A apresentação (pôster, aparatos, maquetes, etc.) facilita a compreensão do trabalho? O pôster contém tópicos, gráficos, fotos, etc. que ajudam na explicação ou está muito carregado de informações? A apresentação visual é adequada (tamanho, letras, limpeza, figuras, gráficos, etc.)?

#### • QUANTO AO DESEMPENHO DOS EXPOSITORES

1. **Domínio do conteúdo:** avaliado por meio de perguntas sobre o trabalho (métodos de coleta e análise de dados) e sobre os conceitos e/ou princípios científicos envolvidos.
2. **Postura dos expositores:** desembaraço, seriedade, segurança e disponibilidade durante a exposição.
3. **Apresentação objetiva e clara:** clareza e objetividade da apresentação, poder de síntese de idéias-chaves para a compreensão do que trata o trabalho, encadeamento dos conceitos e dados apresentados.
4. **Conclusão coerente com o tema do trabalho:** argumentação adequada aos resultados obtidos, apontando vantagens e limitações, problemas teóricos e práticos surgidos ao longo do desenvolvimento do trabalho e possibilidades de continuação.

**Parágrafo 1** – Cada trabalho selecionado deverá ser apresentado pelo representante dos seus autores.

**Parágrafo 2** – Pontualidade e uso de fardamento escolar não entram na pontuação, mas serão utilizados como CRITÉRIO DE DESEMPATE.

## **CAPÍTULO V – Da Premiação**

**Artigo 18º** – Todos os trabalhos serão contemplados com certificados de participação. Após a apresentação, em sessão pública, 03 (três) trabalhos que obtiverem maior pontuação nas avaliações da Comissão Avaliadora, serão premiados, com base em critérios de mérito e de sua apresentação.

**Parágrafo Único** – Os prêmios serão definidos pela Comissão Organizadora do Concurso.

**Artigo 19º** – A classificação dos trabalhos e o “Prêmio Jovem Cientista” a que se refere o Artigo 13º serão divulgados na sessão de encerramento da III Simpósio Nordestino de Ciências Biológicas, em Recife – PE.

## **CAPÍTULO VI – Das Considerações Finais**

**Artigo 20º** – As decisões da Comissão Julgadora não serão suscetíveis de recursos ou impugnação.

**Artigo 21º** – A coordenação geral do 2º Concurso Jovens Cientistas não se responsabilizará pelos eventuais furtos ou estragos ocasionados pela exposição do material. Os casos omissos serão resolvidos pela comissão organizadora, cujas decisões, nos termos do regulamento, são irrecorríveis.

**Artigo 22º** – O 2º Concurso Jovens Cientistas atenderá a 20 (vinte) trabalhos selecionados por uma Comissão Avaliadora.

## **CAPÍTULO VI – Certificados**

**Artigo 22º** – Os certificados serão disponibilizados via on line, até o dia 16 de dezembro de 2013. Favor solicitar o certificado informando o título do trabalho, nome completo dos autores e do professor orientador, nome da Escola para [simcbio.catolica@gmail.com](mailto:simcbio.catolica@gmail.com).

# 2º CONCURSO DE FOTOGRAFIAS

## REGULAMENTO

1. O 2º Concurso de Fotografias tem o intuito de divulgar as belas e inusitadas imagens que podem ser obtidas em diferentes áreas do conhecimento e estudo e de incentivar as habilidades e aptidões dos participantes nesta arte tornando o espaço de convivência do Evento mais agradável visualmente.
2. O concurso ocorrerá no Salão Receptivo, 1º andar, bloco G, UNICAP, nos dias 12 e 13 de novembro das 20h40min às 21h40min com o seguinte regulamento:
  - a) O concurso premiará fotos em duas categorias: NATUREZA e TECNOLOGIA, tendo em vista a diferença de critérios que se aplicam em cada caso.
  - b) Cada participante poderá inscrever até duas fotografias em cada categoria e deverá necessariamente estar inscrito no evento.
  - c) As fotografias deverão ser enviadas em papel fotográfico e ampliadas no tamanho 20x30 cm, sem moldura e sobre um fundo padrão de cartolina preta com margem de 3 cm. No canto inferior direito deverão constar o título e local da fotografia, o nome do autor (fotógrafo), e-mail e categoria participante.
  - d) Para fazer a inscrição, os interessados deverão encaminhar uma solicitação de inscrição à Comissão Organizadora através de mensagem eletrônica (simcbio.catolica@gmail.com) até o dia 15/10/2013 e indicar claramente quantas fotografias serão apresentadas, o título e local de cada fotografia e a(s) categoria(s) de interesse. A fotografia também deverá ser entregue em arquivo digital salva em JPEG com o nome do “tema de interesse – título da foto”. Ex: NATUREZA – A BELEZA DO MAR, para permitir sua projeção durante a cerimônia de premiação. A fotografia deverá ser enviada com mensagem contendo nome completo do autor, Instituição de Ensino, cidade, título e local da foto e categoria participante para simcbio.catolica@gmail.com
  - e) Só serão aceitas as fotografias enviadas PESSOALMENTE OU VIA CORREIO no envelope contendo o nome do “tema de interesse – título da foto”. Ex: NATUREZA – A BELEZA DO MAR, nome completo do autor, Instituição de Ensino, cidade e categoria participante, para o seguinte endereço: A/C I Congresso Internacional de

Ciências Biológicas, II Congresso Nacional de Ciências Biológicas / VI Simpósio de Ciências Biológicas, Universidade Católica de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas e Saúde, 7º andar, bloco B, Rua do Príncipe, 526 – Boa Vista – Recife, PE – Cep: 50050-900.

- f)** As fotografias permanecerão expostas até o último dia do Evento, quando serão devolvidas aos seus autores.
- g)** As fotografias serão avaliadas por uma comissão julgadora e um júri técnico (formado por fotógrafos). Os resultados finais serão divulgados no último dia do evento, em solenidade aberta a todos os congressistas.
- h)** Serão premiadas três fotos de cada categoria e uma foto, englobando todas as categorias. Os prêmios serão cumulativos caso o fotógrafo seja agraciado com a escolha de mais de uma de suas fotos. Os fotógrafos vencedores receberão também um certificado via on-line.

# PROGRAMAÇÃO

## SEGUNDA-FEIRA, 11 de novembro de 2013

09h às 12h/ 14h às 18h

Inscrições e Credenciamento – Salão Receptivo ao lado do auditório G1, 1º andar, bloco G – UNICAP.

9h às 10h50min

**Mesa 1:** Aquicultura: Gestão e Produção

### ***Cadeias produtivas da Aquicultura no Nordeste***

Dr. Eudes de Souza Correia – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/1573696341397169>

**Resumo:** A aquicultura, que trata do cultivo de organismos aquáticos, tem um grande potencial de produção na região Nordeste, principalmente devido às condições climáticas favoráveis. E para isso conta com duas cadeias produtivas, uma de camarão marinho, representada pela espécie exótica, *Litopenaeus vannamei*, e outra, de peixe de água doce, representada principalmente pela, também exótica, espécie de tilápia, *Oreochromis niloticus*. Nesse sentido será apresentado todo processo produtivo do camarão, principalmente, em viveiros, e da tilápia, principalmente, em tanques-rede, destacando as produtividades nos diversos sistemas de cultivo.

### ***Gestão e Sustentabilidade***

Dr. Alfredo Olivera Gálvez – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/7002327312102794>

**Resumo:** O desenvolvimento da Aquicultura em Latinoamérica experimentou crescimento acelerado na última década, no entanto os conceitos de sustentabilidade nem sempre são levados em conta apesar de enormes esforços de instituições internacionais que divulgam documentos norteadores sobre códigos de conduta e práticas de manejo responsável. A gestão se constitui em um grande desafio para o crescimento da aquicultura de tal forma que possa consolidar o aprimoramento tecnológico, a equidade social e a prudência ecológica nos diferentes sistemas de cultivo.

### ***RECARCINA – Rede Nacional de Carcinicultura***

Dr. Lourinaldo Barreto Cavalcanti – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/1700193839498466>

**Resumo:** A Rede Nacional de Carcinicultura – RECARCINA foi criada pela Chamada Pública 09/2010 da FINEP, com o objetivo de selecionar propostas de Redes Temáticas em Carcinicultura, para o desenvolvimento de projetos de pesquisas científica, tecnológica e de inovação na área de interesse do setor de carcinicultura. As pesquisas em andamento referem-se aos seguintes temas: melhoramento genético; manejo de cultivo; qualidade da água, sedimento e tratamento de efluentes; sanidade; estudos nutricionais; valor agregado. Com base nestes temas foram elaborados e estão em execução oito projetos de pesquisas, divididos em trinta e quatro subprojetos, envolvendo vinte e uma instituições, localizadas em onze estados.

## 11h às 12h

**Conferência 1:** *Uso de ferramentas para compensação de impactos sobre águas costeiras*

Dr. Múcio Luiz Banja Fernandes – UPE / FAFIRE

CV: <http://lattes.cnpq.br/6241347351581121>

**Resumo:** O desenvolvimento industrial portuário no Estado de Pernambuco tem promovido ações consideravelmente danosas aos seus recursos naturais. Neste contexto espera-se que os empreendimentos instalados naquela região promovam programas de compensação e proteção ambiental. Nesta conferência, será apresentada uma positiva experiência de compensação de perdas de habitats naturais por meio de testes e instalações de recifes artificiais, que objetiva incrementar a exploração dos recursos marinhos costeiros.

## 12h às 14h - Intervalo Almoço

### 14h30min às 15h30min

**Conferência 2:** *Aplicação de biocélulas a combustível na remoção de poluentes e no aproveitamento de resíduos*

Prof. Dr. Camilo Enrique La Rotta Hernández

**Resumo:** O consumo global de energia tem vindo a aumentar drasticamente na última década. Ao mesmo tempo o esgotamento gradual dos combustíveis fósseis, como o petróleo, carvão e gás natural, e as preocupações ambientais do consumo de combustível fósseis têm impulsionado uma intensa busca por fontes alternativas de energia. Tais fontes alternativas de energia devem ser abundantemente, disponíveis, sustentáveis e ambientalmente amigáveis. As Células Combustível Microbianas (CCM) são uma alternativa promissora para essa finalidade. Como um dispositivo que transforma energia química em matéria orgânica em energia elétrica, utilizando a capacidade de respiração extracelular de alguns microrganismos, as CCM fornecem uma maneira eficaz para gerar diretamente eletricidade a partir de materiais renováveis e biodegradáveis. Esta tecnologia tem mostrado grande potencial para a aplicação prática de produção de bio-energia simultânea e tratamento de resíduos.

### 15h40min às 17h30min

**SIMPÓSIO:** *Como trabalhar os temas aprovados pela Assembleia da Organização das Nações Unidas no Ensino das Ciências biológicas?*

Coordenador do Curso de Ciências Biológicas (UNICAP) – Dr. Luiz Vital Fernandes Cruz da Cunha CV: <http://lattes.cnpq.br/3579614495588316>

Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais (UFPE) – Dra. Laura Mesquita Paiva CV: <http://lattes.cnpq.br/2926924953235520>

Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas (UFPE) – Dra. Jarcilene Silva Almeida Cortez CV: <http://lattes.cnpq.br/3305390900674832>

Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - NDE (UPE) – Dra. Simone Ferreira Teixeira CV: <http://lattes.cnpq.br/0396447387405747>

Coordenadora Geral da Formação de Professores da Educação Básica (PARFOR – UFPE) – Fernanda Maria de Oliveira Villarouco CV: <http://lattes.cnpq.br/4304539955861042>

19h às 21h30min

### ***Cerimônia de Abertura, Palestra Inicial, Coquetel e Atração Cultural***

**Abertura Oficial** pelo Magnífico Reitor Dr. Pedro Rubens Ferreira Oliveira, S.J. da Universidade Católica de Pernambuco.

**Palestra de abertura** da Bacharel e Deputada Estadual do Estado de Pernambuco **Raquel Lyra** - *Pernambuco em foco: Meio Ambiente*

**Boas vindas** do Diretor do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS representando a Presidente do Comitê Organizador e o Coordenador dos Cursos de Ciências Biológicas da Universidade Católica de Pernambuco, Dra. Bereneuza Tavares Ramos Valente Brasileiro e o Dr. Luiz Vital Fernandes Cruz da Cunha

### **Coquetel e Atração Cultural (voz e violão)**

TERÇA-FEIRA, 12 de novembro de 2013

9h às 10h50min

#### **Mesa 2: Biodiversidade dos solos e das águas**

Os micro-organismos constituem um dos maiores grupos de seres vivos no nosso planeta. Eles vivem nos mares, rios, lagos, solos e ar. O Brasil possui uma vasta área de litoral, a maior quantidade de água doce disponível no mundo e uma das maiores áreas terrestres do mundo. A grande maioria dos micro-organismos é útil e de relevância biotecnológica. A presente mesa redonda tem a finalidade de discutir esta riqueza microbiana existente nos solos brasileiros em comparação com os ambientes marinhos, de transição (manguezais) e de água doce.

#### ***Os micro-organismos nos solos e águas***

Dr. João Lúcio Azevedo – ESALQ/USP/CBA

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/2302429651674634>

**Resumo:** Estima-se que existam cerca de um milhão e meio de espécies de fungos no nosso planeta e mais de 100 mil espécies de bactérias. A maioria destas espécies tem importância na produção de fármacos, enzimas, ácidos orgânicos e outros produtos de valor biotecnológico. O estudo da biodiversidade microbiana será então discutida comparando-se microrganismos dos solos brasileiros e mares. Na mesma mesa redonda a biota microbiana dos manguezais e das águas doces brasileiras será discutida.

#### ***Aplicação da diversidade de bactérias associadas ao guaranazeiro na promoção de crescimento vegetal e controle de fitopatógenos***

Dra. Maria Carolina Quecine-Verdi – UFAM

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/3159229557303396>

**Resumo:** A cultura do guaranazeiro é de grande importância para o Brasil, tanto do ponto de vista econômico quanto social. Levando em consideração a dinâmica existente na interação planta-microrganismos e o possível controle de doenças por

meio do emprego de microrganismos, este projeto de pesquisa vem realizando um estudo da diversidade bacteriana associada às folhas e à rizosfera de guaranazeiros, além de estar avaliando o potencial biotecnológico de tais micro-organismos no controle biológico de fitopatógenos, como também na promoção do crescimento vegetal.

### ***Diversidade e potencial biotecnológico de micro-organismos endofíticos associados a manguezais***

Dr. Paulo Teixeira Lacava – UFSCAR

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/8947678349043750>

**Resumo:** Micro-organismos endofíticos são aqueles que habitam o interior das plantas sem causar doenças. Tem sido dada importância do potencial biotecnológico de endófitos que podem atuar no controle biológico, na produção de crescimento vegetal, produção de agentes antimicrobianos e de enzimas. A biodiversidade existente nos manguezais ressalta a importância potencial biotecnológica microbiana deste bioma.

### **11h às 12h**

**Conferência 3:** *O que dizem as pesquisas científicas sobre as práticas integrativas e complementares?*

Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/9499667962973167>

**Resumo:** As Práticas Integrativas e Complementares são alvo de várias investigações científicas. Todavia, ainda há muitas controvérsias, pelo menos no meio científico, a respeito de sua efetividade. Esta palestra tomará como exemplo o caso dos Florais de Bach para ilustrar o que existe de evidências científicas sobre tal terapia.

### **12h às 14h - Intervalo Almoço**

### **14h30min às 15:30min**

**Conferência 4:** *Transformação genética de cloroplastos e aplicações*

Dr. Tercilio Calsa Junior – UFPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/2775650529232362>

**Resumo:** A transformação genética de cloroplastos é uma alternativa à modificação nuclear, com vantagens comparativas principalmente, relacionadas à maior expressão do transgene e ao funcionamento tipicamente procariótico do sistema genético plastidial, assim como à contenção do produto do transgene na organela e a menor probabilidade de fluxo gênico. Diversas espécies cultivadas têm sido transformadas nesta organela com sucesso, visando tolerância a estresses abióticos, patógenos e expressão heteróloga de proteínas com aplicações biotecnológicas.

### **15h40min às 17h30min**

**Mesa 3:** *Etnobiologia: um novo paradigma das Ciências Biológicas?*

***A importância de dados regionais para acessar padrões de uso de recursos vegetais por populações locais***

Dra. Patrícia Muniz de Medeiros – UFBA

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/3450009941162428>

**Resumo:** A etnobiologia tem se mostrado cada vez mais importante para elucidar aspectos chave da relação pessoas – recursos naturais e para atender às demandas na conservação da biodiversidade. A maioria dos esforços, no entanto, se dirige ao

estudo das comunidades no âmbito local. Nessa palestra será enfatizada a importância de trabalhar com dados regionais, tanto do ponto de vista teórico como aplicado. Algumas ferramentas para a produção de revisões sistemáticas e meta-análises também serão discutidas.

***Etnozoologia: tendências e perspectivas***

Dr. Rômulo Romeu da Nóbrega Alves – UEPB

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/9947001739918371>

**Resumo:** A etnozoologia representa um dos principais ramos de etnobiologia, tendo sua importância nos últimos anos, e tem despertado o interesse de pesquisadores de diversas áreas, no Brasil e no mundo. Será apresentado um panorama geral sobre o tema, e discutida as tendências atuais relacionadas a esse importante ramo da etnobiologia

***Etnobiologia: um novo paradigma das ciências biológicas?***

Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/9947001739918371>

**Resumo:** A etnozoologia representa um dos principais ramos de etnobiologia, tendo sua importância nos últimos anos, e tem despertado o interesse de pesquisadores de diversas áreas, no Brasil e no mundo. Será apresentado um panorama geral sobre o tema, e discutida as tendências atuais relacionadas a esse importante ramo da etnobiologia.

**17h30min às 18h -Intervalo**

**18h às 19h**

**Conferência 5: *Relações Históricas, Teóricas e Políticas entre a Saúde Pública e a Saúde Ambiental***

Dr. Moab Duarte Acioli – UNICAP

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/4739234093928207>

**Resumo:** Existe um percurso histórico desde Hipócrates (IV ac), passando pela Revolução Industrial até o século XX, quando a OMS enfatizou as relações entre meio ambiente e o processo saúde doença, seja através da ação direta ou indireta dos fatores ambientais, entendidos inclusive como fatores de risco presentes na vigilância epidemiológica vinculada à vigilância sanitária e socioambiental. Esta discussão, por sua vez, na contemporaneidade, centraliza-se nos aspectos éticos e técnicos do que se chama desenvolvimento sustentável.

**19h10min às 21h**

**Sessão Técnica Painel + Exposição de Fotografias (Salão Receptivo, 1º andar, bloco G – UNICAP)**

**QUARTA-FEIRA, 13 de novembro de 2013**

**8h às 12h – 14h às 15h30min**

**Exposição do Concurso Jovens Cientistas (Salão Receptivo, 1º andar, bloco G – UNICAP) + PREMIAÇÃO**

9h às 10h50min

#### Mesa 4: Recursos Hídricos e Revitalização de Bacias Hidrográficas no Brasil

##### **Recursos Hídricos**

Dr. Fábio José de Araújo Pedrosa – UNICAP/UPE

CV: <http://lattes.cnpq.br/4739234093928207>

**Resumo:** As mudanças climáticas constituem sério desafio para a manutenção das condições mínimas necessárias à qualidade de vida das populações humanas e à conservação da biodiversidade. De acordo como o IPCC, há previsões inquietantes para a região nordeste do Brasil, em particular para o estado de Pernambuco, cujo território está submetido, em grande parte, às severas condições do clima semi-árido. Por outro lado, os chamados eventos climáticos extremos, como aquele que ocorreu na região metropolitana do Recife, no último 17 de maio de 2013, quando 140 mm de chuvas se precipitaram em cerca de 12 horas, são apenas parcialmente aproveitados para solucionar os problemas de abastecimento de água, devido, sobretudo à poluição de nossos rios, aos desflorestamentos predatórios e à ausência de práticas sistemáticas de captação da água das chuvas pelos condomínios residenciais, por exemplo. Assim, torna-se cada vez mais necessário o debate desse tema, tendo em vista Pernambuco já possuir o título, nada gratificante, de estado com a menor disponibilidade hídrica do Brasil, e onde existe o aumento constante do consumo *per capita*, considerando o uso pessoal, os serviços, a produção agrícola e industrial e a construção de grandes empreendimentos que requerem quantidades significativas de água. Some-se, ainda, a sua dinâmica hidrológica dependente de características geológicas (poucos aquíferos existentes) e climáticas desfavoráveis. O resultado é um cenário extremamente complexo e grave, pois o IPCC prevê, por exemplo, riscos de desertificação em muitas áreas do Sertão. Como então abordar de forma eficiente e eficaz esse desafio? Certamente, as ações governamentais serão imprescindíveis, mas, sem um maior envolvimento da sociedade, corremos o risco de vivermos, em poucas décadas, com o agravamento da já insuficiente oferta hídrica em Pernambuco.

##### **Revitalização de bacias hidrográficas**

Dra. Maria da Graça de Vasconcelos Xavier Ferreira – UNICAP

CV: <http://lattes.cnpq.br/7514748129393562>

**Resumo:** Que a água é imprescindível à vida não se questiona. Há, no entanto, alguns aspectos que não parecem estar muito claros para grande parte da população, como exemplificado a seguir: a) ao invés de ser fonte de vida, como pensado normalmente, a água, de fato, a regula; água em quantidade e qualidade inadequadas mata. b) A quantidade de água no planeta pode até ser considerada constante, mudando tão somente de estado (líquido, sólido ou gasoso) e de localização geográfica. Todavia, a circulante, a disponível, está diminuindo: basta lembrar a que está retida nos corpos humanos e de animais de grande porte, cujas populações estão sempre crescentes; portanto, não é só a poluição que diminui a oferta de água de boa qualidade. c) Há que se levar em conta, ainda, o aumento constante do consumo *per capita*, considerando o uso pessoal, os serviços ou a produção de bens. Some-se agora a dinâmica hidrológica dependente de características intrínsecas do planeta Terra, incluindo as ações antrópicas, e daquelas ligadas à sua submissão ao Sistema Solar. O resultado é um cenário extremamente complexo e grave, mormente em um país continental como é o Brasil. Como então abordar de forma eficiente e eficaz esse desafio? Levado a efeito em toda a sua abrangência, o programa de revitalização das

bacias hidrográficas, de responsabilidade do Ministério do Meio Ambiente, continuará dando respostas positivas. De acordo com o próprio Ministério, o programa “visa o desenvolvimento de ações integradas e permanentes para a promoção do uso sustentável dos recursos naturais, da melhoria das condições socioambientais, do aumento da quantidade e da melhoria da qualidade da água para os diversos usos”. Está estruturado em cinco áreas técnico-temáticas, a saber: Planejamento e informação; Fortalecimento Institucional e Socioambiental; Proteção e Uso do Solo; Saneamento Ambiental e Qualidade da Água e Economia Sustentável. Como é possível apreender a partir das áreas, é indispensável que o programa tenha, de fato, cunho permanente, como proposto, contemple de modo concomitante todas as bacias hidrográficas do país, envolva os países parceiros nas bacias transfronteiriças, avalie de forma permanente a pertinência da legislação ambiental e considere com igual relevância as águas superficiais e subterrâneas. Os desafios em relação à água são, no mais das vezes, evidentes e para equacioná-los é imprescindível a participação de toda a sociedade, sem exceção. As diretrizes estão postas; é cuidar para que sejam postas em prática.

### **Legislação**

Dr. Walter José Ferreira – UNICAP

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/7514748129393562>

**Resumo:** Longe de ser vista de forma isolada ou desvinculada da realidade socioeconômica e ambiental, a análise da legislação pertinente ao tema recursos hídricos e revitalização de Bacias Hidrográficas no Brasil está compreendida em um contexto amplo, abrangente e diversificado, uma vez que essa questão vincula-se às atividades humanas e sobretudo à forma como os recursos naturais são explorados, geridos ou conservados. A legislação aplicável não poderia deixar de esta subordinada a essa realidade e de ser vista como um instrumento de política, disciplinamento de atividades, gerenciamento e controle de práticas e de normatização e regulamentação de procedimentos, entre suas principais qualidades, finalidades e funções. Optamos por uma abordagem que apresentasse a legislação aplicável dentro de um contexto ambiental e próprio das atividades humanas ao qual procura servir, regulando práticas e definindo objetivos de uso e padrões de qualidade desejáveis, enquanto visa à conservação desse recurso natural e a minimização dos danos sobre o meio ambiente.

### **11h às 12h**

**Conferência 6:** *Produção de material didático para as aulas de Ciências Naturais- aspectos a serem considerados na perspectiva inclusiva*

Dra. Edna Lopes Hardoim – UFMT

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/4739234093928207>

**Resumo:** Iniciamos trazendo a problemática da exclusão histórica a que foi submetida parte da população e nos serve para afirmar a pertinência do debate aqui proposto – elegendo como foco a inclusão nas escolas de duas categorias de deficientes: auditivo e visual – dentro do tema mais amplo da Educação e Diversidade. Apesar da diversidade, como conceito, estar presente na LDB, no Plano Nacional de Educação, nos Parâmetros Curriculares Nacionais, nos projetos político pedagógicos de muitas escolas e Universidades, ainda vivemos numa sociedade cujos passos são considerados lentos na inclusão dos diferentes e, principalmente, na proteção dos direitos humanos, considerando-o como um ser portador de potencialidades na promoção do bem comum. O atendimento às necessidades tem sido

fundamentalmente assistencialista ou compensatório. O Ensino de Ciências Naturais deve possibilitar a cada brasileiro(a) a oportunidade de adquirir conhecimento básico não apenas sobre os fenômenos naturais que percebe, ou não, em seu cotidiano, mas também que compreenda a ciência e seu funcionamento de forma que lhe dê condições de perceber seu entorno, de ampliar suas oportunidades no mercado de trabalho e de atuar politicamente. É preciso que as pessoas, com deficiências ou não, entendam os principais métodos, resultados e usos da produção do conhecimento científico, seus riscos e limitações, e, sobretudo, os interesses envolvidos e as determinações (econômicas, políticas, militares, culturais, entre outros) que permeiam seus processos e aplicações. Se assumirmos que a educação permite que todos(as) possam viver com adequada qualidade de vida e como cidadãos plenos, dotados de conhecimentos, precisamos vivenciá-la de forma inclusiva. Um dos papéis do professor(a) de Ciências Naturais está em buscar formas de acesso ao letramento científico independentemente dos talentos ou deficiências (sensorial, física ou cognitiva) dos alunos. Propostas de uso do Jardim Sensorial e de modelos didáticos na Educação Básica, neste sentido, se revestem como ferramentas pedagógicas que colocam em situação de igualdade os diferentes, ainda que por período limitado, pois consistem na possibilidade de representações das propriedades do mundo que dão suporte ao raciocínio e contribuem para aumentar a compreensão de fenômenos.

### 12h às 14h - Intervalo Almoço

### 13h às 15h30min

#### Sessão Técnica Painel + Exposição de Fotografias

**Conferência 7:** Manejo, ordenação e sustentabilidade ambiental (Gestión, la clasificación y la sostenibilidad ambiental)

Dr. Arsenio Jose Areces Mallea – Fisheries Center (CIP) Research, MIP (Cuba)

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/9901731156388652>

**Resumen:** Se analiza la problemática ambiental actual, particularmente en áreas costeras, y los nueve procesos a escala global en los cuales la intervención humana ha sido causa de modificaciones significativas. La incorporación a la conciencia social de esta situación ha tomado cuerpo en la formulación de políticas públicas, así como en la creación de una plataforma legal e instrumentos orgánicos para la gestión ambiental, de los cuales el ordenamiento, en cualquiera de sus modalidades, constituye uno de los más importantes por concatenar presente y futuro y sentar la base jurídico-administrativa para el uso y asimilación del patrimonio natural. Esta relativamente reciente estructuración de la sociedad moderna en la esfera ambiental ha incidido notablemente en la conceptualización de la sustentabilidad ecológica y de las vías para lograrla. De todos los factores que intervienen en ella, solo quince en apariencia son cruciales, tres tienen naturaleza científica, cuatro resumen la herencia sociopolítica de administraciones precedentes y ocho denotan el estilo de gobierno imperante. A la luz de estos hechos se discute las estrategias que cualquier sociedad deberá afrontar ante el desarrollo sustentable.

### 15h40min às 17h30min

#### Mesa 5: Biomonitoramento e Biorremediação

#### ***Biossurfactantes Aplicados na Remoção Ambiental de Petróleo e Derivados***

Dra. Galba Takaki – UNICAP

### ***Aplicação dos micro-organismos para remoção de metais pesados***

Dr. Marcos Antonio Barbosa de Lima – UFRPE

CV: <http://lattes.cnpq.br/3887006042216258>

**Resumo:** O aumento crescente do processo de industrialização tem elevado o descarte de metais pesados no meio ambiente, resultando na degradação dos ecossistemas e colocando em risco a saúde humana e animal. Os micro-organismos apresentam uma grande capacidade de captar e acumular metais pesados através de diversos processos, que podem ser ou não dependentes do metabolismo. Estes processos microbianos são economicamente viáveis quando comparados aos processos físico-químicos convencionais utilizados no tratamento de efluentes contaminados com metais pesados. A remoção de metais empregando micro-organismos selecionados tem se tornado bastante promissora, já que os mesmos podem apresentar alta seletividade, alta taxa de remoção e ainda apresentam a vantagem de possuírem potencial para regeneração da biomassa, possibilitando a reutilização em novas etapas de remoção, após a recuperação do metal captado.

### ***Aplicação dos micro-organismos para remoção de metais pesados***

Msc. Pe. Sérgio Mendonça de Almeida – UFRPE

**17h30min às 18h - Intervalo**

**18h às 21h**

**Sessão Técnica – apresentação oral (Auditório GI)**

**19h10min às 21h**

**Sessão Técnica Painel + Exposição de Fotografias (Salão Receptivo)**

## **QUINTA-FEIRA, 14 de novembro de 2013**

**9h às 10h50min**

**Mesa 6:** Panorama mundial das coleções de culturas

### ***Preservação e importância biotecnológica da biodiversidade microbiana em coleções de culturas no Brasil***

Dra. Cristina Maria de Souza Motta – UFPE

CV: <http://lattes.cnpq.br/0573658625006450>

**Resumo:** No Brasil existem 65 coleções de culturas sendo o país com o maior número de coleções entre os países da América. Estas coleções preservam diversos tipos de organismos como fungos filamentosos, leveduras, bactérias, protozoários, outras células dentre outros. Estas coleções são de extrema importância para o País, pois além de preservar parte de sua biodiversidade, estes organismos podem ser utilizados em processos biotecnológicos em diversas áreas como na saúde, ambiente, indústria alimentícia, têxtil, de bebidas, farmacêuticas, dentre outras.

### ***Desafios locais para a gestão global da informação sobre os Recursos Microbiológicos***

Dr. Nelson Manuel Viana da Silva Lima - IBB/Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal.

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/0260048565530297>

**Resumo:** Com a rápida evolução das tecnologias de informação e comunicação (TICs), a informação gerada para cada linhagem microbiana preservada nas coleções de culturas (CC) e arquivada nas respetivas bases de dados (BD) para ser útil, necessita de ser partilhada com outras BD e, preferencialmente, disponibilizada ao público. Esta demanda de cada coleção em partilhar informação ao nível global coloca novos desafios às CC. Diferentes iniciativas e novas redes globais forçam que cada CC se adapte e incorpore os avanços gerados pelas TICs.

### ***Coleções de Culturas Microbianas na Europa: A construção de uma Infra-Estrutura de Pesquisa (MIRRI)***

Dr. Cledir Rodrigues Santos- IBB/Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal.

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/6501105780852347>

**Resumo:** A Europa tem aproximadamente 60 coleções de culturas (CC) microbianas distribuídas por 26 países e registradas na European Culture Collections' Organization. Em conjunto, estas CC fornecem acesso a mais de 350.000 linhagens microbianas. O MIRRI – Microbial Resource Research Infrastructure ([www.mirri.org](http://www.mirri.org)) é um recém-criado projecto europeu que visa o incremento da qualidade e facilidade de acesso e depósito de material microbiano: passos essenciais para o fomento da pesquisa e inovação na área das biociências e biotecnologia. O MIRRI integra CC Europeias e partes interessadas (clientes, políticos, financiadores e investigadores).

### **11h às 12h**

**Conferência 9:** Dinâmica populacional e bycatch de cavalos-marinhos  
Dra. Rosana Beatriz Silveira - Laboratório de Aquicultura Marinha-LABAQUAC/Projeto Hippocampus

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/4973806715016726>

**Resumo:** O território brasileiro destaca pela imensa quantidade de drenagens (bacias e microbacias) de águas continentais que predominam em toda sua extensão. As bacias Amazônica, do Paraná-Uruguai e a Bacia do Leste que drena, através de inúmeras microbacias, toda a costa brasileira através da Mata Atlântica abrigam uma imensa diversidade de espécies já descritas e outras tantas ainda desconhecidas da ciência. Nesse contexto a Mata Atlântica e suas drenagens continentais estão entre os biomas brasileiros que mais sofreram modificações antrópicas desde a época do descobrimento. A história da ocupação da Mata Atlântica acompanha os diferentes ciclos económicos brasileiros e a fundação da maioria das grandes cidades do país. Como um bioma que teve sua história de devastação associada ao crescimento do país a conservação de suas espécies é uma necessidade urgente dada a iminente possibilidade de desaparecimento dos principais ambientes mantenedores da diversidade de espécies que ainda hoje persiste na região. Outro fator destacável para a necessidade de manutenção e conservação dos ambientes e espécies dos Biomas da Mata Atlântica é o reconhecimento dessa região como um dos principais “hot spots” de biodiversidade do planeta. Os levantamentos, inventários e projetos de conservação de espécies são os mecanismos de preservação mais eficazes no processo de manutenção das populações e comunidades aquáticas dos biomas da Mata Atlântica. Diversas Instituições de Pesquisa e Agências de Fomento, destacando-se o CNPq e as FAPs, tem investido importantes recursos financeiros e

humanos na viabilização de estudos que subsidiem as ações de manejo e preservação desses ambientes e espécies. Nesse contexto, destacam-se metodologias de coleta e análise de dados capazes de fornecer resultados que refletem situações presentes, o que nos permite responder de forma direta às ações de espécies locais e exóticas invasoras. Essas mesmas análises, quando baseadas em dados quantitativos e de ampla área geográfica, são capazes de realizar previsões sobre o funcionamento futuro e resposta de populações e comunidades à eventos locais de transformação ambiental. Essa metodologia, aliada à capacidade preditora e conservadora de modelos ecológicos pode ser uma importante ferramenta para as ações de conservação da fauna aquática desses biomas da Mata Atlântica.

## **12h às 14h -Intervalo Almoço**

### **14h30min às 15h30min**

#### **Conferência10: A Educação ambiental e o Ensino de Ciências**

Dra. Patrícia Fernandes Lootens Machado – Universidade de Brasília

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/8111963521574324>

**Resumo:** A EA surgiu no cenário mundial como resposta à grave crise ambiental que se intensificou no pós-guerra, culminando com grandes acidentes nas décadas de 60 e 70 do século passado. As suas bases filosóficas vem sendo lançadas nos últimos 30 anos em sucessivos encontros internacionais, caracterizando-a como uma dimensão educativa interdisciplinar constituída em um processo contínuo e permanente em todas as fases do ensino. Apesar dos discursos e práticas de EA no campo educacional, estamos conseguindo mobilizar os sujeitos para efetivar transformações pessoais, coletivas, estruturais e conjecturais, econômicas e culturais?

### **15h50min às 17h30min**

#### **Mesa 7: Ética e integridade na produção e divulgação de conhecimento científico nas Ciências Biológicas**

A proposta dos palestrantes nesta mesa redonda é esboçar um cenário de uma das crises que vivencia a ciência: a má conduta entre os cientistas. A partir da definição de má conduta, com exemplos que ganharam publicidade nos últimos 10 anos, será discutida a implicação desse fenômeno para a credibilidade da ciência e discutidas estratégias e caminhos para resolver a problemática.

#### ***Os cientistas mentem, mas isso é muito feio!***

Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque – UFRPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/9499667962973167>

**Resumo:** Apresentaremos um breve cenário sobre a questão da má conduta na pesquisa científica, com foco em suas implicações sociais, discutindo o que leva um cientista a romper com uma das bases da atividade científica: a confiança entre os pares.

#### ***O plágio no meio acadêmico: situação atual e perspectivas***

Dr. Antonio da Silva Souto – UFPE

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/8138790759173268>

**Resumo:** Plagiar pode ser entendido como o ato de se apropriar, sem o consentimento ou reconhecimento, das ideias de outra ou outras pessoas. O plágio

interfere diretamente na dinâmica científica, uma vez que subverte o esforço intelectual daquele que produz o conhecimento. Em diversos países cresce o problema do plágio e o Brasil não é uma exceção. O nosso objetivo é avaliar as consequências do plágio acadêmico para estudantes, pesquisadores e para a Ciência de uma maneira geral, além de analisar os mecanismos criados para a sua redução.

### **17h30min às 18h - Intervalo**

#### **18h às 19h**

**Conferência 11:** *As ferramentas proteômicas na análise e no diagnóstico biomolecular microbiano*

Dr. Cledir Rodrigues Santos - IBB/Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, Braga, Portugal.

**CV:** <http://lattes.cnpq.br/6501105780852347>

**Resumo:** Atualmente conhecem-se c.a. 100 mil espécies de fungos. Estimam-se que possam existir c.a. 1,5 milhões de espécies no planeta. Sendo que c.a. 1.000 novas espécies são descritas anualmente, seriam necessários 1.400 anos para completar o conhecimento sobre este Reino. Dada a natureza de tal tarefa, novas abordagens (e.g., metagenômica) sobre o conceito de espécies fúngicas necessitam de se sobrepor aos conceitos mais clássicos. As inortodoxias geradas por uma nova visão para a taxonomia deste Reino serão discutidas.

#### **19h10min às 21h**

**Cerimônia de Encerramento + Premiação** (Auditório, 1º andar, bloco G – UNICAP)

## **MINI-CURSOS (PRÉ-CONGRESSO)**

**DATAS: 07 e 08 de novembro de 2013**

#### **HORÁRIO: Das 8h às 12h**

***Cromatografia líquida de alta eficiência na determinação de compostos orgânicos***

Dra. Ester Ribeiro Gouveia

***Etnoecologia de Comunidades Haliêuticas***

MSc. Anna Carla Feitosa Ferreira de Souza

MSc. Daniele Mariz Vieira

***Dinâmica Populacional como Ferramenta para a Gestão Sustentável dos Recursos Pesqueiros***

MSc. Vanessa Maria Silva Rodrigues

**HORÁRIO: Das 14h às 18h**

***Perícia Ambiental***

MSc. Gilvan Lopes Serafim Filho (Licenciado em Ciências Biológicas – UNICAP,  
Especialista em Perícia e Auditoria Ambiental – FAFIRE e Mestre em Ecologia – UFRPE)

***Aplicação biotecnológica dos micro-organismos em meio ambiente***

Dr. Marcos Antonio Barbosa de Lima

***Bioinformática: análise de dados moleculares***

MSc. Marcus Vinicius Cardoso

***Aplicações ambientais e biotecnológicas de lentilhas-d'água***

Dr. Tercilio Calsa Junior

MSc. Adauto Gomes Barbosa Neto

# TRABALHOS COMPLETOS APRESENTADOS

**NOTA: A COMISSÃO ORGANIZADORA NÃO SE RESPONSABILIZA PELOS DADOS AQUI APRESENTADOS, OS QUAIS SÃO ÚNICO E EXCLUSIVAMENTE DE RESPONSABILIDADE DOS AUTORES.**

# A

## A ÁGUA EM CENTRO DE EDUCAÇÃO INFANTIL DE CASTANHAL

**Divino, E. P. A.<sup>(1)</sup>; Silva, M. N. S.<sup>(1)</sup> Caldeira, R. D.<sup>(1)</sup> mairanathiele@gmail.com**

<sup>(1)</sup> Faculdade de Castanhal – FCAT, Castanhal – PA, Brasil.

### RESUMO

A água é considerada o componente mais abundante de quase todas as células vivas, justificando o fato de nenhum organismo poder sobreviver sem água. A água é normalmente habitada por vários tipos de microrganismos e muitos deles podem causar doenças em humanos. Uma água sem tratamento adequado para o consumo é um risco à saúde da população. Foi desenvolvido no município de Castanhal, estado do Pará, um estudo para verificar as condições dos meios utilizados no armazenamento da água utilizada na rotina do Centro de Educação Infantil, através da aplicação de questionário. Foram obtidos dados acerca da rede de abastecimento, as formas de reservatório, a higienização e vedação dos reservatórios e o consumo de água pelas crianças matriculadas nos Centros. Foi possível concluir que a água utilizada para o consumo no Centro de Educação Infantil no município de Castanhal, apresenta um baixo índice de possível contaminação, visto que em sua maioria a captação é feita por meio de rede subterrânea, por meio de poços artesianos, além de também, haver em sua maioria bebedouro com filtro, intensificando o cuidado para o consumo da água.

**Palavras-Chave:** Poço, Reservatório, Tratamento.

## INTRODUÇÃO

A água é considerada o componente mais abundante de quase todas as células vivas, compõe pelo menos 5 a 95 % de todas as células, com a média situada entre 65 e 75%, justificando o fato de nenhum organismo poder sobreviver sem água (TORTORA *et al*, 2005). Apesar de ter tanta importância para a vida, não há na natureza algo a que possamos chamar "água pura" (AQUAAMBIENTE, 2004).

A água é normalmente habitada por vários tipos de microrganismos de vida livre e não parasitária, que dela extraem os elementos indispensáveis à sua subsistência (BRASIL, 2004), no entanto segundo Burton & Engelkirk (2005) é necessário que a água seja tratada de forma apropriada para o consumo humano. Uma água sem tratamento adequado para o consumo é um risco à saúde da população, pois abriga vários parasitas e microrganismos patogênicos. Para Tucci, Hespanhol e Horowitz (2002), os patógenos mais comuns são *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*. Protozoários e helmintos também podem parasitar e/ou intoxicar o organismo humano veiculados pela água (SZEWZYK *et al*, 2000).

No mundo todo, estima-se que doenças transmitidas pela água sejam responsáveis por mais de 2 milhões de mortes a cada ano, principalmente crianças menores de cinco anos, hoje a água é um dos principais meios de transmissão de doenças (TORTORA *et al*, 2005;

GRASSI, 2001). A qualidade da água nas escolas é de suma importância, visto que as crianças são mais susceptíveis a doenças por apresentarem uma imunidade menor (CASALI, 2008).

Em preocupação com a forma de armazenamento e manejo da água, usada no consumo e na fabricação de alimentos, em Centros de Educação Infantil, o presente trabalho teve como objetivo averiguar as condições dos meios utilizados no armazenamento da água utilizada na rotina das escolas municipais de Castanhal, tendo em vista que o mau acondicionamento dessa água também pode acarretar em doenças de veiculação hídrica, não associadas apenas à falta ou um mau tratamento em rede de saneamento básico.

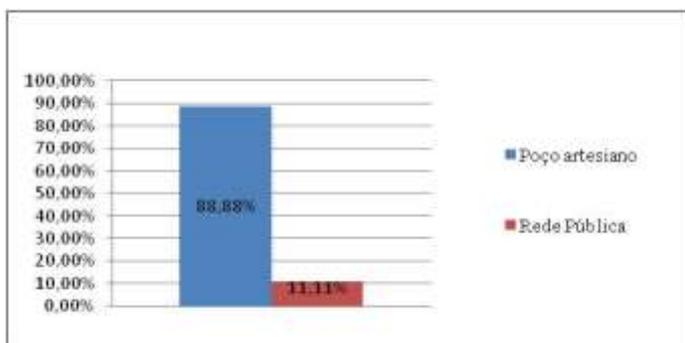
## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi desenvolvido no município de Castanhal, localizado a 65 quilômetros da capital do estado, Belém, e está entre as cinco principais cidades do Estado do Pará, possui 173.149 habitantes, com aproximadamente 1.028,889 Km<sup>2</sup> (IBGE, 2013).

O município apresenta 18 Centros de Educação Infantil (CEI), onde estão matriculadas crianças de 04 a 06 anos de idade. Foi aplicado nos CEI um questionário de análise (Anexo), com a professora responsável pela coordenação do Centro, sendo abordadas questões sobre o abastecimento de água do centro, meios utilizados no armazenamento desta água, período de higienização, vedação e localização do reservatório, material do reservatório, utilização da água e presença de bebedouro com filtro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

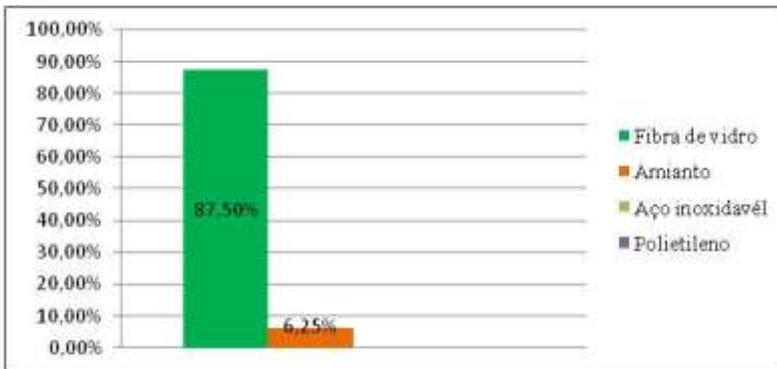
O estudo obteve que 88,88% dos CEI apresentavam rede de abastecimento por meio de poço artesiano (Figura 1), o que representa uma solução alternativa coletiva de abastecimento de água para consumo humano, é modalidade de abastecimento coletivo destinada a fornecer água potável, com captação subterrânea ou superficial, com ou sem canalização e sem rede de distribuição (BRASIL, 2006). No censo de 2010 foi registrado que 5.750.394 domicílios brasileiros com a presença de poço ou nascente na propriedade (IBGE, 2011)



**Figura 1.** Ocorrência de rede de abastecimento.

Dentre os centros que apresentaram o poço artesiano como forma de abastecimento, 100% dos reservatórios eram do tipo caixa d'água. Segundo a Portaria 224/ 2009 Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) o recipiente ou local onde a água potável é armazenada, é comumente chamado caixa d'água.

Em sua maioria o material do reservatório era o que é aceito pela legislação, no entanto foi registrada a ocorrência de somente um reservatório fabricado por amianto (Figura 2). Até pouco tempo, o amianto era largamente utilizado na confecção de caixas d'água, especialmente as de pequeno volume, mas por conter fibras tóxicas, prejudiciais a saúde, não é mais permitida o uso do amianto na fabricação de caixas d'água ou quaisquer outros produtos, nos termos da Lei Estadual nº 12.684/2007 (SÃO PAULO, 2011).



**Figura 2.** Materiais de fabricação dos reservatórios.

Todas as responsáveis alegaram que é realizada a higienização dos reservatórios dos CEI's, onde a maioria aponta como principal responsável a Secretaria Municipal de Educação (SEMED). Todos declararam realizar a higienização de seus reservatórios pelo menos uma vez ao ano, algo também firmado pela Norma técnica 2/07 Coordenadoria Geral da Vigilância e Saúde (PORTO ALEGRE, 2007), “a limpeza e desinfecção bacteriológica dos reservatórios de água potável devem ser feitas anualmente ou a critério da autoridade

sanitária, na dependência do risco sanitário associado”, no entanto deve ser inspecionado a cada 6 meses.

Em relação à vedação dos reservatórios 87,5% das responsáveis declararam que seus reservatórios estavam totalmente vedados. O reservatório deve ser sempre conservado fechado, cuidando-se do correto ajustamento da tampa de vedação à abertura de inspeção (RIO GRANDE DO SUL, 1988). A vedação é um fator muito importante visto que 81,25% dos reservatórios dos CEI foram localizados na área externa do CEI.

Em relação ao consumo da água da rede utilizada pelas crianças foi registrado que 94,44% consomem a água da rede utilizada na escola, sendo que no mesmo percentual é a ocorrência de bebedouros com filtro como meio do consumo.

## **CONCLUSÃO**

Com base no estudo é possível concluir que a água utilizada para o consumo nos Centro de Educação Infantil no município de Castanhal, apresenta um baixo índice de possível contaminação, visto que em sua maioria a captação é feita por meio de rede subterrânea, por meio de poços artesianos, além de também, haver em sua maioria bebedouro com filtro, intensificando o cuidado para o consumo da água.

## **REFERÊNCIAS**

AQUAAMBIENTE. Tratamento de água potável. 2004. Disponível em:<  
<http://mariorebola.com/home/wp-content/uploads/2011/09/AquaAmbiente-Tratamento-de-%C3%81gua-Pot%C3%A1vel.pdf> > Acesso em: 15 jun. 2013.

BURTON, G. W & ENGELKIRK, P. G. **Microbiologia: para as ciências da Saúde.** 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

BRASIL. Manual de Saneamento. 3. ed. Ver. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004. Disponível em:<  
[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_saneamento\\_3ed\\_rev\\_p1.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_saneamento_3ed_rev_p1.pdf) > Acesso em: 17 jun. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano.** Brasília: 2006.

CASALI, C. A. **Qualidade da água para consumo humano ofertada em escolas e comunidades rurais da região central do Rio Grande do Sul.** 15 de fevereiro de 2008. Dissertação em Ciência do solo - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, 15 de fevereiro de 2008.

GRASSI. M. T. As águas do Planeta Terra. Ed. Especial. Caderno Temático de Química Nova na Escola, 2001. Disponível em:<  
<http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/01/aguas.pdf> > Acesso em: 15 JUN 13.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2010. Características da população e dos domicílios. Resultados do universo.** Rio de Janeiro. 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. Disponível em: <  
<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=150240> > Acesso em 19 jun. 2013.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Portaria 224/2009, – Código 3423. Mar. 2013. Disponível em <  
<http://www.inmetro.gov.br/fiscalizacao/treinamento/reservatorio-agua.pdf> > Acesso em: 18 set. 2013.

PORTO ALEGRE (Estado). Norma Técnica 2/07. Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde. Disponível em:<  
[http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu\\_doc/norma\\_2.pdf](http://proweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu_doc/norma_2.pdf)> Acesso em: 21 set. 2013.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande Do Sul. Portaria nº 21/88. Porto Alegre, RS, 19 jan.1988. Disponível

em: < [http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu\\_doc/portaria21.pdf](http://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/sms/usu_doc/portaria21.pdf)>  
Acesso em: 20 set. 2013.

SÃO PAULO (Estado). Comunicado CVS 006, de 12 de janeiro de 2011. Diário Oficial do Estado, Poder Executivo, São Paulo, SP, 13 jan. 2011. Seção 1. P. 32-33. Disponível em: < [ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe\\_eletronico/2011/iels.jan.11/Iels09/E\\_CM-CVS-6\\_120111.pdf](ftp://ftp.saude.sp.gov.br/ftpsessp/bibliote/informe_eletronico/2011/iels.jan.11/Iels09/E_CM-CVS-6_120111.pdf) > Acesso em: 21 set. 2013.

SZEWZYK, U.; SZEWZYK, R.; MANZ, W.; SCHLEIFER, K.H. Microbiological safety of drinking water. Revista de Microbiologia. 2000.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia, 8ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TUCCI, C. E. M.; HESPANHOL, I.; CORDEIRO NETTO, O. M. Cenários da Gestão da Água no Brasil: uma contribuição para a visão mundial da Água. 2002. Disponível em: < <http://www.profrios.hpg.ig.com.br/html/artigos/cenarios.html> >. Acesso em: 28 jun. 2013.

## **ANEXO**

Questionário aplicado nos Centros de Educação Infantil

**1.** Como se dá o abastecimento de água na escola?

a) Rede pública/ COSANPA (Companhia de Saneamento do Pará)

b) Poço

c) Outros. Quais? \_\_\_\_\_

**2.** Esta água é armazenada, se SIM qual o tipo de reservatório utilizado no armazenamento?

a) Caixa d'água

b) Cisternas

c) Outros. Quais? \_\_\_\_\_

**3.** Qual o tipo de material do reservatório?

a) Aço inoxidável

- b) Fibra de vidro
- c) Polietileno
- d) Amianto

**4.** É realizada a higienização do reservatório de água?

- a) SIM
- b) NÃO

**5.** Qual o período aproximado em que é realizada a limpeza do reservatório de água?

- a) 01 a 03 meses
- b) 04 a 06 meses
- c) 07 a 09 meses
- d) 01 vez por ano
- e) Outros. Qual? \_\_\_\_\_
- f) Não soube informar

**6.** Quem é o responsável pela higienização dos reservatórios?

- a) A própria escola
- b) Empresa terceirizada
- c) Governo municipal (secretaria)
- e) Outros

**7.** O reservatório utilizado no armazenamento de água da escola, está totalmente vedado, contra a entrada de insetos, pequenos animais e luz?

- a) SIM
- b) NÃO

**8.** Onde se encontra localizado o reservatório utilizado no armazenamento da água?

- a) Área externa da escola.
- b) Área Interna da escola. Onde? \_\_\_\_\_

**9.** A água consumida pelos alunos, faz parte da rede de abastecimento, da escola?

- a) SIM
- b) NÃO

**10.** O consumo da água se dá por meio de bebedouro com filtro?

- a) SIM
- b) NÃO

**11.** A água da rede de abastecimento da escola é utilizada na fabricação de alimentos, consumidos pelos alunos?

- a) SIM
- b) NÃO

# **A BIODIVERSIDADE NO DIREITO AMBIENTAL INTERNACIONAL E A DIGNIDADE HUMANA**

**Almeida S. S.<sup>(1)</sup>; Pereira, M. C. B.<sup>(1)</sup>** [savio\\_eco@hotmail.com](mailto:savio_eco@hotmail.com)

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

## **RESUMO**

Para que se materialize uma adequada proteção da biodiversidade, os Estados devem desenvolver estratégias. No centro de tais estratégias se encontram os tratados internacionais em matéria ambiental, mais especificamente os relacionados à proteção da biodiversidade. Porém, tais regulamentos possuem a finalidade de proteger a dignidade humana. Destarte, o objetivo do presente trabalho é demonstrar a relação entre a Convenção sobre a Diversidade Biológica e a proteção da dignidade humana. Para alcançar o objetivo proposto foi realizada extensa revisão de literatura, acerca do tema.

**Palavras-chave:** Dignidade Humana; Biodiversidade; Instrumentos Internacionais.

## **INTRODUÇÃO**

O desenvolvimento econômico sustentável possui estreita relação com a preservação da dignidade da pessoa humana, da salubridade ambiental e da qualidade de vida (FIORILLO; DIAFÉRIA, 2012). O ser humano é o foco central das ações de preservação ambiental. Como o demonstrou Kant, só o ser humano representa um fim em si mesmo. Destarte, não pode o mesmo ser utilizado como instrumento ou meio para a consecução de outros fins (COMPARATO, 2010). A biodiversidade, com o seu patrimônio genético, constitui um potencial de matrizes alimentares e de medicamentos. Ela pode prover a humanidade de

habitação, cosméticos, mobiliário, vestuário, além de outros recursos para tantas outras necessidades (MILARÉ, 2009).

Assim, a proteção da biodiversidade possui estreita relação com um conceito de fundamental importância para o direito ambiental internacional, o de desenvolvimento sustentável, que visa ao atendimento das necessidades das gerações presentes sem comprometer a possibilidade das gerações futuras satisfazerem as suas próprias necessidades; articulando em três pilares interdependentes e mutuamente sustentadores o desenvolvimento social, a proteção ambiental e o desenvolvimento econômico (CRETELA NETTO, 2012).

O respeito à biodiversidade é uma das exigências centrais para o desenvolvimento sustentável. Porém, hodiernamente, a preservação da biodiversidade tem sido ameaçada gravemente pelo sistema capitalista de produção. Por um lado, os padrões contemporâneos de consumo, no mundo rico, têm incentivado os países subdesenvolvidos a exportar mercadorias, tais como as madeiras nobres, cuja extração tem provocado a degradação ambiental. Por outro lado, os países subdesenvolvidos têm sido pressionados a admitir, em seus territórios, a instalação de indústrias altamente poluentes, cujo funcionamento é vedado nos países ricos (COMPARATO, 2010).

Diante do contexto apresentado, uma das principais características presentes no chamado direito ambiental internacional é a enorme proliferação de Convenções, Tratados e Protocolos internacionais,

multilaterais e bilaterais, voltados para a proteção ambiental (ANTUNES, 2012).

Destarte, o objetivo do presente trabalho é demonstrar a relação entre a Convenção sobre Diversidade Biológica e a proteção da dignidade humana. Para alcançar o objetivo proposto foi realizada extensa revisão de literatura, acerca do tema.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho reúne uma extensa revisão bibliográfica.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### *A dignidade humana como núcleo essencial dos direitos*

Ao longo da história, a excelência do ser humano foi justificada a partir de três perspectivas: a religiosa, a filosófica e a científica, que são complementares e não excludentes (COMPARATO, 2006). Ao analisar a Declaração Universal dos Direitos do Homem e do Cidadão, de 1789, da França e, nos Estados Unidos, a Declaração de Virgínia de 1776, bem como a Declaração Universal dos Direitos Humanos, de 1948, pode-se observar uma continuidade nos valores transcendentais (dentre eles está a dignidade humana) que tiveram início no Gênesis e, que mesmo constantemente desrespeitados, continuam a ser o ideal da humanidade (DOLINGER, 2010).

Para Barroso (2011, p. 273) “A transposição do princípio da dignidade da pessoa humana dos planos religioso e ético para o domínio do direito não é uma tarefa singela.” E prossegue afirmando que:

Logo após a Segunda Guerra Mundial, passou ele a figurar em documentos internacionais, como a Declaração dos Direitos Humanos (1948), e em Constituições como a italiana (1947), a alemã (1949), a portuguesa (1976) e a espanhola (1978). Na Constituição brasileira de 1988 vem previsto no art. 1º, III, como um dos fundamentos da República. (BARROSO, 2011, p. 273).

A dignidade humana está no núcleo essencial dos direitos humanos (COMPARATO, 2010; BARROSO, 2011; MARMELSTEIN, 2011). Por sua vez, o direito humano ao meio ambiente ecologicamente equilibrado (que impõe a proteção da biodiversidade) é considerado um direito de terceira geração (MILARÉ, 2009; COMPARATO, 2010; ANTUNES, 2012). Assim, o princípio da dignidade humana deve ter força moral e política para orientar as reformas sociais (AMARAL JÚNIOR, 2011).

### ***A biodiversidade no direito ambiental internacional***

De acordo com Portela (2013) a biodiversidade, ou diversidade biológica, refere-se à variedade de formas de vida na Terra, de todos os ecossistemas e origens, importante para a manutenção e para a evolução dos sistemas necessários à própria existência das criaturas, permitindo a existência de um número amplo de possibilidades de obtenção de fontes de matéria-prima para produtos de interesse da humanidade.

Biodiversidade é a diversidade da vida, tanto para a existência do planeta como para a sobrevivência do ser humano e este, como foco principal dessa diversidade, hoje – e mais do que em todos os tempos -, é o maior responsável pela sua preservação e pela manutenção da vida para o futuro da humanidade (FIORILLO; DIAFERIA, 2012, p. 33).

A biodiversidade foi conceituada de acordo com Cretella Neto (2012, p. 84) “[...] pela Conferência das Partes da Convenção sobre a Diversidade Biológica como ‘a variabilidade no interior e entre os organismos vivos e os sistemas nos quais habitam’”. De acordo com Fiorillo e Diaféria (2012, p. 25):

A biodiversidade representa um recurso estratégico para o Brasil por ser ele um dos maiores países megadiversos e um dos principais negociadores internacionais no âmbito da Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB), portanto há que adotar medidas urgentes para o efetivo cumprimento das medidas que foram estabelecidas e acordadas nesse encontro.

Em 1992, foi assinada por 161 países, durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento no Rio de Janeiro - a ECO-92 – a Convenção sobre Diversidade Biológica. Os principais objetivos da CDB são: a conservação da diversidade biológica; a utilização sustentável de seus componentes; a repartição justa e equitativa dos benefícios derivados da utilização dos recursos genéticos, através do avesso adequado aos recursos genéticos e a transferência de tecnologias pertinentes, levando em conta os direitos sobre tais tecnologias e recursos, mediante o financiamento adequado. A CDB ainda obriga os governos a desenvolver ações para a proteção

de animais e plantas, sobretudo os que estão ameaçados de extinção, em face do equilíbrio ecológico (FIORILLO; DIAFÉRIA, 2012). Então, a Convenção se apresenta como uma reação aos riscos da uniformidade, que o ser humano tenta impor e que pode ser prejudicial à preservação das espécies (PORTELA, 2013).

**Quadro 1.** Os três princípios básicos da Convenção sobre Diversidade Biológica - CDB.

<b>1º princípio</b>	Considerar o valor intrínseco da biodiversidade, pois além de recurso explorável, a mesma possui propriedades como: a manutenção do equilíbrio ecológico e da diversidade genética; além de aspectos científicos, sociais, recreacionais, estéticos e educacionais;
<b>2º princípio</b>	Reafirmar o direito soberano dos Estados sobre os seus recursos genéticos e biológicos;
<b>3º princípio</b>	Reafirmar a responsabilidade dos Estados pela utilização sustentável de seus recursos biológicos e pela conservação de sua biodiversidade.

Quadro adaptado (AZEVEDO; LAVRATTI; MOREIRA, 2005).

O objetivo comum aos tratados internacionais em matéria ambiental, mais recentes ou mais antigos, é possibilitar a conservação e o uso racional dos recursos naturais. A integração entre a proteção ambiental e o desenvolvimento econômico passou a moldar a relação entre a natureza e o homem, em termos diferentes dos concebidos desde a revolução industrial, devido à percepção da finitude dos recursos naturais, aliada ao conhecimento dos efeitos colaterais que a exploração desenfreadas de tais recursos acarreta. Então, a Declaração de Estocolmo, de 1972, é o indício dessa mudança que originou uma nova visão do processo de desenvolvimento, que abarca em seu seio aspectos

relacionados ao desenvolvimento social, a proteção ambiental e o desenvolvimento econômico, e que foi corroborada e aprofundada por tratados internacionais posteriores, no âmbito regional ou universal. Surgia assim o direito ao meio ambiente sadio (AMARAL JÚNIOR, 2011).

O direito ao meio ambiente sadio contribui fundamentalmente para a realização dos demais direitos humanos, favorecendo a igualdade, contribuindo para a redução das desigualdades materiais entre os cidadãos, criando um meio ambiente equilibrado e acrescentando uma nova dimensão aos direitos que já foram outrora reconhecidos (AMARAL JÚNIOR, 2011).

Existem princípios que ultrapassam os limites da soberania, com a finalidade de garantir um meio ambiente equilibrado para toda a humanidade. Tais princípios envolvem uma política ambiental que tem como objetivo atender às necessidades da humanidade e podem ser encontrados, principalmente, na Declaração de Estocolmo, de 1972, ampliados nos documentos emanados da RIO-92; considerados como fundamentos genéricos e diretores aplicáveis à proteção ambiental. Assim, os princípios nacionais nada mais são do que os princípios do direito ambiental internacional adequado à realidade social e cultural de cada país (FIORILLO; DIAFÉRIA, 2012).

## CONCLUSÃO

Com vistas à proteção da dignidade humana os direitos têm ampliado o seu âmbito de proteção. Após a Conferência de Estocolmo, em 1972, o direito ambiental internacional tem sido cada vez mais reconhecido e reafirmado em inúmeros instrumentos internacionais, seja no Sistema Global ou nos Sistemas Regionais de proteção dos direitos humanos.

Devido às ameaças sob as quais padece a biodiversidade, que conseqüentemente ameaçam a dignidade humana, a Convenção sobre a Diversidade Biológica adquire inefável relevância, no sentido de que não há como garantir uma vida humana digna em um meio ambiente devastado.

Assim, conclui-se que a proteção ambiental é condição *sine qua non* para a proteção da dignidade humana, por isso é de fundamental importância o reconhecimento internacional do valor para a humanidade da biodiversidade, cujo reconhecimento a CDB é a Convenção que melhor representa, hodiernamente.

## REFERÊNCIAS

AMARAL JÚNIOR, A. do. **Curso de direito internacional público**. 2 ed. São Paulo: Atlas, 2011.

ANTUNES, P. B. de. **Direito ambiental**. 14 ed. São Paulo: Atlas, 2012.

AZEVEDO, C. M. A.; LAVRATTI, P. C.; MOREIRA, T. C. A Convenção sobre Diversidade Biológica no Brasil: considerações no que tange ao acesso ao patrimônio genético, conhecimentos tradicionais associados e repartição de benefícios. Revista de

Direito Ambiental. RDA 37/113. Jan.-Mar./2005. In: MILARÉ, É.; MACHADO, P. A. L. (Orgs.) **Direito ambiental: direito ambiental internacional e temas atuais**. São Paulo: Editora Revista dos Tribunais, 2011. (Coleção doutrinas essenciais; v. 6).

BARROSO, L. R. **Curso de direito constitucional contemporâneo: os conceitos fundamentais e a construção do novo modelo**. 3. ed. São Paulo: Saraiva, 2011.

COMPARATO, F. K. **Ética: direito, moral e religião no mundo moderno**. São Paulo: Companhia das Letras, 2006.

\_\_\_\_\_. **A afirmação histórica dos direitos humanos**. 7 ed. São Paulo: Saraiva, 2010.

CRETELLA NETO, J. **Curso de direito internacional do meio ambiente**. São Paulo: Saraiva, 2012.

DOLINGER, J. Dignidade: o mais antigo valor da humanidade. Revista de Direito Constitucional e Internacional. RDCI 70/24. Jan-mar./2010. In: PIOVESAN, F.; GARCIA, M. (Org.). **Teoria geral dos direitos humanos**. São Paulo: Editora Revista dos Tribunais, 2011. (Coleção doutrinas essenciais; v. 1).

FIORILLO, C. A. P.; DIAFÉRIA, A. **Biodiversidade, patrimônio genético e biotecnologia no direito ambiental**. 2 ed. São Paulo: Saraiva, 2012.

MILARÉ, É. **Direito do ambiente: a gestão ambiental em foco: doutrina, jurisprudência, glossário**. 6 ed. São Paulo: Editora Revista dos Tribunais, 2009.

PORTELA, P. H. G. **Direito internacional público e privado**. 5 ed. Salvador: JusPODIVM, 2013.

---

## **A COBRA-PRETA NA PERCEPÇÃO DOS MORADORES**

# DA FAZENDA SACO, PERNAMBUCO

Foerster, S.I.A.<sup>(1)</sup>; Bezerra, P.E.S.<sup>(1)</sup>; Almeida, C.G. <sup>(1)</sup> cptstenio@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Serra Talhada – UAST, Santa Cruz da Baixa Verde - PE, Brasil.

## RESUMO

Desde os primórdios da humanidade as serpentes têm sido os personagens principais de muitas lendas, mitos, fábulas e crenças de diversos grupos étnicos e religiosos de todo o mundo. No Brasil, os modos de interação entre o homem e a fauna vêm sendo registrados desde a época colonial, entretanto, os estudos na área da etnozootologia são escassos quando comparados com os estudos relacionados à etnobotânica. O presente estudo teve como objetivo investigar os conhecimentos tradicionais sobre a cobra-preta provindos dos moradores da comunidade da Fazenda Saco no município de Serra Talhada/PE por meio de entrevistas com a utilização de formulários semiestruturados, complementadas por entrevistas livres e conversas informais. Os conhecimentos que os moradores detinham sobre a cobra-preta, principalmente sobre sua alimentação, são consistentes quando comparadas com a literatura acadêmica, e a lenda da “cobra que mama” foi a mais relatada. No entanto, existe a necessidade de orientação da população da Fazenda Saco sobre a importância ecológica das espécies conhecidas como cobra-preta e das demais espécies de serpentes que ocorrem na região.

**Palavras-chave:** Etnobiologia, Herpetologia, Pseudoboini.

## INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade, as serpentes têm sido os personagens principais de muitas lendas, mitos, fábulas e crenças de diversos grupos étnicos e religiosos de todo o mundo. Mais do que

qualquer outro grupo animal, as serpentes despertam diferentes sentimentos nos humanos, tais como medo, respeito, coragem, poder, gratidão, virilidade, criação, destruição, sorte, azar, cura, bondade, maldade entre outros. Todavia, o sentimento de temor natural do ser humano ao se deparar com um ofídio é o mais representativo nessa relação (FERNANDES-FERREIRA et al., 2011; OLIVER, 1958).

A relação entre o homem e as serpentes pode ser considerada uma das mais antigas relações etnozoológicas da sociedade humana (PORTILLO, 2012) e, no Brasil, os modos de interação entre o homem e a fauna vêm sendo registrados desde a época colonial. Entretanto, os estudos na área da etnozootologia são escassos quando comparados com os estudos relacionados à etnobotânica (COSTA-NETO, 2000).

A caatinga representa um dos principais ambientes semiáridos da região Neotropical, sendo um bioma extremamente ameaçado principalmente devido ao uso insustentável dos recursos naturais. São registradas no bioma caatinga, 117 espécies de répteis, nas quais, as serpentes representam 44% deste total (52 espécies). Populações locais interagem com muitas dessas espécies de répteis, atribuindo-lhes algum tipo de valor utilitário, porém algumas espécies têm sido caçadas devido às relações conflituosas com as pessoas, entre elas destacam-se, ataques na pecuária e risco para vidas humanas (ALVES et al., 2012).

Em Pernambuco existem pelo menos duas espécies de serpentes conhecidas popularmente como cobra-preta, são elas *Boiruna sertaneja*

Zaher, 1996 (FREITAS, 2003) e *Pseudoboa nigra* Dumeríl, Bribon e Dumeríl, 1854 (FILHO & MONTINGELLI, 2011), ambas da tribo Pseudoboini, família Dipsadidae.

A *B. sertaneja* (Figura 1) é uma serpente de médio porte, chegando a medir até 2,3 m de comprimento, é terrestre e de hábitos noturnos e crepusculares, alimentam-se de lagartos, serpentes, aves e roedores e a dentição é do tipo opistóglifa. Apresenta mudança de coloração que ocorre durante o seu crescimento, mudando de uma coloração quase totalmente vermelho-rosado com cabeça branca e preta para uma coloração negra com tom de chumbo (FREITAS, 2003). É uma serpente que se restringe às formações abertas de Caatinga no Nordeste do Brasil (BRITO & GONÇALVES, 2012).



**Figura 1.** *Boiruna sertaneja*, indivíduo adulto.  
Foto: Paulo Eduardo Silva Bezerra

A *P. nigra* é uma serpente semelhante à *B. sertaneja*, atingindo cerca de 1,2 m de comprimento, com dentição do tipo opistóglifa e alimentação à base de lagartos e seus ovos, serpentes e camundongos. Também

apresenta mudança de coloração durante seu crescimento, mudando de uma coloração vermelho-claro com a cabeça branca e preta (Figura 2A) para uma coloração negra, porém com alguns exemplares apresentando malhas brancas (Figura 2B) (FREITAS, 2003). Ocorre em caatingas (ALVES et al., 2012), inclusive com registro para o município de Serra Talhada (NETO & SANTOS, 2009) e em brejos de altitude no estado de Pernambuco (FILHO & MONTINGELLI, 2011).



**Figura 2.** *Pseudoboa nigra*. (A) Indivíduo jovem; (B) Indivíduo adulto, com pequenas malhas brancas pelo corpo. Foto: Marco Antônio de Freitas.

Este trabalho teve como objetivo investigar os conhecimentos tradicionais dos moradores da comunidade da Fazenda Saco, localizada no município de Serra Talhada no estado de Pernambuco, sobre as serpentes *B. sertaneja* e *P. nigra* e orientar a população sobre a importância das espécies.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na comunidade da Fazenda Saco, localizada no município de Serra Talhada, no estado de Pernambuco, na área da Fazenda Saco (07°55.951'S 038°17.433'W), onde também se encontram a Universidade Federal Rural de Pernambuco/Unidade Acadêmica de Serra Talhada e o Instituto Agrônomo de Pernambuco. A área da Fazenda Saco é bastante ampla e vivem na comunidade estudada cerca de 100 famílias, a maioria trabalhando no meio rural.

As informações foram obtidas por meio de entrevistas com a utilização de formulários semiestruturados, complementadas por entrevistas livres e conversas informais (Huntington, 2000).

Os formulários foram aplicados nas residências dos entrevistados e apenas uma pessoa em cada residência participou da pesquisa, aquela que se identificou como maior conhecedora da fauna da região. Os formulários abordaram questões sobre o perfil socioeconômico dos entrevistados e conhecimentos a respeito da biologia geral, lendas e crenças sobre as espécies estudadas.

As entrevistas foram gravadas, mediante consentimento do entrevistado, ou anotadas e as espécies estudadas foram apresentadas aos entrevistados por meio de pranchas com fotografias e utilização do nome vernacular.

Após as entrevistas, foram distribuídos panfletos com orientações no caso de acidentes com serpentes e outros animais peçonhentos e informações sobre a biologia das espécies estudadas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a realização do estudo foram entrevistadas 28 pessoas, 13 do sexo masculino e 15 do sexo feminino, com idades de 14 a 75 anos. Ao visualizar as fotografias das serpentes disponibilizadas no momento da entrevista, quase todos os entrevistados (n=25) afirmaram já ter encontrado o animal em questão. Mais da metade dos entrevistados (53,6%) reconheceram que outras serpentes fazem parte da dieta da cobra-preta e seis pessoas afirmaram já terem visto a cobra-preta se alimentando de outras serpentes.

A importância da cobra-preta para a natureza foi relatada por 13 pessoas, das quais sete justificaram que são importantes por realizarem uma “limpeza” no ambiente, se alimentando de outras cobras, inclusive as peçonhentas, ratos, insetos e outros animais nocivos ao homem. Sete pessoas disseram que a cobra-preta não possui nenhuma importância e oito não souberam responder essa questão. Quando questionados sobre os possíveis benefícios que a cobra-preta pode trazer para o homem nove entrevistados afirmaram ser o hábito da cobra-preta se alimentar de outras espécies que eles consideram nocivas e 10 entrevistados disseram que a cobra-preta não traz nenhum benefício aos homens.

Quanto à etnotaxonomia, nenhum dos entrevistados tinha conhecimento que a cobra-preta possui variação ontogenética durante seu crescimento. Três entrevistados chamam a *P. nigra* jovem (com coloração vermelha rosada) de “cobra-rainha” enquanto outras duas pessoas se referem à mesma como “cobra-coral”, referindo-se a estas como perigosas, ao

passo que ao visualizar as imagens da cobra-preta adulta 11 pessoas disseram se tratar de um animal que não oferece nenhum risco, enquanto que oito pessoas disseram o contrário, duas delas identificando como “caninana” a *P. nigra* adulta (figura 2B), dizendo ainda que se tratava de uma serpente muito agressiva e perigosa, que “voa” nas pessoas quando provocada, características associadas à caninana, *Spilotes pullatus*.

O fato das pessoas atribuírem perigo aos jovens da cobra-preta pode estar relacionado à coloração ligeiramente aposemática nessa fase da vida do animal, o que acaba instintivamente despertando medo nas pessoas. A confusão taxonômica entre a *P. nigra* jovem e a caninana provavelmente é decorrente dos padrões de desenhos entre as espécies, porém a caninana possui o dorso preto com manchas amarelas e não brancas como em alguns indivíduos de *P. nigra*. Essa confusão taxonômica envolvendo indivíduos jovens de *P. nigra* já foi relatada por FREITAS (2003). O relato de que a caninana, confundida com a cobra-preta, “voa nas pessoas” pode ser explicado pelo fato da espécie ser bastante ágil, desferindo botes e se movimentando com bastante rapidez pelos arbustos, o que leva os leigos a afirmarem que ela é “tão rápida que voa”.

Apesar de alguns moradores identificarem a cobra-preta como perigosa 64,3% dos entrevistados afirmaram não matar o animal quando o encontra. Seis pessoas não souberam informar em que período do ano é mais comum o encontro com a cobra-preta, porém oito entrevistados

disseram que é mais comum o encontro com esta serpente durante o mês de maio, que eles reconhecem como “o mês das cobras”, sendo que o telhado das residências é o local em que os animais são mais encontrados. O maior encontro com as serpentes no mês de maio provavelmente está relacionado com o período chuvoso, quando aumenta a atividade do homem no campo por conta do período propício à atividade agrícola, aumentando também a possibilidade de encontro com as serpentes. A maior disponibilidade de recursos vegetais e consequentemente animais podem atrair espécies que fazem parte da dieta de *P. nigra* e *B. sertaneja*, como por exemplo, serpentes, roedores e lagartos, que comumente acabam aparecendo nos telhados das residências, atraindo a cobra-preta até a sua captura.

A lenda da “cobra que mama” foi citada por 28,6% dos entrevistados e a cobra-preta faz parte dessa crença. Os entrevistados descreveram a lenda de maneira semelhante, acreditando que quando a mulher está amamentando, principalmente durante a noite, a cobra-preta se aproxima e sutilmente toma o lugar da criança junto aos seios da mulher enquanto mantém a ponta de sua cauda na boca da criança para que esta não chore, informações corroboradas pelas citações em FERNANDES-FERREIRA et al. (2011). Uma senhora que não estava sendo entrevistada afirmou que uma cobra-preta quase chegou a mamar em seu seio e um entrevistado afirmou que uma cobra-preta já mamou no seio de sua tia já falecida. Não foi identificada a origem dessa lenda, que gera temor entre os entrevistados, mas sua veracidade é difícil de

ser comprovada por conta de vários fatores comportamentais, anatômicos e fisiológicos que envolvem a biologia das serpentes.

De uma maneira geral, a cobra-preta não apresentou muitos usos por parte do homem. A maioria dos entrevistados, 21, não relatou nenhuma utilidade para a cobra-preta e cinco não souberam responder a questão. Uma pessoa disse que a pele do animal serve para confecção de artesanato e outra que a cauda da cobra-preta serve para fazer remédio, não sabendo informar o modo de preparo do medicamento, a indicação e a posologia.

A transferência do conhecimento sobre a cobra-preta se deu por meio de pessoas mais velhas para 14 entrevistados. Oito entrevistados obtiveram o conhecimento por experiência própria, três por meio de terceiros e dois por meio de estudos. Um entrevistado não soube responder.

Apesar de poucos moradores entrevistados terem obtido conhecimentos sobre a cobra-preta por meio de estudos, muitas informações que eles detêm estão de acordo com a biologia das espécies, particularmente o hábito ofiófago da cobra-preta. Eles atribuem valor a esta característica, o que muitas vezes impede que matem a cobra-preta quando a encontram. BÜCHERL (1979) relatou esse mesmo costume do homem do campo em preservar outras espécies de cobra-preta (*Clelia clelia* Daudin, 1803 e *Clelia plumbea* Wied, 1820). Por outro lado, a generalização quando acreditam que todas as serpentes são peçonhentas e oferecem riscos às pessoas, é preocupante e provoca a morte de várias

espécies quando essas se deparam com o homem, mesmo aquelas que não são peçonhentas.

## CONCLUSÃO

Muitos conhecimentos tradicionais dos moradores da Fazenda Saco, principalmente sobre a alimentação das espécies *B. sertaneja* e *P. nigra*, são consistentes quando comparadas com a literatura acadêmica;

Apesar das citações por parte dos moradores, não foi possível obter informações cientificamente relevantes para se estudar e discutir a origem da lenda da “cobra que mama”;

Existe a necessidade de orientação da população da Fazenda Saco sobre a importância ecológica das espécies conhecidas como cobra-preta e das demais espécies de serpentes que ocorrem na região.

## REFERÊNCIAS

ALVES, R.R.N.; FILHO, G.A.P.; VIEIRA, K.S.; SOUTO, W.M.S.; MENDONÇA, L.E.T.; MONTENEGRO, P.F.G.P.; ALMEIDA, W.O.; VIEIRA, W.L.S. A zoological catalogue of hunted reptiles in the semiarid region of Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 8, n. 27, p. 1-29, 2012.

BRITO, P.S.; GONÇALVES, U. Squamata, Dipsadidae, Boiruna sertaneja Zaher, 1996: New records and geographic distribution map. **Check List: Journal of Species List and Distribution**, v. 8, n. 5, p. 968-969, 2012.

BÜCHERL, W. **Acúleos que matam**. São Paulo: Syntex, 1979. 153 p.

COSTA-NETO, E.M. A Etnozoologia no Brasil: Um panorama bibliográfico. **Bioikos**, v. 14, n. 2, p. 31-45, 2000.

FERNANDES-FERREIRA, H.; CRUZ, R.L.; BORGES-NOJOSA, D.M.; ALVES, R.R.N. Crenças associadas a serpentes no estado do Ceará, Nordeste do Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 11, n. 2, p. 153-163, 2011.

FILHO, G.A.P.; MONTINGELLI, G.G. Check list of snakes from the Brejos de Altitude of Paraíba and Pernambuco, Brazil. **Biota Neotropical**, v. 11, n. 3, p. 145-151, 2011.

FREITAS, M.A. *Serpentes Brasileiras*. Lauro de Freitas: Publisher, 2003. 160 p.

HUNTINGTON, H.P. Using Traditional ecological knowledge in Science: Methods and applications. **Ecological Applications**, v. 10, n. 5, p. 1270-1274, 2000.

NETO, F.G.C.; SANTOS, E.M. Répteis da Fazenda Saco, Serra Talhada/PE - Indicadores de conservação. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/eventosufrpe/jepex2009/cd/resumos/R0523-1.pdf>. Acesso em: 30 de set. 2013.

OLIVER, J.A. **Snakes in fact and fiction**. New York: The Macmillian Company, 1958. 199 p.

PORTILLO, J. T. M. **Composição, etnoecologia e etnotaxonomia de serpentes no Vale do Paraíba, estado de São Paulo**. Dissertação de Mestrado. Ouro Preto: Departamento de Evolução, Biodiversidade e Meio Ambiente - Universidade Federal de Ouro Preto, 2012. 80 p.

---

## A INFLUÊNCIA DO AUMENTO DE NITRATO NA SAÚDE DAS POPULAÇÕES DE BAIXA RENDA ECONÔMICA

Andrade F. L. S.<sup>(1)</sup>; Azevedo, A. K. N.<sup>(1)</sup> [djleo.ufrn@gmail.com](mailto:djleo.ufrn@gmail.com)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Caicó – RN, Brasil.

## RESUMO

A atividade humana gera impactos ambientais que repercutem no meio biológico afetando os recursos naturais e a saúde humana. Com o aumento das cidades e a elevação do consumo de água passou-se a executar obras destinadas a captação, transporte e tratamento da água. E uma das formas de contaminação são os esgotos descartados em rios e solo. Quando estes são descartados no solo, percola e contamina as águas subterrâneas com o nitrato. O presente estudo tem o objetivo de apresentar um panorama do crescimento da presença de nitrato na água que está sendo distribuída a população. Bem como verificar qual o impacto este aumento gera em populações de baixa renda, que não tem condições de comprar água mineral. Será escrito com informações retiradas de uma pesquisa de campo, utilizando questionários, também será utilizado dados das contas de água dos entrevistados. Como resultado sabe-se que no bairro de Tirol, a conta de água entre julho/outubro de 2012 demonstrou que houve um aumento de nitrato na água distribuída, tendo ocorrido um aumento de 61% em relação a Outubro de 2012. Se este crescimento se mantiver, atingiremos o nível máximo tolerado em 200 meses, ou seja, em 16 anos.

**Palavras chaves:** Água, Nitrato, Saneamento Básico.

## INTRODUÇÃO

Denomina-se nitrato ou azotato á um sal formado pela ação do ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ), sobre óxidos metálicos. Existem vários tipos de nitratos, que podem ir de remédios a venenos. Constitui-se de nitrogênio nítrico presente em águas. É normalmente expresso em miligramas de nitrogênio por litro (NBR 9896/1993). O  $\text{NO}_3^-$  é a principal forma do nitrogênio combinado, encontrado em águas naturais, e é o resultado da oxidação dos compostos de nitrogênio.

A maioria das águas de superfície contém nitrato. Sendo a presença deste composto em concentrações maiores que 5 mg/L indicadora de contaminação da água por resíduos humanos e de animais.

As plantas são capazes de converter nitratos em nitrogênio orgânico. Desta forma o nitrato estimula o crescimento das plantas e organismos aquáticos, mas seu excesso desencadeia a proliferação destes organismos.

Embora as águas de superfície possam conter mais do que 100 mg de nitrato por litro, elas raramente contêm mais que 5 mg/L e frequentemente apresentam menos que 1 mg/L. A concentração de nitrato em águas subterrâneas é superior a 100 mg/L e em áreas onde fertilizantes são utilizados estas águas podem apresentar até 1000 mg/L. A água da chuva pode apresentar até 0,2 mg de  $\text{NO}_3^-$  por litro. (Paraná, 2013)

O consumo de água com alto teor de nitrato leva a diminuição da capacidade de transporte de oxigênio no sangue, principalmente em crianças que podem desenvolver metaemoglobinaemia. Para proteger este sensível consumidor estimou-se que a quantidade de nitrato mais nitrito, na água de abastecimento, deva ser inferior a 10 mg/L.

Embora a quantidade de água pareça ser inesgotável devido ao ciclo da água, a qualidade para o abastecimento preocupa já que 97% é água salgada, somente sendo potável 3%, e deste percentual apenas 0,3% é de fácil manejo e acesso, uma vez que a maior parte encontra-se presente na neve, gelo e lençóis subterrâneos. (MANO, PACHECO; BONELLI, 2005)

Quando a água encontra-se abaixo da superfície diz-se que há formação dos lençóis freáticos, que conserva a água em um bom estado de

qualidade. Sendo desta fonte de água retirada a água que abastece os grandes centros urbanos. (FUNASA, 2004).

A atividade humana gera impactos ambientais que repercutem nos meios físicos, biológicos e socioeconômicos afetando os recursos naturais e a saúde humana. Esses impactos se fazem sentir nas águas, ar e solo. Com o aumento das aglomerações humanas e com a respectiva elevação do consumo de água o homem passou a executar grandes obras destinadas a captação, transporte e armazenamento deste líquido e também a desenvolver técnicas de tratamento.

No entanto com o avanço da sociedade, mais moradias estão sendo construídas, tendo assim aumentado também o volume de efluentes líquidos derivados das necessidades humanas que veem poluindo esta fonte.

Uma das principais formas de contaminação da água dos lençóis freáticos são os esgotos descartados em rios e sobre o solo. Quando estes são descartados no solo, ele percola e contamina as águas subterrâneas com poluentes químicos, principalmente o nitrato que é derivado do uso de sistemas de saneamento in situ do tipo fossas e valas negras. O ideal é que não haja este poluente nas amostras de água, no entanto, o crescimento da cidade deixa rastros e resíduos, assim a água segundo a Portaria 518 de 2004 do Ministério da Saúde, prevê que será considerada potável quando a concentração dessa substância for inferior a 10mg por litro.

Todos os habitantes de uma cidade pagam pela água que consomem e chegam a suas casas pelo sistema de abastecimento da cidade, e no processo de coleta e distribuição da água são realizadas várias etapas que buscam aprimorar a qualidade da água que chegam as residências, um deste processo consiste em analisar parâmetros físico-químicos em laboratório, e os resultados são expostos na conta de água que cada cidadão recebe. No entanto, uma boa parte das famílias de uma cidade opta por água mineral para o consumo humano devido ao número crescente de nitrato na água distribuída pela Companhia de abastecimento. Ficam as perguntas, e o contato com essa água contaminada no banho? Quando se lavar copos, pratos, talheres? E quando água chegar finalmente a 10mg/L? O que fazer? Como ficam as pessoas de baixa renda que não tem acesso (financeiro) à água mineral? Será que é possível retirar o Nitrato ao se utilizar filtros? Ao ferver a água? Como garantir um consumo que não faça mal ao organismo das pessoas de um modo geral?

Pensando em buscar soluções para responder e debater estas perguntas e dúvidas, bem como conhecendo que o saneamento básico engloba o estudo sobre a qualidade de água que é distribuída a população; Considerando que o crescimento da cidade sem as devidas obras de saneamento trazer risco de contaminação da água, em especial pelo nitrato, e, por conseguinte riscos a saúde das pessoas; e lembrando o que prevê a Constituição Federal no artigo 225 de que “todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso

comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações.”, o presente estudo tem como objetivo geral e específicos elencados a seguir.

Será que todos os indivíduos da população demonstram interesse e conhecimento na qualidade da água que chega as suas residências, uma das finalidades deste artigo é verificar a percepção ambiental de jovens estudantes do ensino fundamental II, principalmente os alunos dos 8º e 9º ano quanto à preocupação em verificar se a água que chega as suas casas possuem uma boa qualidade. Também apresentar um panorama do crescimento da presença de nitrato na qualidade de água que está sendo distribuída a população.

## **MATERIAL E METÓDOS**

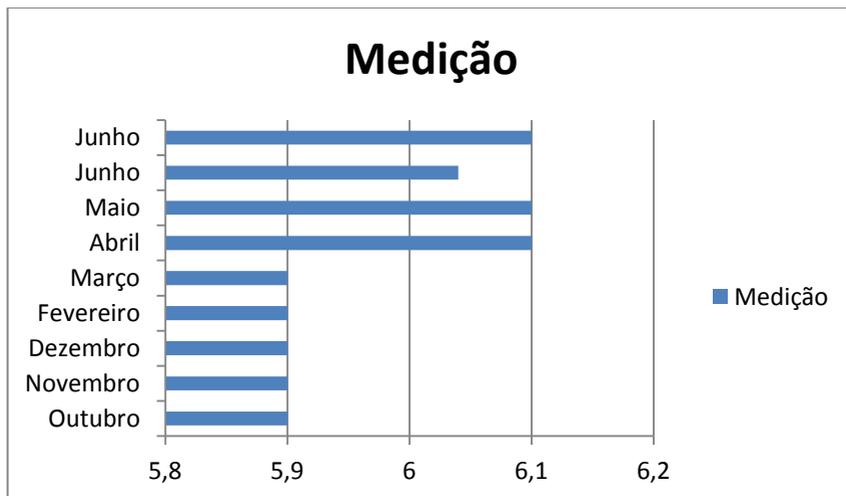
O artigo será escrito com bases em informações retiradas de uma pesquisa de campo, com a utilização de questionários, em duas escolas do ensino fundamental do Município de Natal, nos anos finais do ensino fundamental II, quais sejam oitavos e nonos anos. Também serão utilizados dados coletados das contas de água de alguns entrevistados, bem como do balanço demonstrado pelo órgão responsável pela captação, tratamento e distribuição da cidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os órgãos reguladores definem que todo o fornecimento de água pública deve manter níveis de nitratos abaixo dos 10 partes por milhão. Isso se traduz em 10 mg de nitrato por litro de água.

Na região do bairro de Tirol, com base em uma conta de água entre os meses de julho/2013 a outubro/2012) percebe-se que houve um aumento da presença de nitrato na água distribuída estando no mês de julho de 2013 com 6.1 mg/L de nitrato e o máximo tolerado é de 10 mg/L, ou seja 61% de contaminação dentro do total tolerado – entendendo que 10mg/l é o máximo (Figura 1).

Nota-se um aumento preocupante e constante dos níveis de nitrato presentes na água entregue ao consumidor. Em 10 meses verificados, saímos de 5,9 para 6.1, se este crescimento se mantiver (subir 2 décimos a cada 10 meses), atingiremos o nível máximo tolerado em 200 meses, ou seja, em 16 anos. Levando em consideração o aumento da população e a contínua alta de investimento em obras de saneamento básico, poderemos chegar ao nível máximo em menos de 10 anos, ou seja, em curto prazo.



**Figura 1.** de nitrato na água distribuída estando no mês de julho de 2013 a outubro/2012 na região do bairro de Tirol.

Para os questionários aplicados nas Escolas Municipais: Juvenal Lamartine e Mário Lira. Com as turmas de oitavo e nono anos do Ensino Fundamental II. Sendo aplicados 40 questionários no Mário Lira e 42 questionários no Juvenal Lamartine. Encontraram-se os seguintes resultados, os jovens entrevistados apresentaram interesse/curiosidade em conhecer a fatura de água que chega a suas casas, muito embora em na escola Mario Lira a maioria não saiba de onde vem ou onde é captada a água que eles consomem. (23 questionários - 57%).

Os entrevistados também conhecem o órgão responsável pela captação, tratamento e distribuição de água em sua cidade – CAERN. E se preocupam com a qualidade da água que consomem. (92% dos entrevistados), muito embora não realizem nenhum tipo de tratamento

para consumi-la. (55% dos entrevistados no Mário Lira e 73% dos entrevistados no Juvenal Lamartine).

Percebe-se que a maioria dos entrevistados não consomem a água que é distribuída para sua casa pela CAERN, comprando água mineral, no Mário Lira foram 30 entrevistados que responderam comprar a água mineral (75%) e no Juvenal Lamartine foram 29 entrevistados (69%).

Estes dados revelam que eles reconhecem que a água distribuída não possuem a qualidade necessária quando se refere ao componente Nitrato, estando em sua maioria com índices muito elevados.

Na escola Mario Lira a predominância de entrevistados do sexo masculino (57% dos entrevistados) apresentando em geral 13 anos (35%) e que moram em sua maioria no bairro Dix-Sept-Rosado (67%).

Já o entrevistados do Juvenal Lamartine o perfil revela que são em sua maioria do sexo feminino (57%), com idade de 15 anos (40%) e que moram em Nossa Senhora da Apresentação (38%).

Percebe-se que os bairros em questão são encontrados em regiões de baixo rendimento econômico, sendo Dix-Sept-rosado, na zona leste da cidade e Nossa senhora da Apresentação, zona norte.

Segundo dados de 2010 divulgados pela Agência Reguladora de Saneamento Básico de Natal (ARSBAN), havia 15 poços com índice de nitrato acima do permitido para o consumo humano na zona Norte, de 22 analisados, e outros 26 na zona Sul, de 50 pesquisados (fonte: tribuna do norte, 27 de março de 2010).

A Companhia embora devidamente informada do estudo em andamento através dos ofícios n. 001 e 002/2013 protocolado nos dias 08 e 14 de agosto de 2013 pela bióloga Ana Katarina Azevedo (CRBio – 46.723-05D) não apresentou os resultados atualizados conforme solicitado.

Mesmo pedido foi realizado a CAERN, que também não apresentou os dados solicitados.

Em pesquisa realizadas pela internet, foi encontrado um relatório produzido pela FUNCERN de 2005 com título “Cadastramento e nivelamento de poços do aquífero barreiras no município de natal/RN”. No qual constava os dados laboratoriais das análises de água para diversos parâmetros, entre eles o nitrato.

Os resultados mostram que um boa parte das águas está afetada por nitrato, com a presença de águas nativas (0,00 mg/L de N) até águas altamente contaminadas com teor de 27,78 mg/L de N. O valor médio obtido foi de 9,12 mg/L de N, próximo ao limite superior estabelecido pela Organização Mundial de Saúde- OMS para consumo humano; mediana de 8,16 mg/L de N.

## **CONCLUSÃO**

Em termos de números, a quantidade de Nitrato na água distribuída à população de Natal continua a subir e faz parecer que as autoridades (políticas) e executoras (CAERN) não possuem um planejamento futuro de curto ou médio prazo para tentar solucionar o problema. O fato é que poços foram fechados por conter um número acima do estabelecido de

Nitrato e novas fontes de água estão cada vez mais raras e com isso, em um curto prazo de tempo, teremos uma água totalmente inadequada distribuída para a população. E Para as camadas mais pobres da população que não possuem condições financeiras para a compra de água mineral? Estaríamos em médio prazo cultivando doenças e com isso criando uma população dependente de medicamentos e hospitais? Qual o custo final disso? O que seria mais barato: investimento em saneamento básico ou gastos com médicos, hospitais e medicamentos? Politicamente falando, obra que não é vista, não é lembrada. Talvez seja essa a explicação para construções de estádios, pontes, viadutos e nenhum investimento em saneamento que, obviamente, por ficar abaixo do solo, não é notado pela população.

## REFERÊNCIAS

JR, PHILLIPI, Arlindo. **Saneamento, saúde e ambiente**. Fundamentos para um desenvolvimento sustentável. USP, 22005

FUNASA, **Manual de saneamento**. Orientações técnicas. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Brasília, 2004.

FUNCERN. **Cadastramento e nivelamento de poços do aquífero barreiras no município de natal/RN**. Disponível no site: <http://www.portal.rn.gov.br/content/aplicacao/igarn/arquivos/pdf/relat%C3%B3rio%20final%20do%20cadastro%20%28vol.01%29.pdf>. Acessado em 28 de setembro de 2013.

MANO, Eloisa Biasotto & PACHECO, Élen B. A. V. & BONELLI, Claudia M. C. **Meio ambiente, Poluição e Reciclagem**. Editora Edgard Blucher, 2005.

## **A PISCICULTURA COMO ALTERNATIVA NA BACIA DO RIO URUGUAI**

**Querol, M. V. M.<sup>(1)</sup>; Pessano, E. F. C.<sup>(1)</sup>; Gralha, T. S.<sup>(1)</sup>; Souza, M. A. de<sup>(1)</sup>;  
Lopes, P. R. S.<sup>(1)</sup>; Hoshiba, M. A.<sup>1</sup>; Folmer, V.<sup>(1)</sup>; Denardin, E.<sup>(1)</sup>; Farias, F.<sup>(1)</sup>;  
Pedron, F.<sup>(1)</sup>; Neis, A. T.<sup>(1)</sup>; Ayala, A.<sup>(1)</sup>; Rosa, D. P. da<sup>(1)</sup>; Fidelis, E.<sup>(1)</sup>; Carvalho,  
J.<sup>(1)</sup>; Soares, H.<sup>(1)</sup>; Cardoso, L.<sup>(1)</sup>; Bolina, V.<sup>(1)</sup>; Toso, J.<sup>(1)</sup>; Mangini, A.<sup>(1)</sup>**

marcusquerol@unipampa.edu.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Pampa / Núcleo de Pesquisa em Ictiologia, Limnologia e Aquicultura da Bacia do Rio Uruguai – Nupilabru, Rio Grande do Sul – Brasil, ProextMec.

### **RESUMO**

Este programa faz parte de uma atividade interdisciplinar que envolve o ensino, pesquisa e a extensão, visando colaborar para a diversificação da economia rural e desenvolvimento de alternativas de emprego e renda familiar através da produção de peixes nativos na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. De modo específico, o programa visa dar seguimento aos trabalhos de extensão em andamento, de difusão da piscicultura e do aproveitamento de produtos e subprodutos do pescado. Neste contexto o programa ofereceu vagas para os pescadores de Itaqui e São Borja, que não foram contemplados na primeira etapa de execução no ano de 2012 em Uruguiana. Um diferencial desta etapa é a parceria que se estabeleceu com produtores rurais e prefeituras para que os atores sociais envolvidos no projeto possam após sua capacitação cultivarem os peixes em áreas pertencente às prefeituras em regime associativo de parceria. O programa teve início em

janeiro e teve seu desfecho em setembro de 2013, com a realização de um seminário regional. Foram capacitadas 120 pessoas e após a realização dos módulos observou-se que mais de 80% dos atores sociais envolvidos demonstraram conhecimento e habilidades para o desenvolvimento da piscicultura.

**Palavras-chave:** Peixes Nativos, Inclusão Social, Pampa.

## INTRODUÇÃO

O crescente aumento da produção de alimentos, consequência direta do aumento populacional, fortalece cada vez mais a ideia de se criarem novos e eficazes métodos de cultivo, com baixo custo que garantam uma produção em alta escala. A piscicultura, na região da Fronteira Oeste surge como uma diversificação no setor agropecuário, capaz de garantir uma produção alimentícia de proteína animal com elevado valor nutritivo para a população. Dentro do cultivo de peixes é extremamente importante buscar novos métodos de propagação artificial e manejo alimentar que propiciem com eficácia principalmente a produção de espécies nativas. Na fronteira oeste do Rio Grande do Sul, os estudos sobre a desova de grande número de espécies é incipiente, desta forma, os dados obtidos podem contribuir para o aproveitamento de novas espécies como mais uma alternativa de renda para o pescador, pequeno proprietário rural e demais interessados na produção de pescado. Em Uruguaiana, Itaqui e São Borja, bacia do rio Uruguai médio, região deste estudo, verifica-se diferentes impactos sobre o rio, no qual se destaca o ocasionado pela exploração da

atividade agrícola, desrespeitando suas margens, bem como, sua vegetação ciliar. Outro fator agravante é a pesca predatória e a sobrepesca, que vem indiscriminadamente, diminuindo os nossos estoques pesqueiros, além de contribuir para a vulnerabilidade de algumas espécies do rio (QUEROL et al., 1997), e conseqüentemente acarreta a diminuição da renda familiar do profissional da pesca. Ciente desta situação faz-se necessário procurar novas alternativas para o cultivo destas espécies, em especial as ameaçadas, pois através do seu cultivo estar-se a contribuindo para a manutenção dos peixes na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul. Conforme Souza (2005), na década de 60 a produção pesqueira era de 60.000 toneladas. Atualmente a produção chega a 40.000 toneladas tendo alcançado 100.000 toneladas no início da década 70. A diminuição do pescado vem causando problemas na economia em diferentes regiões do nosso estado. Um dos principais responsáveis, sem sombra de dúvida é a pesca predatória, que contribui massivamente para a redução dos estoques pesqueiros do Rio Grande do Sul.

O trabalho faz parte de uma atividade mais ampla que visa colaborar para a diversificação da economia rural através da reprodução e engorda de peixes nativos da região da fronteira oeste, que além de proporcionar novas alternativas de fonte de renda, será capaz pelo efeito multiplicador dos investimentos realizados proporcionarem renda a toda a cadeia produtiva, utilizando de forma racional os recursos naturais da nossa região. Neste contexto implantou-se um programa de

desenvolvimento da piscicultura destinado a pescadores e pequenos produtores, investigando o aprendizado sobre a temática de forma a contribuir para a diminuição da exclusão social e melhoria de qualidade de vida na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O programa foi desenvolvido no período de janeiro de 2012 a setembro de 2013 abrangendo alguns municípios que fazem parte região do Pampa Brasileiro. Foram capacitadas 120 pessoas ao longo do período. As investigações sobre pesca e piscicultura foram realizadas no município de Uruguaiana, com a participação efetiva de produtores rurais e pescadores das cidades circunvizinhas ao município, Itaquí, São Borja e Barra do Quaraí. Nestes municípios a classe dos pescadores apresenta os mesmos problemas sociais, econômicos, ambientais dos demais municípios que sobrevivem da pesca e podem encontrar na piscicultura, uma nova alternativa de emprego e renda, além de continuar exercendo sua profissão.

Destaca-se neste escopo o período de defeso, onde a pesca é proibida, e neste período com a piscicultura, os pescadores podem ter uma nova fonte de renda. A equipe de professores e bolsistas do projeto proporcionou aos atores sociais envolvidos um acompanhamento de orientação ao longo do programa, com o intuito de promover um sistema de assistência técnica, diretamente aos pescadores de acordo

com a sua realidade. Juntamente com os envolvidos na execução do programa, ocorrem momentos de interações entre os pescadores e os acadêmicos bolsistas do programa possibilitando a troca de experiências, bem como o contato direto com os trabalhos desenvolvidos pela Universidade. Para execução do programa teve a disposição o setor de piscicultura, com seus vários laboratórios de reprodução, alevinagem, incubação, além de vários tanques que contemplam todas as fases de desenvolvimento dos peixes, desde a reprodução até a engorda, além do setor de produção também foi utilizado às dependências do Núcleo de Pesquisas Ictiológicas, Limnológicas e Aquicultura da Bacia do rio Uruguai (NUPILABRU) e auditórios da Unipampa.

Em cada etapa do programa os participantes receberam informações técnicas, material didático e acompanhamento em suas respectivas colônias e associações. Dentre o material disponibilizado foi fornecido dados de investigações com reprodução, alimentação, crescimento de espécies nativas do rio Uruguai, conforme Querol et al. (2003); Gomes et al.(2000); Paiva (1972) e Querol et al. (2013). As atividades de extensão e acompanhamento podem ser visualizadas conforme descrição a seguir.

Para capacitação dos pescadores e produtores rurais foram elaborados 12 cursos divididos em seis módulos; sete palestras de divulgação do programa e um seminário regional. As palestras foram realizadas de forma participativa com os atores sociais envolvidos na forma de mesa

redonda. O seminário foi realizado no final da execução dos módulos de capacitação com a finalidade de promover a integração entre pescadores, produtores rurais e a comunidade acadêmica através da troca de experiências, providas através do processo de ensino-aprendizagem, decorridas do programa de capacitação. SEMINÁRIO: A piscicultura como modelo de inclusão social na metade Sul do Rio Grande do Sul. Em cada evento, os participantes receberam informações técnicas, material didático. As palestras foram executadas, uma no início das atividades, com finalidade de divulgação e instrumentalização inicial e as outras, nos intervalos subsequentes a aplicação dos módulos, de forma a que os atores envolvidos possam estar aptos a uma reflexão do aprendizado.

Os 12 cursos foram divididos em 6 módulos que compreenderam as diferentes áreas de tecnificação em piscicultura. Os módulos abaixo listados foram realizados bimestralmente durante o período de execução do programa para capacitação técnica dos atores sociais envolvidos:

Módulo I: Licenciamento e Legislação aplicada à criação de peixes exóticos e nativos; Módulo II: Construção de tanques de cultivo adaptados a região do Pampa Brasileiro; Módulo III: Assepsia, Calagem e Adubação de Tanques de Piscicultura; Módulo IV: Doenças e Tratamento de peixes; Módulo V: Processamento e Qualidade do Pescado; Módulo VI: Manejo Alimentar e Nutrição de peixes. A metodologia de avaliação proposta no processo de ensino-aprendizagem foi caracterizada pela avaliação dos atores sociais ao

longo do processo de instrumentalização, sendo acompanhados por monitores durante as atividades teóricas e práticas. A linha pedagógica adotada baseou-se no construtivismo investigativo e no Arco de Magueréz, analisando a capacidade de resolução de problemas através do uso de ferramentas teóricas, científicas e tecnológicas conforme Bordenave e Pereira (1989). As etapas de avaliação também passaram por períodos temporais, sendo desenvolvidas entrevistas qualitativas ao longo dos módulos de capacitação, possibilitando a construção contínua do conhecimento. Para obtenção de dados da investigação foi aplicado um questionário sobre a temática desenvolvida em cada módulo antes da realização do mesmo e após a capacitação dos pescadores. Todo o questionário aplicado teve caráter impessoal buscando única e exclusivamente avaliar a eficácia da proposta e a metodologia desenvolvida, com a finalidade de aprimorar a proposta.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Ao aplicar o questionário inicialmente verificou-se que a maioria absoluta dos pescadores envolvidos no programa de capacitação não tinha um conhecimento qualificado sobre a maioria das áreas da Piscicultura (Quadro 1) Após a realização dos módulos de capacitação todos os pescadores demonstraram conhecimento e habilidades acima de 70% para o desenvolvimento da piscicultura (Quadro 1). Também foi possível verificar que muitas pessoas tinham um conhecimento empírico sobre cultivo e após a realização dos módulos passaram a

readequar seus conceitos para o desenvolvimento do processo pleno de ensino - aprendizagem da piscicultura.

Ao longo dos módulos de formação, percebemos o grande interesse dos pescadores, especialmente durante as partes práticas, as quais possibilitaram a ação-reflexão-ação a partir dos conhecimentos construídos teoricamente. Assim, os dados permitem sugerir a importância dos processos pedagógicos práticos, como estratégias facilitadoras durante o processo de formação, como preconizado por Bordenave & Pereira (1989), a partir do Arco de Maguerez.

**Quadro 1.** Avaliação do conhecimento inicial e adquirido dos pescadores após a participação nos módulos de capacitação de piscicultura. Apresentam Conhecimentos (AC); Não Apresentam Conhecimentos (NAC)

Módulos de Capacitação	Conhecimento Inicial (%)		Conhecimento Adquirido (%)	
	AC	NAC	AC	NAC
<b>Módulo I</b> - Licenciamento	52,54	47,46	81,07	18,93
<b>Módulo II</b> - Construção de tanques	52,54	47,46	81,07	18,93
<b>Módulo III</b> - Assepsia, Calagem e Adubação de Tanques	34,61	65,39	83,89	16,11
<b>Módulo IV</b> - Doenças e Tratamento de peixes	42,70	57,3	95,67	4,33
<b>Módulo V</b> - Processamento e Qualidade do Pescado	76,92	23,08	99,39	0,61
<b>Módulo VI</b> - Manejo Alimentar e Nutrição de peixes	52,00	48,00	74,00	36,00

## CONCLUSÃO

A partir das análises dos resultados foi possível verificar uma aprendizagem inicial, superior a 80% dos atores sociais, participantes da proposta, podendo-se concluir que os mesmos, após o processo de formação, demonstram a construção de conhecimentos teóricos e práticos que permitam o desenvolvimento de ações voltadas a produção e cultivo de peixes. Assim, o trabalho culminou no objetivo inicial da proposta, e permitiu a promoção da piscicultura como alternativa econômica para a Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul, como forma de agregar valor e renda às suas famílias, permitindo a inclusão social e a melhoria da qualidade de vida dos pescadores.

## REFERÊNCIAS

BORDENAVE, J. ; PEREIRA, A. **Estratégias de ensino aprendizagem**. 4. ed., 1989.

GOMES, L. C; et al. Biologia do Jundiá, *Rhamdia quelen* (TELEOSTEI, PIMELODIDAE). **Ciência Rural**, v.30, p. 170-185. 2000.

PAIVA, M. P. **Fisioecologia da traíra, *Hoplias malabaricus* (BLOCH), no nordeste brasileiro. Crescimento, resistência a salinidade, alimentação e reprodução**. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, USP, 140p. 1972.

QUEROL, E.; QUEROL, M. V. M.; LOBÓN-CERVIÁ, J. Estimativa da densidade e da biomassa de *Cichlasoma portalegrense* (HENSEL, 1870) (PISCES, CICHLIDAE) através do método de três capturas sucessivas com pesca elétrica em um arroio do Pampa brasileiro. **Comum. Mus. Ciên. Tecnol.** – PUCRS, Porto Alegre. v.10, p 13, dezembro 1997.

QUEROL, M. V. M. et al. **Reprodução natural e induzida de *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794) em tanques experimentais, na região de Uruguiana, Pampa**

**Brasileiro. Biodiversidade Pampeana – PUCRS – Campus Uruguaiana.** n.1, v.1, p. 46-57. 2003.

QUEROL, M. V. M. ; PESSANO, E. ; QUEROL, E. ; BRASIL, L. G. ; GRALHA, T. **Tecnologia de Reprodução de Peixes em Sistemas de Cultivo: Indução hormonal através do extrato hipofisário da Palometa.** 1. ed. , 2013.

SOUZA, M. A. Evolução da produção pesqueira e do crédito do SCNR e a sobrepesca no setor pesqueiro do RS. **Anais do III Simpósio de áreas protegidas.** Pelotas RS. 2005.

---

## **A TEMÁTICA ÁGUA ABORDADA ATRAVÉS DE SEQUÊNCIAS DE ENSINO-APRENDIZAGEM**

**Souza, T.G.S.<sup>(1)</sup>; Verçosa, C.J.<sup>(2)</sup>; Moura, D.B.<sup>(1)</sup>; Silva Filho, T. P.<sup>(1)</sup>; Almeida, W.M.<sup>(1)</sup>; Neves, R.F.<sup>(1)</sup>** talitagiselly@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Núcleo de Ciências Biológicas, Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Vitória de Santo Antão - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco – UPE, Recife – PE, Brasil.

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um ciclo de sequências de ensino-aprendizagem envolvendo alunos da Educação Básica, estimulando o consumo consciente da água e a valorização deste recurso para o ambiente. A água é um elemento primordial para a existência de toda forma de vida já conhecida. Representa conteúdo descrito como um tema transversal tratado de forma interdisciplinar nos Parâmetros Curriculares Nacionais. Neste cenário, a Educação Ambiental promove uma formação da consciência, através de informações estimulando a sensibilização das ações humanas ao ambiente e conseqüentemente, à participação das comunidades na conservação do equilíbrio ambiental. Foram desenvolvidas seis etapas como componentes das sequências de ensino-aprendizagem, abordando a temática água. Através de

elaboração de cartazes, teatro e outras produções culturais. Os alunos conseguiram construir uma base de conhecimentos sólidos sobre o tema, sendo capazes de argumentar de forma eficiente os diferentes conceitos relacionados ao tema. As ações desenvolvidas foram essenciais para a formação do senso crítico e principalmente à mudança de atitudes com relação ao consumo de água na escola e em seu cotidiano.

**Palavras-chave:** Intervenções Pedagógicas, Meio Ambiente, Recursos Hídricos.

## INTRODUÇÃO

A água por ser um dos principais componentes do conteúdo celular vivo e um dos responsáveis pelo equilíbrio térmico é fator limitante para a existência da própria vida no planeta. Os recursos hídricos em especial os ecossistemas de água doce são essenciais a nossa sobrevivência. Sua grande importância está no desenvolvimento de variadas atividades para fins econômicos como: agricultura, pecuária, indústria, mineração e abastecimento. A água pode e deve ser utilizada de forma múltipla, mas sempre respeitando seus limites e potencialidades para que possamos desenvolver uma sociedade ambientalmente equilibrada e sustentável (SCHILDT *et al.*, 2006).

O uso sustentável dos recursos hídricos é uma temática de valor estratégico em nível global e nesse cenário, o Brasil desenvolve esforços para a elaboração de apoio político-institucional e jurídico-legal à gestão dos recursos hídricos no país. Para Watanabe e Kawamura (2005) a contaminação de mananciais, as lacunas no saneamento básico, o uso inconsciente da água potável e a intervenção

humana tem contribuído potencialmente para a escassez desse recurso. O Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) prevê que 2,7 bilhões de pessoas amargarão a sua falta até 2025 (TEIXEIRA, 2007).

A água representa conteúdos interdisciplinares dentro dos temas transversais (BRASIL, 1998) e deve ser abordada em seu caráter social. Neste panorama, a Educação Ambiental é definida pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente como um processo de formação e informação orientada para o desenvolvimento da consciência crítica sobre as questões ambientais e de atividades que levem à participação das comunidades na preservação do equilíbrio ambiental. Assim, torna-se clara a importância da educação para auxiliar na tomada de consciência da responsabilidade e do direito de todos os cidadãos a um ambiente saudável, não só para o presente, mas também para as gerações futuras.

Nessa perspectiva, a aprendizagem de temas na Ciência e Biologia podem ter melhor desenvolvimento a partir da execução de Sequências de Ensino-Aprendizagem ou Sequências Didáticas, que segundo Dolz *et al.* (2004) representam um conjunto de atividades planejadas, de maneira sistematizada, em torno de determinado tema em estudo, através das quais se procura auxiliar os estudantes a explicitarem suas concepções sobre certos fenômenos ou conceitos, bem como favorecer sua evolução e ampliação aproximando-os dos conceitos científicos.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um ciclo de sequências de ensino- aprendizagem envolvendo alunos da Educação Básica, estimulando o consumo consciente da água e a valorização deste recurso para o ambiente.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Como procedimento metodológico na nossa pesquisa foi desenvolvido um ciclo de intervenções didáticas com alunos do Ensino Fundamental de escolas públicas na cidade de Vitória de Santo Antão, Pernambuco. O ciclo de atividades foi marcado por seis etapas, a partir da abordagem da temática água de forma bastante dinâmica e interativa.

Na primeira atividade, realizou-se uma sondagem discutindo com os estudantes sobre o desperdício de água na escola e em suas residências. Em seguida ministrou-se uma palestra que mostrou aos alunos os principais problemas que enfrentamos hoje decorrente do uso inconsciente dos recursos hídricos.

No segundo encontro duas dinâmicas foram desenvolvidas. A primeira dinâmica: *Painel integrado* – os alunos foram divididos em pequenos grupos. Cada equipe leu um texto e debateu entre o grupo e posteriormente, apresentaram o resultado do debate na forma de painel para o grande grupo. A segunda dinâmica: *Caçadores do desperdício* - os alunos foram levados para fazer um passeio na escola, afim de que os mesmos identificassem os problemas relacionados ao desperdício da

água. Logo depois, os estudantes foram levados para a sala de aula com a finalidade de discutirem as situações observadas, ficando com a missão de refletirem em casa as possíveis ações para amenizar os problemas identificados.

Na terceira etapa, realizou-se a discussão sobre o problema de desperdício de água na escola. Durante o decorrer dessa etapa, os alunos puderam expor suas ideias através da produção de cartazes com fotos e esquemas observados na visita. Os alunos se reuniram na sala de aula, cada um apresentou suas prováveis ações para tentar minimizar os problemas que foram identificados.

A etapa de número quatro foi marcada por uma apresentação cultural. Nesta fase, os estudantes desenvolveram uma história com temas relacionados ao uso consciente da água. A história foi transformada em uma breve peça de teatro de fantoches, os quais foram produzidos pelos próprios alunos durante uma oficina.

A penúltima etapa, estrategicamente foi marcada para o dia 22 de março “Dia Mundial da Água”. Neste dia, os alunos expuseram para toda comunidade escolar suas atividades desenvolvidas ao decorrer do projeto através de cartazes, apresentação de fantoches e demais produções.

Para fechar o ciclo de intervenções, foi realizada a fase da avaliação. A turma foi organizada em um grande círculo. Um aluno recebeu uma “gotinha de água” (confeccionada com isopor). Logo depois, foi

colocada uma música e os alunos passavam “a gotinha” de mão em mão. Ao parar da canção, o aluno que estivesse com a gotinha na mão ficava de pé e expressava para turma as suas concepções em relação ao desperdício de água e relatava a sua experiência nas atividades vivenciadas nessas sequências pedagógicas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os alunos além de identificarem os problemas relacionados ao desperdício de água encontrado na escola foram capazes de formular soluções para tais problemas, tendo assim argumentos para reivindicar da equipe gestora da escola melhores condições.

Durante a apresentação dos cartazes foi possível avaliar que os alunos ao falarem sobre o tema se incluíam como agentes transformadores da realidade atual, mostrando que adquiriram um pensamento crítico sobre a atual situação da água, não só em relação ao desperdício mais também a questão da sua poluição, pontuando a proporção existente entre a água doce potável e a água salgada (Figura 1).



**Figura 1.** Alunos apresentando o resultado de suas análises na forma de cartazes.

Durante a produção do teatro de fantoche abordou-se a temática água com ênfase na sua valorização indiscutível a vida e se observou a participação ativa dos alunos envolvidos (Figura 2). As atividades lúdicas despertam a criatividade, a motivação e o interesse por parte dos alunos e esse interesse é importante para a estrutura cognitiva construída pelo sujeito, coerente com a Epistemologia Genética defendida por Piaget (1975).



**Figura 2.** Apresentação do teatro de fantoches.

Para Kishimoto (1999) a dimensão educativa surge quando as situações lúdicas são intencionalmente criadas com vista a estimular certos tipos de aprendizagem. Acreditamos que as atividades desenvolvidas foram capazes de desenvolver não só a cognição, ou seja, a construção de representações mentais de afetividade, mas também as funções sensoriais e motoras, a área social. As relações entre os alunos e a percepção de valores, estimularam a construir o conhecimento de maneira mais divertida e integrada.

## **CONCLUSÃO**

Os alunos compreenderam de forma satisfatória a importância da água para os processos vitais, relacionando este recurso às diferentes formas de vida terrestre, e conseqüentemente, construíram uma base de conhecimentos sólidos sobre o tema, sendo capazes de argumentar de forma eficiente sobre os diferentes conceitos relacionados à problemática.

Pode-se observar uma mudança atitudinal nas concepções prévias dos alunos sobre a temática água e o seu gradual comprometimento na execução das atividades.

O ciclo de atividades abordado nesta intervenção vivenciada pelos alunos foi fundamental para a construção de seus conhecimentos e mudança de valores, acerca da sustentabilidade relacionada aos recursos hídricos.

As seqüências de ensino-aprendizagem foram essenciais para a formação do censo crítico e principalmente a mudança de atitudes com relação ao consumo de água na escola e no cotidiano dos alunos.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. **Parâmetros Curriculares Nacionais:** introdução aos parâmetros curriculares nacionais. Brasília: MEC/SEF, 1998.

DOLZ, J.; NOVERRAZ, M.; SCHNEUWL, B. **Seqüências didáticas para o oral e a escrita:** apresentação de um procedimento. In: SCHNEUWLY, B; DOLZ, J. Gêneros orais e escritos na escola. Campinas: Mercado de Letras, 2004.

KISHIMOTO, T. M. **Jogo, brinquedo, brincadeira e educação.** São Paulo: Cortez, 1999.

PIAGET, J. **L'équilibration des structures cognitives:** problême central du développement. Paris: P.U.F., 1975.

SCHMILDT, I. A.; CHISTÉ, G. O.; OLIVEIRA, R. C. L.; BORGES, C. N. P.; LOYOLL, D. N. Alunos do ensino fundamental e uso racional da água. In: XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. **Anais do XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**, Taubaté, p. 72-76, 2007.

TEIXEIRA, A.C. Educação ambiental: caminho para a sustentabilidade. **Revista brasileira de educação ambiental / Rede Brasileira de Educação Ambiental**, p. 23-31, 2007.

WATANABE, G.; KAWAMURA, M.R.D. Em busca de espaços curriculares para a questão da água. V Encontro Nacional de Pesquisa em Ensino de Ciências. **Atas do V Encontro Nacional de Pesquisa em Ensino de Ciências**, Bauru, p. 46-50, 2005.

# ABELHAS EUGLOSSINI EM FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA EM BURARAMA/ ES

Gava, M. <sup>(1)</sup>; Souza, L. <sup>(2)</sup> mayla.gava@gmail.com

<sup>(1)</sup>Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – ES, Brasil;

<sup>(2)</sup>Docente do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória – ES, Brasil.

## RESUMO

As abelhas Euglossini, conhecidas como “abelhas das orquídeas”, são importantes na polinização cruzada entre indivíduos de espécies botânicas dispersos em fragmentos distintos. O presente trabalho teve como objetivo analisar a abundância de abelhas coletadas pelos métodos de coleta ativo e passivo, e observar a preferência de iscas odores em dois fragmentos de Mata Atlântica, no município de Burarama, para subsidiar um projeto de monitoramento de Euglossini no sul do estado do Espírito Santo. Foram utilizados cinco tipos de essências (eucaliptol, eugenol, acetato de benzila, vanilina e baunilha) e as coletas foram realizadas de 9:00 às 13:00h, de fevereiro a setembro de 2013, e todas as abelhas foram preparadas no Laboratório de Zoologia do CCA- UFES. Foram coletados 444 indivíduos. O método ativo foi o mais eficiente e coletou 337 indivíduos, ou seja, 75,90% da amostra total; o método passivo coletou 107 indivíduos ou 24,10% da amostra. Não houve diferença na abundância de abelhas coletadas nos dois fragmentos (preservado n=215 e reflorestado n=229) devido à proximidade dos mesmos. Eucaliptol foi a essência mais eficiente na atração de Euglossini e pode ser utilizada para levantamento rápido da diversidade de abelhas nesta região.

**Palavras-chave:** Abelha Nativa, Eucaliptol, Polinização.

## INTRODUÇÃO

As maiores ameaças hoje à diversidade ecológica são a devastação e a fragmentação. A Floresta Atlântica brasileira possui grande parte da sua vegetação distribuída em “ilhas”, que por estarem distantes umas das

outras, são mais suscetíveis à extinção das espécies e está classificada como um dos 34 hotspot do mundo (TABARELLI; PINTO; LEAL, 2009).

As abelhas Euglossini ocorrem em todos os biomas brasileiros (NEVES; VIANA, 2003) e são importantes polinizadoras da flora nativa. Os machos dessas abelhas coletam elementos aromáticos produzidos em flores de Orchidaceae, Araceae, Gesneriaceae ou Solanaceae, entre outras fontes, e a utilização dessas substâncias coletadas pode ter alguma função em sua biologia reprodutiva (SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002).

Este comportamento permite que os machos possam ser atraídos por alguns terpenóides e hidrocarbonetos aromáticos sintetizados em laboratórios (MAIA; SILVA, 2008).

Peruquetti e colaboradores (1999) relataram o histórico dos compostos que passaram a ser conhecidos e utilizados em iscas, tanto em coletas utilizando método ativo quanto passivo (OLIVEIRA JR; ANJOS SILVA; OLIVEIRA, 2010).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo analisar a abundância de abelhas coletadas pelos métodos de coleta ativo e passivo, e observar a preferência de iscas odores em dois fragmentos de Mata Atlântica em Burarama, para subsidiar projeto de monitoramento de Euglossini no sul do estado do Espírito Santo.

## MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas no distrito de Burarama – Cachoeiro de Itapemirim – ES, em dois fragmentos de Mata Atlântica. Um fragmento denominado “Sítio Poço do Pedro” com oito hectares ( $20^{\circ}40'52.06''S$ ,  $41^{\circ}20'40.60''W$ ), 127 m de altitude, e em processo de reflorestamento desde 1991.



**Figura 1.** Localização das duas áreas de coleta no distrito de Burarama – Cachoeiro de Itapemirim (ES). Fonte: Google Earth acessado em 15/03/13.

O outro fragmento denominado “Sítio Ribeirão Floresta” com trinta e seis hectares ( $20^{\circ}41'02.72''S$ ,  $41^{\circ}20'33.92''W$ ), 133 m de altitude, caracterizado como um local. Os dois pontos de coleta, estão distantes 370 metros aproximadamente um do outro, separados por um plantio de café (Figura 1).

As coletas de abelhas Euglossini foram realizadas mensalmente no período de fevereiro de 2013 a setembro de 2013, nos dois fragmentos, por quatro horas consecutivas, de 09:00 às 13:00 horas. Foram

utilizadas cinco substâncias odoríferas: eucaliptol, eugenol, acetato de benzila, vanilina e essência de baunilha. Os horários de coleta e as substâncias foram indicados em diversos trabalhos como sendo os mais atrativos para esta guilda de abelhas (REBÊLO; GARÓFALO, 1997; FREITAS, 2009; DIAS, 2010).

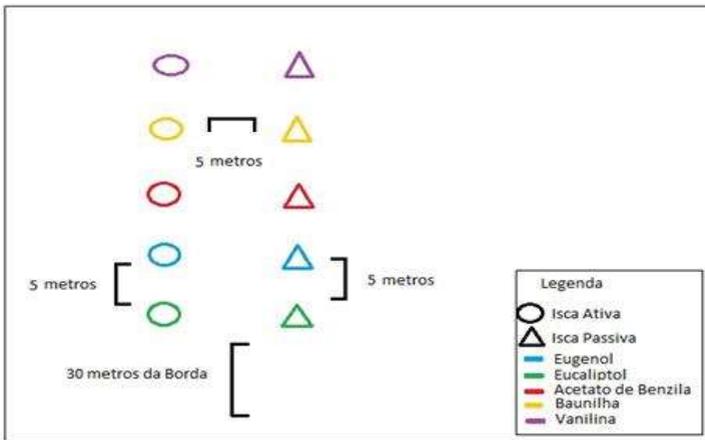
Foram utilizados dois métodos para a coleta, um ativo e outro passivo. O método ativo consistiu em uma isca produzida a partir de um chumaço de algodão, conforme método utilizado por Neves e Viana (1999) (Figura 2A), e as abelhas atraídas pela essência foram capturadas com auxílio de rede entomológica.

As iscas passivas foram confeccionadas com garrafa pet de 2 litros contendo dois orifícios laterais onde foram encaixados os gargalos de garrafa pet cortado em forma de funil (Figura 2B) que serviram como local de pouso para a abelha antes de entrar na armadilha. Um chumaço de algodão foi introduzido dentro de cada garrafa e amarrado com barbante a uma altura abaixo dos orifícios, conforme método utilizado por Bezerra e Martins (2001). Todas as iscas, ativa ou passiva, foram fixadas nas ramagens das árvores a 1,5 m do solo.



**Figura 2.** (A) Isca ativa feita de um chumaço de algodão presa em um ramo de árvore com abelhas visitando a isca. (B) Isca passiva confeccionada com garrafa pet e presa em um ramo de árvore. Fotos: Marcela Gava, 2013.

O conjunto de iscas-odores foi distribuído a 30 metros da borda da mata, e as iscas passivas e ativas foram dispostas a 5 metros uma das outras, cada uma com sua substância odorífera determinada (Figura 3), recarregadas de hora em hora.



**Figura 3.** Esquema demonstrando a disposição das iscas ativas e passivas nas áreas de coleta.

Tanto no método ativo quanto no método passivo as abelhas coletadas foram capturadas

em frascos contendo acetato de etila e, posteriormente, transferidas para frascos identificados por período de coleta (de 9:00 às 11:00 horas ou de 11:00 às 13:00 horas), fragmento amostrado e essência utilizada. As abelhas foram transportadas ao Laboratório de Zoologia do Centro de Ciências Agrárias da UFES, preparadas para a identificação, onde cada indivíduo recebeu uma etiqueta do local de captura e isca utilizada.

Nos dias de coletas foram realizadas as medições de temperatura e umidade do local, uma no início da coleta e outra ao final, e os dados de temperatura média, umidade relativa e pluviometria do período amostral foram obtidos junto ao INCAPER (2013).

Os resultados obtidos foram tabulados e analisados graficamente com auxílio do programa Excel.

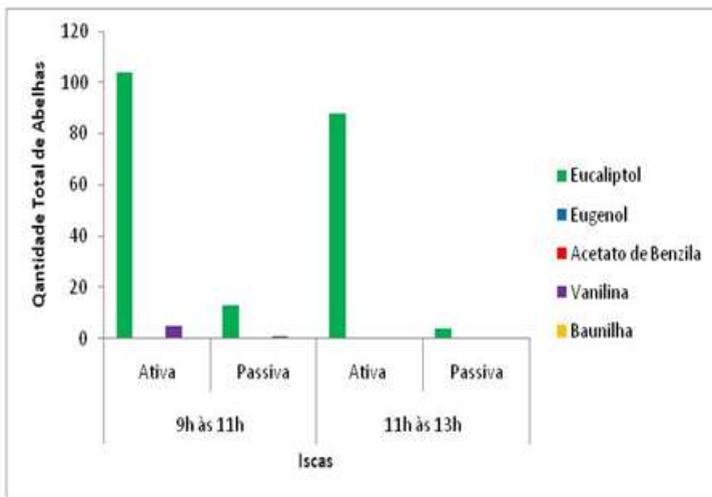
## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Foram capturados 444 exemplares de Euglossini de fevereiro a setembro de 2013, sendo 215 coletados na área preservada e 229 coletados na área reflorestada. A essência eucaliptol foi a que atraiu o maior número de indivíduos ( $n=431$ ) seguido por vanilina ( $n=13$ ), e o restante das iscas odores que não atraíram nenhuma abelha.

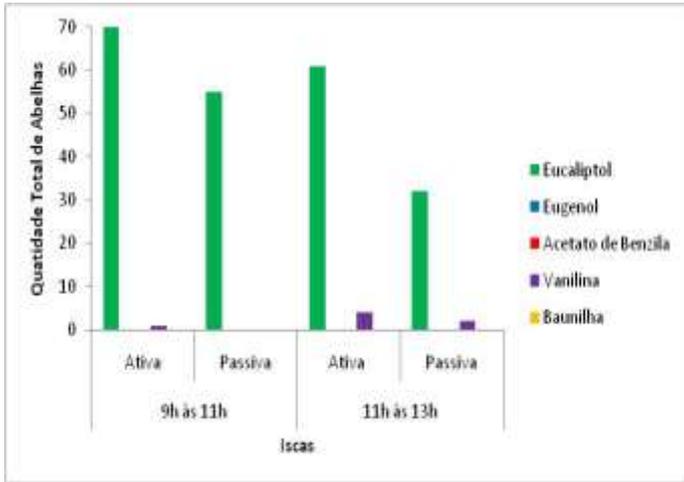
A maioria dos exemplares ( $n=337$ ; 75,90%) foram coletados pelo método ativo, sendo 197 indivíduos coletados na área preservada (Figura 4) e 140 coletados na área reflorestada (Figura 5). O método passivo coletou um total de 107 exemplares (24,10%), sendo 18 indivíduos coletados na área preservada (Figura 4) e 89 indivíduos na

área reflorestada (Figura 5). O método de coleta ativa também foi o que apresentou melhores resultados em estudos conduzidos por Oliveira Jr; Anjos Silva e Oliveira (2010) no qual coletaram 84% da amostra utilizando o método de isca ativa.

No estudo feito por Nemésio e Morato (2006) com a fauna de Euglossini no Acre, os autores utilizaram os dois tipos de métodos (passivo e ativo), e afirmaram que se tivessem optado pelo uso apenas da isca passiva, a relação obtida da abundancia e riqueza das abelhas da região, representariam cerca de 20% do que realmente ocorreu. Desta forma o uso dos dois métodos é complementar tornando o estudo mais eficaz (OLIVEIRA JR; ANJOS SILVA; OLIVEIRA, 2010).

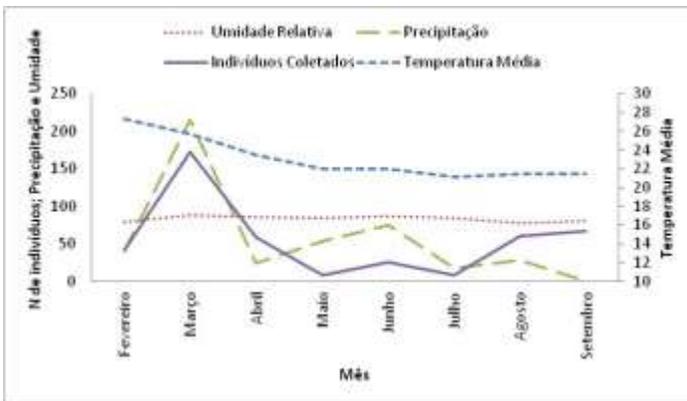


**Figura 4.** Número de abelhas capturadas na área preservada em Burarama (ES) de acordo com o horário de coleta, o método de coleta e essência utilizada.



**Figura 5.** Número de abelhas capturadas na área reflorestada em Burarama (ES) de acordo com o horário de coleta, o método de coleta e essência utilizada.

A temperatura média mensal, assim como a umidade média e a precipitação apresentaram variações ao longo do período amostrado, e o número de indivíduos coletados apresentou correspondência com a média da precipitação mensal, aumentando proporcionalmente (Figura 6).



**Figura 6.** Temperatura média, umidade relativa, precipitação média e o número de indivíduos de *Euglossini* coletados nos meses amostrados na região de Burarama -ES.

A variação na abundância de abelhas devido à sazonalidade foi observada por Cardoso Jr (2010) na Serra da Forquilha-MG, e por Dias (2010) em fragmentos da Floresta Ombrófila Mista-PR. Braga (1976 apud Oliveira 2011) observou que as variações de temperatura, umidade e exposição à luz solar influenciaram diretamente na atividade das *Euglossini*. Esses fatos podem explicar a maior ocorrência de abelhas nos meses em que a temperatura estava acima de 22°C e com precipitação elevada, nos fragmentos amostrados de Burarama (ES).

Das cinco essências utilizadas nesse estudo a de eucaliptol foi a responsável pela atração da maior quantidade de *Euglossini*, tanto no Sítio Ribeirão Floresta (área preservada; n=209) quanto no Sítio Poço do Pedro (área reflorestada; n=222), corroborando o que foi encontrado em diferentes estudos (NEVES; VIANA, 1999; BEZERRA; MARTINS, 2001; DIAS, 2010; FREITAS, 2009; CARDOSO Jr., 2010).

As demais essências utilizadas - acetato de benzila, baunilha e eugenol - não atraíram nenhuma *Euglossini*, exceto vanilina que atraiu poucos indivíduos (n=13), conforme observado também por Braga (2000).

Não houve diferença no número total de indivíduos coletados no fragmento preservado (n=215) e no reflorestado (n=229), mas vários estudos têm sido realizados sobre o efeito da fragmentação da área sobre a diversidade de *Euglossini* (RAMALHO; GAGLIANONE;

OLIVEIRA, 2009). Sofia e Suzuki (2004) realizaram coletas em três fragmentos florestais de tamanhos diferentes, e observaram que os números de indivíduos coletados nas duas localidades menores não diferiram na frequência, porém apresentaram uma fauna menos abundante; atribuíram esse resultado à capacidade de dispersão das abelhas. Cardoso Jr. (2010) observou deslocamento de até 2,3 km em fragmentos de Minas Gerais e inferiu que fragmentos pequenos estão conectados funcionalmente através da dispersão de abelhas Euglossini. Esses resultados corroboram com o encontrado no presente estudo no qual foram coletadas 229 abelhas na área reflorestada com apenas oito hectares e 215 abelhas na área preservada com trinta e seis hectares, com distância aproximada entre as áreas de 370m.

## **CONCLUSÃO**

Foram coletadas 444 abelhas Euglossini no período amostrado de 8 meses (fevereiro a setembro de 2013) em Burarama (ES).

O método ativo foi o mais eficiente, pois capturou 337 indivíduos, correspondendo a, 75,90% da amostra total; e o método passivo capturou 107 indivíduos, correspondendo a 24,10% da amostra.

A essência eucaliptol foi a isca mais eficiente na atração de Euglossini na região de Burarama/ES e pode ser utilizada para levantamento rápido da diversidade de abelhas nesta região.

Não houve diferença na abundância de abelhas coletadas nos dois fragmentos (preservado n=215 e florestada n=229), e tal fato foi atribuído a proximidade dos mesmos.

## REFERÊNCIAS

BEZERRA, C.P.; MARTINS, C.F. Diversidade de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em dois fragmentos de Mata Atlântica localizados na região urbana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 3, p. 823-835, 2001.

BRAGA, A. K. A comunidade de Euglossini da Estação Ecológica de Paulo de Faria, Paulo de Faria, SP, e comportamento de coleta de fragrâncias pelos machos de *Euglossa towsendi* Cockerel (Hymenoptera: Apidae: Euglossini). 2000. 90f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2000.

CARDOSO JR., C. S. **Estudo da Fauna de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) em Paisagem Fragmentada na Serra da Forquilha, Jacutinga, Região sul de Minas Gerais: Diversidade de espécies e uso de habitats.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas - Universidade Estadual Paulista, 2010.

DIAS, F. V. **Ocorrência de Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em um fragmento da Floresta Ombrófila Mista do Centro Sul do Paraná, Brasil.** 2010, 50f. Dissertação. (Mestrado em Biologia Evolutiva) Pós-graduação em Ciências Biológicas na Universidade Estadual do Centro Oeste.

FREITAS, R.F. **Diversidade e sazonalidade de abelhas Euglossini Latreille (Hymenoptera: Apidae) em fitofisionomias do bioma Cerrado em Uberlândia, MG.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais – Universidade Federal de Uberlândia, 2009.

MAIA, S. F. T.; SILVA, S. J. R. Análise faunística de abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em ambientes de floresta nativa e plantios de *Acacia mangium* no Estado de Roraima, **Revista Agro@mbiente On-line**. v. 2, n. 2, p. 42-50, 2008.

NEMÉSIO, A.; MORATO, E. F. The orchid-bee fauna (Hymenoptera: Apidae) of Acre state (northwestern Brazil) and a re-evaluation of euglossine bait-trapping. *Lundiana*, v. 7, p. 59-64, 2006.

NEVES, E. L.; VIANA, B. **Comunidade de machos de Euglossine (Hymenoptera Apidae) das matas ciliares da margem esquerda do médio rio São Francisco, Bahia.** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.28, n. 2, p: 201-210, 1999.

NEVES, E.L.; VIANA, B.F. 2003. A fauna de abelhas da subtribo Euglossine (Hymenoptera, Apidae) do Estado da Bahia, Brasil. Pp.223-229 In G.A. Melo & I. Alves-dos-Santos (Eds). **Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure.** Ed. UNESCO, Criciúma.

OLIVEIRA, B. G. A.; **Avaliação de diversidade de abelhas silvestres Euglossini (Hymenoptera, Apoidea) na região do Delta do Paraíba, Brasil e a percepção da importância das abelhas pela população local.** Dissertação. (Mestrado em Desenvolvimento e meio Ambiente) Pós-graduação em desenvolvimento e Meio Ambiente na Universidade Federal do Piauí, 2011, 86f.

OLIVEIRA JR, J. M. B.; ANJOS SILVA, E. J.; OLIVEIRA, E. L. 2010. **Eficiência de métodos de coleta e horário de atividade de abelhas Euglossini (Hymenoptera: Apidae) em uma área de transição Cerrado-Floresta Amazônica, Mato Grosso.** Disponível em : <  
[http://www.unemat.br/\\_2011/Relatorios\\_Individuais\\_2011/Jose\\_Max\\_Barbosa\\_Metodo\\_de\\_coleta\\_e\\_atividade\\_de\\_Euglossini.pdf](http://www.unemat.br/_2011/Relatorios_Individuais_2011/Jose_Max_Barbosa_Metodo_de_coleta_e_atividade_de_Euglossini.pdf)> Acesso em 11 de mar de 2013.

RAMALHO, A. V.; GAGLIANONE, M. C.; OLIVEIRA, M. L. Comunidades de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em fragmentos de Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, n.1, p. 95-101, 2009.

REBÊLO, J.M.M.; GARÓFALO, C.A. Comunidades de Machos de Euglossine (Hymenoptera: Apidae) em Matas Semidecíduas do Nordeste do estado de São Paulo. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 243 – 255, 1997.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R ; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras: sistemática e identificação.** Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 2002. 253p.

SOFIA, S. H.; SUZUKI, K. M. Comunidades de machos de abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apyidae) em fragmentos florestais no Sul do Brasil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 693-702, 2004.

## **ABORDAGEM DIDÁTICA SOBRE BIOINDICADORES EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS**

**Souza, T.G.S.** <sup>(1)</sup>; **Verçosa, C.J.** <sup>(2)</sup>; **Souza, C.M.** <sup>(1)</sup>; **Moura, D.F.** <sup>(1)</sup>; **Silva Filho, T. P.** <sup>(1)</sup>; **Neves, R.F.** <sup>(1)</sup> talitagiselly@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Núcleo de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Centro Acadêmico de Vitória, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco – UPE, Recife – PE, Brasil.

### **RESUMO**

O crescimento acelerado das cidades nas últimas décadas tem alterado fortemente os ecossistemas aquáticos, tornando-se indispensável o monitoramento biológico nesses ambientes. Esse monitoramento é realizado por meio de bioindicadores, como alguns animais, os quais fornecem dados concretos sobre a qualidade de água. Tomando por base que os recursos naturais são finitos, é necessária uma proposta de uma Educação Ambiental que instrua o indivíduo a conservar os recursos naturais, utilizando com consciência. Foi objetivo deste trabalho, desenvolver uma sequência de ensino- aprendizagem sobre a importância de animais que atuam como bioindicadores no monitoramento dos ecossistemas aquáticos, com estudantes da Educação Básica. O processo intervencionista foi realizado por meio de sequências didáticas, elencada por debates, vídeos, dinâmicas e produção de recursos audiovisuais. Foram realizadas discussões antes e depois do desenvolvimento das sequências didáticas, os relatos foram gravados. Assim, tornou-se possível fazer uma comparação, analisando a eficiência das intervenções realizadas, avaliando as mudanças de posturas dos estudantes acerca do tema abordado. A proposta permitiu que os alunos desenvolvessem competências sobre o uso consciente dos recursos naturais, estimulando o

pensamento crítico, as mudanças na sua postura como cidadão em relação ao meio ambiente e o equilíbrio dos ecossistemas.

**Palavras-chave:** Água, Educação Ambiental, Sequências Pedagógicas.

## INTRODUÇÃO

O crescimento acelerado das cidades e a falta de senso crítico têm propagado o desequilíbrio sobre melhor maneira do uso dos recursos naturais, em que rios, córregos, lagos e até mesmo reservatórios sofrem grandes impactos por esse aumento desordenado de atividades humanas (McALLISTER et al., 1997). Atualmente, é difícil encontrar um ecossistema que não tenha sofrido influências antrópicas, cujo resultado representa uma queda acentuada da biodiversidade aquática, uma desestruturação do ambiente físico, químico e alterações na dinâmica e estrutura das comunidades biológicas (CALLISTO et al., 2001).

Um ambiente extremamente rico em biodiversidade, mas que tem sofrido com essas alterações humanas são os recursos hídricos. Segundo documento da Organização das Nações Unidas (ONU), Agenda 21 (CNUMAD, 1992, p.333), “a utilização da água deve ter como prioridades a satisfação das necessidades básicas e a preservação dos ecossistemas”. Assim, evitar a contaminação de fontes de água potável é extremamente indispensável para que ocorra uma saúde pública de qualidade, conseqüentemente, uma diminuição nos gastos com os tratamentos de doenças causadas pela poluição e diminuição dos gastos para tratamento de águas. Contudo, o que se tem observado é um forte

crescimento das fontes poluidoras, em especial o lançamento de esgotos e efluentes industriais nos leitos dos rios.

A avaliação dos impactos ambientais em ecossistemas aquáticos tem sido desenvolvida através de medições nas concentrações físico-químicas da água. Essa forma de monitoramento traz algumas vantagens, porém, a amostragem das variáveis físicas e químicas fornece somente uma fotografia momentânea do que pode ser uma situação altamente dinâmica (WHITFIELD, 2001). Ainda que as medidas físicas e químicas de coluna d'água retratem o "status" de um ecossistema, o ideal é a associação desses métodos com métodos biológicos, permitindo uma caracterização mais completa, muitas vezes necessária para o manejo adequado dos recursos hídricos existentes (POMPEU et al., 2004).

A Agência de Controle Ambiental dos Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency – USEPA) e a Diretriz da União Européia (94C 222/06, 10 de agosto de 1994) recomendam a utilização de bioindicadores como complemento às informações sobre a qualidade das águas (USEPA, 1996).

O Monitoramento Biológico é realizado principalmente através da aplicação de diferentes protocolos de avaliação, índices biológicos e multimétricos, tendo como base a utilização de bioindicadores de qualidade de água e habitat. Os principais métodos envolvidos abrangem o levantamento e avaliação de modificações na riqueza de espécies e índices de diversidade; abundância de organismos

resistentes; perda de espécies sensíveis; medidas de produtividade primária e secundária; entre outros (BARBOUR et al., 1999). A presença, quantidade e distribuição dos bioindicadores indicam a magnitude de impactos ambientais em um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem (CALLISTO et al., 2001).

Considerando os recursos naturais como finitos e insuficientes para suprir as crescentes demandas da sociedade, e que o ecossistema aquático vem sendo cada vez mais degradado devido às ações antrópicas nesses recursos naturais. O desenvolvimento de ações num estímulo a prática de Educação Ambiental corroboram para minimizar os problemas causados ao ambiente, sendo prática bastante difundida nas escolas públicas.

As ações intervencionistas no viés da Educação Ambiental estimulam o processo de formação e informação dos estudantes, orientando-os para o desenvolvimento de uma consciência crítica sobre questões ambientais. As atividades impulsionam a mudanças de posturas e participação das comunidades, na conservação e no equilíbrio ambiental.

Oportunizar para sala de aula temas da contemporaneidade sobre assuntos relacionados ao Meio Ambiente possibilita aos estudantes confrontos de ideias e posicionamento sobre seu papel como cidadão. O tema bioindicadores pode ser uma temática relevante nessa perspectiva e por ser pouco abordada na escola acaba por instituir curiosidade, fato que nos instiga a pesquisa sobre o referido tema.

Para tanto, a utilização de sequências de ensino-aprendizagem ou sequências didáticas no ensino de Ciências e Biologia pode contribuir com maior efetividade nas práticas educacionais. Essas intervenções educativas visam o ensino e a aprendizagem de tópicos específicos (PIETROCOLA, 2000). As sequências didáticas têm sido estruturadas há mais de duas décadas, mas atualmente há um crescente interesse pela comunidade de educação em ciências, uma vez que consistem em estratégias que possibilitam a união entre a pesquisa e a prática, com o objetivo de ajudar os estudantes a compreender o conhecimento científico (MEHEUT & PSILLOS, 2004).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma sequência didática com estudantes da Educação Básica sobre a importância de animais bioindicadores no monitoramento dos ecossistemas aquáticos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os procedimentos metodológicos desenvolvidos neste trabalho foram realizados em escolas públicas da rede estadual de ensino, no município de Vitória de Santo Antão-PE, tendo como público-alvo alunos da Educação Básica (Ensino Fundamental e Ensino Médio).

A *priori* promoveu-se um debate em sala de aula, o qual foi conduzido por meio de questões pré-elaboradas acerca dos temas: atividades antrópicas sobre os recursos naturais, poluição dos ecossistemas aquáticos, equilíbrio ambiental e bioindicadores. Por meio de aulas

teórico-expositivas possibilitou aos estudantes expor seus conhecimentos prévios oralmente. Essa técnica está baseada na Teoria da Aprendizagem Significativa de David Ausubel, pela qual estabelece como princípio base que o fator mais importante do indivíduo é aquilo que ele já sabe, oriundo do seu conhecimento prévio (AUSUBEL et al., 1980). As opiniões relatadas pelos alunos durante o debate foram registradas em forma de gravações, para posterior análise.

Em seguida, realizou-se uma intervenção, focando os conceitos e a importância do monitoramento do ecossistema aquático com animais bioindicadores. Nesse momento realizou-se uma aula expositiva com recursos áudio-visuais, para melhor compreensão sobre a ação desses bioindicadores no ambiente; produção de cartazes autoexplicativos para serem distribuídos na escola e difundir o conhecimento para outros estudantes. Por fim, foi realizada uma dinâmica com os alunos, a fim de consolidar ainda mais os conhecimentos abordados em sala.

Na sequência, após o cumprimento das atividades desempenhadas com os alunos foi realizada uma nova discussão, na qual se tomou como base as mesmas questões abordadas no primeiro debate feito com a turma. Assim, tornou-se possível fazer uma comparação entre os relatos gravados antes e depois das intervenções realizadas, avaliando as mudanças de posturas dos estudantes acerca do tema abordado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar que no primeiro encontro, os alunos apresentaram conflitos conceituais e carência de informações quando, por exemplo, questionados sobre os assuntos acerca das funções, importâncias e exemplos de animais bioindicadores. Assim, os discentes mostraram-se totalmente inseguros para participar do debate feito no início.

Após a intervenção didática, os alunos se mostravam bastantes interessados, participativos e questionadores. Os discentes compreenderam de forma satisfatória e eficaz a importância dos bioindicadores no monitoramento de ecossistemas aquáticos (Figura 1).



**Figura 1.** Primeiras etapas da sequência didática (avaliação de sondagem e trabalho de discussão em equipe).

Em outro momento, os estudantes foram instigados a refletir sobre a postura cidadã com relação à conservação dos recursos naturais através de mostras audiovisuais. A exibição dos vídeos permitiu maior interesse e participação dos alunos. A linguagem através de imagens e áudios é mais facilmente assimilada e estimula melhor a aprendizagem (MAYER, 2009), (Figura 2). Segundo Moran (2001) o recurso audiovisual pode promover uma aprendizagem eficiente e a utilização

desta ferramenta para introdução de novos conteúdos, despertam a curiosidade e a motivação para novos temas.



**Figura 2.** Exibição de vídeos mostrando como os animais bioindicadores atuam no monitoramento dos ecossistemas aquáticos.

Na produção dos cartazes, os alunos puderam consolidar ainda mais seus conhecimentos e expor suas opiniões para outros discentes, difundindo o conhecimento construído em sala (Figura 3).



**Figura 3.** Alunos produzindo e realizando a apresentação dos cartazes.

Essa dinâmica da construção coletiva de cartazes propiciou melhor percepção pelos alunos, quanto à aplicação de animais no monitoramento do ecossistema aquático. Também, enfatizou a

importância de se trabalhar em grupo, principalmente quando se trata de atividades que visem o desenvolvimento da consciência crítica sobre as questões ambientais e de atividades que levem à participação das comunidades na conservação do equilíbrio ambiental.

Por fim, houve um debate final para confronto das ideias prévias com as informações adquiridas durante o processo de intervenção. Nesse caso, ficou evidente a diferença comportamental dos estudantes, visto que estes se mostraram mais participativos e confiantes para expor suas opiniões.

## **CONCLUSÃO**

A Educação Ambiental é uma ferramenta fundamental para promover maior sensibilização dos alunos sobre problemas ecológicos, difundindo a influência do homem no equilíbrio ambiental e possibilitando numa mudança atitudinal do indivíduo.

As sequências de ensino-aprendizagem proporcionou aos alunos uma construção de conhecimentos direcionados a importância e a valorização dos animais para o monitoramento e equilíbrio no ambiente aquático.

Os alunos conseguiram desenvolver competências acerca do tema, além do senso crítico e reflexivo. Apresentaram respostas mais elaboradas voltadas à ação dos animais bioindicadores nos ambientes aquáticos, no que tange a sua importância no ecossistema.

## REFERÊNCIAS

AUSUBEL, D. P.; NOVAK, J. D.; HANESIA, H. **Psicologia educacional**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1980.

BARBOUR, M.T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B.D.; STRIBLING, J.B. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. U.S. **Environmental Protection Agency/ Office of Water**, 1999.

CALLISTO, M.; MORETTI, M.; GOULART, M. D. C. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, p. 71-82, 2001.

MAYER, R. E. **Multimedia learning**. 2. Ed. New York: Cambridge University Press. 2009.

McALLISTER, D. E.; HAMILTON, A. L.; HARVEY, B. Global freshwater biodiversity: striving for the integrity of freshwater ecosystems. **Sea Wind**, v. 11, p.1-142, 1997.

MEHEUT, M.; PSILLOS, D. Teaching-learning sequences: aims and tools for science education research. **International Journal of Science Education**. v.26, n.5, p.515-535, 2004.

MORAN, J. M. Como Ver Televisão: uso da imagem. **Revista Brasileira de Informática na Educação**. v. 8, 2001.

POMPEU, P. P.; ALVES, M. C. B.; CALLISTO, M. The effects of urbanization on biodiversity and water quality in the Rio das Velhas basin, Brazil. **American Fisheries Society**, 2004.

USEPA. US Environmental Protection Agency. Proposed guidelines for ecological risk assessment: Notice. FRL-5605-9. Federal Register, 61, 47552-47631, 1996.

WHITFIELD, J. Vital signs. **Nature**, v. 411, p. 989-990, 2001.

---

# ABUNDÂNCIA RELATIVA DE *Auchenipterus nuchalis* DO RESERVATÓRIO COARACY NUNES

Vasconcelos, H. C. G.<sup>(1)</sup>; Sá-Oliveira, J. C.<sup>(1)</sup>; Souza, N. S.<sup>(1)</sup>; Barros, I. F. A.<sup>(1)</sup>

huannvasconcelos@unifap.br

<sup>(1)</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Ictiologia e Limnologia, Universidade Federal do Amapá, Macapá – AP, Brasil.

## RESUMO

A espécie *Auchenipterus nuchalis* é um Siluriforme com distribuição para o rio Araguari, onde está Usina Hidrelétrica (UHE) Coaracy Nunes. Estudar a abundância de uma espécie no ambiente contribui para esclarecer questões relacionadas à sua ecologia. O objetivo deste estudo foi determinar a abundância relativa de *A. nuchalis* no reservatório da UHE Coaracy Nunes. Foram utilizadas redes de espera de 20, 30, 40, 50 e 60mm entre nós, organizadas em baterias com 100 metros de comprimento, permanecendo na água por 24 horas. Ao todo, foram amostrados 206 exemplares (83 machos e 123 fêmeas) de *A. nuchalis* entre Junho/2012 a Junho/2013. Considerando a captura por unidade de esforço (CPUE), constatou-se que *A. nuchalis* foi mais abundante nos meses de Outubro/2012 (0.994) e Fevereiro/2013 (1.518). Os resultados obtidos evidenciam que a abundância maior de *A. nuchalis* no período mais seco pode ter sido favorecida pela contração do ambiente aquático, com conseqüente diminuição de áreas de refúgio, e a maior concentração de espécies.

**Palavras-chave:** Siluriformes, reservatório, concentração de espécies.

## INTRODUÇÃO

A pesca é uma atividade importante na Amazônia, pois se constitui em fonte de alimento, comércio, renda e lazer para grande parte da população (SANTOS; SANTOS, 2005). Sendo assim, considerando que este recurso não é inesgotável, principalmente pelo aumento da pressão de captura, torna-se importante conhecê-lo e estimular o

desenvolvimento de programas de cultivo (ASSIS; BRAZ; SANTOS, 2010; CAMPECHE et al., 2011).

Os reservatórios artificiais de água foram construídos com o objetivo de suprir necessidades relacionadas, principalmente, ao abastecimento de água potável e geração de energia (STRASKRABA; TUNDISI, 2000). A construção de reservatórios afetada significativamente a fauna de peixes, pois fragmenta ambientes aquáticos, interrompendo o fluxo gênico, ocasionando a perda de variabilidade gênica e redução da capacidade adaptativa ao novo ambiente (KUBECKA, 1993; STRASKRABA; TUNDISI, 2000).

O mapará, *Auchenipterus nuchalis*, peixe pertencente à ordem Siluriformes, família Auchenipteridae, é uma espécie de baixo valor econômico na região amazônica. Tem pequeno porte e pode chegar até 20 cm de comprimento. É uma espécie carnívora, que se alimenta basicamente de insetos e microcrustáceos. A desova ocorre no início da enchente, com fecundidade média de 15 mil ovócitos por postura. Esta espécie tem ampla distribuição na bacia amazônica (REIS; KULLANDER; FERRARIS-JR, 2003; SANTOS; FERREIRA; ZUANON, 2006).

A captura por unidade de esforço (CPUE) é um índice que permite uma avaliação quantitativa da ictiofauna através de sua biomassa (GULLAND, 1969). Se utilizada de forma padronizada, a CPUE pode ser importante nas análises de estoques pesqueiros.

O presente trabalho teve por objetivo determinar a abundância relativa, através da CPUE, de *A. nuchalis* no Reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, município de Ferreira Gomes, estado do Amapá.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Durante o período de Junho de 2012 a Junho de 2013 foram coletados exemplares de *A. nuchalis* Spix; Agassiz, 1829, através de quatro pescas experimentais, em seis pontos distintos (ponto 1: 0°56'40.15"N / 51°14'55.51"O; ponto 2: 0°56'27.82"N / 51°15'06.62"O; ponto 3: 0°56'17.51"N / 51°15'25.83"O; ponto 4: 0°55'11.65"N / 51°16'28.20"O; ponto 5: 0°55'08.02"N / 51°16'06.33"O e ponto 6: 0°54'49.06"N / 51°16'21.38"O), realizadas no Reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, localizado no município de Ferreira Gomes, Amapá. Para cada ponto amostral, foram utilizadas redes de espera simples (20, 30, 40, 50 e 60 mm entre nós opostos), organizadas em baterias totalizando 100 metros de comprimento. As baterias permaneceram na água por 24 horas, sendo revisadas a cada 4 horas.

Os peixes foram numerados, fixados com solução de formalina 10%, transportados para o Laboratório de Ictiologia e Limnologia - UNIFAP e depois conservados em álcool 70%. De cada exemplar, antes da fixação, foram mensurados comprimento total (cm) e peso total (g).

A abundância relativa de *A. nuchalis* no reservatório da UHE Coaracy Nunes foi estabelecida através da CPUE, obtida pela razão entre as capturas (em peso) e o esforço de pesca ( $4320^2/24h$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período estudado, foram capturados 206 exemplares da espécie *A. nuchalis*, sendo 83 machos (40.3%) e 123 fêmeas (59.7%). O peso total para os machos variou entre 14 e 38g (média=22.5 ± 3.9g). Para as fêmeas, o peso total variou entre 12 e 38 g (média=24.6 ± 5.7 g).

Considerando a CPUE, a maior abundância foi registrada no mês de Fevereiro/2013, seguido pelos meses de Outubro/2012, Junho/2012 e Junho/2013, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Captura por unidade de esforço de *A. nuchalis* do reservatório da UHE Coaracy Nunes, Ferreira Gomes, Amapá.

<b>Meses</b>	<b>CPUE (biomassa)</b>
Junho/2012	0.148
Outubro/2012	0.994
Fevereiro/2013	1.518
Junho/2013	0.058

As comunidades de peixes, em regiões tropicais, são influenciadas pelas mudanças estacionais, devido à expansão ou contração do ambiente aquático. Este regime afeta principalmente a alimentação, reprodução e tamanho das populações (VAZZOLER et al., 1997). *A. nuchalis* apresentou maior abundância nos meses de Outubro/2012 e Fevereiro/2013, período que coincide, em sua maior parte, com a

estiagem quando ocorre a contração do ambiente aquático e, conseqüentemente, maior concentração de espécies. Este fator pode ter favorecido a maior captura de *A. nuchalis* neste período.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam que a espécie *A. nuchalis* foi mais abundante durante a estiagem, onde ocorre a contração do ambiente aquático e a maior concentração de espécies, o que pode ter favorecido a sua captura.

## REFERÊNCIAS

ASSIS, P. R. P.; BRAZ, E. M. Q.; SANTOS, C. L. Contabilidade Ambiental. **Revista Ceciliana**, v. 3, n. 1, p. 13-16, 2010.

CAMPECHE, D. F. B.; BALZANA, L.; FIGUEIREDO, R. C. R.; BARBALHO, M. R. S.; REIS, F. J. S.; MELO, J. F. B. **Peixes nativos do Rio São Francisco adaptados para cultivo**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 20 p.

GULLAND, J. A. Manual of methods for fish stock assessment. Part I: fish population analyses. **Manual in Fisheries Science** 4, 1969. 158 p.

KUBECKA, J. Succession of fish communities in reservoir of Central Eastern Europe. In: STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G.; DUNCAN, A. (Eds). **Comparative Reservoir Limnology and Water Quality Management**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. p.153-168, 1993.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, EFREM J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus**. Manaus: IBAMA/AM, ProVárzea, 2006.

SANTOS, G. M.; SANTOS, A. C. M. Sustentabilidade da Pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n. 54, p. 165-182, 2005.

STRASKRABA, M.; TUNDISI, J. G. **Gerenciamento da Qualidade da Água de Represas**. São Carlos ILEC; IEE, 2000. 280 p.

## **AÇÃO PRÓ-INFLAMATÓRIA DE UMA FRAÇÃO PROTEICA DE *Handroanthus impetiginosus***

**Santos, M.L.T.<sup>(1)</sup>; Câmara, C.C.<sup>(1)</sup>; Costa, K.M.F.M.<sup>(2)</sup>; Pereira, J.C.S.<sup>(2)</sup>; Araújo, J.R.C.<sup>(1)</sup>; Silva, M.D.C.<sup>(1)</sup>** magdalorena\_2@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, Mossoró RN, Brasil;  
CNPQ, UFERSA.

### **RESUMO**

*Handroanthus impetiginosus* é uma planta encontrada em várias regiões do Brasil e muito utilizada no tratamento de muitas doenças inflamatórias. Esse estudo objetivou avaliar a resposta inflamatória de uma fração proteica obtida de sementes de *H. impetiginosus*, em modelo de edema de pata e migração de leucócitos para a cavidade peritoneal em ratos. Foi realizada extração salina com a farinha das sementes; o extrato bruto (EB) obtido foi submetido a fracionamentos proteicos com sulfato de amônio em diferentes saturações. As frações proteicas foram dialisadas e submetidas a ensaios de atividade hemaglutinante (AH). A fração proteica obtida por fracionamento na saturação de 0-30%, denominada F1Hi, exibiu elevada AH e alto teor protéico; por isso, foi avaliada quanto ao potencial pró-inflamatório. Em ensaio de edema de pata induzido por carragenina, F1Hi apresentou ação pró-inflamatória após a 1ª hora. No ensaio de peritonite para contagem de células totais, os grupos tratados com F1Hi apresentaram ação pró-inflamatória similar à carragenina, após a 1ª e 3ª hora; entretanto, após a 6ª hora houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo tratado com F1Hi e o grupo tratado com carragenina, indicando que F1Hi atua de forma diferente da carragenina sobre a indução da migração leucocitária.

**Palavras-chave:** Fração Proteica, Atividade Pró-inflamatória.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Handroanthus impetiginosus* é uma árvore encontrada com frequência em florestas tropicais no Nordeste, Sudeste e Centro-oeste brasileiros, na Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado (LORENZI, 2008). O "Taheebo", designação para a sua casca roxa, tem sido tradicionalmente usado para várias aplicações etnofarmacológicas. Há mais de 1.000 anos a casca interna tem sido utilizada como um dos primeiros medicamentos pela tribo Callawaya, e seu chá é muito utilizado para o tratamento de uma variedade de doenças inflamatórias de pele como eczema, psoríase, infecções fúngicas e para diminuição dos sintomas do câncer de pele (DE SANTANA et. al,1968; HASHIMOTO, 1996; WOO, et. al,2005). Segundo Lorenzi e Matos (2008), as cascas de *H. impetiginosus* são usadas pela medicina popular na forma de chá, com propriedade anti-infecciosa, antifúngica, diurética, adstringente, no tratamento de impetigo, contra alguns tipos de câncer, lúpus, doença de Parkinson, psoríase e alergias.

Em análises fitoquímicas, furano naftoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, derivados do ácido benzóico, derivados de benzaldeído, iridóides, cumarinas e flavonóides foram isolados e identificados (UEDA, et. al,2013; KIM, et. al,2007). Glicosídeos fenilpropanóides foram também isolados do extrato em água fervente e apresentaram atividade antioxidante (LÓPEZ-MUNGUÍA, et. al, 2011; BOOKER, et. al, 2012; ABDEL-MAGEED, et. al, 2012; SUO et. al, 2013).

A inflamação é um processo complexo, produzido por alterações tissulares mediante uma lesão causada, por exemplo, por agente infeccioso, substâncias químicas, calor ou traumatismos (BATISTA et al., 2012). Durante o processo inflamatório os tecidos atingidos liberam diversas substâncias desencadeando respostas secundárias, sendo as principais, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento, migração e ativação de leucócitos; estes últimos são responsáveis pela produção de citocinas e de espécies reativas de oxigênio (ROS) bem como pela realização de fagocitose no tecido. Essa resposta tem como objetivo inicial eliminar, neutralizar ou isolar o agente responsável pela inflamação, promovendo a restauração dos tecidos atingidos pela lesão e pelo processo infamatório em si (ROBBINS e COTRAN, 2006).

Esse estudo teve como objetivo avaliar a resposta inflamatória de uma fração proteica obtida a partir de sementes de *H. impetiginosus*, em modelo de edema de pata induzido por carragenina e migração de leucócitos para a cavidade peritoneal em ratos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta de material e extração proteica***

Sementes de *H. impetiginosus* foram coletadas no município de Jardim-CE, selecionadas, secas em temperatura ambiente e trituradas. A farinha obtida foi submetida à extração a 10% em NaCl 0,15M, overnight, a 20

°C, sob agitação constante, seguida de filtração e centrifugação refrigerada a 8000 rpm por 20min para obtenção do extrato bruto (EB).

### ***Precipitações proteicas, ensaios hemaglutinação e quantificação de proteínas***

O EB foi submetido a fracionamentos utilizando sulfato de amônio nas saturações 0-30%, 30-60% e 60-90% (em temperatura ambiente, sob agitação constante, por 4h); os fracionamentos foram submetidos a centrifugação refrigerada (8000 rpm, 20min) e as frações proteicas precipitadas foram ressuspensas em NaCl 0,15M (denominadas F1Hi, F2Hi e F3Hi, respectivamente às saturações).

As frações foram exaustivamente dialisadas em membrana semipermeável a 4°C, contra água destilada por 2h, em seguida, contra NaCl 0,15 M por 3h, com duas trocas. EB e frações dialisadas foram submetidas a ensaios de atividade hemaglutinante (AH) em placas de microtitulação. A quantificação proteica foi procedida segundo Lowry *et al.* (1951), sendo utilizada uma curva padrão de albumina sérica bovina. AH específica (AHE) foi calculada como a razão entre a AH e o teor proteico (em mg/ml). A fração F1Hi foi selecionada para os ensaios de inflamação *in vivo*.

### ***Modelo de edema de pata em ratos, induzido por carragenina***

Foram utilizados ratos (linhagem “wistar”, fêmeas) distribuídos em três grupos de seis animais (um grupo controle tratado com solução salina aplicada intraperitonealmente (i.p.); dois grupos tratados com F1Hi aplicada i.p. nas concentrações de 30 ou 100mg/Kg), obtidos no

biotério da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Carragenina (100µg/pata em 100µL de água destilada) foi aplicada intraplantarmente (ipl.) na pata ipsolateral (direita). O volume da pata foi medido no tempo zero, na 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> hora após a aplicação da carragenina, utilizando um pletismômetro artesanal. O edema foi calculado por variação de volume da pata, para análise da indução ou inibição da inflamação. Após a 16<sup>a</sup> hora os animais foram anestesiados e sacrificados.

### ***Ensaio de peritonite e avaliação de migração leucocitária***

Foram utilizados ratos (linhagem “wistar”, fêmeas) distribuídos em seis grupos de cinco animais (três grupos controle tratados com carragenina; três grupos tratados com F1Hi na concentração de 30mg/Kg), obtidos no biotério da Universidade do Estado do RN. Carragenina (300µg em 1 ml de solução salina) foi aplicada i.p. nos animais dos grupos controles (C1, C2 e C3); F1Hi (30µg/ml) foi aplicada i.p. nos animais dos grupos tratados (T1, T2 e T3). Após a 1<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> hora, os animais de um grupo controle e um grupo tratado com F1Hi foram sacrificados por deslocamento cervical; em seguida foram injetados 10 ml de salina estéril na cavidade peritoneal e o fluido foi coletado. 20µL do fluido peritoneal foi adicionado a 380µL de solução de Turk (diluição de 1:20); 10µL do fluido diluído foram aplicados em câmara de Neubauer para a contagem do número de células totais nos 4 quadrantes principais da câmara (cada quadrante tem 0,1 mm<sup>3</sup>), obtendo-se o número de células por mm<sup>3</sup>.

### *Análises estatísticas*

Os resultados obtidos foram submetidos à análise pelo programa estatístico GraphPad Prisma, utilizando-se análise de variância (ANOVA) seguida de um pós-teste de Tukey. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes, tanto para o ensaio de edema de pata em ratos quanto para o ensaio de migração leucocitária.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

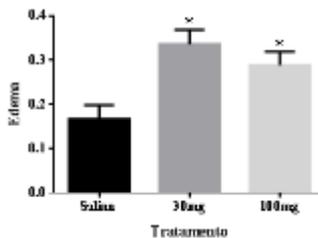
As amostras apresentaram títulos de AH, indicando a presença de lectinas; após a dosagem proteica a AHE das amostras foi calculada (Tabela 1). A amostra F1Hi foi selecionada para os ensaios de inflamação *in vivo* devido ao seu maior teor proteico, maior título de AH e maior disponibilidade/rendimento.

**Tabela 1.** Concentração proteica, atividade hemaglutinante (AH) e AH específica (AHE) de amostras proteicas de sementes de *Handroanthus impetiginosus*.

Amostra	Proteína (mg/ml)	AH <sup>1</sup>	AHE <sup>2</sup>
EB*	11,51	8 <sup>-1</sup>	0,69
F1Hi	9,6	128 <sup>-1</sup>	13,33
F2Hi	2,49	64 <sup>-1</sup>	25,69
F3Hi	0,018	8 <sup>-1</sup>	440

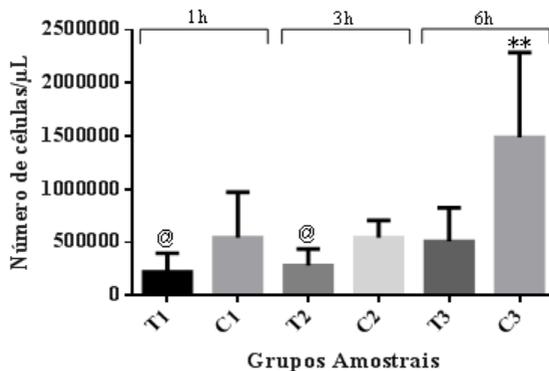
EB: Extrato Bruto; F1Hi: fração 0-30% dialisada; F2Hi: fração 30-60 % dialisada; F3Hi: fração 60-90% dialisada; <sup>1</sup>Atividade Hemaglutinante; <sup>2</sup>Atividade Hemaglutinante Específica.

No ensaio de edema de pata induzido por carragenina, os resultados obtidos com os grupos tratados após a 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 15<sup>a</sup> hora não apresentaram diferenças estatisticamente significantes em relação ao grupo controle, quando avaliados por ANOVA ( $p < 0.05$ ). No entanto, grupos tratados com F1Hi nas concentrações de 30mg/kg ou 100mg/kg apresentaram, após a 1<sup>a</sup> hora, uma indução de edema dose-dependente (Figura 1), quando os volumes das patas foram comparados aos dos animais do grupo controle, tratados com salina (que apresentaram edema formado por ação da carragenina). As induções de edema de  $0.1666 \pm 0.0780$  (grupo controle) para  $0.3360 \pm 0.0800$  (grupo tratado com F1Hi, 30mg/kg) e para  $0.2883 \pm 0.0752$  (grupo tratado com F1Hi, 100mg/kg) corresponderam a 101% e 73%, respectivamente. A fração proteica F1Hi apresentou efeito pró-inflamatório em condições de tempo e dose específicas no teste proposto. Várias proteínas isoladas de vegetais, como lectinas de leguminosas, já revelaram efeito pró-inflamatório a partir da ativação de citocinas indutoras da inflamação (ALENCAR et al., 2005; SARTIM, 2010).



**Figura 1.** Efeito do tratamento de ratos com a fração F1Hi (obtida a partir de sementes de *H. impetiginosus*) nas concentrações de 30mg/Kg ou 100mg/Kg, em inflamação induzida por carragenina. \*Diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle.

O modelo de peritonite induzido em ratos foi avaliado utilizando F1Hi na dose de 30mg/kg. Após a 1<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> hora, F1Hi promoveu migração celular equivalente à carragenina no peritônio de animais, indicada pela ausência de diferença significativa entre os grupos tratados e grupos controle (Figura 2). O resultado confirma a ação pró-inflamatória de F1Hi, observada no ensaio de edema de pata induzido por carragenina.



**Figura 2.** Contagem total de células no ensaio de peritonite em ratos tratados com carragenina (C) ou com a fração F1Hi (30mg/Kg) obtida a partir de sementes de *H. impetiginosus* (T), após 1 hora (C1 e T1), 3 horas (C2 e T2) e 6 horas (C3 e T3).

A carragenina é caracterizada por eliciar a liberação de vários mediadores inflamatórios, entre esses estão as aminas biogênicas na primeira fase, responsáveis pelo desenvolvimento dos eventos vasculares; numa segunda fase atuam outros mediadores, como citocinas (IL-1 e TNF- $\alpha$ ), prostaglandinas e óxido nítrico. O edema também é caracterizado por apresentar um infiltrado celular intenso,

destacando-se a presença de neutrófilos com produção de ROS (MORRIS et al., 2003).

Os resultados sugerem que F1Hi promove efeitos similares aos da carragenina na 1ª e 3ª hora, eliciando efeito pró-inflamatório. Entretanto, após a 6ª hora, F1Hi parece atuar de forma diferenciada da carragenina sobre o mecanismo de indução da migração celular, pois o grupo tratado com F1Hi apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo tratado com carragenina (Figura 2).

## CONCLUSÃO

A fração proteica F1Hi obtida a partir de sementes de *H. impetiginosus* exibiu elevado título de atividade lectínica. Em modelo de edema de pata induzido por carragenina, F1Hi apresentou efeito pró-inflamatório após a 1ª hora. O ensaio de peritonite evidenciou ação pró-inflamatória de F1Hi similar à carragenina, até a 3ª hora; no entanto, após a 6ª hora F1Hi atuou de forma diferente da carragenina quanto ao mecanismo de indução da migração celular. Estudos estão sendo realizados para avaliar se o efeito pró-inflamatório de F1Hi ocorre devido à ação de lectinas presentes na amostra e, também, para elucidar como F1Hi atua no processo de migração leucocitária.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-MAGEED, W.M.; BACKHEET, E.Y.; KHALIFA, A.A.; IBRAHEIM, Z.Z.; ROSS, S.A. Antiparasitic antioxidant phenylpropanoids and iridoid glycosides from *Tecoma mollis*. **Fitoterapia**. 2012, 83, 500–507.

ALENCAR, V.B.M.; ALENCAR, N.M.N.; ASSREUY, A.M.S.; MOTA, M.L.; BRITO, G.A.C.; ARAGÃO, K.S.; BITENCOURT, F.S.; PINTO, V.P.T.; DEBRAY, H.; RIBEIRO, R.A.; CAVADA, B.S. Pro-inflammatory effect of *Arum maculatum* lectin and role of resident cells. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v. 37, p. 1805-1814, 2005.

BATISTA, V. A.; COSTA, G. C.; ASSUNÇÃO, A. K. M.; SILVA, M. C. P.; LOPES, D. A.; ARAUJO, M. A. R.; SILVA, L. A.; GUERRA, R. N. M.; NASCIMENTO, F. R. F. Efeito do tratamento com nimesulida sobre a inflamação Granulomatosa em camundongos. **Ciênc. Saúde**, v.14, n. 1, p. 21-29, jan-jun, 2012.

BOOKER, F.L.; BURKEY, K.O.; JONES, A.M. Re-evaluating the role of ascorbic acid and phenolic glycosides in ozone scavenging in the leaf apoplast of *Arabidopsis thaliana* L. **Plant Cell Environ.** 2012, 35, 1456–1466.

DE SANTANA, C.F.; DE LIMA, O.; D'ALBUQUERQUE, I.L.; LACERDA, A.L.; MARTINS, D.G. Antitumoral and toxicological properties of extracts of bark and various wood components of Pau d'arco (*Tabebuia avellanedae*). **Inst. Antibiot.** 1968, 8, 89–94.

HASHIMOTO, G. Illustrated cyclopedia of brazilian medical plants. **Aboc-sha Kamakura**. 1996, 158.

KIM, S.O.; KWON, J.I.; JEONG, Y.K.; KIM, G.Y.; KIM, N.D.; CHOI, Y.H. Induction of Egr-1 is associated with anti-metastatic and anti-invasive ability of beta-lapachone in human hepatocarcinoma cells. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 2007, 7, 2169–2176.

LORENZI, Harri. **Árvores Brasileiras: Manual: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil.** 5. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2008. 383p.

LORENZI, Harri.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2008. 560 p.

LÓPEZ-MUNGUÍA, A.; HERNÁNDEZ-ROMERO, Y.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; MIRANDA-MOLINA, A.; REGLA, I.; MARTÍNEZ, A.; CASTILLO, E. Phenylpropanoid glycoside analogues: Enzymatic synthesis, antioxidant activity and theoretical study of their free radical scavenger mechanism. **PLoS One.** 2011, 6, 20115.

**LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent.** The Journal of Biological Chemistry, v. 193, n. 1, p. 265-275. 1951.

MORRIS, M.R.; DEWITT, S.; LAFFAFIAN, I.; HALLETT, M.B. Phagocytosis by inflammatory phagocytes: experimental strategies for stimulation and quantification. **Methods Mol Biol.**, v. 225, p. 35-46, 2003.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R. S. Patologia: bases patológicas das doenças. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.

SARTIM, M.A. **Avaliação do envolvimento de Galatrox, uma lectina ligante de lactose isolado de peçonha de *Brothosp atrox*, no processo inflamatório.** 2010. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas na área de Toxicologia) – Faculdade de Ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2010.

SUO, M.; OHAT, T.; TAKANO, F.; JIN, S. Bioactive Phenylpropanoid Glycosides from *Tabebuia avellanedae*. **Molecule**, 2013, 18, 7336-7345.

UEDA, S.; UMEMURA, T.; DOHGUCHI, K.; MATSUZAKI, T.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; IWASHIMA A. Production of anti-tumour promoting furanonaphthoquinones in *Tabebuia avellanedae* cell cultures. **Phytochemistry** 1994, 36, 323–325. **Molecules**, 2013, 18 7345.

WOO, H.J.; CHOI, Y.H. Growth inhibition of A549 human lung carcinoma cells by beta-lapachone through induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity. **Int. J. Oncol.** 2005, 26, 1017–1023.

---

## AÇÕES DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA FCAP/UPE

Mercês, P.F.F. das<sup>(1)</sup>; Santos, R.S.<sup>(2)</sup>; Cavalcanti, B.V.P.<sup>(3)</sup>; Pedrosa, F.J.A.<sup>(4)</sup>  
nga\_fcap@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Bióloga, Pós-graduanda em Planejamento e Gestão Ambiental da Universidade de Pernambuco – UPE, Recife – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Bolsista de Iniciação Científica da FACEPE e graduanda em Administração da Universidade de Pernambuco – UPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(3)</sup>Coordenadora da Agenda Ambiental da FCAP/UPE, Brasil;

<sup>(4)</sup>Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco – UPE e da Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

A Educação Ambiental vem sendo apresentada como uma possível solução para minimização e prevenção dos problemas ambientais que atingem o planeta. Atenta a isso, a Faculdade de Ciências da Administração de Pernambuco – FCAP, da Universidade de Pernambuco, programou um projeto de extensão, cujo objetivo foi a criação do Núcleo de Gestão Ambiental (NGA) em fevereiro de 1999. Desde então o Núcleo vem desenvolvendo sua política de gestão ambiental cuja missão é fomentar o desenvolvimento sustentável na faculdade, a partir da adoção de modelos gerenciais ambientalmente responsáveis. Nesse sentido, o NGA produz, desde a sua implantação, de maneira progressiva e sistemática, diversas ações com foco nas questões sociais e ambientais. Tendo como objetivo promover ações que estimulem a conscientização e a preocupação com o ambiente ao nosso redor, e intensificar a participação da comunidade da FCAP-UPE através do método participativo e dialógico, envolvendo as ações de educação ambiental na instituição. Resultando, assim, num maior sentimento de pertencimento dos atores envolvidos nas atividades e estimulando o cuidado com as questões socioambientais contemporâneas.

**Palavras-chave:** Núcleo de Gestão Ambiental, Mobilização Social, Desenvolvimento Sustentável.

## INTRODUÇÃO

Educação Ambiental (EA) é um processo educativo que visa formar cidadãos éticos nas suas relações com a sociedade e com a natureza. Durante a formação, cada indivíduo é levado a uma reflexão de seus comportamentos e valores pela aquisição de conhecimentos, compromisso e responsabilidade com a natureza e com as gerações futuras (EFFTING, 2007).

Um grande fato significativo para a evolução da EA no Brasil foi a formulação da Lei 9.795/99 que dispõe sobre a educação ambiental, instituindo a Política Nacional de Educação Ambiental (PNEA) e outras providências (BRASIL, 1999), tornando o Brasil o primeiro país latino americano a ter uma Política Nacional específica para Educação Ambiental.

Nesse sentido, tem-se como uma meta a EA para a sustentabilidade socioambiental recuperando o significado do ecodesenvolvimento como um processo de transformação do meio natural que, por meio de técnicas apropriadas, impede desperdícios e realça as potencialidades deste meio, cuidando da satisfação das necessidades de todos os membros da sociedade, dada a diversidade dos meios naturais e dos contextos culturais (REIGADA, 2004).

A Faculdade de Ciências da Administração de Pernambuco – FCAP tem como missão institucional a responsabilidade de manter-se atualizada frente às novas questões sociais e ambientais, principalmente no que tange a demanda da sociedade e do mercado cada vez mais globalizado. Pensando nisso, o Núcleo de Gestão Ambiental (NGA) foi criado (1999) e essa iniciativa objetivou a difusão de novos paradigmas gerenciais e técnicos, ambientalmente responsáveis, através de cursos, seminários, projetos e outras atividades na perspectiva do Desenvolvimento Sustentável, tendo a Educação Ambiental como ferramenta estratégica.

O NGA é um espaço aberto para as demandas internas e externas da instituição e da sociedade, referentes às questões ambientais, visando contribuir para a construção de novos paradigmas e a definição de procedimentos gerenciais em prol de uma melhor eficiência econômica, equidade social e sustentabilidade ambiental. Nesse sentido, o Núcleo vem desenvolvendo ações pedagógicas, visando fortalecer a melhoria contínua das atividades realizadas com enfoque na temática ambiental, estendidas a toda comunidade acadêmica (CAVALCANTI et al., 2012).

Tendo como objetivo a disseminação das ações desenvolvidas, em 2006 foi elaborada a Política Ambiental da FCAP-UPE que em seu primeiro ponto indica esta intenção, que é: “Promover a educação para a sustentabilidade, visando à construção de sociedades mais solidárias”. Sendo esta revisada em 2012 através de uma nova pesquisa e reuniões para debater ideias e sugestões de mudanças.

Portanto, a EA é um instrumento para que o indivíduo seja parte atuante na sociedade, aprendendo a agir individual e coletivamente na busca de soluções para os problemas socioambientais. O estudo aqui desenvolvido caracteriza-se como um projeto de Educação Ambiental que estimulou e priorizou a participação dos servidores, dos alunos e dos professores da Faculdade de Ciências da Administração de Pernambuco.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

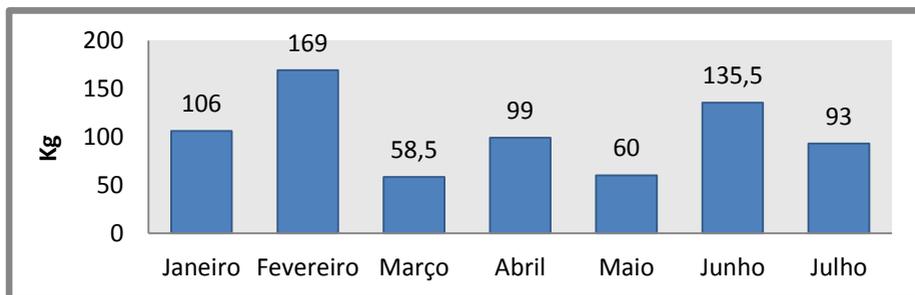
### ***Monitoramento – Acompanhamento das Ações Ambientais***

Essa ferramenta permite uma aproximação com a realidade e quais os desafios e problemas encontrados. O monitoramento ocorre semanalmente em cada setor e sala de aula do campus, quando é possível enfatizar a temática da educação ambiental com a comunidade acadêmica. Utilizando uma planilha é possível registrar a quantidade e tipologia dos resíduos gerados, bem como a situação dos coletores. A cada três meses é feito relatório geral onde são construídos gráficos para se observar quais os setores e salas que apresentaram maior quantidade e mistura de resíduos.

### ***Coleta Seletiva de Resíduos Sólidos***

Essa atividade é desenvolvida pelo NGA, há treze anos ininterruptos, com a contribuição de estagiários e de uma equipe de voluntários, funcionários e alunos dos mais diversos níveis de escolaridades existentes na Instituição. Iniciou-se com a implantação da coleta de papel nos setores administrativos e salas de aula pelo NGA, ocorrendo duas vezes ao mês no intervalo de 15 dias, onde uma estagiária e voluntários do NGA acompanham os catadores de recicláveis da comunidade Caranguejo/Tabaiaras (vizinha da FCAP, as quais recebem a denominação de Agentes da Reciclagem) na coleta dos papéis depositados nas caixas, assim como, realizam a pesagem dos mesmos

(Figura 1). Essa atividade ocorre em todos os setores administrativos, salas de aula e pátio, totalizando cinquenta e uma salas.



**Figura 1.** Medição da Coleta de Papel de Janeiro até Julho de 2013.

Quanto à arrecadação de óleo de cozinha e eletrônicos, implantada recentemente, a coleta ocorre em menor escala. Para as pilhas, baterias de celulares, câmeras digitais, controle remoto, relógios entre outros os coletores disponíveis nos setores são recolhidos a cada 20 dias. Já o óleo comestível, tem um procedimento diferenciado, ou seja, duas bombonas da empresa ASA com 20 litros cada, foram depositadas no campus, para que a comunidade deposite ali o seu resíduo. Sempre havendo um monitoramento sistemático para estar atento às dificuldades e necessidades da coleta.

### ***Treinamento com a Equipe de Serviços Gerais***

Constantemente o NGA realiza oficinas e treinamentos com os trabalhadores dos serviços gerais da FCAP/UPE (Figura 2). Essa iniciativa busca aproximar e socializar a equipe com as ações desenvolvidas no NGA. Para que isso ocorra, mensalmente são feitas

reuniões com o pessoal para discutir soluções construtivas em relação às ações da Agenda Ambiental, principalmente com relação a coleta seletiva, na qual eles são agentes diretos do processo. Nesses encontros são discutidos e explanados temas como sustentabilidade, reciclagem e descarte correto de resíduos (recicláveis e não recicláveis). Além disso, cada funcionário conta com uma ferramenta de apoio, que são crachás que levam informações referentes a descarte adequado dos resíduos.



**Figura 2.** Entrega dos certificados e confraternização da equipe.

**Blog** - Esse instrumento virtual visa oportunizar e ampliar a interação com a sociedade. Dessa forma é possível dar transparência aos trabalhos realizados no Núcleo de Gestão Ambiental, onde cada ação é publicada e atualizada no referido endereço eletrônico. - <http://ngafcap.blogspot.com.br/>.

### ***Atividades com os alunos da Escola do Recife***

Tendo em vista que os alunos da Escola de Aplicação do Recife são os formadores de opinião e profissionais do amanhã, é dada a referida atenção no desenvolvimento das atividades de Educação Ambiental

com esses atores internos da FCAP. Uma das principais atividades desenvolvidas é a oficina de papel reciclado (Figura 3), onde os alunos são convidados a produzir o papel reciclado com o propósito de serem multiplicadores desse processo. Também são realizadas breves palestras de conscientização durante o seu horário de intervalo, além de gincanas de material reciclável onde estes são destinados aos agentes de reciclagem da FCAP, bem como passeios ecológicos.



**Figura 3.** Oficina de papel com alunos da Escola do Recife.

Ainda no âmbito das atividades desenvolvidas, o Núcleo realiza eventos relacionados às datas comemorativas do Meio Ambiente para sensibilização do público em geral, visto que não são eventos restritos à FCAP e sim abertos para a sociedade. Importantes eventos produzidos são a Semana da Água e a Semana do Meio Ambiente, onde ocorrem palestras, oficinas e *Workshops*, com participação do público em geral (Figuras 4 e 5).



**Figura 4.** Oficina de Sustentabilidade realizada na Semana da Água e na Semana do Meio Ambiente.



**Figura 5.** Palestra realizada na Semana da Água e a Semana do Meio Ambiente.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As atividades desenvolvidas refletem no dia-a-dia da Faculdade, onde todos os agentes envolvidos no processo são multiplicadores e se tornam voluntários na realização das atividades acima citadas.

Através do seu processo participativo e dialógico, em 2008 foi elaborada a Agenda Ambiental da FCAP-UPE, um documento construído coletivamente por meio de reuniões internas da Comissão do Meio Ambiente da instituição e questionários envolvendo todos os departamentos e níveis de ensino. Este importante documento contém o resultado da pesquisa realizada com o propósito de percepção da situação atual da Faculdade por meio do diagnóstico ambiental apresentado e também ouvir sugestões de mudanças dadas pelos que fazem parte da FCAP. E através das ações propostas pela Agenda, realizadas pelo NGA, tem havido a disseminação do conhecimento socioambiental, sendo a FCAP a primeira faculdade de administração da região Nordeste nessa atitude e preocupação.

Por intermédio desse processo de educação ambiental, após quatro anos de desenvolvimento das atividades da Agenda, em 2012 foi realizada a sua revisão, com a realização de uma nova pesquisa de percepção e opinião, quando foi criado um novo material educativo, o Manual de Boas Práticas Ambientais com soluções práticas e simples que minimizam os impactos ambientais nas atividades administrativas. Cada chefe de setor recebeu um exemplar para estar a disposição de toda equipe e também visitantes.

Assim, o Núcleo de Gestão Ambiental da FCAP/UPE se insere no esforço acadêmico de construção de uma sociedade mais sustentável e habilitada a equacionar os desafios do século 21 para o estado de Pernambuco, que necessita compatibilizar o desenvolvimento com inclusão social, num território onde a escassez de recursos hídricos é um elemento dominante de nossa paisagem.

## CONCLUSÃO

O Núcleo de Gestão Ambiental da FCAP/UPE vem se consolidando como um espaço acadêmico de disseminação de boas Práticas Ambientais, fundamentadas nos princípios de uma Educação Ambiental crítica e reflexiva.

Desde 1999, o NGA vem promovendo mudanças de paradigmas entre os professores, funcionários e alunos, contribuindo para que a formação acadêmica dos nossos discentes também seja baseada no esforço de construção de uma sociedade mais sustentável.

## REFERÊNCIAS

BRASIL, Presidência da República. Decreto nº 4.281/02 de 25 de junho de 2002 que regulamenta a Lei nº 9.795/99 que institui a **Política Nacional de Educação Ambiental**. Brasília: DOU, 2002.

CAVALCANTI, B.V.P.; PEDROSA, F.J.A. **Agenda Ambiental da FCAP/UPE:** gerando conhecimento para o futuro sustentável. FCAP BOOK, 2. ed., 40p., 2012.

COUTINHO, S. F.S et al. Consideração sobre a Educação Ambiental na Formação de Professores no Estado de Pernambuco. In: **Anais do I Encontro Nordestino de Educação Ambiental.** Natal, RN: UFRN, 2005.

EFFTING, T.R. **Educação Ambiental nas Escolas Públicas:** Realidade e Desafios. Marechal Cândido Rondon, 2007. Monografia (Pós Graduação em “Latu Sensu” Planejamento Para o Desenvolvimento Sustentável) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Marechal Cândido Rondon, 2007.

PEDROSA, F.J.A.; CAVALCANTI, B.V.P.; HENRIQUES, J.M. **Experiência do Projeto de Coleta Seletiva na Faculdade de Ciências da Administração de Pernambuco – FCAP/UPE.** Conferência da Terra, Recife, 2008.

REIGADA, C.; REIS, M.F.C. Educação Ambiental para crianças no ambiente urbano: uma proposta de pesquisa-ação. **Revista Ciência & Educação**, v. 10, n. 2, p. 149-159, 2004.

SORRENTINO, M.; TRAIBER, R.; MENDONÇA, P.; JÚNIOR, L.A.F. Educação Ambiental como Política Pública. **Educação e Pesquisa**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 285-29, maio/ago. 2005.

---

## **AÇÕES DE FISCALIZAÇÃO SANITÁRIA EM ALIMENTOS COMERCIALIZADOS EM TERESINA, PI.**

**Ferreira, L.C.R.P.<sup>(1)</sup>; Lima, N.A.<sup>(1)</sup>; Muratori, M.C.S.<sup>(1)</sup>; Júnior, M.H.K.<sup>(1)</sup>;  
Costa, M.S.J.<sup>(2)</sup>; Nascimento, I.V.<sup>(2)</sup> [ligia\\_calina@hotmail.com](mailto:ligia_calina@hotmail.com)**

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina – PI, Brasil;

<sup>(2)</sup> Gerência de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde do Piauí – SES/PI, Teresina – PI, Brasil.

## RESUMO

A produção de alimentos seguros é, antes que uma vantagem competitiva, um dever da indústria e do Estado. No município de Teresina, a vigilância sanitária dirigida aos alimentos é realizada pelo núcleo técnico de inspeção e fiscalização de alimentos (ETIFA) da Gerência de Vigilância Sanitária. Este estudo tem como objetivo caracterizar as atividades de fiscalização sanitária em estabelecimentos de alimentos comercializados em Teresina, PI, no período de maio a julho de 2012, realizadas pelo ETIFA, com base na motivação, tipos de estabelecimentos e penalidades, bem como as respostas obtidas nas refiscalizações. A maior motivação para a fiscalização em estabelecimentos de alimentos foi solicitação de emissão da Licença Sanitária. O tipo de estabelecimento mais visitado foram padarias e confeitarias. A principal penalidade aplicada foram multas, seguidos de apreensão e advertências. Dentre os produtos apreendidos, os POA, os embutidos (linguiças e salsichas), o bacon e as carnes salgadas representaram a maior categoria. A ação de fiscalização desenvolvida pela ETIFA é de grande avaliação para a saúde pública municipal como responsáveis pela proteção e promoção da saúde da população na área de alimentos.

**Palavras-chave:** Consumo, Proteção, Alimentação.

## INTRODUÇÃO

O homem moderno diante de sua vida corriqueira se vê muitas vezes obrigado a dar preferência aos alimentos e lanches de mais fácil preparo. Este consumidor também tem se mostrado cada vez mais individualista e prático, por isso a praticidade dos gêneros alimentícios e a comercialização de produtos em porções ou fracionados têm oferecido facilidades para o consumo de alimentos industrializados (MARINS et al., 2005; GONÇALVES, 2009).

Diante disto, a segurança alimentar é um desafio atual e visa à oferta de alimentos livres de agentes que podem pôr em risco a saúde do consumidor. Em razão da complexidade dos fatores, a questão deve ser analisada ao longo de toda a cadeia alimentar. Assim, a fiscalização da qualidade dos alimentos deve ser feita não só no produto final, mas em todas as etapas da produção, desde o abate ou a colheita, passando pelo transporte, armazenamento e processamento, até a distribuição final ao consumidor (VALENTE e PASSOS, 2004). A produção de alimentos seguros é, antes que uma vantagem competitiva, um dever da indústria e do Estado (GONÇALVES, 2009).

Com a Lei 9.782, de 1999 que dispôs sobre o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS), foi criada a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com a finalidade institucional de “promover a proteção da saúde da população” por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à Vigilância Sanitária (VISA), um processo de verdadeiro avanço nas práticas da fiscalização, de grande importância para a saúde e a qualidade de vida de toda a população (BRASIL, 1999).

Com o objetivo de garantir as ações de fiscalização sanitária de alimentos, bebidas, águas envasadas, seus insumos, suas embalagens, aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia, limites de contaminantes e resíduos de medicamentos veterinários compete

ANVISA coordenar, supervisionar e controlar as atividades de registro, informações, inspeção, controle de riscos e estabelecimento de normas e padrões.

No município de Teresina, a VISA dirigida aos alimentos é realizada pela Gerência de Vigilância Sanitária (GEVISA) subordinada a Diretoria de Vigilância em Saúde da Fundação Municipal de Saúde. Esta é constituída por Secretaria e Núcleos Técnicos de fiscalização de estabelecimentos de saúde, comerciais, saneantes, medicamentos e alimentos e atua conforme a legislação vigente do município, o Código Sanitário do Município de Teresina, instituído pela Lei 3.646, de 2007 (TERESINA, 2007). O Núcleo Técnico de Inspeção e Fiscalização de Alimentos (ETIFA) é responsável por verificar a qualidade do produto destinado ao consumidor, por meio das visitas técnicas com abordagens preventivas, educativas e corretivas em estabelecimentos que manipulem e/ou comercializam alimentos, impedindo de forma preventiva, alguma inconformidade que possa causar danos à saúde coletiva.

Este estudo tem como objetivo caracterizar as atividades de fiscalização sanitária em estabelecimentos de alimentos comercializados em Teresina, PI, no período de maio a julho de 2012, realizadas pelo ETIFA da GEVISA, com base na motivação, tipos de estabelecimentos e penalidades, bem como as respostas obtidas nas refiscalizações.

## **MATERIAL E METODOS**

A ETIFA é formada por equipe multiprofissional que atuam em horários diurnos e noturnos, atendendo com fiscalização em estabelecimentos industrializadores, produtores e manipuladores de alimentos, bem como atendendo às denúncias de consumidores nos dias úteis e também aos finais de semana.

A análise de observação das ações da ETIFA de fiscalização em estabelecimentos de alimentos foi obtida com base na análise visual de fichas, quadro de relatório em planilha eletrônica, disponíveis pela instituição como forma de arquivamento destas informações, no período de maio a julho de 2012. A partir desta foi possível identificar os principais motivos de fiscalização realizada, listar as principais atividades dos estabelecimentos de alimentos fiscalizados, qualificar e quantificar as principais penalidades aplicadas aos estabelecimentos de alimentos fiscalizados e por fim avaliar os resultados das ações de fiscalização realizada para a saúde pública.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Durante este período, como observado na Tabela1 foram realizadas 56 visitas de fiscalização da ETIFA, dentre os quais a sua maioria se deram em estabelecimentos comerciais. Isto se justifica pelo maior numero desta solicitação para maior conformidade com a legislação.

**Tabela 1.** Quantidade e motivos de fiscalizações realizadas pela ETIFA, no período de maio a julho de 2012.

<b>Fiscalizações</b>	<b>Quantidade</b>
Alvará de Licença Sanitária	33
Denúncias	15
Blitz	03
Eventos	05
<b>Total</b>	<b>56</b>

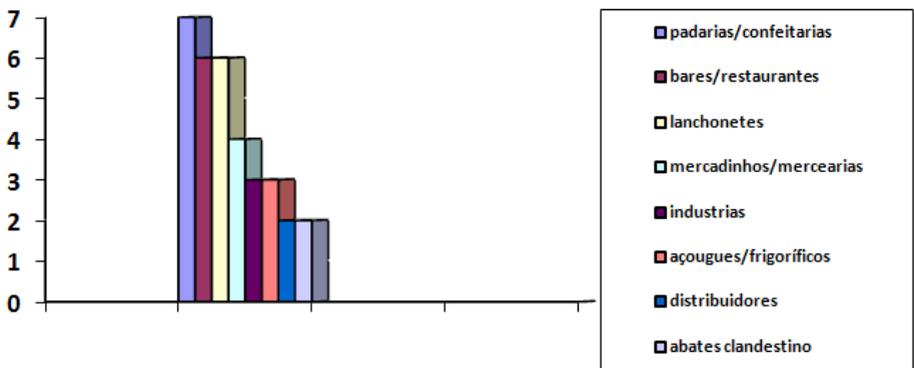
Fonte: Adaptado GEVISA (2012).

Neste período foram realizadas fiscalizações em eventos como: festejos e festivais de música. As Blitz e as denúncias se caracterizaram por observação de estabelecimentos com condições higiênico-sanitárias impróprias para a manipulação dos alimentos, como também de alimentos sendo vendidos por ambulantes sem as mínimas condições de conservação.

A ausência de controle de qualidade na conservação de alimentos comercializados por vendedores ambulantes e condições inadequadas de manipulação favorece o desenvolvimento de micro-organismos nocivos que podem levar a toxinfecção alimentar. Sendo assim vale ressaltar a necessidade de maior intervenção e fiscalização dos alimentos vendidos nas ruas pela Vigilância Sanitária (FLOR et al., 2006).

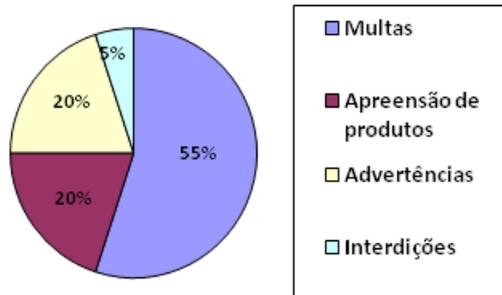
Quanto à emissão do Alvará de Licença Sanitária aos estabelecimentos comerciais, as padarias foram as mais fiscalizadas, conforme

apresentado na Figura 1, estando bares/restaurantes e lanchonetes na segunda posição. Isto em virtude de haver uma maior demanda por solicitação de fiscalização para emissão do Alvará de Licença Sanitária e denúncias, e como nestes locais há uma manipulação direta com os alimentos, sendo estes perecíveis e de consumo direto da população; existe a necessidade de serem realizadas visitas de rotina, com intuito de instrução para a importância das condições higiênicas e sanitárias do estabelecimento (estrutura física, funcionários, acondicionamento dos alimentos, acondicionamento do lixo, etc), a fim de diminuir os risco de contaminação dos alimentos e assim, preservar a saúde dos consumidores.



**Figura 1.** Tipos e quantidades de estabelecimentos fiscalizados pela ETIFA, no período de maio a julho de 2012. Fonte: Adaptado GEVISA (2012).

O Figura 2 mostra a frequência de ocorrência dos procedimentos de penalidades como forma de punição as infrações sanitárias cometidas pelas empresas. No total foram 20 (100%) autuações, sendo de 11 (55%) referente a emissão de Multas, 4 (20%) a apreensão de produtos e advertências e 1 (5%) de interdição.



**Figura 2.** Tipos e porcentagem (%) de penalidades aplicadas pela ETIFA, no período de maio a julho de 2012. Fonte: Adaptado GEVISA (2012).

Em sua maioria são justificadas pelo não cumprimento do Termo de Notificação Comercial que solicitava melhores condições higiênicas do estabelecimento e em outros casos a elaboração e implantação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) pelos estabelecimentos notificados.

As outras infrações observadas refletem a falta de capacitação em Boas Práticas de Manipulação de Alimentos especialmente os quesitos de temperatura e armazenamento conforme estabelecido no item 4.8 do Anexo da RDC n°. 216/2004 (ANVISA, 2004).

A constatação das infrações sanitárias resultou em abertura de Processo Administrativo Sanitário por Auto de Infração conforme disposto no Título VII, Processos Administrativos, Capítulo VI, Procedimentos Administrativos das Infrações de Natureza Sanitária da Lei 3.646, de 2007 (TERESINA, 2007).

Na Tabela 2, constam os produtos apreendidos pela ETIFA no período de maio a julho, nas quatro apreensões ocorridas (Figura 2).

**Tabela 2.** Apreensões realizadas pela ETIFA, no período de maio a julho de 2012.

<b>Produtos</b>	<b>Unidade</b>	<b>Quantidade</b>
Embutidos	Kg	109,80
Bacon	Kg	55,00
Carnes salgadas (costela, lombo, miúdos)	Kg	32,42
Cortes de Frango	Kg	6,20
Queijo	Kg	0,64
Farinha de trigo	Kg	115,00
Cajuína	Garrafa 500 mL	12,00

Fonte: Adaptado GEVISA.

Dentre os POA, os embutidos (linguiças e salsichas), o bacon e as carnes salgadas representaram a maior categoria, justificado por ser produtos que ficam muitas vezes expostos sem proteção e por conta disto sem cuidados por parte do comerciante. Deve também ser destacado o volume de farinha de trigo apreendida, que superou aos demais produtos, mas também justificada pela abundância de sua utilização e levando a falhas na sua estocagem e certa dificuldade no controle visual das alterações. Quanto à cajuína, embora seja um produto tradicional e aceito a sua fabricação artesanal, a bebida precisa

ser registrada no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento quando comercializada formalmente.

Os fiscais muitas vezes ficam na sala a disposição dos proprietários de estabelecimentos para retirada de dúvidas em relação ao Termo de Notificação, Termo de Apreensão, Auto de Infração e Multa. Também informam sobre a adequação física e higiênica de acordo com a legislação vigente, e ainda, auxiliam no esclarecimento de dúvidas em relação elaboração e implantação do Manual de Boas Práticas, plantas ou croquis de construção e reforma exigido em alguns estabelecimentos.

A ação da VISA em proporcionar alternativas de capacitação em Boas Práticas de Fabricação para responsáveis e funcionários de estabelecimentos alvo da legislação, de acordo com MORAES e DIAS (2006), representa uma evolução das principais ações da Vigilância Sanitária buscando mecanismos para o estabelecimento de estratégias de gestão de forma a melhorar em efetividade e eficácia as ações que objetivam a promoção e proteção da saúde.

## **CONCLUSÃO**

A maior motivação para a fiscalização em estabelecimentos de alimentos foi solicitação de emissão da Licença Sanitária. O tipo de estabelecimento mais visitado foram padarias e confeitarias. A principal

penalidade aplicada foram multas (55%), seguidos de apreensão e advertências. Dentre os produtos apreendidos, os POA, os embutidos (linguiças e salsichas), o bacon e as carnes salgadas representaram a maior categoria.

A ação de fiscalização desenvolvida pela ETIFA é de grande avalia para a saúde pública municipal como responsáveis pela proteção e promoção da saúde da população na área de alimentos.

## **REFERÊNCIAS**

ANVISA. Resolução RDC n°. 216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Serviços de Alimentação. **D.O.U.**, Brasília, 16 set. 2004.

BRASIL. Lei n° 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o sistema nacional de vigilância sanitária, cria a agência nacional de vigilância sanitária, e dá outras providências. Poder Executivo. **D.O.U.**, de 27 de janeiro de 1999.

GEVISA TERESINA. **Gerência de Vigilância Sanitária**. Fundação Municipal de Saúde. Prefeitura Municipal de Teresina. Rua Firmino Pires, 3225/3241, São Pedro, CEP 64.018-285 - Teresina-Piauí. Fones: (86) 3215-9102/3215-9115, 2012.

GONÇALVES, C. Alimento seguro é um direito fundamental. 2009. Disponível em: <<http://clovisgoncalves.blogspot.com.br/2009/10/alimento-seguro-e-um-direito.html>>. Acesso em: 30 set. 2013.

MARINS, B. R.; JACOB, S. do C.; TANCREDTI, R. C. P. A rotulagem de alimentos praticada pelo estabelecimento fracionador. Será que obedece a legislação vigente? **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 137, p. 121-126, 2005.

MORAES, I. A. de; DIAS, F. de J. E. Evolução das principais ações da Vigilância Sanitária da cidade do Rio de Janeiro no período de 2001/2005. **Higiene Alimentar**, v.21, n. 150, p. 379-380, abr.,2006.

TERESINA. Lei nº 3.646, de 14 de junho de 2007. Institui o Código Sanitário do Município de Teresina, e dá outras providências. Prefeitura Municipal de Teresina. **D.O.M.**, 14 de junho de 2007, n. 1171, p. 1-14, 2007

VALENTE, D. & PASSOS, A.D.C. Avaliação higiênico-sanitária e físico-estrutural dos supermercados. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v.7, n.1, p.80-87,2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbepid/v7n1/10.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2013.

---

## **AÇÕES DE VIGILÂNCIA DA QUALIDADE DA ÁGUA EM TERESINA, PI**

**Ferreira, L.C.R.P.** <sup>(1)</sup>; **Lima, N.A.** <sup>(2)</sup>; **Muratori, M.C.S.** <sup>(3)</sup>; **Júnior, M.H.K.** <sup>(3)</sup>;  
**Aragão, L.V.O.** <sup>(4)</sup> [ligia\\_calina@hotmail.com](mailto:ligia_calina@hotmail.com)

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina - PI, Brasil;

<sup>(2)</sup> Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Desenvolvimento em Meio Ambiente da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina - PI, Brasil;

<sup>(3)</sup> Professor Adjunto, Departamento de Morfofisiologia Veterinária da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina - PI, Brasil;

<sup>(4)</sup>Gerência de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador, Fundação Municipal de Saúde, Teresina - PI, Brasil.

## RESUMO

A água é um elemento essencial à vida, porém pode trazer riscos à saúde em face de sua má qualidade, servindo de veículo para vários agentes biológicos e químicos. O controle da qualidade da água quanto a sua vigilância se faz por meio dos órgãos de saúde pública. Este estudo tem como objetivo analisar as ações do VIGIAGUA desenvolvido pelo município de Teresina, PI, no período de janeiro a agosto de 2013 quanto aos tipos de estabelecimentos e condições de potabilidade. Os dados foram obtidos com base na análise visual de fichas, laudos das análises da água e quadro de relatório em planilha eletrônica, disponíveis pela instituição como forma de arquivamento de informações sobre ações de fiscalização tendo seus resultados expressos em distribuições percentuais. Foram realizadas 248 visitas de fiscalização justificadas como de monitoramento, sendo 118 (48%) laudos insatisfatórios de potabilidade em estabelecimentos de ensino e tendo como causa valores de cor aparente e coliformes totais acima dos estabelecidos pela Portaria MS n° 2.914/2011. Conclui-se que as ações de monitoramento do programa VIGIAGUA do município de Teresina são de grande avalia como forma de garantir à população o acesso à água com qualidade para a promoção da saúde.

**Palavras-chave:** Análise da Água, Saúde Pública, Vigiagua.

## INTRODUÇÃO

A água é um elemento essencial à vida, porém pode trazer riscos à saúde em face de sua má qualidade, servindo de veículo para vários agentes biológicos e químicos; por isso, o homem deve estar atento aos fatores que podem interferir negativamente na qualidade da água que consome e no seu destino final (BARCELLOS *et al.*, 2006).

Para os profissionais de saúde, o provimento de água em quantidade e qualidade, adequada é medida básica de promoção à saúde e prevenção de doenças. Desde 1854, quando John Snow descobriu a relação existente entre o consumo de água contaminada e a incidência de cólera em Londres, as ações relativas à manutenção da potabilidade da água passaram a ser eleitos como prioritários no âmbito da saúde (FUNASA, CBVA, 2002).

O ato de vigiar a água para consumo está diretamente relacionado ao cuidado das autoridades em saúde ambiental na tentativa de protegê-la de um mau uso que possa proporcionar um risco potencial à saúde humana. A vigilância, além do caráter fiscalizador, atua rotineiramente de forma preventiva, controlando e intervindo em diversas situações suspeitas. Pela sua dinâmica, a vigilância da qualidade da água torna o trabalho do fiscal um desafio diário (CARMO *et al*, 2008). Assim, tanto o controle da qualidade da água quanto a sua vigilância, por meio dos órgãos de saúde pública, são instrumentos essenciais para a garantia da proteção à saúde dos consumidores. (BRASIL. Ministério da Saúde, 2006).

A inspeção da potabilidade da água destinada ao consumo humano se faz conforme avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da água, conforme as normas definidas pela legislação relativa aos padrões de potabilidade.

A nível municipal, a ação de vigilância relacionada à qualidade da água para o consumo humano, em Teresina, é feita pelo núcleo do VIGIAGUA presente na Gerência de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador (GEVISAST). Este segue as normas e os parâmetros da portaria MS Nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 a cerca dos procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, bem como os riscos que os sistemas e soluções alternativas de abastecimento de água representam para a saúde pública.

Este estudo tem como objetivo analisar as ações do VIGIAGUA desenvolvido pelo município de Teresina, PI, no período de janeiro a agosto de 2013, bem como quantificar os tipos de estabelecimentos e condições de potabilidade com base na análise microbiológica e físico-química da água.

## **MATERIAL E METODOS**

O VIGIAGUA tem como objetivo fazer a vigilância e o monitoramento da prestadora de serviço de abastecimento de água para consumo humano e das soluções alternativas coletivas de água (fontes, carros pipa, etc.), impedindo de forma preventiva, alguma inconformidade que possa causar danos à saúde coletiva.

Considerando a abrangência das ações de vigilância realizadas, que se desenvolvem em todas as zonas da cidade, os dados refletem uma importante caracterização das atividades de fiscalização do VIGIAGUA, como, quantidade e principais motivos das fiscalizações, tipos de estabelecimentos fiscalizados, quantidade e principais causas de análises considerando impróprio ao consumo da água. Estes dados foram obtidos com base na análise visual de fichas, laudos das análises da água e quadro de relatório em planilha eletrônica, disponíveis pela instituição como forma de arquivamento de informações sobre ações de fiscalização.

Foi autorizada pela Diretoria de Vigilância em Saúde da Fundação Municipal de Saúde a qual o núcleo do VIGIAGUA/GEVISAST municipal esta subordinada, permissão para a resolução deste projeto.

Os resultados serão apresentados em distribuições percentuais.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Durante este período, como observado na Tab.1 foram realizadas 248 visitas de fiscalização dos fiscais do VIGIAGUA, dentre os quais a sua maioria se justificou por visitas de monitoramento, onde é coletado água na entrada da rede e rede de distribuição para análise microbiológica e físico-química.

**Tabela 1.** Quantidade e motivos de fiscalizações realizadas pelo VIGIAGUA de Teresina, no período de janeiro a agosto de 2013.

<b>Fiscalizações</b>	<b>Quantidade</b>
Monitoramento	174
Denúncias	5
Surtos	59
<b>Total</b>	<b>248</b>

Fonte: Adaptado GEVISAST (2013).

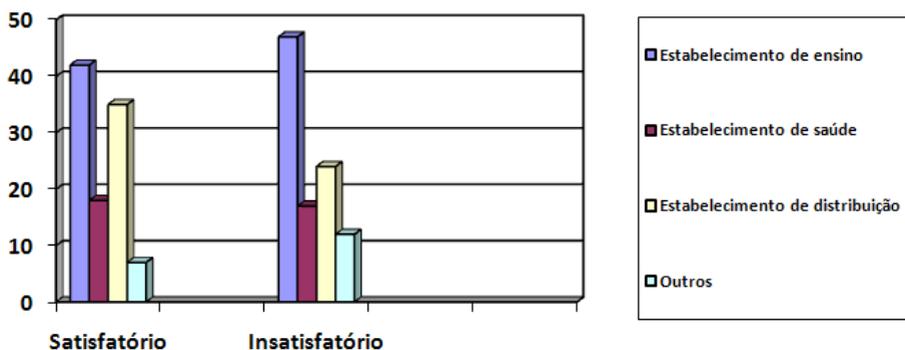
Os surtos se caracterizaram por solicitação da Gerência de Vigilância Epidemiológica do município a fim de identificar possíveis causas e fatores de risco que comprometem a qualidade da água e assim, a saúde da população. As denúncias, são solicitações de consumidores (alunos, profissionais da saúde, etc) que suspeitam da qualidade da água de abastecimento do seu local de trabalho.

Como forma de monitoramento, é coletada amostras de água da torneira antes e após a sua reservação para sua avaliação, conforme os seguintes parâmetros: cloro, flúor, turbidez, cor aparente, pH, coliformes totais e coliformes fecais (*Escherichia coli*).

Quanto aos laudos das fiscalizações quanto aos tipos de estabelecimentos, do total de laudos 248 (100%), 130 (52%) tiveram padrões satisfatórios de potabilidade da água e 118 (48%) laudos insatisfatórios. Destes, as escolas e creches foram as mais monitoradas com 55 (42%) laudos satisfatórios e 56 (47%) insatisfatórios, como apresentado na Figura 1. Os estabelecimentos relacionados aos sistemas

de distribuição (residências, reservatório de abastecimento público) na segunda posição, com 45 (35%) laudos satisfatórios e 29 (24%) insatisfatórios.

Ainda como observado, os estabelecimentos de saúde (hospitais, postos de saúde) estão em terceiro, com 23 (18%) laudos satisfatórios e 20 (17%) laudos insatisfatórios. Os outros (estabelecimentos relacionados a áreas de grande circulação como mercados públicos, condomínios e casas de apoio), apresentam 7 (5%) de laudos satisfatórios e 14 (12%) laudos insatisfatórios.

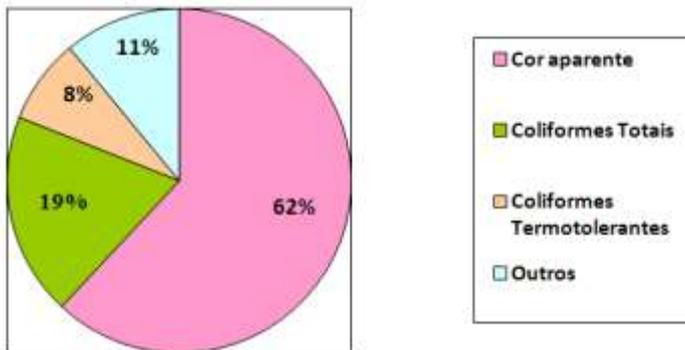


**Figura 1.** Porcentagem (%) do grau de satisfação em estabelecimentos fiscalizados pelo VIGIAGUA de Teresina, no período de janeiro a agosto de 2013. Fonte: Adaptado GEVISAST (2013).

A Figura 2 mostra a frequência das principais causas dos laudos insatisfatórios das análises de potabilidade da água. No total foram 118 laudos insatisfatórios e a cor aparente 73 (62%) dos laudos de insatisfação, apresenta-se com os maiores percentuais, com valores

acima dos valores de referência, conforme a Portaria nº 2.914/2011 atribuída pela quantidade de partículas suspensas na água.

A presença de coliformes totais em 23 (19%) dos laudos foi encontrada em análises de bebedouro em estabelecimentos de ensino que possui rede de abastecimento subterrâneo, como também, a presença de coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*) em 9 (8%) das análises. Dos outros parâmetros que apresentaram laudos de insatisfação em comparação com a legislação vigente, foram pH e turbidez, representando 13 (11%) das análises.



**Figura 2.** Causas e quantidades (%) dos laudos insatisfatório de potabilidade da água fiscalizados pelo VIGIAGUA de Teresina, no período de janeiro a agosto de 2013. Fonte: Adaptado GEVISAST (2013).

A aceitabilidade da água para consumo depende do aspecto da água. Ela deve estar livre de gosto e odores que sejam censuráveis pela maioria dos consumidores. No entanto, uma água aparentemente “limpa”, pode estar repleta de contaminantes químicos e microbiológicos (ALVES et al., 2010).

Em virtude de nestes estabelecimentos a água de abastecimento fornecida para consumo humano ser poço tubular, existe a necessidade de serem realizadas visitas de rotina alertando com instruções quanto aos cuidados higiênicos e sanitários ao reservatório, como limpeza e cloração adequada, a fim de diminuir os risco de contaminação da água e assim, preservar a saúde dos consumidores, que utilizam este as e outras formas de abastecimento como cisterna e carros pipas.

A falta de acondicionamento adequado do reservatório da água utilizada para consumo é outro agravante, pois proporciona condições à vida e à reprodução de vetores ou reservatórios de doenças, comprometendo a qualidade da água e riscos à saúde da população.

A água pode veicular um elevado número de enfermidades que podem ser transmitidas por diferentes mecanismos. O mecanismo de transmissão de doenças mais comumente lembrado e diretamente relacionado à qualidade da água é o da ingestão, por meio do qual um indivíduo sadio ingere água que contenha componente nocivo à saúde e a presença desse componente no organismo humano provoca o aparecimento de doença (BRASIL. Ministério da Saúde, 2006).

Os indicadores da qualidade da água são instrumentos necessários à construção de estratégias de promoção e prevenção no controle dos riscos ambientais, e à melhoria das condições de meio ambiente e de saúde das populações, permitindo uma visão abrangente e integrada da relação saúde e ambiente (BRASIL, 2002).

## CONCLUSÃO

Os estabelecimentos de ensino apresentaram maior índice de laudos insatisfatórios com parâmetros de cor aparente e/ou presença de coliformes totais/ termotolerantes, por terem seu sistema de abastecimento de água provido de água subterrânea.

A importância da adoção de medidas de educação e orientação à população sobre ações de cuidados com a procedência da água bem como a higienização e cloração correta dos reservatórios de água, a fim de prevenir doenças de veiculação hídrica.

As ações de monitoramento do programa VIGIÁGUA do município de Teresina são de grande avaliação como forma de garantir à população o acesso à água com qualidade compatível com o padrão de potabilidade estabelecido na legislação vigente, para a promoção da saúde.

## REFERÊNCIAS

ALVES, M. G. *et al.* Qualidade das águas de poços rasos provenientes de áreas urbanas e rurais de campos dos goytacazes (RJ). **Anais**. Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, 16, e Encontro Nacional de Perfuradores de Poços, 17, 2010. Disponível em:

<<http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22944/15081>>. Acesso em: 29 set. 2013.

ARRUDA, A.M.C.T de. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica das águas subterrâneas em municípios da mesorregião do agreste pernambucano – Brasil. **Anais**. Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas, 16 e Encontro Nacional de Perfuradores de Poços, 17. 2010. Disponível em:<<http://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/23149/15264>>. Acesso em 29 set. 2013.

BARCELLOS, C. M. *et al.* Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999 – 2000. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 9, p. 1967 -1978. set. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria nº. 2.914**, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União. Poder Executivo, Brasília, DF,

14 dez. 2011. Disponível em: <<http://www.agenciapcj.org.br/novo/images/stories/portaria-ms-2914.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde. 212 p. 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de procedimentos de vigilância em saúde ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano. Brasília, DF, 2006. (Série A. Textos Básicos de Saúde). 2006.

\_\_\_\_\_. Fundação Nacional de Saúde. Vigilância ambiental em saúde/Fundação Nacional de Saúde. Brasília: FUNASA, 2002. Disponível em:<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_sinvas.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_sinvas.pdf)>. Acesso em: 29 set. 2013.

CARMO, R.F et al. Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano: Abordagem qualitativa da identificação de perigos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v.13, n.4, dezembro de 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S141341522008000400011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141341522008000400011&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 29 set. 2013.

FUNASA (2002) Curso Básico de Vigilância Ambiental em Saúde – **CBVA**. Módulo IV.

GEVISAST TERESINA. **Gerência de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador**. Fundação Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Teresina. Rua Riachuelo nº 2988, Matadouro. Fone: (86) 3221-1466, Teresina, PI. 2013.

# ACTINOBACTÉRIAS DA CAATINGA PRODUTORAS DE METABÓLITOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO VEGETAL

Lins, M.R.C.R.<sup>(1)</sup>; Corrêa, G.G.<sup>(1)</sup>; Vasconcellos, N.M.<sup>(1)</sup>; Fontes-Vieira, J.M.<sup>(1)</sup>;  
Araújo, E.A.<sup>(1)</sup>; Silva, D.T.F.<sup>1</sup>; Lima, G.M.S.<sup>(1)</sup>; Araújo, J.M.<sup>(1)</sup>

milca.biomed@gmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

As actinobactérias podem sintetizar muitos metabólitos de importância biotecnológica representando desta forma uma fonte de grande impacto para a agricultura. Entre os metabólitos estão as enzimas fosfatases e a amônia, que são sintetizados por estes micro-organismos e favorecem o crescimento vegetal. Diante deste fato, o presente trabalho teve como objetivo analisar 80 actinobactérias isoladas de rizosferas da Caatinga que produzam estas substâncias bioativas. A produção de fosfatases foi avaliada e foi observado que 97,5% (78) das actinobactérias são produtoras desta enzima. Análises qualitativa e quantitativa da produção de amônia foram realizadas e foi observado que 80% (64) das linhagens testadas produzem amônia em concentrações variando de 3,59 a 292,31  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Posteriormente, serão realizados testes com sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.)), em casa de vegetação, para confirmar o potencial destas actinobactérias em promover o crescimento desta planta.

**Palavras-chave:** Desenvolvimento de Plantas, Rizobactérias, Fosfatases e Amônia.

## INTRODUÇÃO

Buscas por alternativas para tentar diminuir a aplicação de produtos químicos são realizadas em todo mundo com a finalidade de reduzir os

impactos causados ao meio ambiente por esses agentes que além de poluir, causam desequilíbrio ecológico (LIMA, 2009).

Várias bactérias podem promover o crescimento vegetal e são denominadas Rizobactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (RPCP). Dentro do grupo Bacteria, o filo Actinobacteria se destaca como biofertilizante, promovendo o crescimento vegetal e atuando no controle biológico. Estas actinobactérias têm sido amplamente estudadas nas últimas décadas como uma alternativa ao uso de agrotóxicos (OLIVEIRA et al., 2003).

As actinobactérias RPCP promovem o crescimento vegetal através de mecanismos diretos e indiretos, dentre os quais se destacam a solubilização de fósforo pelas fosfatases e fixação biológica de nitrogênio ( $N_2$ ), além da produção de substâncias antimicrobianas (NIMNOI et al., 2010; SOLANS et al., 2011).

As actinobactérias que apresentam mais de uma característica para a promoção de crescimento vegetal, como por exemplo, a produção de fosfatases para solubilização de fósforo e/ou produção de amônia são importantes para aplicação no campo visando o desenvolvimento sustentável da agricultura.

Por este motivo, análises das actinobactérias isoladas da rizosfera da Caatinga são importantes para se conhecer o seu papel ecológico neste bioma inexplorado permitindo assim um melhor conhecimento entre o habitat e estes micro-organismos. Além disto, é possível avaliar o potencial das actinobactérias em produzir substâncias que podem ser

aplicadas na agricultura visando à diminuição do uso de agrotóxicos na agricultura brasileira para melhoramento da qualidade de produtos agroindustriais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismos***

Foram utilizadas 80 linhagens de actinobactérias isoladas de diferentes amostras da rizosfera da Caatinga (*Melocactus* sp, Pereiro e *Terminalia fagifolia*) pertencentes à Coleção de Cultura de Microrganismos (UFPEDA) do Departamento de Antibióticos.

### ***Avaliação da produção de fosfatases***

A produção de fosfatases pelas actinobactérias foi observada por meio da metodologia de Ribeiro e Cardoso (2012) com pequenas modificações.

Cada linhagem foi cultivada em placas de Petri contendo meio ISP-2 ou ISP-3. Após cultivo, blocos de gelose de cada actinobactéria foram transferidos para o meio ISP-2 suplementado com solução de difosfato de fenoftaleína (0,5%) e cultivadas por cinco dias a 37 °C. Para revelação foram adicionadas gotas da solução de hidróxido de amônio (8,4%) nas tampas das placas e após 15 minutos, observado se as linhagens produzem fosfatases pela formação de uma zona rosa ao redor das colônias. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### *Avaliação da produção de amônia (NH<sub>3</sub>) qualitativa e quantitativa*

A produção de amônia pelas actinobactérias foi realizada segundo a metodologia descrita por Kavamura et al. (2012).

Inicialmente, cada linhagem foi cultivada em água peptonada por 48 horas a 37 °C sob agitação de 180 rpm. Após o cultivo, 10% (v/v) de cada pré-inóculo foram transferidos para outros tubos contendo água peptonada e cultivados por cinco dias nas mesmas condições anteriormente citadas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas e ao sobrenadante foi adicionado o reagente de Nessler na proporção de 1,0:0,5 (v/v). O desenvolvimento de cor amarela claro indicou baixa produção de amônia e a coloração amarronzada indicou uma alta produção.

Para quantificação da amônia produzida foi realizada uma curva-padrão com concentrações conhecidas de sulfato de amônio. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados mostram que 97,5% (78) das actinobactérias produzem fosfatases pela formação de zona rosa ao redor das colônias após a adição de hidróxido de amônio.

Os resultados obtidos foram expressos de acordo com Kavamura et al. (2012). Das linhagens produtoras de fosfatases, 75,64% (59) mostraram

halo maior que 10 mm, representado por duas cruzes (++) e 24,36% (19) das actinobactérias apresentaram zonas menores que 10 mm (+).

A principal fonte de fosfatases no solo é de origem microbiana, e sua atividade aumenta substancialmente na rizosfera, tornando necessário o conhecimento de quais micro-organismos produzem estas enzimas para elucidar os mecanismos de ação destas enzimas (RIBEIRO; CARDOSO, 2012).

No estudo realizado por Meena et al. (2013) foi observado que dentre as 26 actinobactérias isoladas de ambiente marinho, 30,77% (8) produzem fosfatases, além de outras enzimas importantes que podem ser utilizadas na indústria.

Ribeiro e Cardoso (2012) observaram que das 96 bactérias associadas a raízes da *Araucaria angustifolia*, 85% (83) dos isolados produzem fosfatases.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram o grande potencial das actinobactérias isoladas da rizosfera da Caatinga em relação à produção de fosfatases, pois confirmam e se correlacionam com os resultados analisados na solubilização de fosfato.

Do total de actinobactérias testadas, foi observado que 80% (64) produzem  $\text{NH}_3$  em concentrações que variam de 3,59 a 292,31  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Em trabalho similar, Arun et al. (2012) avaliaram qualitativamente a promoção do crescimento de plantas pela produção de amônia de 35

bactérias com morfotipos diferentes isoladas da rizosfera de *Cassia occidentalis*, e observaram que 85,71% (30) produzem esta substância, além de apresentar outros mecanismos de promoção do crescimento vegetal.

De acordo com Nimnoi et al. (2010), 10 actinobactérias endofíticas da planta *Aquilaria crassna* Pierre ex Lec foram isoladas, e todas apresentaram produção de amônia que variou de 2 a 60 mg.mL<sup>-1</sup>, sugerindo que estas linhagens apresentam potencial em promover o desenvolvimento de plantas.

Portanto, os resultados obtidos neste estudo evidenciam altas concentrações de amônia produzida pelas actinobactérias rizosféricas do *Melocactus* sp., Pereiro e *Terminalia fagifolia*, indicando que podem exercer um papel fundamental na fixação biológica do nitrogênio e também possivelmente influenciar a antibiose frente aos fitopatógenos, pois é um composto volátil.

Outros mecanismos para promoção do crescimento vegetal foram avaliados previamente por nosso grupo de pesquisa com estas 80 linhagens isoladas de rizosferas da Caatinga e foi observado que todas as actinobactérias apresentaram pelo menos dois mecanismos ou mais de promoção de crescimento vegetal.

Estes micro-organismos que tenham capacidade em exercer vários mecanismos para a promoção de crescimento vegetal são importantes, pois possuem um alto potencial e podem ser utilizados na agroindústria.

Testes *in vivo* em casa de vegetação utilizando sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp.)) serão realizados visando a confirmação a característica destes micro-organismos em promover o desenvolvimento desta planta.

## CONCLUSÃO

Das actinobactérias isoladas de rizosferas da Caatinga, 97,5% (78) apresentam produção de fosfatases, sendo um importante mecanismo de promoção vegetal desempenhado por estas bactérias filamentosas.

Dentre as linhagens avaliadas, 80% (64) produzem amônia em concentrações variando de 3,59 a 292,31  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , sugerindo assim que estas actinobactérias têm um papel importante no ciclo do nitrogênio além de apresentar atividade antimicrobiana frente fitopatógenos.

## REFERÊNCIAS

ARUN, B.; GOPINATH, B.; SHARMA, S. Plant growth promoting potential of bacteria isolated on N free media from rhizosphere of *Cassia occidentalis*. **World journal of microbiology & biotechnology**, 28 (9): 2849–57. 2012.

KAVAMURA, V. N.; SANTOS, S. N.; SILVA, J. L.; PARMA, M. M.; AVILA, L. A.; VISCONTI, A.; ZUCCHI, T. D.; TAKETANI, R. G.; ANDREOTE, F. D.; MELO, I. S. Screening of Brazilian Cacti Rhizobacteria for Plant Growth Promotion Under Drought. **Microbiological Research**, 168 (4): 183–91. 2012.

LIMA, G. M. S. **Toxinas Recombinantes Cry2Aa e Cry11A de *Bacillus thuringiensis* Expressas Em Células de Inseto São Tóxicas Para Larvas de**

**Lepidoptera e Diptera.** Tese de Doutorado. Departamento de Biologia Celular. Universidade de Brasília. 2009.

MEENA, B.; RAJAN, L. A.; VINITHKUMAR, N. V.; KIRUBAGARAN, R. Novel Marine Actinobacteria from Emerald Andaman & Nicobar Islands: a Prospective Source for Industrial and Pharmaceutical Byproducts. **BMC Microbiology**, 13: 1-17. 2013.

NIMNOI, P.; PONGSILP, N.; LUMYONG, S. Endophytic Actinomycetes Isolated from *Aquilaria crassna* Pierre Ex Lec and Screening of Plant Growth Promoters Production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 26 (2): 193–203. 2010.

OLIVEIRA, A. L. M.; URQUIAGA, S.; BALDANI, J. I. **Processos e Mecanismos Envolvidos Na Influência de Microrganismos Sobre o Crescimento Vegetal.** Embrapa Agrobiologia, 161. Seropédica. 2003.

RIBEIRO, C. M.; CARDOSO, E. J. B. N. Isolation, Selection and Characterization of Root-associated Growth Promoting Bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*). **Microbiological Research**, 167 (2): 69–78. 2012.

SOLANS, M.; VOBIS G.; CASSÁN, F.; LUNA, V.; WALL, L. G. Production of Phytohormones b,y Root-associated Saprophytic Actinomycetes Isolated from the Actinorhizal Plant *Ochetophila trinervis*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 27 (9): 2195–2202. 2011.

---

## **ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DA CATINGUEIRA COMO PRODUTORAS DE ENZIMAS ANTI-TUMORAIS**

Silva, W. O.<sup>(1)</sup> ; Silva, I. L.<sup>(1)</sup>; Silva, L. A. O.<sup>(2)</sup> wellmaoliveira@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade de Pernambuco – UPE, Recife – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Departamento de Antibióticos – UFPE, Recife – PE, Brasil / Universidade Federal do Amazonas, Manaus – UFAM, Manaus – AM, Brasil.

## RESUMO

As actinobactérias têm sido úteis na indústria farmacêutica por sua capacidade ilimitada de produzir metabólitos secundários com várias estruturas químicas e atividades biológicas. A busca de novas espécies de actinobactérias constitui em um componente essencial para a descoberta de novas drogas farmacêuticas. As actinobactérias estão largamente distribuídas no solo, água e outros ambientes naturais e possuem um alto potencial enzimático, entre elas as enzimas L- asparaginase e L- glutaminase. Portanto, este trabalho objetiva a pesquisa de enzimas extracelulares com ação anti-neoplásica por actinobactérias isoladas da rizosfera da Catingueira do período de inverno. Neste trabalho foram utilizados meios de cultura sólidos acrescidos de vermelho fenol contendo L-glutamina e L-asparagina como fonte de carbono e nitrogênio. Detectou-se 10% dos micro-organismo estudados como potenciais produtores de L-asparaginase e L-glutaminase, sendo que 5% destas linhagens apresentaram resultados positivos para ambos os testes, indicando a possível produção de L-asparaginase do tipo I e do tipo II. Com os dados obtidos no presente estudo, evidenciou-se o amplo potencial farmacológico destas actinobactérias e sua grande importância no estudo de diferentes ambientes.

**Palavras-chave:** Actinobactérias, L-asparaginase, L-glutaminase.

## INTRODUÇÃO

A rizosfera, região do solo sob influência direta da presença das raízes, com características distintas das do solo, é a região onde ocorre a maior parte das interações entre micro-organismos e plantas (EMBRAPA, 2000). À medida que as raízes das plantas se desenvolvem, elas são capazes de influenciar a comunidade microbiana por meio da liberação de exsudados, fazendo com que a rizosfera seja caracterizada por uma comunidade microbiana selecionada (DEANGELIS; BRODIE *et al*, 2008).

As actinobactérias são bactérias Gram-positivas, com alto conteúdo C+G (guanina + citosina). São degradadoras da matéria orgânica como celulose, lignina e quitina, gerando biomassa proteica ou mesmo servindo como alimento para outros organismos (AZUMA, 2011). A importância destes micro-organismos na rizosfera tem sido relacionada com a produção de antibióticos. Entretanto, a importância das actinobactérias também tem sido relacionada com a produção de diversas substâncias de aplicação farmacológica e industrial, incluindo enzimas, inibidores enzimáticos e agentes imunomoduladores (NEVES, 2008). Dentre estas enzimas encontram-se a L-asparaginase e a L-glutaminase, que tem sido atrativo industrial na produção de antineoplásico. A L-asparagina é decomposta para o ácido L-aspartico e amoníaco por uma enzima exocelular a L-asparaginase. Contudo, a L-glutamina desempenha um papel importante no ciclo do nitrogênio no solo. Esta é decomposta para o ácido L-glutâmico e amônia por uma enzima exocelular a L-glutaminase (BALAGURUNATHAN *et al.*, 2010).

A L-asparaginase (L-asparagina aminohidrolase E.C.3.5.1.1) tem sido clinicamente aceitável, como agente antitumoral no tratamento da Leucemia Aguda e linfossarcoma linfoblástico (VERMA *et al.*, 2007). Ela catalisa a conversão da L-asparagina a L-aspartato e amônia, e esta reação catalítica é essencialmente irreversível sob condições fisiológicas (PRAKASHAM *et al.*, 2006). A ação clínica desta enzima é atribuída à redução de L-asparagina, uma vez que as células tumorais

são incapazes de sintetizar este aminoácido, seletivamente mortas pela privação da L-asparagina (AMENA *et al.* 2010; SZELIGA; OBARA-MICHLEWSKA, 2009). L-asparaginase é produzida por um grande número de micro-organismos que incluem *Escherichia coli*, *Erwinia aroideae*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter aerogenes*. (KATTIMANI *et al.*, 2009). Enquanto a maioria dos estudos sobre actinobactérias focam na produção de antibiótico, poucos relatos objetivaram seu potencial enzimático, porém Actinomicetes têm mostrado ser uma boa fonte para a L-asparaginase (BASHA *et al*, 2009).

Vários actinomicetos, especialmente aqueles isolados de rizosferas, tais como *Streptomyces griseus*, *S. karnatakensis*, *S. albidoflavus* e *Nocardia sp.* tem habilidades para produzir essa enzima ( KHAMNA; YOKOTA; LUMYONG, 2009). Nos últimos anos, a L-glutaminase tem atraído muita atenção tanto na indústria farmacêutica como na alimentar. Na indústria alimentar, a L-glutaminase é usada como um intensificador de sabor pelo aumento do teor de ácido glutâmico em alimentos por meio da hidrólise de L-glutamina em ácido L -glutâmico e amônia. É também usado no tratamento de câncer, especialmente para Leucemia Linfocítica Aguda. Outra aplicação importante de L-glutaminase é biossensores para monitorar os níveis de glutamina em células de mamíferos e hibridoma (KATIKALA, 2009).

O bioma Caatinga, único bioma exclusivamente brasileiro (SCHOBER, 2002), significa mata branca na língua nativa, Tupi-Guarani. Ele está localizado no Nordeste semi-árido do Brasil, onde a biota da Caatinga é pouco conhecida. Porém, em maio de 2013, de acordo com o Instituto nacional do Semiárido, foi criado Núcleo de Bioprospecção e Conservação da Caatinga, cujos trabalhos estarão voltados à busca de moléculas bioativas de plantas da Caatinga que têm despertado o interesse de pesquisadores em função de suas potenciais atividades biológicas, tais como: antimicrobiana, tóxica e citotóxica, antitumoral, mitogênica, anti-inflamatória, cicatrizante, analgésica e anti-veneno.

Neste contexto o presente visou avaliar o potencial biotecnológico das actinobactérias isoladas da rizosfera da catingueira do período de inverno cedidas pelo Departamento de Antibióticos da UFPE. Avaliando assim, qualitativamente os isolados microbiológicos quanto à capacidade para a produção de L- asparaginase, L-glutaminase.

## **MATERIAL E METÓDOS**

Foram analisadas 40 linhagens de actinobactérias, isoladas da rizosfera de Catingueira, no período de inverno. Para o isolamento dos microorganismos, no preparo da amostra utilizou-se uma mistura de 10 gramas de solo (rizosférico da catingueira) e 90 mL de NaCl a 0,9 % (m/v), sob agitação 120 rpm por 20 min, a 37<sup>0</sup>C. Após este período foi submetido ao banho-maria a 50 °C por 15 minutos (MARRONI;

GERMANI, 2011). Posteriormente realizou-se uma diluição seriada na razão de 1:10 até a diluição  $1 \times 10^{-5}$ , procedendo-se à transferência de 1 mL das três últimas diluições (KING *et al.*, 1954). Em seguida, retirou-se 100  $\mu$ L das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , para semeio em placas contendo meios específicos para actinobactérias como o MC-ÁGAR e AV modificado, semeou-se com a alça de Drigaskly. As placas foram mantidas por 7 dias a 37°C em BOD (Biochemical Oxygen Demand). As colônias individualizadas de cada placa, que apresentam coloração, tamanho e forma diferente foram transferidas para placas contendo os referidos meios (SANTIAGO, 2010). As referidas linhagens purificadas, foram cultivadas por 7 dias a 37°C, nos seus respectivos meios (ISP2,ISP3 e ISP4), posteriormente submetidas a teste qualitativos quanto a capacidade de produzir as enzimas L-asparaginase e L-glutaminase.

Para os ensaios de detecção da enzima L-asparaginase, foi utilizado o meio M-9 descrito por Gulati *et al* (1997) composto de:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (6 g/L),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (3g/L), NaCl (0,5g/L), L-asparagina (5 g/L),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,014 g/L), Glicose (2 g/L), Vermelho de fenol (0,09 g/L), Ágar (15/L), pH 7,0. Para os ensaios de detecção de L-glutaminase, utilizou-se o meio Minimal Glutamine Agar (MGA), descrito por Balagurunathan *et al* (2010) composto por: KCl (0,5 g/L);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1,0 g/L);  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,1 g/L);  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,1 g/L); NaCl (0,25); L-glutamina (10 g/L); vermelho fenol (0,012 g/L). Em ambos os testes

enzimáticos, os isolados de actinobacterias crescidos com 7 dias foram repicados nos meios M-9 e MGA, incubados a 37 °C, por 24 e 48 horas. O corante vermelho fenol foi utilizado como indicador da mudança de pH, ocasionada pela quebra da L-asparagina em ácido L-aspartico e amônia, bem como a quebra da L-glutaminase em ácido glutâmico e amônia, identificando a presença das respectivas enzimas pela modificação da coloração do meio. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Após o teste qualitativo de actinobactérias isolados da Caatinga para produção de L-asparaginase e L-glutaminase. Teve inicio a realização da técnica de microcultivo, para identificação morfológica dos actinobactérias que apresentaram produção enzimática.

Para análise morfológica da actinobactéria, os micro-organismos foram cultivados nos meios ISP2 , ISP3( Farinha de aveia ágar) e GAA (Glicerol asparagina ágar), com a inserção parcial de lamínulas nos meios de cultura para crescimento das hifas sobre sua superfície e incubado a 37 °C por cerca de 12 dias. Após o período de incubação, foram observadas características culturais tais como coloração e pigmentação além de características micromorfológicas, através do microscópio óptico, como presença ou ausência de esporos, forma da cadeia de esporos ou a presença de esporângio. (SORAES *et al.*, 2012).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Das 40 linhagens obtidas do isolamento da rizosfera da catingueira no período de inverno (Tabela 1), apenas 5 % (micro-organismos 8-AV4/3

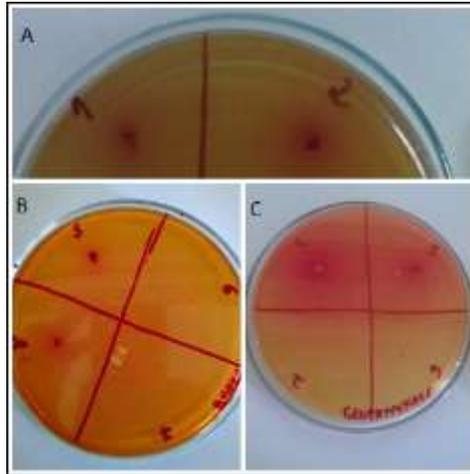
e 5-A4/4/2) apresentaram produção de L-asparaginase e 10% (micro-organismos 1-MC4/5/9, 2-AV/15, 8-AV4/3 e 5-A4/4/2) para L-Glutaminase (Figura 1), sendo que os micro-organismos 8-AV4/3 e 5-A4/4/2, apresentaram positividade para ambas as enzimas. Kahmna *et al* (2009) encontraram 6,7% das linhagens de actinobactérias isoladas da rizosfera de plantas medicinais como produtoras de L-asparaginase. Basha *et al* (2009) obtiveram 10 isolados de amostras marinhas, porém apenas três apresentaram atividade L-asparaginásica. Como descrito por Cappelletti *et al* (2008), L-asparaginase pode possuir atividade glutaminolítica, pertencendo, assim, a classe tipo II de asparaginase. Os resultados obtidos no presente estudo indicam uma incidência de atividade asparaginásica menor que a produção de glutaminase, sugerindo que a maioria das linhagens produzem L-asparaginase tipo II. Este resultado encontra-se claro diante da produção de L-glutaminase pelas linhagens isoladas da Catingueira.

**Tabela 1.** Teste qualitativo de actinobactérias isolados da Catinga para produção de L-asparaginase e L-glutaminase.

Actinobactérias	Glutaminase	Asparaginase	Actinobactérias	Glutaminase	Asparaginase
1-MC4/5/9	-	ND	21- AV4/17	ND	ND
2-AV/15	-	ND	22- AV4/17/1	ND	ND
3-AV4/11	ND	ND	23- AV4/10	ND	ND
4-12/53	ND	ND	24- AV4/9	ND	ND
5-A4/4/2	+	+	25-ISP1/AV4/9	ND	ND
6-12/A4/12	ND	ND	26-MC4	ND	ND
7-MC4/8	ND	ND	27-AV4/18 C	ND	ND
8-AV4/3	-	-	28- BDA 1	ND	ND
9-AV4/3/2	ND	ND	29- AV4/8	ND	ND
10-MC4/9	ND	ND	30- AV4/9/1	ND	ND
11- AV4/5/1	ND	ND	31- MC5/9	ND	ND
12- AV4/3/2	ND	ND	32-ISP2/ MC3/4	ND	ND
13- AV4/18-B	ND	ND	33- AV4/3	ND	ND
14- AV4/4	ND	ND	34- ISP2/MC3/3	ND	ND
15- AV12	ND	ND	35- MC4/4	ND	ND
16-BD3/ISP2	ND	ND	36- MC3/8	ND	ND
17- AV4/18- A	ND	ND	37-	ND	ND
18-ISP2/A4/13	ND	ND	38- AV4/9/1	ND	ND
19- MC5/2	ND	ND	39-AV4/3/2	ND	ND
20- A4/9	ND	ND	40-MC4/9	ND	ND

ND= Não detectado;

+ = Detectado produção;



**Figura 1.** (A) e (C) Resultados positivos do teste qualitativo de L- Glutaminase, (B) Resultados positivos do teste qualitativo de L- Asparaginase, com actinobactérias da Caatinga.

Entre os 4 microcultivos realizados os micro-organismo de número 5, 2 e 8 foram parcialmente identificados, como pertencentes ao gênero actinomadura porém ainda será necessário o teste da parede celular para confirmação. O micro-organismo número 1, não apresentou esporulação satisfatória para a caracterização, por este motivo a técnica será posteriormente refeita em outros meios de cultura, propicio a estas actinobactérias. Gênero de Actinomadura (Figura 2) é composto por micro-organismos aeróbios, crescem numa faixa de temperaturas entre 10-60 ° C. A morfologia das espécies desse gênero é caracterizada por um grande número de hifas vegetativas ramificada e substrato não fragmentado, além de possuir denso micélio. Praticamente todas as

espécies desenvolveram micélio aéreo, que pode ter variadas cores. As cadeias de esporos podem ser espirais em linha reta, curva ou irregular. A superfície do esporo pode parecer irregular ou suave (BERGE Y'S , 1994; MEYER, 1989).



**Figura 2:** Micro-organismo isolado número 5-A4/4/2, identificado como *Actinomadura*.

## CONCLUSÃO

Apesar das condições físico-químicas do solo não serem favoráveis ao crescimento de uma vasta vegetação, mas sim de árvores arbustivas de pequeno porte, este estudo mostra que a rizosfera da caatinga, possui um gama de micro-organismos com o potencial biotecnológico significativo. Conclui-se que os micro-organismos analisados oferecem potencial na produção de fármacos antitumorais, entretanto são necessárias análises adicionais para quantificação das enzimas analisadas e suas características físico-químicas.

## REFERÊNCIAS

- AMENA, S. *et al.* Production, purification and characterization of L-asparaginase from *streptomyces*. **Brazilian Journal Of Microbiology**, Karnataka, p. 173-178. 2010.
- ARAUJO, F. F.; PEDROSO, R. A. B. Interação de *Bacillus sp.* com a rizosfera de três espécies de plantas forrageiras. **Biosci. J**, Uberlândia, n. , p.152-158, fev. 2013.
- AZUMA, M. V. P. **Actinobactérias com potencial biotecnológico**. 95 f. Dissertação (Pós- Graduação) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- BALAGURUNATHAN, R.; RADHAKRISHNAN, M.; SOMASUNDARAM, S.t.. L- glutaminase Producing Actinomycetes from Marine Sediments – Selective Isolation,. **Australian Journal of Basic And Applied Sciences**, Tamilnadu, p. 698-705. 2010.
- BASHA, N Saleem et al. Production of Extracellular Anti-leukaemic Enzyme Lasparaginase. **Tropical Journal Of Pharmaceutical Research**, Benin City, p. 353-360. ago. 2009.
- Berge y's Manual of determinative bacteriology. 1994 J. G. Holt, N. R. Krieg, P. H. A. Sneath y J. T. Stanley (editores). Zippincott Williams & Wilkings, USA.
- Instituto Nacional do semiarido. **Criado Núcleo de Bioprospeção e Conservação da Caatinga Leia mais em: <http://www.insa.gov.br/noticias/criado-nucleo-de-bioprospeccao-e-conservacao-da-caatinga/>**. Disponível em <<http://www.insa.gov.br/noticias/criado-nucleo-de-bioprospeccao-e-conservacao-da-caatinga/>>. Acesso em: 03 out. 2013.
- KANAZAWA, S.; KIYOTA; HIROMASA. Estimation of L-glutaminase and L-asparaginase. **Soil Science And Plant Nutrition**, London, n. , p.305-311, set. 2013.
- KATTIMANI, L. *et al.* Immobilization of *Streptomyces gulbargensis* in. **Iranian Journal Of Biotechnology**, Karnataka, p. 199-204. ago. 2009.
- KHAMNA, S.; YOKOTA, A.; LUMYONG, S. L-Asparaginase production by *actinomycetes* isolated from some. **International Journal of Integrative Biology**, Chiang Mai, p. 22-26. jan. 2009.
- MEDEIROS, Viviane Ferreira de et al. Potencial larvicida de plantas do semi-árido do nordeste do Brasil no controle de *Aedes aegypti*. In: CONNEP- CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, p. 1 – 8, Palmas. 2012.

MENDES, Rodrigo. Microbioma da rizosfera e proteção de plantas. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, n. , p.1-2, fev. 2012.

Meyer, J. 1989. Actinomadura. En Bergeys's manual of determinative bacteriology ed. The Williams & Wilkins Co. Vol. 4. P 2511-2526.

PEREIRA, J. C. **Interações entre as Populações de Actinomicetos e outros Organismos na Rizosfera**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 15p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 118).

SILVA, Monique Suela et al. Brazilian Cerrado Soil Actinobacteria Ecology. **Biomed Research International**, Lavras, n. , p.1-10, dez. 2012.

TIZZOT, Maria Regina P. A. et al. Asparaginase [EC 3.5.1.1] de **Tuiuti: Ciência e Cultura**, Curitiba, n. , p.53-72, 2005.

---

## **ALFA-AMILASES DO *Colossoma macropomum*: OBTENÇÃO E SENSIBILIDADE A ÍONS METÁLICOS**

**Ferreira, A.C.M.<sup>(1)</sup>; Bezerra, R.S.<sup>(1)</sup>** amaliamedeiros@gmail.com

<sup>(1)</sup> Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.

### **RESUMO**

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, peixe amplamente distribuído na parte tropical da América do Sul, é a terceira espécie mais cultivada no Brasil, tendo vários aproveitamentos, seja na alimentação humana e animal, ou mesmo em estudos científicos. Este trabalho teve como objetivo extrair e avaliar a atividade de alfa-amilases presentes nos cecos pilóricos do tambaqui expostas a íons metálicos. Os cecos pilóricos do animal foram retirados, homogeneizados com tampão-fosfato pH 7,5 10mM e em seguida centrifugados para obtenção do extrato enzimático. Foram mensuradas a atividade amilolítica e a sensibilidade da enzima frente aos íons metálicos

HgCl<sub>3</sub>, CuCl<sub>2</sub>, PbCl<sub>2</sub>, CdSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> e AlCl<sub>3</sub> na concentração de 5 mM. A alfa-amilase apresentou significativa sensibilidade aos íons aos quais foi exposta, onde se pode observar diferentes respostas, desde alta inibição na presença de HgCl<sub>3</sub> e CuCl<sub>2</sub> a ativação enzimática quando incubada com AlCl<sub>3</sub>. Os resultados sugerem que devido à sensibilidade da alfa-amilase pilórica a íons metálicos, a mesma possa ser utilizada como objeto de estudos de biomonitoramento.

**Palavras-Chave:** Tambaqui, Enzimas Pilóricas, Metais.

## INTRODUÇÃO

O crescimento indiscriminado das atividades antropogênicas tem causado aumento nos níveis de resíduos, que em sua maioria são depositados no ambiente aquático. Esses contaminantes podem causar diversos danos, sejam eles diretamente ao ambiente, às espécies animais e vegetais que nele vivem, ou mesmo àqueles que consomem organismos expostos a esses contaminantes. Elementos tóxicos podem ser muito prejudiciais, mesmo em baixas concentrações, quando ingeridos durante um longo período de tempo (TUZEN et al., 2003; ULUOZLU et al. 2007). Frente a esta realidade, o meio científico busca desenvolver pesquisas que contribuam para o diagnóstico e controle desses contaminantes ambientais. Atualmente vários trabalhos de biomonitoramento utilizando animais aquáticos tem sido realizados, principalmente com peixes

O tambaqui, *Collossoma macropomum*, (Figura 1) é uma espécie pertencente à família Serrasalmidae e à subfamília Serrasalminae. Este peixe de piracema, nativo das bacias dos rios Solimões, Amazonas e

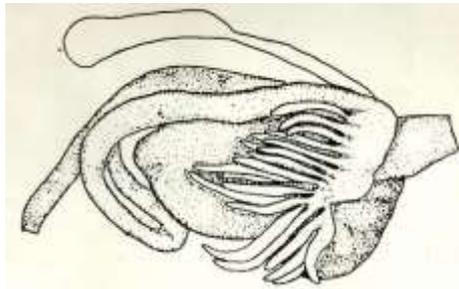
Orinoco, é amplamente distribuído na parte tropical da América do Sul e na Amazônia Central, e muito apreciado por seu sabor, sendo importante fonte de proteína animal (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1997). O tambaqui apresenta hábito onívoro com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro (GOULDING & CARVALHO, 1982; VAL & HONCZARYK, 1995). É a primeira espécie sobre a qual se conhece o suficiente de modo a manejar os estoques naturais e promover sua criação em cativeiro de forma bastante produtiva (ARAÚJO-LIMA e GOULDING,1997).



**Figura 1.** *Collossoma macropomum*.

As espécies de peixe diferem muito quanto a sua habilidade de digerir carboidratos. Esta variabilidade reflete diferenças anatômicas e funcionais da região gastrointestinal e órgãos associados à digestão. Sistemas capazes de digerir uma variedade maior de carboidratos se desenvolveram nos peixes herbívoros e onívoros como o tambaqui, ao contrário dos carnívoros (KROGDAHL et al., 2005). A característica

mais relevante das espécies do gênero *Colossoma* é a presença de um grande número de cecos pilóricos, que variam de 30 a 40, mas podendo chegar até a 75 (Figura 2) (MACHADO-ALLISON, 1982). Este órgão tem função similar ao pâncreas de outros vertebrados, sendo responsáveis pela produção de enzimas alcalinas. Estudos anteriores com o tambaqui propiciaram informações sobre o perfil de enzimas digestivas endógenas, como a atividade da amilase (KOHLA et al., 1992).



**Figura 2.** Vista lateral direita do sistema digestório do tambaqui. es - esôfago; e - estômago; i - intestino; cp - cecos pilóricos. (Fonte: MACHADO-ALLISON, 1983).

Amilases são enzimas responsáveis pela hidrólise do amido e glicogênio. A  $\alpha$ -amilase [EC 3.2.1.1] é uma endocarboidrase encontrada na saliva e no trato digestivo de animais (SALEH et al., 2004), ela é responsável pela hidrólise de ligações glicosídicas  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) presentes no amido e glicogênio dando origem a oligossacarídeos. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a sensibilidade da alfa-amilase

presente nos cecos pilóricos do tambaqui, *Colossoma macropomum*, frente a íons metálicos na concentração estabelecida de 5 mM.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção das amostras***

As espécies foram sacrificadas em gelo, suas vísceras foram removidas e armazenadas a -20 °C para obtenção do extrato enzimático. Os cecos pilóricos, órgão escolhido para extração da alfa-amilase, foram macerados e homogeneizados com tampão fosfato pH 7,5 10 mM, em seguida o homogenato foi centrifugado por 25 minutos a 10.000xg a temperatura constante de 4 °C para remoção de resquícios de gorduras e células. O sobrenadante foi coletado para as análises enzimáticas.

### ***Atividade Amilolítica***

A atividade da alfa-amilase foi mensurada de acordo com a metodologia de Bernfeld (1955), usando amido 2% como substrato. Em resumo, uma alíquota de 20µL de amostra é misturada a 125 µL de solução de amido a 2% e 125 µL de tampão fosfato 10mM, pH 7,5. Após um período de incubação de 10 minutos a 37 °C, adiciona-se o reagente DNSA (ácido 3,5 dinitrosalicílico) e a mistura será aquecida a 100 °C por 10 minutos. A leitura é realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 570 nm. Um branco sem substrato e um controle sem extrato também foram avaliados. O ensaio foi realizado

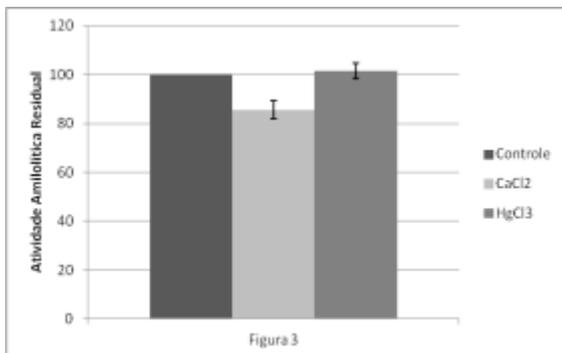
em quadruplicata. Uma unidade de atividade enzimática será expressa como a quantidade de enzima capaz de produzir 1µg de maltose por minuto.

### ***Sensibilidade a Íons***

O efeito da presença de íons metálicos sobre a atividade amilolítica foi avaliado segundo metodologia adaptada de Souza et al. (2007). Uma alíquota da fração obtida será incubada a 37 °C com as soluções dos íons HgCl<sub>3</sub>, CuCl<sub>2</sub>, PbCl<sub>2</sub>, CdSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> e AlCl<sub>3</sub> na concentração de 5 mM. Passados 20 minutos, são acrescentados à mistura tampão fosfato 10mM, pH 7,5 e amido 2%. Após 10 minutos, é adicionado o DNSA para a determinação da atividade amilolítica, já descrita anteriormente. A atividade da amilase sem a adição de íons foi utilizada como controle, correspondendo à atividade 100%.

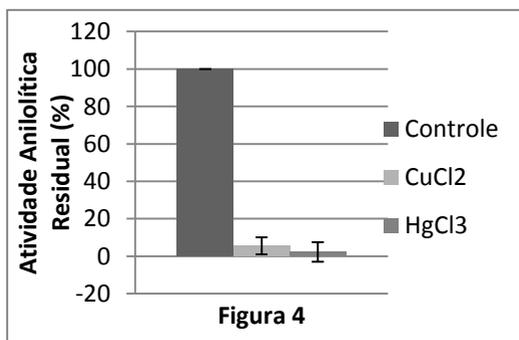
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A alfa-amilase pilórica respondeu de diferentes formas na presença dos íons metálicos. Quando incubada com o íon AlCl<sub>3</sub>, a mesma sofreu ativação enzimática, exibindo uma atividade residual de 101,4%. Esperava-se este mesmo resultado da incubação com o íon CaCl<sub>2</sub>, uma vez que estudos mostram que o referido íon tem propriedade de estimular a atividade de amilases, no entanto, a atividade residual da incubação com CaCl<sub>2</sub> o foi de 85,6% (Figura 3).



**Figura 3.** Atividade Amilolítica residual na presença dos íons metálicos.

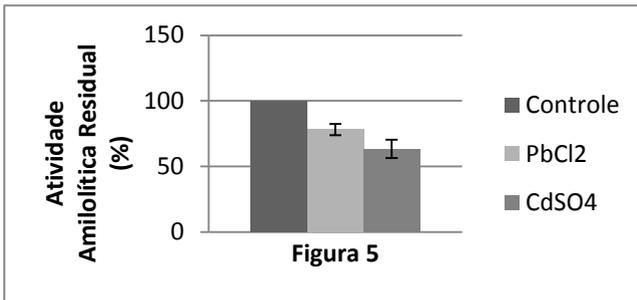
Como podemos ver na Figura 4, a alfa-amilase foi fortemente inibida pelos íons HgCl<sub>3</sub> e CuCl<sub>2</sub> que apresentaram atividade residual de, respectivamente, 2,3 e 5,6% quando comparadas ao controle (100%).



**Figura 4.** Atividade amilolítica residual na presença dos íons metálicos.

Os íons PbCl<sub>2</sub> e CdSO<sub>4</sub> também atuaram inibindo a alfa-amilase pilórica, ainda que em menor proporção. Em comparação com o grupo

controle, foi observada atividade residual de 78,2 e 63,4%, respectivamente para  $\text{PbCl}_2$  e  $\text{CdSO}_4$  (Figura 5).



**Figura 5.** Atividade amilolítica residual na presença dos íons metálicos.

## CONCLUSÃO

Os resultados encontrados frente à exposição da alfa-amilase pilórica aos íons metálicos  $\text{HgCl}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{PbCl}_2$ ,  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$  e  $\text{AlCl}_3$  refletem diferentes níveis de interação da enzima com os mesmos;

Esta enzima apresentou considerável sensibilidade a íons metálicos, podendo assim ser utilizada em ações de biomonitoramento.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO-LIMA, C.R.M.; GOULDING, M. So fruitful fish: ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui. **New York: Columbia University Press**, p. 157, 1997.

GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae). An important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.1, p. 107–133, 1982.

KOHLA, U.; SAINT-PAUL, U.; FRIEBE, J.; WERNICKE, D.; HILGE, V.; BRAUM, E.; GROPP, J. Growth, digestive enzyme activities and hepatic glycogen levels in juvenile *Colossoma macropomum* Cuvier from South America during feeding, starvation and refeeding. **Aquaculture and Fisheries Management**, v. 23, p. 189-208, 1992.

KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T.P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, v. 11; p. 103–122, 2005.

MACHADO-ALLISON, A. Estudios sobre la subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estudio comparado de los juvenis de las “Cachamas” de Venezuela (Gêneros *Colossoma* y *Piaractus*). **Acta Biológica Venezuéllica**, v. 11, n. 3, p.1-101, 1982.

SALEH, A. M.; AFAF, S. F.; TAREK, M. M. Carbohydrases in camel (*Camelus dromedarius*) pancreas. Purification and characterization of glucoamylase. **Comparative Biochemistry and Physiology: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 140-B, n. 1, p. 73-80, 2005.

TUZEN, M. Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v.80, n.1, p.119–123, 2003.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. **Food Chemistry**, v.104, n.2, 835–840, 2007.

---

## ALIMENTAÇÃO DE *RACHYCENTRON CANADUM* NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS

Lopes, P.R.D.<sup>(1)</sup>; Oliveira-Silva, J.T.<sup>(1)</sup>; Sena, M.P.<sup>(1)</sup> andarilho40@gmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana – BA, Brasil.

## RESUMO

Este estudo visa fornecer informações sobre a presença e alimentação de *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) (Actinopterygii: Rachycentridae) na Baía de Todos os Santos (BTS, estado da Bahia, região nordeste do Brasil) contribuindo para o conhecimento desta espécie. Foram coletados 3 exemplares de *R. canadum* com arrasto manual na baixa-mar em 08 de outubro de 1995 (1) e em 18 de maio de 1996 (2) na Praia de Itapema (município de Santo Amaro da Purificação, cerca de 12°42'S - 38°45'W, região ocidental da BTS) medindo entre 178,4 mm e 307,4 mm de comprimento total. Algumas variações no colorido com relação aos adultos foram observadas principalmente nas nadadeiras e na região ventral do corpo. O conteúdo gastro-intestinal estava constituído por Crustacea Decapoda Brachyura (siris) com 100,0% de ocorrência e Actinopterygii Teleostei (peixes) e matéria orgânica digerida (ocorrência de 33,3% cada) e indica que *R. canadum* aproxima-se do fundo para se alimentar. Deste modo, amplia-se o conhecimento sobre a biologia de *R. canadum* e identifica-se áreas onde podem ser obtidos indivíduos para ampliar a variabilidade genética para o cultivo.

**Palavras-chave:** Ocorrência, Dieta, Beijupirá.

## INTRODUÇÃO

*Rachycentron canadum*, único membro da família Rachycentridae, é conhecido como bijupirá e atinge 2,0 m de comprimento. Tem ampla distribuição no Atlântico e no Indo-Pacífico, sua carne é bastante estimada sendo também apreciado na pesca esportiva (FIGUEIREDO; MENEZES, 1980; ROBINS et al., 1986).

A partir da década de 1990 iniciou-se a criação desta espécie em cativeiro motivada pela sua elevada taxa de crescimento.

No Brasil, embora tenha havido grande interesse na criação do *R. canadum*, inclusive com iniciativas de empresas privadas e apoio governamental, são raros os estudos disponíveis sobre sua biologia e tecnologia de criação. Além disso, as rações disponíveis no mercado nacional não têm proporcionado resultados de desempenho esperado no seu cultivo (CAVALLI et al., 2011).

O presente estudo busca fornecer informações sobre a presença e alimentação de *R. canadum* na Baía de Todos os Santos, ecossistema estuarino-lagunar na região nordeste do Brasil e o maior acidente geográfico desta natureza na costa brasileira, contribuindo para um melhor conhecimento sobre esta espécie visando contribuir para seu cultivo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram coletados e examinados 3 exemplares de *R. canadum* coletados com rede de arrasto manual, na baixa-mar, em 08 de outubro de 1995 (1 exemplar) e em 18 de maio de 1996 (2) Praia de Itapema, município de Santo Amaro da Purificação, cerca de 12°42'S - 38°45'W, região ocidental da Baía de Todos os Santos, medindo entre 178,4 mm e 307,4 mm de comprimento total.

As medidas apresentadas foram obtidas com paquímetro (precisão de 0,05 mm) e são expressas em milímetros e seguem Cervigón et al. (1992).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exemplares aqui analisados indicam que as variações descritas por Dawson (1971) para a morfologia externa de *R. canadum* entre 12,6 e 55,0 mm de comprimento padrão parecem se concentrar em alterações de colorido, principalmente nas nadadeiras e região ventral do corpo sendo também observadas nos exemplares analisados (Tabelas 1 e 2).

Os dados obtidos sobre alimentação (Tabela 3) confirmam que *R. canadum* aproxima-se do fundo em busca de alimento, como observado por Collette (1978), Figueiredo, Menezes (1980) e Smith, Merriner (1982).

**Tabela 1.** Dados merísticos de 3 exemplares de *R. canadum* na Baía de Todos os Santos (nad. = nadadeira).

raios da nad. peitoral	espinhos e raios nad. da nad dorsal	raios da nad. Nad. pélvica	raios da nad. nad. anal	rastros branquiais, arco inferior
16	VIII + I, 27	I + 4	I + 20	6
18	VIII, + I, 30	I + 4	I + 23	9
16	VIII, + I, 30	I + 4	I + 23	9

**Tabela 2.** Dados morfométricos de 3 exemplares de *R. canadum* na Baía de Todos os Santos (c. = comprimento).

C. total	C. padrão	C. cabeça	C. focinho	Diâmetro orbital	Altura cabeça
307,4	247,6	68,8	27,7	11,0	40,0
178,4	147,0	40,6	14,9	7,4	23,2
218,7	185,0	47,2	19,5	8,3	30,0

**Tabela 3.** Categorias alimentares de 3 exemplares de *R. canadum* na Baía de Todos os Santos.

<b>Categorias alimentares</b>	<b>Material digerido</b>	<b>Crustacea Decapoda Brachyura (sirís)</b>	<b>Actinopterygii Teleostei (peixes)*</b>
Frequência ocorrência	33,3%	100,0%	33,3%
Frequência numérica	-----	84,2%	15,8%

\* 2 exemplares Anguilliformes?

## CONCLUSÃO

As informações apresentadas contribuem para o aumento do conhecimento sobre a ictiofauna da BTS e sobre a biologia de *R. canadum* em particular ao mesmo tempo em que identifica áreas onde exemplares desta espécie podem ser obtidos para ampliar e melhorar a variabilidade genética necessárias para seu cultivo no Brasil.

## AGRADECIMENTOS

Aos pescadores da Praia de Itapema, que doaram 2 dos exemplares examinados.

## REFERÊNCIAS

CAVALLI, R.O.; DOMINGUES, E.C.; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, supl. esp., p. 155-164, 2011.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ, B.

**Guia de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur America.** Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1992. 513 p.

DAWSON, C.E. Occurrence and description of prejuvenile and early juvenile Gulf of Mexico cobia, *Rachycentron canadum*. **Copeia** v. 1971, n. 1, p. 65-71, 1971.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2).** São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 1980. 90 p.

ROBINS, C.R.; RAY, G.C.; DOUGLASS, J. **A field guide to Atlantic coast fishes of North America.** The Peterson Field Guide Series n. 31. Boston: Houghton Mifflin Company. 1986. 354p.

SMITH, J.W.; MERRINER, J.V. Association of cobia, *Rachycentron canadum*, with cownose ray, *Rhinoptera bonasus*. **Estuaries**, v. 5, n. 3, p. 240-242, 1982.

---

## ***Alloctus verrucosus* (OREOSOMATIDAE) NO RIO DE JANEIRO (ATLÂNTICO SUL OCIDENTAL)**

**Lopes, P.R.D.<sup>(1)</sup>; Oliveira-Silva, J.T.<sup>(1)</sup>; Kieronski, D.B.<sup>(1)</sup>;  
Matos, F.J.P.<sup>(2)</sup> andarilho40@gmail.com**

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Feira de Santana – BA, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

### **RESUMO**

*Alloctus verrucosus* (Gilchrist, 1906) (Actinopterygii: Oreosomatidae) é registrado pela segunda vez para o Brasil com base em 14 exemplares coletados ao largo da costa do estado do Rio de Janeiro (sudeste do Brasil, Oceano Atlântico sul ocidental) medindo entre 155,0 e 235,0 mm de comprimento total. Dados merísticos e morfométricos são apresentados e comparados com a última revisão da família.

**Palavras-chave:** Registro, *Alloctyus verrucosus*, Caracteres Merísticos e Morfométricos.

## INTRODUÇÃO

Os adultos da família Oreosomatidae (ordem Zeiformes) são marinhos, bentopelágicos no talude continental sendo que a maioria das espécies ocorre entre 400 e 1800 m de profundidade nas águas temperadas de todos os oceanos, especialmente do hemisfério sul e Antártida; em algumas áreas são comuns sendo capturados com abundância ao largo da Nova Zelândia, Austrália e Japão onde apresentam importância comercial; possuem corpo muito alto e comprimido; boca voltada para cima, protátil; olhos grandes; escamas pequenas, ciclóides ou ctenóides; nadadeiras pélvicas com 1 espinho e 5 a 7 raios; nadadeiras dorsal com 5 a 8 espinhos e 28 a 36 raios; nadadeira anal com 2 a 4 espinhos e 26 a 33 raios; nadadeiras peitorais com 17 a 22 raios; atingem até 60 cm de comprimento e totalizam 4 gêneros com cerca de 9 ou 10 espécies (KARRER **in** SMITH, HEEMSTRA, 1986; HEEMSTRA **in** CARPENTER, 2002; NELSON, 2006).

*Alloctyus verrucosus* (Gilchrist, 1906), pertencente à família Oreosomatidae, atinge no mínimo 38,0 cm de comprimento, sendo registrado entre 338 e 1500 m de profundidade mas parece ser mais comum abaixo dos 800 m, é amplamente distribuído no hemisfério sul (entre as latitudes de 22°S e 42°S) sendo citado para o Oceano Atlântico sul ocidental e oriental ao largo da Mauritània, Golfo da Guiné,

Namíbia, África do Sul e Brasil, Oceano Índico ocidental, Oceano Pacífico sul, Austrália e Nova Zelândia; os adultos são de cor violeta escura, marrom escuros, enegrecidos ventralmente, os pré-juvenis são prateados com o dorso esverdeado com grandes manchas cinzas que desaparecem com cerca de 12,0 cm; peitorais com 17 a 20 raios, pélvicas com 1 espinho e 6 raios, dorsal com 5 a 8 espinho e 28 a 33 raios, anal com 2 a 3 espinhos e 26 a 31 raios, 83 a 91 escamas na linha lateral, 5-6 + 19-22 rastros branquiais; alimenta-se principalmente de camarões, cefalópodes e peixes (KARRER *in* SMITH, HEEMSTRA, 1986; HEEMSTRA *in* CARPENTER, 2002; COSTA et al. *in* COSTA et al., 2007).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O material aqui citado foi capturado pelo terceiro autor durante embarque no N.Oc. “Astro Garoupa” com auxílio de rede de arrasto de portas e se encontra depositado na coleção do Laboratório de Ictiologia (Departamento de Ciências Biológicas) da Universidade Estadual de Feira de Santana (estado da Bahia, Brasil) conservado em álcool 70%.

As localidades de coleta são, entre 21°17.782´S - 40°05.256´W e 21°23.283´S - 40°08.265´W, na região da Bacia de Campos, a 40 milhas da foz do Rio Itabapoana, entre 900 e 1152 m de profundidade, em fundo de lama, em 01 de março de 2001 (LIUEFS 5958); entre 21°17´44”S - 40°04´38”W e 21°22´23”S - 40°07´16”W, entre 1100 e

1340 m de profundidade, em fundo de lama, em 04 de março de 2001 (LIUEFS 5951) e entre 22°09'16"S - 39°50'32"W e 22°15'55"S - 39°51'26"W, entre 1160 e 1190 m de profundidade, em 13 de maio de 2002 (LIUEFS 6221).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Allocytus verrucosus* (Gilchrist, 1906), LIUEFS 5951 - 6: 155,0-216,0 mm comprimento total (CT), 121,0-181,0 mm comprimento padrão (CP); LIUEFS 5958 - 4: 178,0-235,0 mm CT, 147,0-196,0 mm CP; LIUEFS 6221 - 4: 188,0-220,0 mm CT, 158,0-184,0 mm CP.

Dados merísticos: rastros branquiais: ramo superior: 3-6, ramo inferior: 16-22; dorsal: 5-7 espinhos, 30-32 raios; anal: 2-3 espinhos, 28-31 raios; peitorais: 18-20 raios; pélvicas: 1 espinho, 6 raios.

Apenas um exemplar, em cada lote, aparentava não ter o estômago evertido. Dados morfométricos são apresentados na Tabela 1.

Segundo Karrer in Smith, Heemstra (1986), o gênero *Allocytus* McCulloch, 1914 possui 3 espécies. JAMES *et al.* (1988) descreveram *A. niger* que é citada como ocorrendo no sul da Nova Zelândia (cerca de 43°S) e sul da Tasmânia (47°S).

Figueiredo, Menezes (1980), Séret, Andreatta (1992), Carvalho Filho (1999), Figueiredo *et al.* (2002), Menezes *et al.* (2003) e Bernardes *et al.* (2005) não registram a presença de *A. verrucosus* para o Brasil.

Cervigón (1991) e Cervigón et al. (1992) também não assinalam a ocorrência de *A. verrucosus* para a Venezuela e costa setentrional da América do Sul, respectivamente.

Porém, Shimizu in Uyeno, Matsuura, Fujii (1983) cita *A. verrucosus* para o Suriname e a Guiana Francesa com base em 2 exemplares medindo entre 124,3 e 142,0 mm de comprimento padrão capturados em 810 m de profundidade.

Costa et al. in Costa et al. (2007) registram *A. verrucosus* pela primeira vez para o Brasil mas apenas relatam sua presença sem apresentar outras informações relativas à coleta ou aos exemplares.

Segundo Karrer in Smith, Heemstra (1986), em *A. verrucosus* a altura varia entre 1.4 e 1.7 vezes e a cabeça entre 2.2 e 2.7 vezes (provavelmente se referindo ao comprimento padrão) em exemplares maiores que 12 cm. O material aqui examinado apresentou variação tanto com relação à altura (1,49 a 2,05 vezes) como quanto ao comprimento da cabeça (1,95 a 2,46 vezes).

James *et al.* (1988) consideram como juvenil de *A. verrucosus* um exemplar, procedente da África do Sul, medindo 42,0 mm de comprimento total (35,5 mm de comprimento padrão) e como adultos exemplares a partir de 78,0 mm de comprimento padrão; todos os exemplares examinados neste estudo (comprimento total variando entre 155,0 e 235,0 mm) são considerados como adultos pois também não

apresentam o colorido tipicamente citado para a fase juvenil (KARRER **in** SMITH, HEEMSTRA, 1986).

O material examinado encontra-se no mesmo intervalo de tamanho, tanto de comprimento total como de comprimento padrão, daquele examinado por James *et al.* (1988).

Variações nos caracteres merísticos foram detectadas para o número de elementos da dorsal, anal e de rastros branquiais quando comparados com o que é citado por James *et al.* (1988) (Tabela 1).

Também foram observadas variações na maioria das proporções corporais (porcentagem em relação ao comprimento padrão e da cabeça) comparadas entre os exemplares aqui examinados e aqueles examinados por James *et al.* (1988), procedentes da Nova Zelândia, Austrália e África do Sul. Apenas altura do corpo, comprimento da peitoral e comprimento pré-dorsal não variaram quando comparados com James *et al.* (1988) (Tabela 1).

Varição, com relação ao estudo de James *et al.* (1988), tanto de valor inferior como superior foi observada apenas para o comprimento da maxila inferior; variações apenas no valor inferior foram ocorreram para comprimento da maxila superior, diâmetro orbital, largura interorbital, comprimento da pélvica, comprimento da base da dorsal, comprimento da base da anal e comprimento pré-anal (Tabela 1). Variação no valor superior foram observadas para comprimento da

cabeça, comprimento do focinho e altura do pedúnculo caudal (Tabela 1).

**Tabela 1.** Dados morfométricos e proporções corporais de 14 exemplares de *Alloctytus verrucosus* coletados ao largo do estado do Rio de Janeiro (Brasil, Oceano Atlântico sul ocidental), porcentagens expressas como % do comprimento padrão (CP) e da cabeça (CC).

<b>Caracteres morfométricos</b>	<b>LIUEFS 5951 (6 exemplares)</b>	<b>LIUEFS 5958 (4 exemplares)</b>	<b>LIUEFS 6221 (4 exemplares)</b>
Comprimento total (mm)	155,0-216,0	178,0-235,0	188,0-220,0
Comprimento padrão (mm) (CP)	121,0-181,0	147,0-196,0	158,0-184,0
Altura corpo/CP	61,9%-66,9%	56,0%-58,6%	48,7%-61,9%
Comprimento cabeça (CC)/CP	42,6%-51,4%	40,7%-49,2%	44,1%-47,4%
Comprimento focinho/CC	30,6%-50,5%	38,2%-55,8%	40,3%-46,6%
Comprimento maxila superior/CC	29,8%-44,4%	32,1%-43,7%	29,5%-39,5%
Comprimento maxila inferior/CC	19,6%-35,7%	20,4%-37,2%	19,8%-29,2%
Diâmetro orbital/CC	28,0%-39,3%	34,8%-41,6%	33,8%-39,9%
Largura interorbital/CC	23,8%-29,2%	23,5%-28,3%	23,8%-25,9%
Comprimento nad. peitoral/CP	16,9%-20,8%	17,7%-19,4%	18,6%-21,1%
Comprimento nad. pélvica/CP	16,4%-23,4%	18,5%-20,0%	17,3%-19,9%
Comprimento base nad. dorsal/CP	41,7%-48,9%	41,8%-45,7%	39,2%-46,9%
Comprimento base nad. anal/CP	34,9%-44,0%	35,3%-38,0%	30,4%-37,5%
Comprimento pré-dorsal/CP	58,5%-62,5%	56,4%-58,1%	57,6%-60,0%
Comprimento pré-anal/CP	70,6%-78,6%	37,5%-72,8%	62,8%-75,2%
Altura do pedúnculo caudal/CP	6,9%-8,3%	7,2%-11,5%	6,6%-7,4%

## CONCLUSÃO

As variações observadas podem, em parte, ser explicadas pela ausência de material e do seu exame procedente da costa brasileira bem como também por deformações devidas ao processo de coleta, à mudança de pressão durante o içamento da rede e aos processos de fixação e conservação a que os exemplares aqui examinados foram submetidos.

## AGRADECIMENTOS

À tripulação do N.Oc. “Astro Garoupa” pelo auxílio durante o embarque de F.J.P. Matos; À Magda F. Andrade-Tubino e Nivaldo Holmes de A. Filho (UFRJ, Departamento de Biologia Marinha, Laboratório de Recursos Pesqueiros) pelo apoio proporcionado a P.R.D. Lopes quando em visita à esta instituição.

## REFERÊNCIAS

BERNARDES, R.Á.; FIGUEIREDO, J.L.; RODRIGUES, A.R.; FISCHER, L.G.; VOOREN, C.M.; HAIMOVICI, M.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C.L.D.B. **Peixes da Zona Econômica Exclusiva da região sudeste-sul do Brasil: levantamento com armadilhas, pargueiras e rede de arrasto de fundo**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 2005. 295 p.

CARVALHO FILHO, A. **Peixes da costa brasileira**. 3. ed. São Paulo: Editora Melro. 1999. 318p.

CERVIGÓN, F. **Los peces marinos de Venezuela. Volumen I**. 2. ed. Caracas: Fundación Científica Los Roques. 1991. 425 p.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ, B. **Guia de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur America**. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1992. 513 p..

COSTA, P.A.S.; BRAGA, A.C.; MELO, M.R.S.; NUNAN, G.W.; MARTINS, A.S.; OLAVO, G. **Assembléias de teleósteos demersais no talude da costa central brasileira**. In: Costa, P.A.S.; Olavo, G. & Martins, A.S. (Eds.). **Biodiversidade da fauna marinha profunda na costa central brasileira**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, Série Livros 24, 2007. p. 87-107.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2)**. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 1980. 90 p.

FIGUEIREDO, J.L.; SANTOS, A.P.; YAMAGUTI, N.; BERNARDES, R.Á.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C.L.D.B. **Peixes da Zona Econômica Exclusiva da região sudeste-sul do Brasil: levantamento com rede de meia água**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, Imprensa Oficial do Estado. 2002. 242 p.

HEEMSTRA, P.C. Oreosomatidae. In: CARPENTER, K. (ed.). **The living marine resources of the Western Central Atlantic. Volume 2: Bony fishes part 1 (Acipenseridae to Grammatidae)**. Rome: FAO species identification guide for fishery purposes, and American Society of Ichthyologists and Herpetologists Special Publication no. 5, 2002. p. 1212-1213.

JAMES, G.D.; INADA, T.; NAKAMURA, I. Revision of the oreosomatid fishes (Family Oreosomatidae) from the southern oceans, with a description of a new species. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 15, p. 291-326, 1988.

KARRER, C. Family no. 139: Oreosomatidae. In: SMITH, M.M.; HEEMSTRA, P.C. (Eds.). **Smiths' Sea Fishes**. Berlin: Springer-Verlag, 1986. p. 438-440

MENEZES, N.A.; BUCKUP, P.A.; FIGUEIREDO, J.L.; MOURA, R.L. **Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil**. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 2003. 160 p.

NELSON, J.S. **Fishes of the world**. 4. ed. New Jersey: John Wiley & Sons. 2006. 601 p..

SÉRET, B.; ANDREATA, J.V. Deep-sea fishes collected during cruise MD-55 off Brazil. **Cybium**, v. 16, n. 1, p. 81-100, 1992.

SHIMIZU, T. Oreosomatidae. In: UYENO, T.; MATSUURA, K.; FUJII, E. **Fishes trawled off Suriname and French Guiana**. Tokyo: Japan Marine Fishery Resource Research Center, 1983. p. 288

---

# ANÁLISE DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DA *Turnera subulata*

Gouveia, A.L.A.<sup>(1)</sup>; Silva, T.R.P.M.<sup>(1)</sup>; Silva, N.M.B.<sup>(1)</sup>; Magnata, S.S.L.P.<sup>(1)</sup>

allana.gouveia@gmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Laboratório de Biofísica Celular e Molecular, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil, CNPq.

## RESUMO

As espécies de *Turnera*, da família Turneraceae, são conhecidas no Nordeste brasileiro pelo nome popular de “chanana”, são empregadas na medicina popular no tratamento de amenorréias, dismenorréias e como abortivo. Outras espécies, como *Turnera diffusa* Willd. e *Turnera ulmifolia* L., são utilizadas principalmente como afrodisíaco, abortivo, expectorante, no tratamento de úlceras gástricas e do diabetes. Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, as plantas medicinais vêm sendo cada vez mais estudadas e comercializadas em nosso país. Visto o consumo cada vez mais frequente de fitoterápicos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade cicatrizante da espécie vegetal *Turnera subulata*. A metodologia utilizada consistiu da preparação do gel a partir do extrato liofilizado de *Turnera subulata* para avaliar seu potencial cicatrizante em camundongos. A produção de gel de *T. subulata* promoveu a reparação cutânea de feridas cirúrgicas em camundongos; entretanto são necessários mais estudos afim de melhor elucidar as propriedades farmacológicas da espécie.

**Palavras-chave:** *Turnera subulata*; Fitoterápico; Cicatrização.

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais é tão antiga quanto o aparecimento da espécie humana na Terra. Os antigos povos já notavam que algumas plantas tinham princípios ativos os quais ao serem experimentados no combate a diversas doenças revelaram empiricamente seu poder curativo (Badke et al, 2011).

Uma grande parte da população tem difícil acesso à assistência médica ou possuem dificuldades em comprar os medicamentos convencionais, e nesse contexto, as plantas surgem como uma alternativa de baixo custo e de fácil aquisição, sendo comercializadas em feiras livres, ou sendo ainda cultivadas nos quintais das casas dos usuários (Pilla et al., 2006).

Apesar das investigações e estudos científicos sobre plantas com o uso medicinal, não se conhece muito sobre os princípios ativos e as extraordinárias qualidades curativas de muitas espécies vegetais. (SIMÕES et al., 1999; MIGUEL & MIGUEL, 2000).

A família Turneracea é encontrada em diversas partes do mundo, com aplicação na medicina popular. No Brasil, a *Turnera subulata*, é conhecida como chanana, ela é de fácil cultivo e bastante adaptável aos diversos climas. As plantas que compõem a família Turneraceae são típicas de florestas úmidas, campos e jardins tropicais, por isso, são consideradas como erva daninha (ARBO, 2007).

A *Turnera subulata*, é um arbusto denso perene, 30-80 cm de altura, com folhas lanceoladas ou estreita-elíptica. Suas flores são formadas por pétalas que variam do amarelo a brancas-amareladas de cor marrom na base. Suas flores se abrem logo pela manhã, depois de receber a luz direta do sol, e se fecham após o meio-dia (SHORT & COWIE, 2011).

Trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de estudar o processo de cicatrização, em feridas cutâneas abertas em animais, sob influência do tratamento tópico com extratos de plantas. Vários extratos de plantas tem se mostrado promissores no processo de cicatrização de feridas (NITZ et al. 2006; FALEIRO et al. 2009; BARACHO, et al. 2009 ).

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade cicatrizante do extrato de *T. subulata*, em ferida aberta em camundongos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material Botânico***

A *Turnera subulata* utilizada no estudo foi coletada na região metropolitana, Olinda-PE, onde as plantas crescem sob condições naturais. A excisada foi feita e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, sob o número de registro 85651.

### ***Obtenção do extrato aquoso***

Após coleta, selecionou-se as folhas, e foram descartadas as que apresentaram fungos e insetos. As folhas foram submetidas à secagem (de forma natural) ao abrigo de sol, calor, vento e à temperatura ambiente até completa desidratação.

Através de uma balança de precisão pesou-se 20g das folhas trituradas, em seguida foi adicionada 500 mL de água destilada aquecida a temperatura de 90°C, para obtenção da infusão.

As folhas ficaram em contato com a água destilada por 30 (trinta) minutos. Em seguida, o conteúdo foi filtrado em funil de vidro simples na presença de algodão, sendo posteriormente submetido à liofilização.

### ***Animais Experimentais***

O estudo foi realizado com camundongos (*Mus musculus*) albinos Swiss, fêmeas, com 60 dias de idade, pesando em média de 30 a 35 gramas. Os animais foram alojados em gaiolas de plástico, em estantes com ventilação interna, temperatura e umidade controlada e mantidos em ciclo de 12 horas de claro e de 12 horas de escuro, de acordo com as normas internacionais do conselho de laboratório de animais experimentais (ICLAS).

Os procedimentos experimentais apresentados nesta pesquisa foram submetidos e aprovados pelo comitê de ética e experimentação animal da Universidade Federal de Pernambuco (Comitê de Ética em Experimentação Animal / Centro de Ciências Biológicas / Universidade Federal de Pernambuco – CEUA-UFPE, ofício nº 143/09).

### ***Produção do Gel do Extrato Aquoso de *Turnera subulata*:***

Para preparação do gel foram utilizados 2,25 g de Carbopol, 1,25ml de Trietanolamina, 100ml de água destilada e 3g de Extrato Aquoso Liofilizado (EAL) de *Turnera subulata*. O gel apresentou propriedades características como boa viscosidade e pH de 6,5.

Foram realizados testes farmacotécnicos que comprovaram a consistência ideal do gel com o apoio do Departamento de Farmácia da UFPE.

### ***Indução de Ferida Aberta em Camundongos***

Os animais foram pesados e separados em 3 grupos contendo 5 animais cada. Os animais foram pesados, marcados e anestesiados por via intraperitoneal. A solução anestésica foi composta por Cloridrato de

xilazina (Rompum®) a 20 mg/mL, e Cloridrato de ketamina (Ketalar®). A dose injetada foi calculada para cada animal por Kg de peso.

Após assepsia do dorso dos animais com álcool 70% e retirada do pêlo de uma área de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>, foi feita uma incisão da pele, com auxílio de tesoura e pinça cirúrgica, expondo-se a fáscia muscular dorsal. Para animais que apresentaram hemorragia na ferida, a hemostasia foi feita por compressão com gaze estéril embebida em solução salina a 0,9%.

### ***Tratamento das Feridas Abertas***

Os tratamentos se iniciaram logo após a indução das feridas operatórias e prosseguiram diariamente, por 14 (catorze) dias. Os animais tiveram suas feridas avaliadas macroscopicamente até a completa reepitelização. Os animais foram tratados e distribuídos aleatoriamente em 3 grupos de 5 animais: GRUPO I (Controle negativo), animais com feridas operatórias tratados topicamente com 0,4mL de solução salina a 0,9%; GRUPO II (Gel de *T. subulata*), animais com feridas operatórias tratados topicamente com 0,5g de gel de *T. subulata*; GRUPO III (Controle positivo), animais com feridas operatórias tratadas topicamente com 0,5g de pomada constituída de desoxiribonuclease 6,66%, fibrolisina 0,1% e cloranfenicol 1% (Fibrase®- Laboratório Pfizer, Brasil).

### *Avaliação Macroscópica da Ferida (lesão)*

Após induzidas, as feridas foram avaliadas quanto aos aspectos clínicos e suas áreas mensuradas até completa reepitelização. Clinicamente foram avaliados os seguintes aspectos: hemorragia, crosta (parcial ou total, seca ou com secreção), tecido de granulação, cor e crescimento de pelos na área da lesão e epitelação.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Durante a avaliação clínica diária, não se constataram alterações quanto ao estado geral dos animais, tampouco quanto ao aspecto da urina e das fezes.

O gel do extrato bruto aquoso de *T. subulata* produziu uma melhora significativa na cicatrização, do ponto de vista macroscópico, quando comparado ao controle negativo e positivo. O crescimento de pêlos na área da pele adjacente à lesão e a epitelação também mostrou-se mais evidente no grupo teste. Associado a isso, os tratamentos foram biocompatíveis, uma vez que não induziram nenhum tipo de reação imunológica, em aspecto macroscópico. As feridas tratadas evoluíram bem durante o tratamento, não apresentando sangramento, infecções ou reações inflamatórias.

As formas farmacêuticas de aplicação na pele têm algumas vantagens em relação a outras vias de administração, tais como: menor irritação, e menor toxicidade sistêmica, permite melhor controle de absorção e

possibilidade de vários locais para aplicação. Vários estudos tem sido desenvolvidos buscando novos medicamentos fitoterápicos de uso tópico para melhoria do processo de reparo tecidual (LOPES, et al. 2006; GARROS, et. al.2006).

Vários fitoterápicos já foram testados e usados no processo de cicatrização de feridas. A Aloe Vera (Babosa) foi eficaz no tratamento de feridas abertas em ratos, como foi observado por Faleiro et al. 2009, evidenciando que o fitoterápico na forma de extrato de glicólico proporcionou maior contração das feridas experimentais.

Janning et al. 2011, avaliaram a cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos, tratados com uso tópico do extrato hidroalcoólico de *Tabernaemontana catharinensis* (Jasmim), buscando obter informações sobre o efeito que esta planta apresenta no processo de cicatrização. Durante o período experimental nenhum dos animais apresentou necrose ou secreção purulenta na ferida. O grupo tratado com o extrato obteve bons resultados em relação a diminuição da área da ferida sugerindo que a planta tem um efeito cicatrizante importante sobre a epiderme de ratos.

## **CONCLUSÃO**

A partir dos resultados obtidos nesse estudo foi possível concluir que a utilização de gel da *Turnera subulata*, permitiu a ocorrência do processo de reparação cutânea de feridas abertas em camundongos.

Estudos são necessários para verificar os efeitos no gel de *T. subulata* em nível microscópico para avaliação da presença de fibroblastos, fibras de colágeno, vasos sanguíneos ou mais alterações a nível tecidual.

## REFERÊNCIAS

ARBO, M. M.. *Turneraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>, acess in dezembro 2011.

BADKE, M. R., BUDÓ, M. L. D., SILVA, F. M., RESSEL, L. B. 2011. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. Escola Anna Nery, v. 15, p.1, 2011.

BARACHO, N. C. DO V.; OLIVEIRA, H. C.; MAGALHÃES, I. N.; GIL, B. L.; IRULEGUI, R. DE S.C.. Extrato hidroalcoólico de própolis e cicatrização de feridas no diabetes tipo I: Estudo experimental. Revista Científic@ Universitas. Vol 2, ed 2, 2009.

FALEIRO, C.C.; ELIAS, S.T.H.; CAVALCANTI LC & CAVALCANTI, A.S.S.. O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos, num ensaio controlado por placebo. Natureza on line 7 (2): 56- 60, 2009. [on line] disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>.

GARROS, I. DE C.; CAMPOS, A. C. L.; TÂMBARA, E. M.; TENÓRIO, S. B.; TORRES, O. J. M.; AGULHAM, M. A.; ARAÚJO, A. C. F.; SANTIS-ISOLAN, P. M. B.; OLIVEIRA, R. M. DE; ARRUDA, E. C. DE M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. Acta Cirúrgica Brasileira. Vol. 21, 2006.

JANNING, D.; ALBUQUERQUE, C. A. C.; BARAUNA, S. C.. Avaliação preliminar do extrato hidroalcoólico de *tabernaemontana catharinensis* no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos (*rattus norvegicus*). Revista Eletrônica de Farmácia. Vol. VIII (3), 2011.

LOPES, A.R.A.; VARGAS, M.L.S.; CAVALCANTI, A.S.S.; SILVA, A. D. DA..Plantas e seus extratos – administração e biodisponibilidade de fitoterápicos

aplicados na pele. Natureza on line. Vol. 4, 2006. disponível em :  
www.naturezaonline.com.br

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Desenvolvimento de Fitoterápicos. São Paulo:  
Robe Editorial, 2000.

NITZ, A.C.; ELY, J. B.; D'ACAMPORA, A. J.; TAMES, D. R.; CORREA, B. P..  
Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos,  
usando: *Coronopu didymus e Calendula officinali*. Arquivos Catarinenses de  
Medicina, Vol. 35, n 4, 2006.

PILLA, M. A. C.; AMOROZO, M. C. M; FURLAN, A. Obtenção e uso das plantas  
medicinais no distrito de Martim Francisco, Município de Mogi-Mirim, SP, Brasil.  
Acta bot. bras. v. 20, n.4, p.789-802, 2006.

SHORT, P. S. & COWIE, I. D. Flora of the Darwin Region. National Library of  
Australia Cataloguing-in-publication entry (PDF). Vol. 1, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. Florianópolis:  
UFSC e UFRS, 1999.

---

## ANÁLISE DA DIVERSIDADE ENTOMOLÓGICA POR MEIO DE DIFERENTES ARMADILHAS CDC

Vanderley, A.M.S.<sup>(1)</sup> ; Cruz, D.L.V.<sup>(1)</sup> ; Bezerra, P.E.S. <sup>(1)</sup> ; Gonçalves, T. S. <sup>(1)</sup> ;  
Freitas, M.T.S. <sup>(1)</sup> ; Gomes-Júnior, P.P.<sup>(1)</sup> ; Lima-Júnior, L.M. <sup>(1)</sup>

ariadja.monique@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE / Unidade Acadêmica de  
Serra Talhada – UAST, Serra Talhada - PE.

### RESUMO

O levantamento da diversidade entomológica de um bioma é de extrema  
importância para estudos de equilíbrio ambiental. Neste trabalho, objetivou-se  
a análise da diversidade entomológica de uma área da Caatinga, bem como a  
eficácia de cada tipo de armadilha luminosa, na Fazenda Saco, município de

Serra Talhada – PE, no período de 12hs. As coletas foram realizadas por meio de armadilhas luminosas do tipo CDC, instaladas em três pontos distintos, com características ecológicas diferentes, além de quatro tipos de iluminação utilizada (azul, vermelha, branca e convencional). Foram capturados 424 espécimes, compreendida em cinco ordens: Díptera, Hemíptera, Hymenoptera, Tricoptera e Coleoptera, com amplo domínio de dípteros, (93,4%). Em se tratando do tipo de cor utilizada na armadilha para a captura de insetos, a luz azul foi a mais relevante (n=222), pois apresentam um comprimento de onda de 420nm, possuindo um valor mais atrativo, principalmente, para representantes dessa ordem. Com relação aos pontos de coleta não houve diferença significativa na abundância dos insetos, porém com relação ao tipo iluminação utilizada nas armadilhas, verifica-se que a armadilha de iluminação azul, atraía uma maior quantidade e diversidade de insetos, isto, de acordo com o ponto de coleta.

**Palavras-chaves:** Biodiversidade, Entomofauna, Dípteros.

## INTRODUÇÃO

A Caatinga, o único bioma exclusivamente brasileiro, corresponde a uma área entre 900.000 e 1.000.000 Km<sup>2</sup>, cerca de 11% do Brasil, ocupando a maior parte do Nordeste, com extensões no norte de Minas Gerais. O clima é do tipo semiárido quente, com baixa pluviosidade entre 250 e 800 mm anuais, e a temperatura média fica entre 24 e 26°C. A vegetação da Caatinga pode ser caracterizada como floresta arbórea ou arbustiva, compreendendo principalmente árvores e arbustos baixos, muitos dos quais apresentam espinhos, microfilia e algumas características xerofíticas (CÂMARA, 2002).

Alguns estudos têm demonstrado a importância da Caatinga para a conservação da biodiversidade (LEAL et al., 2003). Inúmeros levantamentos têm sido realizados neste e nos demais biomas presentes

no Brasil, porém muitos têm ignorado os insetos, que podem ser considerados o grupo que mais contribui para os processos essenciais dos ecossistemas (SILVA, 2009).

Os insetos são organismos que apresentam ampla distribuição pelo mundo, ocorrendo em todos os habitats, e constituem um dos grupos mais diversos. Tal taxa compreende mais de 50% de todos os animais do planeta (751.000 espécies formalmente descritas). (SCHOWALTER, 1996), (FERNANDES *et al*, 2006). Além disso, apresentam grande relevância nos ecossistemas, participando de inúmeros processos ecológicos cruciais para manter a homeostase do meio como por exemplo: reciclagem de nutrientes (degradação de madeira, serapilheira, cadáveres e excrementos), propagação de plantas (polinização e dispersão de sementes), manutenção da composição e da estrutura das comunidades de plantas (fitofagia), alimento para vertebrados insetívoros (peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos) e manutenção da estrutura da comunidade de animais (predação, parasitismo e transmissão de doenças) (GULLAN, 2007).

Sabendo-se que a influência antrópica (agropecuária, extrativismo de lenha, densidade populacional rural) têm causado impactos ambientais significativos na estrutura e composição dos ecossistemas na Caatinga, as informações pertinentes à diversidade e a biologia dos insetos são de grande importância para a implementação de políticas que visem à conservação desse grupo no bioma. Levando em consideração as

questões voltadas a saúde pública, a invasão das construções no ambiente de Caatinga aumenta os casos de doenças endêmicas como a Leishmaniose e a Doença de Chagas.

Dada a importância dos insetos na manutenção do equilíbrio ecológico, faz-se necessário a aplicação de métodos na captura de insetos para análise da entomofauna de determinada região, dentre alguns tipos de armadilhas para captura de insetos, destaca-se a armadilha luminosa do tipo CDC (desenvolvida pelo Centers for Disease Control): originalmente descrita por Sudia & Chamberlain (1962) e posteriormente modificada por Gomes *et al.* (1985), é usualmente utilizada para amostragens de insetos hematófagos. Atrai os insetos por uma pequena fonte de luz e os suga para o interior, quando estes se aproximam, por uma pequena ventoinha, que funciona acionada por uma corrente de seis ou 12 volts (GORAYEB, 2013).

Com base nas informações supracitadas e visando ampliar o conhecimento a cerca da entomofauna da caatinga, o presente trabalho teve como objetivo analisar a diversidade de insetos, bem como testar a eficácia da armadilha CDC em quatro diferentes tipos de luzes, em uma área de caatinga no semiárido Pernambucano.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Área de estudo*

A coleta dos insetos foi realizada nos dias cinco e seis de março de 2012, em uma área de Caatinga, na localidade Fazenda Saco, zona rural do município de Serra Talhada - PE, às margens do açude do Saco. Para a captura dos insetos foram utilizadas armadilhas do tipo CDC com quatro diferentes tipos de luzes (Convencional ou incandescente e luzes de LED nas cores Azul, Vermelha e Branca) instaladas em três pontos de coleta (Figura 1): Ponto 1, Coordenadas geográficas (Latitude  $07^{\circ}56'43.87''S$  - Longitude  $38^{\circ}18'0.89''O$ ). Está localizado em uma área de Caatinga arbóreo-arbustiva, apresenta árvores altas e fica próximo a uma lagoa intermitente; Ponto 2, Coordenadas geográficas (Latitude  $7^{\circ}56'55.83''S$  - Longitude  $38^{\circ}17'20.77''O$ ). Está localizado em uma área de Caatinga arbustiva, próximo ao açude do saco, às habitações e criatórios de animais domésticos dos moradores (galinhas e porcos); Ponto 3, Coordenadas geográficas (Latitude  $7^{\circ}57'3.13''S$  - Longitude  $38^{\circ}17'32.00''O$ ). Está localizado em uma área de Caatinga arbustiva que apresenta algumas espécies de cactáceas, fica próximo às habitações e ao açude do saco.



**Figura 1.** Armadilha luminosa do tipo CDC (Centers for Disease Control) convencional, utilizada na captura de insetos.



**Figura 2.** Mapa com a localização do três pontos de coleta (Ponto 1, Ponto2 e Ponto3) na Fazenda Saco, Serra Talhada – PE. Fonte: Google Earth.

As armadilhas foram instaladas às 18:00h do dia cinco e permaneceram ligadas até às 6:00h do dia seis, totalizando 12 horas de esforço amostral. Todas distantes cinco metros uma da outra.

Os insetos coletados foram mortos e fixados em álcool 70%. Posteriormente os espécimes coletados foram conduzidos ao laboratório de Biologia da UFRPE campus UAST, para identificação em nível de ordem com auxílio de chaves dicotômicas.

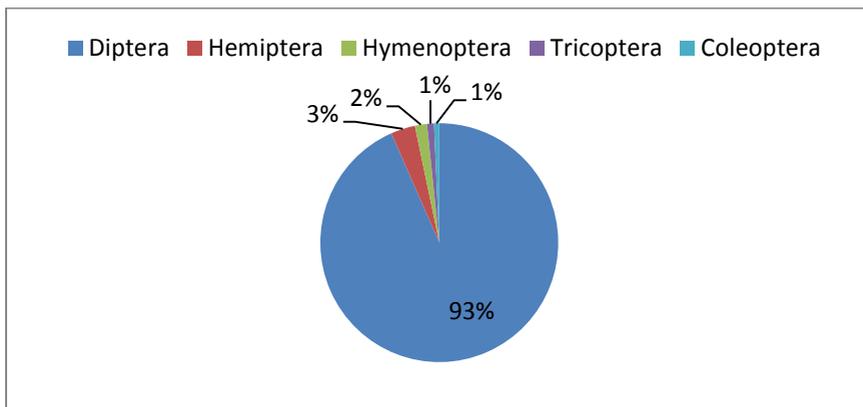
### ***Análise dos dados***

A análise dos dados entomofaunísticos foi baseado na frequência relativa, a fim de verificar qual ordem era mais abundante. Foi verificado que armadilha mostrou-se mais eficaz através do maior número de capturas. Foi utilizado o teste estatístico, análise de variância (ANOVA) por meio do Excel 2007, para verificar se existe diferença no número de capturas entre os diferentes pontos de coleta, ao nível de 5% de significância.

E aplicado o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ), por meio do software Minitab ao nível de 5% de significância, a fim de verificar se existe associação entre o ponto de coleta e a cor da luz utilizada na armadilha.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de estudo foram capturados 424 espécimes pertencentes a 5 ordens da classe insecta: Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Tricoptera e Coleoptera. A ordem Díptera foi a mais representativa com frequência de 93,40%, seguida por Hemiptera, Tricoptera, Coleoptera e Hymenoptera com 3,30%, 1,65%, 0,94% e 0,71% respectivamente (Figura 3).

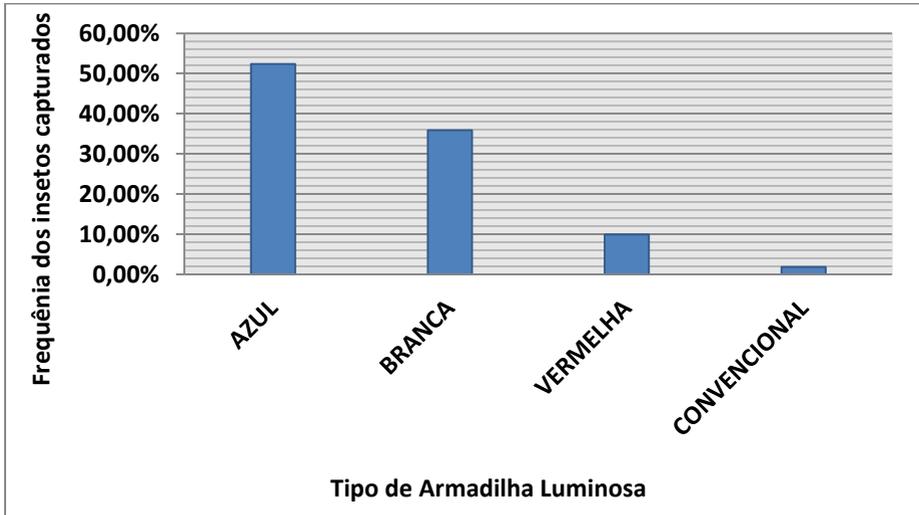


**Figura 3.** Frequência relativa das ordens de insetos, capturadas com uso da armadilha CDC, na Fazande Saco, município de Serra Talhada – PE.

Em relação a ordem mais representativa, esses dados se assemelham com os encontrados por (RIBEIRO *et al.* 2010) em uma área de caatinga no sul do Piauí, onde a ordem Diptera foi a mais representativa.

Em relação a cor da luz utilizada na armadilha, a cor azul mostrou-se mais eficiente na captura de insetos, (n=222), representando 52,36% das

capturas, seguida das luzes branca (35,85%), vermelha (9,91%) e convencional (1,88%) (Figura 4).



**Figura 4.** Frequência relativa da captura de insetos nos diferentes tipos de armadilhas luminosas, na Fazenda Saco, município de Serra Talhada – PE.

O fato da armadilha com a luz azul apresentar a maior frequência das capturas pode estar relacionado à grande quantidade de capturas de espécimes da ordem Diptera ( $n=203$ ), pois alguns estudos mostram que o comprimento de onda em torno do azul (420 nm) é mais atrativo para os representantes dessa ordem, como por exemplo os flebotomíneos (GULLAN, 2008). Todavia, é importante enfatizar que em contrapartida, uma armadilha com a luz branca apresentou grande quantidade de capturas de dípteros ( $n=152$ ). Isso se explica pelo fato de que no comprimento de onda da luz branca, também ocorre a emissão de ondas azuis, só que em menor intensidade.

Além disso, esse fenômeno pode ser explicado pela influência do fator ambiental, visto que a armadilha com luz branca que apresentou significância na captura de dípteros, estava instalada no Ponto 2, que é localizado em uma área antropizada, com a presença de criações de animais (galinhas e porcos), visto que muitas fêmeas de dípteros são hematófagas a presença de porcos e galinhas que são animais endotérmicos e apresentam uma temperatura média em torno de 42° para aves e 39° para porcos, deve ter atraído os insetos para próximo da armadilha e ter influenciado na captura desses insetos.

Em relação aos pontos de coleta não houve diferença significativa na abundância dos insetos entre os pontos ( $F= 0,0042$ ;  $GL= 11$ ;  $p>0,05$ ). Bem como o teste qui-quadrado verificou haver associação entre o ponto de coleta e a cor de luz utilizada na armadilha ( $X^2= 271,364$ ;  $GL=6$ ;  $p<0,0001$ ).

## **CONCLUSÃO**

A armadilha luminosa na cor azul, é mais eficaz na diversidade de espécimes, tendo em vista que a mesma possui um comprimento de onda maior que as demais;

Não houve influência com relação ao ponto de coleta, pois a área em que foram instaladas as armadilhas eram de caatinga arbustiva, algumas com presença de animais domésticos, o que favorecia maior quantidade de insetos de maneira igualitária nos três pontos de coleta.

## REFERÊNCIAS

RIBEIRO, I. B.; PÁDUA, L. E. M.; MOURA, J. Z.; BRITO, W. C.; SANTANA, J. D. P. Diversidade de insetos em um fragmento de caatinga no sul do estado do Piauí, 2010

GOMES, A. C.; RABELLO, E. X.; NATAL, D. Uma nova câmara coletora para armadilha CDC miniatura. **Rev. Saúde publ.**, São Paulo, v.19, p. 190-191, mar. 1985.

ALMEIDA, P. S.; MINZÃO, E. R.; MINZÃO, L. D.; SILVA, S. R.; FERREIRA, A. D.; FACCENDA, O.; ANDRADE, F. Aspectos ecológicos de flebotomínios (Diptera: Psychodidae) em área urbana do município de Ponta Porã, Estado de Mato Grosso do Sul. **Rev. Soc. Bra. Medicina Tropical**, p. 723-727, nov/dez, 2010.

FERNANDES, S. P. C.; IANNUZZI, L.; CORTEZ, J. S. A.; Inventário dos insetos herbívoros de vida livre e inventário dos predadores de insetos, 2006.

BARATA, R. A.; SILVA, J. C. F.; MAYRINK, W.; SILVA, J. C.; PRATA, A.; LOROSAS, E. S.; FIÚZA, J. A.; GONÇALVES, C. M.; PAULA, K. M.; DIAS, E. S. Aspectos da ecologia e comportamento de flebotomínios em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas gerais. **Rev. Soc. Bra. Medicina Tropical**, p. 421-425, set/out, 2005.

GORAYEB, I. S. **Uma nova armadilha ventilada para coleta de mosquitos com ou sem atração humana**. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Cienc. Nat., Belém, v. 8, n. 1, p. 97-109, jan/abr. 2013

---

## ANÁLISE DA TRILHA DA COPAÍBA DO PARNA MONTANHAS DO TUMUCUMAQUE, AMAPÁ/BRASIL

Menezes, C. R.<sup>(1)</sup>; Vaz, A. F.<sup>(2)</sup>; Silva e Silva, Y.B.<sup>(3)</sup> cristiane@unifap.br

<sup>(1)</sup>Docente do Laboratório de Botânica e Educação Ambiental – LABOT da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá – AP, Brasil;

<sup>(2)</sup> Secretaria de Estado da Educação do Amapá, Macapá – AP, Brasil;

<sup>(3)</sup> Estudante da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá – AP, Brasil.

## RESUMO

O Centro Rústico de Vivência (CRV) do Parque Nacional Montanhas do Tumucumaque (PNMT) foi criado no ano de 2012 com o intuito de torna-se um Centro de Interpretação da Natureza, abriga instalações destinadas a receber visitantes e durante sua inauguração foi criada a Trilha da Copaíba para atendimento de visitação na área. Buscando compatibilizar os diferentes usos do CRV foi realizado um estudo de identificação de potencialidades da Trilha da Copaíba, sendo feita a caracterização da área, pesquisas bibliográficas e visita de campo durante o período de Março a Julho de 2013. Os resultados obtidos neste estudo revelaram que a Trilha da Copaíba é plenamente adequada a instalação de um Centro de Interpretação da Natureza, pois as potencialidades identificadas demonstraram a aptidão para ações lazer educativo voltado para a difusão da Educação Ambiental.

**Palavras-chaves:** Capacidade de Carga, Educação Ambiental, Amazônia.

## INTRODUÇÃO

A crescente utilização recreativa dos espaços silvestres tem levado à criação de percursos pedestres, trilhas interpretativas e circuitos ecológicos. A elaboração de uma trilha interpretativa no Parque Nacional Montanhas do Tumucumaque (PNMT) seria sem dúvida, um bom exemplo de como uma prática de Educação Ambiental, pode contribuir na utilização sustentável de áreas silvestres e difusão da conservação dos recursos naturais.

A interpretação em áreas naturais é uma estratégia educativa que integra o ser humano com a natureza, motivando-o a contribuir para a proteção das unidades de conservação (LUTGENS, 2003). De modo geral, busca informar e sensibilizar as pessoas para compreensão da complexa

temática ambiental e para o envolvimento em ações que promovam hábitos sustentáveis de uso dos recursos naturais (ANDRADRE; ROCHA, 1990).

As trilhas interpretativas se bem planejadas, constituem-se de importante instrumento pedagógico, o qual propicia o contato mais próximo entre o homem e a natureza. Cada vez mais são utilizadas em programas de Educação Ambiental, uma vez que, através do processo de sensibilização, fomenta a aquisição de conhecimentos cognitivos relativos ao meio ambiente, fundamentais para a formação de valores e mudanças de comportamento (GUILLAUMON et al, 1997).

O levantamento de informações relativas ao meio biofísico, a avaliação de impactos e o planejamento prévio são fundamentais na implantação de trilhas interpretativas (VASCONCELOS, 1997). A implantação de trilhas interpretativas deve considerar, dentre outros fatores, o potencial da área no que diz respeito aos aspectos naturais, como a importância ecológica e a beleza. A elaboração do circuito pretende propiciar uma experiência enriquecedora ao visitante, ordenando as atividades através da condução por trilhas interpretativas. Seu planejamento, instalação e manutenção têm como premissas: ter trilhas óbvias, sem favorecer aventuras desnecessárias; ser o caminho mais fácil a ser percorrido e ser o caminho mais conveniente a ser explorado (MACHADO, 2005).

## MATERIAL E MÉTODOS

O Centro Rústico de Vivência fica localizado na confluência dos Rios São Felício e Amapari nas seguintes coordenadas  $1^{\circ}11'13.94''\text{N}$ , e  $52^{\circ}22'12.89''\text{O}$ .

O planejamento para a execução do estudo foi precedido por reuniões de logística e de articulação com equipe gestora da unidade de Conservação. Após a realização da etapa de campo no mês de abril foram feitos os cálculos de carga antrópica para estimular a realização de atividades educacionais e de lazer baseados nos trabalhos de Rocha et al (2007) e Cifuentes (1992).

Este método busca referenciar o número máximo de visitas que uma área protegida pode receber levando-se em consideração as condições físicas, biológicas e de manejo. Calcula-se a Capacidade de Carga Física (CCF), Capacidade de Carga Real (CCR) e Capacidade de Carga Efetiva (CCE), levando em consideração fatores de correção (fator social (FCsoc), Erodibilidade (FCero), Acessibilidade (FCac), Precipitação (FCpre), Brilho solar (FCsol), Fechamento eventual (FCeven) e alagamento (FCal)) resultando no número de visitantes que o ambiente pode suportar diária e anualmente, por meio dos princípios de sustentabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com informações fornecidas pela equipe gestora do PNMT, a Trilha da Copaíba foi criada a partir de um caminho já existente que era utilizado por caçadores anteriormente a criação da Unidade de Conservação. Inicialmente a trilha seguiria deste o CRV até a margem do Rio São Felício, para atividades de proteção e uso público, porém seu trajeto atual segue somente até o ponto onde existe uma árvore de Tauari (*Couratari guianensis* Aubl.).

Inicialmente foram delimitados 07 (sete) pontos de observação resultantes do levantamento preliminar durante a inauguração do CRV. De acordo com os estudos de Vasconcellos (2005), não existe um consenso sobre o número de paradas em uma trilha, pois para o autor, o mais importante é que a parada seja curta e envolvente para ser abordada durante a caminhada.

Desta forma a Trilha da Copaíba foi traçada buscando atender de modo geral os usuários do CRV, muito embora possua potencial maior a ser sistematizado, porém fica evidente tratar-se de uma trilha que necessita de um guia (trilha guiada) devido às características ambientais ali presentes.

A Trilha da Copaíba possui comprimento total de 912m, sendo este percurso realizado em tempo médio de 2h. Para o estudo, foram considerados os critérios de fluxo de visitantes, onde cada pessoa utilizaria um espaço mínimo de 1m linear, já que a largura da Trilha da

Copaíba possui distância inferior a dois metros. Estipulou-se como horário de visita na trilha, de 8 às 16h (8 h / dia).

A capacidade de carga física (CCF) é o limite máximo de visitas que se pode realizar em um determinado local durante um dia. Este número é dado pela relação entre os fatores de visita, onde deve ser considerado o horário de visitas disponível e o tempo de deslocamento necessário para cada atrativo. Também deverão ser utilizados no cálculo o comprimento da trilha e a necessidade de espaço de cada visitante. A CCF obtida para a Trilha foi de 3.648 pessoas.

Para o cálculo de Capacidade de Carga Real (CCR) é necessário que se apliquem os fatores de correção à CCF. Os fatores de correção adotados nesse estudo foram: fator social (FCsoc), Erodibilidade (FCero), Acessibilidade (FCac), Precipitação (FCpre), Brilho solar (FCsol), Fechamento eventual (FCEven) e alagamento (FCal), e seus resultados podem ser apresentados na Tabela 1.

O FCsoc visa à manutenção da visitação por grupos, considerando aspectos referentes à qualidade de visitação. Objetiva um melhor fluxo de visitantes e, por sua vez, assegura a satisfação de todos. A metodologia Rocha et al (2007), propõe que a visitação seja controlada por meio da limitação por grupos. Mantendo os preceitos de sustentabilidade, o estudo propõe visitas de no máximo 15 pessoas, sendo recomendado o número de 10 pessoas para cada visita no caso da Trilha estudada.

**Tabela 1.** Fatores de Correção para cálculo da capacidade de carga real.

<b>Fator de Correção</b>	<b>Fórmula</b>
Social (FCsoc)	$\mathbf{FCsoc} = 1 - \frac{Ml}{Mt} = 1 - \frac{760}{912} = 1 - 0,833 = \mathbf{0,167}$
Erodibilidade (FCero)	$\mathbf{FCero} = 1 - \frac{Mpe}{Mt} = 1 - \frac{25}{912} = \mathbf{0,972}$
Acessibilidade (FCac)	$\mathbf{FCac} = 1 - \frac{(Ar. 1,5) + Am}{Mt} = 1 - \frac{(15.1,5) + 10}{912} = 1 - \frac{22,5 + 10}{912} = 1 - \frac{210}{912} = \mathbf{0,965}$
Precipitação (FCpre)	$\mathbf{FCprec} = 1 - \frac{HL}{HT} = 1 - \frac{755}{2920} = \mathbf{0,741}$
Brilho solar (FCsol)	$\mathbf{FCsol} = 1 - \frac{Hl}{Ht} \times \frac{Ms}{Mt} = 1 - \frac{2740}{2920} \times \frac{15}{912} = \mathbf{0,984}$
Fechamento eventual (FCeven)	$\mathbf{FCeven} = 1 - \frac{Hc}{Ht} = 1 - \frac{416}{2920} = 1 - 0,14 = \mathbf{0,857}$
Alagamento (FCal),	$\mathbf{FCal} = 1 - \frac{Ma}{Mt} = 1 - \frac{15}{912} = \mathbf{0,983}$

Para operacionalização dos cálculos deve-se observar a soma das distâncias requeridas por cada grupo aliada ao espaço físico disponibilizado para os visitantes. Recomendado 10 pessoas por grupo, sendo 1 metro por pessoa = 10 metros. Recomendado 50 metros entre cada grupo = 50 metros, 50 + 10 = 60 metros

No presente estudo, o conceito de erodibilidade expressa à resistência do solo à erosão hídrica. Entre outros fatores, é um reflexo dos atributos mineralógicos químicos, morfológicos e físicos do solo. Podemos considerar como Acessibilidade relevante os graus de dificuldade alta e média, sendo passível de estabelecimento de restrições de uso. Neste

caso, é necessária a incorporação de fatores de ponderação para cada grau de dificuldade. Para os locais de Acessibilidade Ruim (Ar), o fator de ponderação é 1,5 e para aqueles locais de Acessibilidade Média (Am) o fator de ponderação é 1, estabelecendo assim o FCac.

Segundo estudo de De Souza e Cunha (2010), o regime de precipitação da Amazônia exibe máximos anuais bem pronunciados durante meses de verão (dezembro, janeiro e fevereiro - DJF) e outono (março, abril e maio – MAM), sendo que os mínimos anuais ocorrem durante os meses de inverno (junho, julho e agosto – JJA) e primavera (setembro, outubro e novembro – SON). Portanto, considera-se a estação chuvosa a área em estudo ocorrendo durante os períodos de JFMAM. Estabelecendo 5 horas de chuvas diárias. Com essa amplitude diária de 5 horas no período de 151 dias, temos os seguintes parâmetros para o FCprec.

O clima no município de Serra do Navio é tropical úmido, com poucas variações de temperatura, sendo outubro o mês mais quente, e fevereiro o mês mais frio. As chuvas se estendem de janeiro a maio, com altos índices pluviométricos. Para FCsol pode considera-se 10 horas de sol ao dia, sendo das 7:00 horas da manhã as 17:00 horas da tarde.

Por razões de manutenção e conservação foi proposto, neste estudo, que a trilha da Copaíba não recebesse visitantes em pelo menos um dia da semana, o que representaria a limitação da visitação em 1 dos 7 dias da semana.

Para o FCal são levados em consideração os pontos em que a água tende a se acumular, aumentando os impactos realizados pelo pisoteio ocorrido no desenvolvimento da trilha, em especial, entre os pontos de observação 4 e 5.

O cálculo final da CCR deve ser aplicado de forma a contemplar os números obtidos na CCF, corrigidos pelos fatores utilizados como critério na metodologia. Portanto, a capacidade de Carga Real na Trilha da Copaíba é de 351 pessoas. Entretanto, este número ainda não é adequado para a definição final da capacidade de carga antrópica. Deve-se considerar a Capacidade de Manejo (CM) para a obtenção da Capacidade de Carga Efetiva (CCE), que, por sua vez, tem maiores condições de oferecer resultados adequados para a limitação de visitas em áreas turísticas naturais.

A CM se traduz na forma de gerenciamento de recursos da instituição responsável pela administração da unidade de conservação. Para uma correta medição da Capacidade de Manejo intervêm variáveis políticas, infra-estruturais e jurídicas. Dessa forma, são considerados aspectos relacionados aos equipamentos, dotação de pessoal, financiamento e instalações disponíveis, entre outros.

De acordo com Rocha et al (2007), o critério escalonado como satisfatório possui uma capacidade de manejo de aproximadamente 75% do valor ótimo. A capacidade de carga efetiva representa o número máximo de visitas que se pode permitir na trilha.

Por meio da determinação da Capacidade de Carga efetiva é possível determinar a quantidade de visitantes diários que a trilha pode suportar respeitando suas limitações ecológicas. Seguindo a metodologia proposta por Rocha et al (2007), temos como resultados indicativos de visitação diária e anual máxima, 263 visitas/dias: 6 visitas/dia/visitante (**43 visitantes/dia**) e 43 visitantes/dia x 365 dias (**15.695 visitantes/ano**).

Na trilha da Copaíba o número de visitantes obtidos pelo cálculo de capacidade física foi de **3.648** (três mil, seiscentos e quarenta e oito pessoas), ressaltamos que este número não é o resultado final da pesquisa, tendo em vista que o mesmo considera apenas a capacidade de visitantes suportada sem os fatores de correção, ou seja, este é o primeiro cálculo e ponto de partida da pesquisa.

O resultado obtido por meio do cálculo de CCR, juntamente com os fatores de correção foi de 351 pessoas por dia. Para podermos verificar a quantidade de visitantes que a trilha pode suportar durante um ano, utilizamos a proporção entre o número de visitas que a trilha poderá receber por dia (cálculo de CCE) e, o número de visitas que podem ser realizadas pela mesma pessoa durante um dia.

Portanto o número de visitantes diários que a Trilha da Copaíba pode suportar é de 43 (quarenta e três) visitantes por dia, já por ano, o número se eleva para 15.695 (quinze mil seiscentos e noventa e cinco) visitantes.

É importante destacar os valores obtidos com o índice VD (visitantes diários). São esses números que irão balizar as decisões de limite de visitação em cada trilha, uma vez que ele sugere a quantidade máxima de pessoas que o ambiente pode suportar por dia.

Para Rodrigues (2000) as trilhas ecológicas/interpretativas são ferramentas indispensáveis no desenvolvimento de programas de EA, principalmente sob o aspecto não formal, pois é no momento da caminhada que a pessoa pode assimilar os conhecimentos adquiridos através da prática.

Segundo Guimarães (1995) a Educação Ambiental exercida em Unidades de Conservação propicia a inter-relação dos processos de aprendizagem, sensibilização, questionamento e conscientização em todas as idades, e a utilização dos diversos meios e métodos educativos para transmitir o conhecimento sobre o ambiente e enfatizar de modo adequado atividades práticas e sociais.

Tomando como exemplo o trabalho de Jacobi *et al.* (2004) realizado em uma Unidades de Conservação de Belo Horizonte, onde grupos de diferentes faixas etárias foram analisados, possível observar que alunos com idade de 9 a 11 anos possuem um interesse heterogêneo, havendo alunos sem nenhum interesse sobre os assuntos abordados e outros bastante dedicados e atentos, nos grupo de 11 a 14 anos os alunos demonstraram ser bem preparados, embora pouco disciplinados. Alguns alunos destacaram-se por manifestar um interesse especial e maior

habilidade para associar as características da trilha ao conteúdo estudado em sala de aula.

## **CONCLUSÃO**

Nesta pesquisa na Trilha da Copaíba, é possível inferirmos sobre seus inúmeros aspectos importantes para o trabalho de Educação Ambiental, pois proporciona um aprendizado por meio da sensibilização obtida pelo contato com a natureza. Neste contexto tomamos a Trilha do CRV do Parque Nacional Montanhas do Tumucumaque, como alternativa pedagógica de aula de campo para a Comunidade do Entorno do Parque.

Frente a falta de mecanismos suficientes para tornar a Educação Ambiental um assunto difundido em todo o Estado, colocamos como proposta a visita de Escolas ao CRV, este local certamente seria uma forma altamente rica de promover condições e meios pelos quais alunos e professores possam assimilar ativamente conhecimentos, habilidades, atitudes e valores.

Com base neste estudo sugere-se que grupos de alunos com idade mínima de 15 anos sejam liberados para fazer esta visita ao CRV. Pois devido o tempo de deslocamento ser longo e feito por meio fluvial, há a necessidade de disciplina, organização e responsabilidade, para uma melhor compreensão dos possíveis riscos tanto no trajeto ao CRV quanto no decorrer da trilha.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, W; ROCHA, L. M. **Planejamento, implantação e manutenção de trilhas. Campos do Jordão, SP, 1990. 786p.**

Cifuentes, M. Determinación de Capacidad de Carga Turística en Áreas Protegidas. **Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) – Serie Técnica, Informe Técnico nº 194. Turrialba, Costa Rica. 1992.**

GUILLAUMON, J. R: POLL; SINGY, J. M. **Análise das trilhas de interpretação.** Instituto Florestal de São Paulo. São Paulo-SP. 1997. 57p.

GUIMARÃES, M. **A dimensão ambiental na educação.** Campinas, SP: Papirus, 5 ° Ed. 2003. 104p.

JACOBI, C.A; FLEURY, L.C; ROCHA, A.C.C.L. **Percepção Ambiental em Unidades de Conservação: Experiência com Diferentes Grupos Etários no Parque Estadual da Serra Do Rola Moça,** Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária Belo Horizonte – 12 a 15 de setembro de 2004. . p. 01-07.

LUTGENS, H. D., BUZO, J. C., TOREZAN, F. E., MARTINS, G. S. **Implantação de trilhas interpretativa-recreativa.** Itirapina-SP. 2003. 198p.

MACHADO, A. **Ecoturismo: um produto viável.** Rio de Janeiro: Ed. SENAC Nacional, 2005. 232p.

ROCHA, C. H. B.; FONTOURA, L. M.; SIMIQUELI, R. F.; PECCATIELLO, A. F. O. Análise Ambiental da Capacidade de Carga Antrópica nas Trilhas dos Circuitos das Águas e Pico do Pião –Parque Estadual do Ibitipoca, MG. **Anais do II Encontro Interdisciplinar de Ecoturismo em Unidades de Conservação.** Itaiaia-RJ, 2007.

RODRIGUES, V. A. **A educação ambiental na trilha.** –Botucatu: UNESP-FCA, 2000. p. 01-07.

VASCONCELOS, J. Trilhas Interpretativas: Aliado Educação e Recreação. Fundação O Boticário de Proteção a Natureza. **Cadernos de Conservação.** Curitiba, PR. 1997. 465p.

# ANÁLISE DE INTERAÇÕES COMPETITIVAS ENTRE FORMIGAS EM *Syzygium cumini*

Lucena, R.C. <sup>(1)</sup>; Vieira, L.A.F. <sup>(1)</sup> raissa.lucen@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João Pessoa – PB, Brasil.

## RESUMO

Compreender as relações definidas entre planta-animal é de extrema importância para entender interações ecológicas ocorridas dentro de um ecossistema. O objetivo deste trabalho foi estudar as interações ocorridas pelas formigas em um perímetro de 10m estabelecido ao redor de um exemplar de *Syzygium cumini*. Após a contagem, cálculo de sua frequência relativa e classificação de todos os formigueiros, procurou-se estabelecer se ocorreu competição entre as espécies localizadas quando recursos foram disponibilizados. Durante cinco observações, com o auxílio de uma isca proteica, foram registradas a presença de uma espécie agressiva e territorialista, *Crematogaster scutellaris* (fr=20) que, apesar de possuir 3 formigueiros com a maior distância relatada em relação à base da *S. cumini* (8,73m), subjugou todas as outras 3 espécies encontradas: *Atta sp.* (fr=66,67), *Camponotus lateralis* (fr=6,67) e *Wasmannia auropunctata* (fr=6,67). A espécie *Atta sp.* não apresentou nenhum indício de herbivoria em relação a *S. cumini* ou de competição pois esta espécie, apesar de possuir o maior número de formigueiros no local, deslocando-se para árvores vizinhas em busca de recursos. A espécie *W. auropunctata* raramente interagiu com a *S. cumini* devido à presença da *C. scuterallis* e *C. lateralis*, que possuem preferências de habitats semelhantes e, ocorrendo exclusão natural da *W. auropunctata*.

**Palavras-chave:** Competição, Myrtaceae, Formicidae.

## INTRODUÇÃO

Formigas possuem uma alta diversidade natural, sendo encontradas ao longo de quase todos os ecossistemas terrestres. Seu impacto ecológico é reconhecível por desempenhar funções importantes como detritívoras,

predadoras, granívoras e herbívoras (KAMINSKI, 2009). Uma de suas ações naturais, em ecossistemas tropicais onde compõem 15% da biomassa animal total (BEATTIE; HUGHES, 2002), é a interação com plantas, onde atuam como herbívoros, assumindo uma íntima associação (TOBIM, 1991).

Plantas disponibilizam recursos naturais essenciais para a sobrevivência das formigas, seja na forma de néctar, estrato vegetativo ou ‘food bodies’ (plantas que possuem órgãos especializados para abrigar colônias de formigas) (BEATTIES, 1985). Em contrapartida, pode ocorrer interações mutualísticas entre formigas e plantas, agindo como alelopáticas, impedindo o crescimento de outras espécies de plantas que impediriam a incidência completa necessária por luz (Suarez et al, 1998), fornecem nutrientes acumulados (BENSON, 1985) e diminuem o impacto da herbívoros por outros invertebrados (VASCONCELOS, 1991).

O estudo das relações de competição é de suma importância para entender a interação ocorrida entre planta-formiga. Competição, como a maioria dos ecologistas considera, compreende a demanda ativa por dois ou mais indivíduos da mesma espécie (competição intraespecífica) ou membros de duas ou mais espécies de mesmo nível trófico (competição interespecífica) por um recurso comum ou necessidades para sobrevivência, que são potencialmente limitantes (RICKLEFS,

2009). Esse tipo de interação é muito comum devido à riqueza na diversidade de espécies de formigas.

*Syzygium cumini* (L.) Skeels é uma espécie invasora, membro pertencente da família Myrtaceae, compreendendo mais de 4.620 espécies agrupados em 129 gêneros e em cinco tribos. A planta foi introduzida em muitas regiões tropicais como no Brasil, sendo encontrada em diversos estados das regiões sudeste, nordeste e norte. Popularmente conhecida como jambolão, é descrita como uma árvore que mede cerca de 10 m de altura e de 3 a 4,5 m de diâmetro de projeção da copa, com folhagem abundante, ramos de coloração acinzentada-claro. As flores estão dispostas em inflorescências, de coloração branca a creme, axilares, racemosas. No Brasil, as flores da jambolão são encontradas nos intervalos dos meses de setembro a novembro e o fruto, encontrado nos meses de dezembro a fevereiro.

O objetivo prioritário deste trabalho foi determinar se a interação entre planta-formiga ocorria de maneira aleatória e estabelecer quais as interações ocorridas entre as diversas espécies diante da presença de recursos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi realizado um exemplar de *Syzygium cumini*, localizado em uma área urbana no município de João Pessoa, Paraíba. Cinco observações, entre os meses de novembro e dezembro de 2011, foram

estabelecidas em horários diversos para determinação do período de ocorrência de maior atividade. Foi estabelecido um transecto de 10m ao redor do exemplar de *S. cumini* com o objetivo de determinar a quantidade de formigueiros dispersos.

Os formigueiros foram marcados utilizando uma bandeira formando um ângulo de 90° no local do ninho e a segunda bandeira foi fixada ao final do percurso estabelecido pelas operárias. Ambas as bandeiras foram presas utilizando barbantes coloridos para diferenciar às espécies encontradas e se ocorreu cruzamento entre trilhas. A distância entre os formigueiros e a planta foi medida com o auxílio de uma trena comum.

Segundo Human e Gordon (1999), para o estudo de competição interespecífica entre espécies da família Formicidae, indica-se testes baseando-se em alimentos atrativos. Na base da planta, foi colocada uma isca composta por uma base proteica, disposta sobre papel vegetal (CAMPOS, 2002), buscando-se analisar o comportamento adotado entre as diferentes espécies durante períodos de 10 minutos e intervalos de 10 minutos. Nesses intervalos, a isca era analisada e repostada. As formigas eram coletadas, dispostas em potes de vidro contendo álcool 70° e levadas ao laboratório de entomologia com o objetivo de classificação taxonômica. A frequência relativa do número de formigueiros foi calculada com base no total observado.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

Durante as observações, foram determinadas, criteriosamente, as distâncias relativas aos diversos formigueiros em relação a *S. cumini*. Foi constatada a presença de 15 formigueiros ao redor da *S. cumini*. A sua distribuição foi variável, com a presença abundante da espécie 3, *Atta* sp. (fr=66,67), totalizando 10 formigueiros. Sua distribuição foi irregular ao redor da árvore, com distância média de 2,8m. As *Atta* sp., conhecidas como saúvas ou “formigas cortadeiras” (DELLA LUCIA, 1993), não predaram a árvore base, deslocando-se para árvores vizinhas em busca de recursos, ainda que seus formigueiros se encontrassem a uma distância maior quando comparadas ao exemplar de *S. cumini*. Utilizaram como recursos, inflorescências e estratos vegetativos de duas plantas vizinhas, a *Terminalia* e uma Fabaceae, ambas localizada a 4,75m e 7,30m, respectivamente, em relação a *S. cumini*.

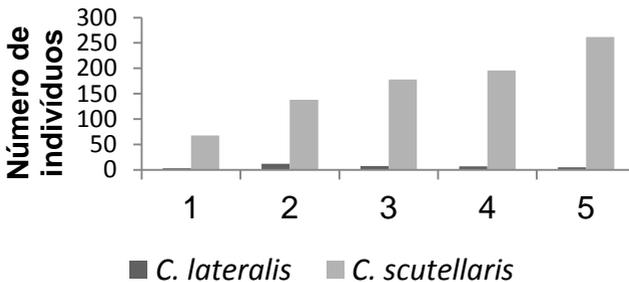
Esse deslocamento pode ter sido devido à baixa capacidade de toxicidade das suas folhagens, apresentando uma taxa de mortalidade diária de  $16,67 \pm 7,6$ , segundo estudos realizados por Dequech et al. (2008) ou pelo comportamento agressivo e territorialista da espécie 2, *Crematogaster scutellaris* (fr=20), relatado por Soulié (1960), tendo em vista que, foi observada a presença de cupins no tronco da *S. cumini*, uma presa em potencial na ausência de isca para a *C. scutellaris*.

O único formigueiro das espécies 1, *Camponotus lateralis* (fr=6,67) foi localizados na base da *S. cumini*, com distância de 0,25m. Os

indivíduos da *C. lateralis* eram encontrados com frequência no estrato vegetativo da planta ou em seus galhos e troncos. A *Crematogaster scutellaris*, apresentou 3 formigueiros encontrado a uma distância média de 8,73m, porém eram sempre vistas ao longo da copa da *S. cumini*, estando de acordo com Ruiz et al. (2013), que afirma que essa espécie prefere viver em árvores. Como explanado por Schatz (2003), essa espécie é muito atraída pelo odor forte, característico da isca proteica, por isso, seu comportamento de intimidação constante pode ser facilmente explicado, rodeando o ninho das formigas da *C. lateralis* (Figura 1). A *C. scutellaris* apresentou técnicas de competição bem características, que incluíam botes e mordidas, onde, em alguns casos, as formigas de espécie diferentes eram levadas para locais distantes da isca (MARLIER, 2004). Ao longo do tronco do indivíduo *S. Cumini*, foi observada uma grande quantidade de soldados mortos da formiga da *C. lateralis* e os poucos indivíduos vivos desta espécie se movimentavam vagarosamente pela árvore.

As representantes da espécie *Atta* sp., por apresentar hábitos diferentes das demais e procurar outras plantas para obter recursos alimentares, não frequentou o local onde a isca foi disposta. Foi observada apenas a presença de duas operárias no local, que, ao presenciarem exemplares da *C. scutellaris* ou por não serem atraídas pelas partículas odoríferas da isca, alteraram sua rota e voltaram a procurar estratos vegetativos em outras localidades.

A espécie 4, *Wasmannia auropunctata* (fr=6,67), possui apenas um único formigueiro ao longo do perímetro estabelecido, localizado na base da *S. cumini*, com distância de 0,55m. Apesar dos relatos dessa espécie possuir uma grande capacidade de adaptação e multiplicação no habitat ao qual está inserido e domina-lo, influenciando a composição da fauna local (CLARK et al., 1982; FABRES; BROWN, 1978), a *W. auropunctata* apresentou-se em quantidade baixa e raramente foi encontrada ao longo do tronco e estratos vegetativos da *S. cumini*. A exclusão pela espécie dominante, *C. scutellaris*, ocorre em casos de coexistência no mesmo biótipo, dessa maneira, a *W. auropunctata* não domina as partes áreas das plantas se o meio for rico em outras espécies que possuem a mesma preferência de local, como a *C. lateralis* e a *C. scutellaris* (DELABIE, 1988).



**Figura 1.** Número de indivíduos das espécies *Camponotus lateralis* e *Crematogaster scutellaris* presentes nas iscas durante as cinco observações realizadas.

## CONCLUSÃO

As iscas contendo proteína atraíram representantes das espécies: *Camponotus lateralis* e *Crematogaster scutellaris*, que estabeleceram um alto nível de competição. A espécie *C. scutellaris* sobressai em relação à espécie *C. lateralis*, devido ao seu comportamento agressivo. A *C. lateralis*, por ser pouco agressiva esteve mais sujeita a ataques e foi subjugada pela *C. scutellaris*.

Constatou-se que as formigas *Atta* sp. não modificaram seu comportamento devido às suas diferenças em sua necessidade alimentar, a presença da *C. scutellaris* ou pela toxicidade da *S. cumini*, mesmo que sendo classificada como baixa, preferindo percorrer longas distâncias até árvores vizinhas. A espécie *Wasmannia auropunctata* não apresentou nenhum estabelecimento de comportamento, seja em relação a *S. cumini* ou em relação às outras espécies de formigas.

## REFERÊNCIAS

- BEATTIE, A.J.; **The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms.** Cambridge University Press, Cambridge, 204p., 1985.
- BEATTIE, A.J.; HUGHES, L. Ant-plant interactions. In: HERRERA, C.M.; PELLMYR, O. **Plant animal Interactions.** Blackwell Publishing, Oxford, 313p., 2002.
- Benson, W.W. Amazon ant-plants. In: Prance, G.T.; Lovejoy, T.E. **Amazonia.** Pergamon Press, Oxford, 442p., 1985.

CAMPOS, M. C. G.; A. E. de C. Campos-Farinha ; O. C. Bueno . As Formigas Urbanas no Brasil: Retrospecto. **O Biológico**, v. 64, p. 129-133, 2002.

CLARK, D.B.; GUAYASAMIN, C.; PAZMIÑO, O.; DONONOSO, C. PAEZ DE VILLANCIS, Y. The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: autoecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz Island, Galapagos. **Biotropica**, v.14, n.3, p.196-207, 1982.

DELABIE, J.H.C. Ocorrência de *Wasmannia auropunctata* (Roger, 1863) (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) em cacauais na Bahia, Brasil. **Revista Theobroma**, v.18, n.1, p.29-37,1988.

DELLA LUCIA, T. M. C. (Ed.) As formigas cortadeiras. **Ed. Folha da Mata, Viçosa**. 262p. 1993.

DEQUECH, S.T.B.; SAUSEN, D.C.; LIMA, C.G.; EGEWARTH, R. **Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal** (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Biotemas**, v.21, n.1, p.41-46, 2008.

FABRES, G.; BROWN JR, W.L. The recent introduction of the pest ant *Wasmannia auropunctata* into New Caledonia. **Journal of tge Australian Entomological Society**, v. 17, p.139-142, 1978.

HUMAN, K. G.; GORDON, D. M. **Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species**. **Oecologia**, v.105. p. 206-212. 1996.

KAMINSKI, L.A.; SENDOYA, S.F.; FREITAS, A.V.L.; OLIVEIRA, P.S. Ecologia comportamental na interface formiga-planta-herbívoros: interações entre formigas e lepidópteros. **Oecol. Bras.**, v.13, n.1, p. 27-44, 2009.

MARLIER, J.F.; QUINET, Y.; BISEAU, J.C. Defensive behaviour and biological activities of the abdominal secretion in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae). **Behavioural Processes**, v.67, p.427-440, 2004)

RICKLEFS, R. E. **A Economia da Natureza**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

RUIZ, E.; MARTINEZ, M.H.; MARTINEZ, M.D.; HERNÁNDEZ, J.M. **Morphological study of the Stridulatory Organ in two species of *Crematogaster* genus: *Crematogaster scutellaris* (Olivier 1792) and *Crematogaster auberti* (Emery 1869) (Hymenoptera: Formicidae)**. **Ann. soc. entomol. Fr. (n.s)**, v. 42, n.1, p. 99-105, 2006.

SOULIÉ, J.La 'sociabilité' des *Crematogaster* (Hymenoptera, Formicoidea). **Insectes Sociaux**, v.7, p. 369-376, 1960.

SUAREZ, A.V.; MORAES, A. Defense of *Acacia collinsii* by in obligate and nonobligate ant species: the significance of encroaching vegetation. **Biotropica**, v.30, p. 480-402, 1998.

THOMAZINI, M. J.; THOMAZINI, A. P. Diversidade de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) em inflorescências de *Piper hisoidinervum* (C.D.C.). **Neotropical Entomology**, v.31, n.1, p.27-34, 2002.

TOBIN, J.E. A Neotropical rainforest canopy, ant community: some ecological considerations. In: HUXLEY, C.R.; CUTLER, D.F. **Ant-Plant Interactions**. Oxford University Press, Oxford, 601p., 1991.

VASCONCELOS, H.L. **Mutualism between *Maieta guianensis* Aubl., a myrmecophytic melastome, and one of its ant inhabitants: ant protection against insect herbivores.** **Oecologia**, v.87, p.295-298, 1991.

---

## ANÁLISE DE INTERVENÇÃO MICROBIOLÓGICA EM UNIDADE INDUSTRIAL PRODUTORA DE BIOETANOL

Leite, A.L<sup>(1)</sup>; Santos, F. J. A. L<sup>(1)</sup>; Lima, M. C. S<sup>(1)</sup>; Duarte, J. T. C.<sup>(3)</sup>; Barbosa-Neto, A. G.<sup>(2,4)</sup>; Brasileiro, B. T. R. V<sup>(2,4)</sup> adylunaleite@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(3)</sup>Universidade de Pernambuco - UPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(4)</sup>Genetech Bioprodutividade, Recife - PE, Brasil.

### RESUMO

A produção sucroalcooleira se concentrava na região Nordeste do país, entretanto após o projeto nacional de incentivo a produção de etanol, o PROÁLCOOL, para integração à matriz energética brasileira, a região Sudeste investiu massivamente na tecnologia sucroenergética, se destacando

rapidamente no setor. A produção de etanol baseia-se no processo biológico de fermentação, via fermentativa, na qual a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é apontada como agente fermentador. Os parâmetros a serem considerados e analisados para obter produtividade máxima de etanol são, teor de fermento na dorna, a viabilidade celular, a ocorrência de infecções, o pH, a temperatura e concentração de açúcar redutor total no mosto. Neste sentido o presente trabalho objetivo avaliar o processo de intervenção microbiológica no processo fermentativo de uma unidade industrial, baseado nos parâmetros de rendimento fermentativo e a dinâmica da população leveduriforme que atuaram no processo durante duas safras consecutivas. Baseado no monitoramento desta população foram realizadas intervenções, através da injeção de fermento selecionado. Os dados coletados demonstraram gradativa uniformidade do fermento que refletiu no aumento da capacidade fermentativa da biomassa (fermento).

**Palavras-Chave:** *Saccharomyces cerevisiae*; Produção Sucroalcooleira; Eficiência Fermentativa.

## INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), planta semi-perene pertencente à família das gramíneas é a principal matéria-prima utilizada industrialmente para a produção de açúcar e álcool. Com a desvalorização do açúcar no mercado externo e o advento da monocultura do café, houve um declínio dos engenhos, que com o passar dos tempos foram substituídos pelas usinas, principalmente para a produção de álcool (NAVES, 2010), baseado na fermentação dos açúcares da cana por leveduras.

No Brasil, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada em grande escala para a produção de etanol combustível através da fermentação de mostos (caldo-de-cana e/ou melaço) a partir de matérias-primas à base

de cana de açúcar, sendo um exemplo de sucesso de bioprocessos, que proporciona um biocombustível avançado, a preços competitivos e de baixo impacto ambiental (DÁRIO, 2012; CASTANHEIRA, 2013).

É importante ressaltar que as leveduras selvagens podem dominar o processo ao longo da safra melhorando a eficiência na produção de álcool ou acarretando problemas na fermentação, como baixo rendimento, formação excessiva de espumas e floculação do fermento (FERNANDES, 2010). Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar o processo de intervenção microbiológica no processo fermentativo de uma unidade industrial, baseado nos parâmetros de rendimento fermentativo e a dinâmica da população leveduriforme que atuaram no processo durante duas safras consecutivas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção dos dados da safra 2008/2009 e coletas***

Os dados de amostras analisadas quanto à eficiência fermentativa do fermento, à capacidade fermentescível do mosto de alimentação (caldo de cana) e à dinâmica da população leveduriforme foi gentilmente cedida pela empresa Genetech Bioprodutividade, Recife-PE. As amostras de Biomassa (fermento concentrado) provenientes do pré-fermentador e do Mosto de Alimentação (caldo-de-cana diluída em água), logo após extração na moenda, foram coletadas na unidade industrial da Paraíba sendo transportadas em banho de gelo ao

Laboratório da Empresa Genetech Bioprodutividade, Recife-PE, estabelecida na Incubadora Tecnológica Positiva - UFPE e acondicionadas a 4 °C.

### ***Isolados e caracterização molecular***

O isolamento foi realizado através de plaqueamento da biomassa diluída (1:1.000.000) em placas de Petri contendo meio de cultivo WLN adicionado de 2% de antibióticos. Após seleção dos isolados, foi realizada a extração do DNA nuclear pelo método descrito por Silva-Filho et al. (2005). Para quantificação, a amostra foi diluída 1:200 e levada ao espectrofotômetro a 260 nm de comprimento de onda, utilizando a relação  $1D.O = 50 \mu\text{g/ml}$  (SAMBROOK et al., 1989).

### ***Isolamento e produção de biomassa da cepa de *S. cerevisiae* P1***

A cepa P1 foi multiplicada em 2 litros de Caldo YPS, por 7 dias a temperatura ambiente com agitação constante de 150 RPM. A qual foi utilizada para injeção no fermento do processo.

### ***Determinação dos Açúcares Redutores Totais (ART) e Açúcar Residual (AR), Potencial Hidrogeniônico (pH), •Brix e Teor Alcoólico (SILVA-FILHO et al., 2005; BARBOSA-NETO et al., 2010)***

Para determinação da quantidade de açúcar inicial (ART) e final (AR) foi medida através do 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. Para determinação do açúcar inicial foi utilizado um alíquota do sobrenadante mosto de melação , no qual foi adicionado 100µL de HCL 1M. Após agitação a amostra foi aquecida a 100°C por 10 minutos para hidrólise da sacarose e em seguida, adicionou-se 100µL de NaOH 1M e 1mL de reativo ADNS. Após aquecimento a 100°C por cinco minutos o volume foi completado para 10mL com água destilada após o resfriamento, foi procedida a leitura D.O. em comprimento de onda de 540nm. Quanto a medida do açúcar residual, após 6h de fermentação, 40mL da fermentação foi centrifugada durante 5 minutos para separar o vinho do mosto fermentado, da biomassa. Em seguida 10µL do vinho foi diluído em 990 µL de água destilada e adicionada 1mL de ADNS, aquecido a 100°C por cinco minutos. Posteriormente, foi feita a leitura da D.O em comprimento de onda de 540nm e a partir da curva de calibração da glicose e da respectiva absorbância, efetuou-se a regressão linear e a correlação ( $R^2$ ). O cálculo da quantidade de açúcares redutores totais foi realizado da seguinte forma:

$$A_{540nm} \times \text{diluição da amostra} = 0,9465x \text{ ART (g/l)} + 0,0164$$

O pH e o Brix foram medidos através de um pHmetro portátil e do refratômetro respectivamente. O teor alcoólico foi determinado pela técnica de ebuliometria, através do ebuliômetro modelo 3300. A partir de uma curva de calibração com solução alcoólica nos tratamentos de 0,0%, 2,5%, 5,0%, 10,0%, 15,0% e 20% foi possível determinar a

quantidade de álcool diluído (gEtOH/100mL) na amostra. Onde foi obtida através da curva de calibração a seguinte equação, para medida de etanol após a fermentação:

$$T^{\circ}\text{C} = 1,0337x(\text{ETOH}(\text{g/L}))+102,81$$

### ***Ensaio fermentativo***

Para avaliar a capacidade fermentescível, após ajuste do pH em torno de 5,2, foi realizado um ensaio fermentativo utilizando o fermento liofilizado JP1, após ativação em solução salina durante 1h em estufa microbiológica. Os ensaios foram conduzidos sem agitação, incubados a 33°C por 6 horas. Os parâmetros físico-químicos industriais, já mencionados, e microbiológicos foram medidos antes e após a fermentação. Para determinar a viabilidade celular foi utilizada a câmara de Neübauer. A concentração em porcentagem de levedura foi de 10%. Este ensaio foi adequado às metodologias de Silva-Filho et al. (2005), Vila Nova et al. (2009) e Barbosa-Neto et al. (2010), os quais consideram para o cálculo de rendimento e eficiência da fermentação:

$$\text{Rendimento} = X/Y \quad \text{Eficiência} = (\text{rendimento}/0,511)*100$$

X = gramas de etanol produzido

Y = gramas de glicose consumido

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseado na dinâmica da população leveduriforme durante a safra 2008/2009 da unidade industrial é possível observar que a cepa perfil P1 de *S. cerevisiae* prevaleceu no processo (40%), destacando-se no final da safra (Figura 1A). Por não ter havido novo inoculo de fermento comercial, possivelmente, a cepa P1 pode ser considerada levedura nativa, advinda da matéria-prima, demonstrando sua adaptabilidade ao processo.

Nas safras 2009/2010 e 2010/2011, a cepa P1 foi utilizada para injeção (inoculo) durante as intervenções (representadas nas Figuras 1B e 1C pela seta), visando estabelecer uniformidade populacional, evitando a instalação de cepas contaminantes ou de baixa eficiência fermentativa.

A observação desta dinâmica vem reforçar as conclusões apresentadas em trabalhos científicos já publicados, à medida que se verifica que a caracterização genética evidenciou a existência de linhagens de leveduras nativas apresentando frequências variáveis ao longo da safra. E ainda, que no inoculo inicial da safra com leveduras comerciais possuem grande dificuldade para se instalar e dominar o processo, observado em safras anteriores, sendo mais viável o isolamento e multiplicação de uma linhagem nativa para o inoculo do inicio de safra. É oportuno ressaltar que a levedura selecionada para conduzir o processo fermentativo da safra 2010/2011 desta destilaria foi a *S.*

*cerevisiae* P1, a qual apresentou dominância e frequência uniforme durante a safra 2009/2010, demonstrando a eficiência das intervenções.

A análise da capacidade fermentativa do fermento do processo permite observar o aumento após intervenção (Figura 2 – Grupo A). No entanto, analisando a média geral da safra (Figura 2 – Grupo C) é observada uma queda na safra 2010/2011, possivelmente foi tendenciado pela baixa qualidade do mosto, representado pela baixa capacidade fermentescível do mosto (Figura 2 – Grupo B), adicionado à redução de número de amostragem.

A capacidade fermentativa do fermento (biomassa) está associada a diversos fatores como dinâmica da população leveduriforme, inclusive o estabelecimento de leveduras contaminantes ou “selvagens” com baixa eficiência; o estresse que desregulam a capacidade de manutenção da viabilidade celular, característicos do próprio processo industrial; o estabelecimento de infecção bacteriana; e, a composição mineral do caldo de cana-de-açúcar, que podem de forma cumulativa na célula torna-se tóxico (NAVES, 2010).

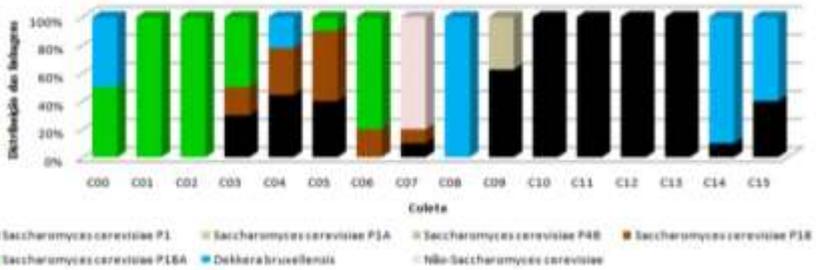
Segundo Lima (2011), a *S. cerevisiae* P1, embora, seja uma levedura adaptada ao processo, sua presença nem sempre é suficiente para garantir uma boa eficiência fermentativa. Essa queda possivelmente foi provocado devido ao alto pH ou o elevado açúcar residual, pois ainda de acordo com Lima (2001), esses dois fatores podem influenciar na capacidade fermentativa.

Todos estes aspectos são estabelecidos através da necessidade do reciclo do fermento, aspecto que por muitas vezes é desconsiderado em pesquisas científicas, fugindo a realidade do processo industrial.

Os ensaios fermentativos têm mostrado diferenças com relação à capacidade fermentativa revelando linhagens mais produtivas, o que tem permitindo a criação de um banco de perfis genéticos de linhagens de *S. cerevisiae* selecionadas para utilização durante a safra em curso ou como “starter” nas safras seguintes. Este procedimento tem demonstrado que trabalhar com fermentações mais homogêneas em termos de leveduras selecionadas evita a presença de leveduras selvagens não-*Saccharomyces* em frequências prejudiciais à fermentação (> que 20%), resultando em ganhos no rendimento.

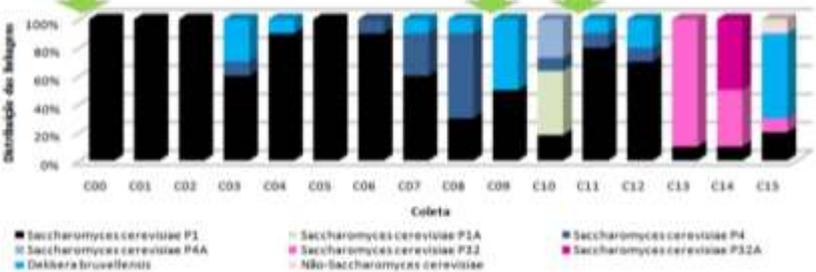
**DESTILARIA ██████ - Safra 2008/2009**

**A**



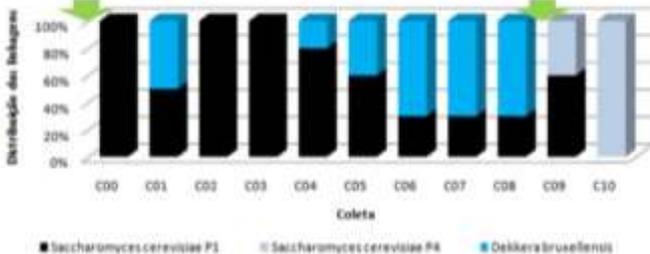
**DESTILARIA ██████ - Safra 2009/2010**

**B**

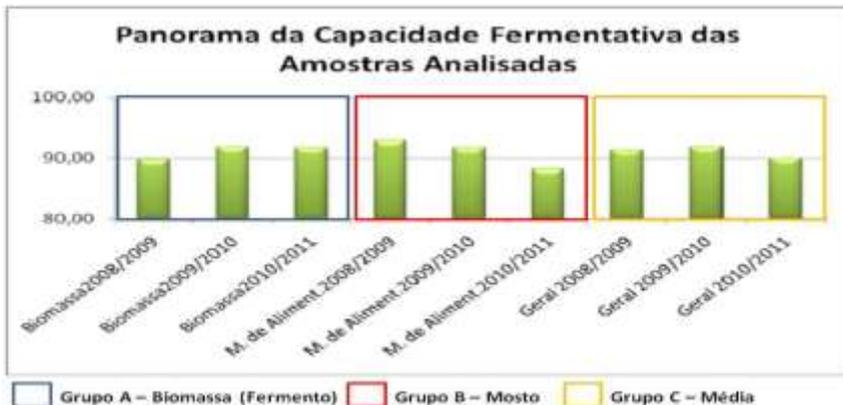


**DESTILARIA ██████ - Safra 2010/2011**

**C**



**Figura 1.** Dinâmica da população leveduriforme coletada na unidade industrial da Paraíba da safra caracterizada por técnica molecular: **A)** Safra 2008/2009; **B)** Safra 2009/2010; **C)** Safra 2010/2011. As setas indicam momento de (inoculo) da cepa de *Saccharomyces cerevisiae* P1 no fermento do processo.



**Figura 2.** Dinâmica da média aritmética da eficiência fermentativa da biomassa e fermentescível do mosto de alimentação, e a representação da capacidade geral representada pela média aritmética do mosto e da biomassa, durante as safras de 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

## CONCLUSÃO

A eficiência da conversão de açúcar em etanol pode ser afetada não somente pela presença de micro-organismos, mas também de acordo com a temperatura, pH, concentração de açúcares e falta ou excesso de nutrientes minerais.

A ocorrência dessas leveduras tem sido freqüentemente associada a ocasiões em que se verificam reduções significativas da eficiência industrial, com queda no rendimento fermentativo, maior tempo de fermentação e maior formação de espumas pelo aumento da viscosidade;

A *Saccharomyces cerevisiae* do perfil P1 mesmo sendo uma levedura adaptada ao processo fermentativo, nem sempre sua presença e até

mesmo a predominância é suficiente para garantir uma boa eficiência fermentativa, visto que é observada uma queda na capacidade durante a safra 2010/2011;

Para a eliminação das linhagens contaminantes ao processo, é necessária a substituição do fermento por fermento adaptado, aliado a uma melhoria na limpeza das moendas, tubulações, instalações da fermentação e vários outros procedimentos. Tais como descarte de fundo de dorna, a qualidade da água utilizada na diluição do mosto, na eficiência do tratamento térmico/químico do caldo e controle da temperatura de fermentação.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA-NETO, A.G.; BRASILEIRO, B.T.R.V. **Caracterização morfológica e avaliação do potencial fermentativo de linhagens de leveduras isoladas no processo de fermentação alcoólica industrial.** (Resumo) 12ª Jornada de Iniciação Científica (PIBIC CATÓLICA/CNPq/FACEPE), Recife – PE, 2010. p. 5-6.

CASTANHEIRA, D.D. **Estudos sobre a produção de etanol em células de *Saccharomyces cerevisiae* com maior atividade da enzima H<sup>+</sup>-ATPase de membrana citoplasmática.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto (MG), 2013.

DÁRIO, M. G. **Análise molecular do metabolismo de sacarose por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas na produção industrial de álcool combustível.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina (SC), 2012.

GAMBOA, B. S. P. **Digestibilidade dos macronutrientes e disponibilidade dos minerais, pela Tilápia do Nilo, das leveduras íntegra e autolisada.** Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu – SP, 2008.

LIMA, M. C. S.; PAES, I. F. G.; BARBOSA NETO, A. G.; BRASILEIRO, B. T. R. V. . **Relação da eficiência fermentativa com a dinâmica de população de leveduras industriais.** In: CONGRESSO NACIONAL DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS / IV SIMPÓSIO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, 2011. p. 691-698.

LIMA, U.A. **Biotecnologia industrial. Processos fermentativos e enzimáticos.** Vol.1, SP, EDITORA BLUCHER LTDA, 2001.

NAVES, R. F.; FERNANDES, F. S.; PINTO, O.G.; NAVES, P.L.F. **Contaminação Microbiana de Processamento e sua Influência no Rendimento Fermentativo em Usina Alcooleira.** Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia-GO, 2010.

SILVA FILHO, E.A. da; SANTOS, S.K.B. dos; RESENDE, A.M.; MORAIS, J.O.F. de; MORAIS JUNIOR, M.A.; SIMOES, D.A. Yeast population dynamics of industrial fuel-ethanol fermentation process assessed by PCR-fingerprinting. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 88, n.1, p. 13-23, 2005.

VILA NOVA, M.X.; Schuler, A.R.P.; BRASILEIRO, B.T.R.V.; MORAIS JUNIOR, M. A. Yeast species involved in artisanal cachaça fermentation in three stills with different technological levels in Pernambuco, Brazil. **Food Microbiology**, v. 26, p.460-466, 2009.

---

## **ANÁLISE DE TRANSCRIPTOMA DE ARROZ SUBMETIDO A ESTRESSE BIÓTICO (FUNGO *Magnaporthe oryzae*)**

**Narciso, M.G.<sup>(1)</sup>; Salvador, M.V.<sup>(1)</sup>; Bevitóri, R.<sup>(1)</sup>** [marcelo.narciso@embrapa.br](mailto:marcelo.narciso@embrapa.br)

<sup>(1)</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás – GO, Brasil.

### **RESUMO**

Este trabalho é sobre como obter quais genes de uma variedade de arroz são expressos quando do ataque do fungo *Magnaporthe oryzae*, que causa a doença Brusone, às folhas de plantas de arroz. Em resposta ao ataque, são expressos alguns genes e silenciados outros genes, tanto para o caso do fungo

quanto para o caso do arroz. Com a descoberta de quais genes são responsáveis pela defesa da planta e quais genes são expressos para que o fungo ataque a planta, é possível entender melhor todo o mecanismo da planta de arroz quando do ataque e assim produzir variedades mais resistentes à Brusone. As ferramentas computacionais para análise dos dados para se obter quais genes estão envolvidos no processo de defesa da planta são o enfoque deste trabalho e qualquer pessoa poderá realizar o mesmo procedimento.

**Palavras-chave:** Resistência a Brusone, Genes, Software Tophat/Cufflinks.

## INTRODUÇÃO

Um dos grandes obstáculos para o aumento da produtividade e estabilidade de produção de arroz é a brusone. Esta doença aparece por causa do fungo *Magnaporthe oryzae*. Desde seu aparecimento no Brasil, em 1912 (Averna-Sacca, 1912), ainda não existe controle efetivo, determinando prejuízos grandes na Região Centro-Oeste onde, em situações mais drásticas, as perdas podem chegar a 100%, dependendo do genótipo, da época de plantio e das condições climáticas (Prabhu et al., 2003).

São poucos os estudos conduzidos de análise do transcriptoma da interação arroz x *M. oryzae* e as bases moleculares dessa interação ainda não são completamente estabelecidas devido à mutação do patógeno. Nesse sentido, são de particular relevância os recentes avanços na genômica funcional que podem aumentar a eficiência do melhoramento convencional para o desenvolvimento de arroz com tolerância à deficiência hídrica, através da identificação, do isolamento e da caracterização de genes envolvidos na resistência a brusone.

## MATERIAL E MÉTODOS

Nesse estudo, foi conduzido um experimento visando a obtenção de sequências de DNA expressas durante a infecção do arroz por *M. oryzae*. A cultivar de arroz Metica 1, cultivada em bandejas de plástico em ambiente controlado, foi desafiada com isolado virulento e avirulento do fungo *M. oryzae*, aos 21 dias após a germinação. O isolado avirulento não causa brusone, e serve para comparação com o isolado virulento, que causa a brusone. A penúltima folha de cada uma das duzentas plantas, por tratamento, foi coletada 4 e 24h após inoculação (hpi) com a suspensão conidial preparada conforme descrição de Prabhu et al., (1992). As folhas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até uso para extração de RNA. Foram coletadas 08 amostras de RNA total utilizando-se o kit RNAeasy (Qiagen). O seqüenciamento em grande escala foi realizado utilizando-se o equipamento Genome Analyser, da Solexa/Illumina. Posteriormente, análises de bioinformática, usando alguns softwares, foram utilizadas para comparação dos resultados entre os tratamentos.

Foram usados para a verificação dos genes envolvidos no processo de defesa contra o fungo os softwares Tophat e cufflinks, que estão descritos em (Trapnell et al, 2012), e também sites de busca para descoberta de genes e a função destes genes que tenham ligação com a

resistência a brusone. Como usar estes softwares e sites de busca e os resultados estão descritos a seguir.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nesta secção serão apresentados os softwares usados para as análises e seus resultados, os quais vão mostrar os genes responsáveis pela resistência ao estresse biótico que a planta foi submetida e será discutido cada passo.

Inicialmente serão vistos os softwares tophat e cufflinks para obter as regiões do cromossomo que são ativadas e depois os genes que contém estas regiões e a finalidade destes, para então ver quais genes são ativados para combater o fungo e os que são silenciados. Este processo pode ser feito para várias outras finalidades, como por exemplo, para verificar que genes estão sendo expressos para que a planta retenha a maior quantidade de água possível quando em período de seca (tolerância a seca) ou de frio (tolerância ao frio).

TopHat é um programa que alinha reads a um genoma referência (no caso deste trabalho, a variedade de arroz tropical japônica nipponbare) com a finalidade de identificar junções exon-exon. Isto é feito graças ao programa para mapear reads de comprimento curto (short reads) cujo nome é bowtie (ver BOWTIE, 2013).

TopHat foi otimizado para reads com 50 pares de bases ou mais (se usar o software bowtie2) e menos de 50 pares de bases. No caso deste trabalho, como os reads contém 17 pb, e existem aproximadamente 711 mil reads distintos, então será usada a versão 1, conhecida por bowtie (BOWTIE, 2013). Mais sobre tophat pode ser visto em (TOPHAT, 2013).

Para usar os reads, obtidos pelo Genome Analyser, descrito anteriormente, como entrada do software tophat, basta executar os comandos abaixo.

```
bowtie-build -f ./nipponbare.fasta ./nipponbare
tophat --bowtie1 -p 16 -r 110 -o ./saidaMetica ./nipponbare ./metica-
f.fastq ./metica-r.fastq
```

O caso acima é para quando se tem os arquivos fastq forward (*metica-f.fastq*) e reverso (*metica-r.fastq*). Para o caso single-end, com apenas um arquivo fastq (no exemplo abaixo, *metica.fastq*) o comando tophat é executado da seguinte forma:

```
tophat --bowtie1 -p 16 -r 110 -o ./saidaMetica ./nipponbare
./metica.fastq
```

Para executar o software tophat, o primeiro comando é *bowtie-build*, que faz uma indexação do genoma referência (*nipponbare.fasta*), e a saída é o arquivo *nipponbare*, o qual serve de entrada para o comando tophat, que é executado logo a seguir. O segundo comando tem a opção *--bowtie1* que indica a execução do comando bowtie, versão 1, para reads com menos do que 50 pb. O parâmetro *-p* indica a quantidade de processadores a serem usados, que no caso do exemplo foram 16. A

saída produzida pelo comando estará no diretório *saidaMetica*. Os arquivos *metica-f.fastq* e *metica-r.fastq* são fornecidos pelo Genome Analyser, da Solexa/Illumina, já descrito anteriormente. Estes dois arquivos são gerados para o caso do ataque após 4h e também para o caso de 24 h. Assim, os comandos acima deverão ser executados duas vezes, uma vez para os dados gerados para 4h e outra vez para os dados gerados para 24 h. Após executar o comando *tophat*, no diretório *saidaMetica*, serão gerados os seguintes arquivos com resultados obtidos: *accepted\_hits.bam*, *junctions.bed*, *insertions.bed* e *deletions.bed*. O arquivo *accepted\_hits.bam* é do tipo Binary Alignment/Map (TOPHAT, 2013) e será usado por outros comandos a serem descritos mais adiante.

Após o comando *tophat* ter sido executado, serão executados os comandos para a montagem dos transcritos (*Cufflinks*), mistura de duas ou mais montagens de transcritos (*Cuffmerge*) e encontrar genes expressos e os transcritos obtidos de cada ensaio (*Cuffdiff*). Os comandos para executar estes passos são os seguintes:

```
cufflinks -p 16 -o saidaCuffLinksMetica-4V accepted_hits-4V.bam
```

```
cufflinks -p 16 -o saidaCuffLinksMetica-4AV accepted_hits-4AV.bam
```

```
cufflinks -p 16 -o saidaCuffLinksMetica-24V accepted_hits-4V.bam
```

```
cufflinks -p 16 -o saidaCuffLinksMetica-24AV accepted_hits-4V.bam
```

Os arquivos `accepted_hits-4V.bam`, `accepted_hits-4AV.bam`, `accepted_hits-24V.bam` e `accepted_hits-24AV.bam` são gerados a partir do comando `tophat`, conforme mencionado anteriormente. Arquivos do tipo `bam` são arquivos do tipo “binary alignment map”. Estes arquivos contêm dados diversos dos reads lidos pelo comando `tophat` e das montagens de alinhamentos obtidos. O comando `cufflinks` vai gerar, no diretório especificado pela opção “-o `saidaCuffLinksMetica-4V`”, o arquivo `transcripts.gtf`, dentre outros. Assim, tem-se então 4 arquivos `transcripts.gtf`, um para cada ensaio.

Estes arquivos, serão renomeados para `transcripts-4V.gtf`, `transcripts-4AV.gtf`, `transcripts-24V.gtf`, `transcripts-24AV.gtf`, para não confundir. Um arquivo, contendo os nomes destes quatro arquivos, chamado de `transcritos.txt`, será usado para executar o comando abaixo:

```
cuffmerge -g ./nipponbare.gtf -s ./nipponbare.fasta -p 16  
./transcritos.txt
```

O comando acima tem a opção `-g nipponbare.gtf`. Este arquivo pode ser baixado a partir do site ([www.phytozome.net](http://www.phytozome.net)).

O comando `cuffmerge` serve para uma anotação única dos transcriptomas envolvidos. O resultado é um arquivo de nome `merged.gtf`. Após este comando, é executado o comando `cuffdiff`, tal como abaixo:

```
cuffdiff -o diff_out_4 -b ./nipponbare.fasta -p 16 -L C1,C2 -u  
merged.gtf accepted_hits-4V.bam accepted_hits-4AV.bam
```

```
cuffdiff -o diff_out_24 -b ./nipponbare.fasta -p 16 -L C1,C2 -u
merged.gtf accepted_hits-24V.bam accepted_hits-24AV.bam
```

No primeiro comando, são considerados os dados de 4h para o fungo virulento e 4h para o fungo avirulento. O segundo comando considera os dados de 24h para o fungo virulento e 24h para o fungo avirulento. Os parâmetros usados nos comandos acima podem ser vistos em (Trapnell et al., 2012). A saída estará nos diretórios o `diff_out_4` e o `diff_out_24`. Nestes diretórios têm vários arquivos contendo estatísticas diversas, e dentre eles o arquivo `gene_exp.diff`. Um trecho deste arquivo está a seguir.

sample1	sample2	status	value1	value2	log2(fold)	test_stat	p_value	q_value	signif
C1	C2	OK	73678.6	10134.7	-286.195	392.247	8,76E-03	0.040614	yes
C1	C2	OK	1440.66	289.097	-23.171	402.622	5,67E-03	0.0350514	yes
C1	C2	OK	124.081	993.336	0.320928	0.403514	0.068657	0.955297	no
C1	C2	OK	78292.9	110140	0.492385	0.818113	0.013293	0.936029	no

Com este arquivo e outros gerados por este processo, é possível saber quais genes participam do processo de combate ao fungo da Brusone e quais não participam ou são silenciados. Estes arquivos são para os ensaios 4V x 4AV e 24V x 24 AV.

Falta ainda verificar em que gene a sequência está. Assim, primeiro faz-se um filtro do arquivo `gene_exp.diff` para quando `significant = yes` ou quando `p-value` é menor que um certo valor (0.01, por exemplo) e o valor absoluto de `log(fold)` for maior que um certo valor (2, por

exemplo). Assim, usando o arquivo exemplificado, anteriormente, tem-se que as regiões do cromossomo que são ativadas são:

sample1	sample2	status	value1	value2	log2(fold)	test_stat	p_value	q_value	signif
C1	C2	OK	73678.6	10134.7	-286.195	392.247	8,76E-03	0.040614	yes
C1	C2	OK	1440.66	289.097	-23.171	402.622	5,67E-03	0.0350514	yes

C1 e C2 correspondem aos ensaios para 4V e 4AV, para o caso do primeiro comando cuffdiff apresentado, e 24V e 24AV para o segundo comando, ilustrado anteriormente. O trecho no qual está descrito onde a sequência está, e que complementa o exemplo dado, é o que está abaixo.

test_id	gene_id	gene	locus	sample1	sample2
XLOC_000221	XLOC_000221	-	Chr1:6281506-6281740	C1	C2
XLOC_000891	XLOC_000891	-	Chr1:28731490-28732206	C1	C2
XLOC_000966	XLOC_000966	-	Chr1:30184249-30184382	C1	C2

Foi verificado que para o caso 4V x 4AV, a quantidade de genes expressos para a defesa contra o fungo foi bem maior do que a quantidade de genes expressos para o caso de 24V x 24AV. Isto pode ser explicado por que o fungo, no início do ataque (4 h), tenta atravessar a barreira natural que existe na folha para sua proteção, isto é, as camadas de células da epiderme, cutícula, etc.. Para obter as regiões nas quais as sequências obtidas foram escolhidas, foi feito o seguinte procedimento: 1) obter os cromossomos a partir da variedade referência nipponbare.fasta e gerar os arquivos crom01.fasta, ..., crom012.fasta; 2)

criar uma base de dados para busca usando o comando `makeblastdb` para cada um dos 12 cromossomos. Por exemplo, para o cromossomo 1 `makeblastdb -in ./cromo1.fasta -input_type fasta -dbtype 'nucl' -out ./cromo1.db`; 3) obter as sequências desejadas, a partir do arquivo gerado por `cuffdiff`. Para exemplificar, para o caso do loci ser Chr1:6281506-6281740, então é executado

```
blastdbcmd -db cromo1 -range 6281506-6281740 -dbtype nucl -entry all
```

Estes comandos, `makeblastdb` e `blastdbcmd`, pertencem a um kit de busca do software BLAST feito pelo NCBI (ver [www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)). A saída do commando `blastdbcmd`, para cada ChrXX:YYY-ZZZ, é uma sequência, tal como o exemplo abaixo:

```
>gnl|BL_ORD_ID|0:26174154-26174382 Chr7
TACGTGGTGCTCGGAGACGGCGGCCGCGGGGAGAGAGG
GGAGCCATGGAACATTAGGATAGAGGACGTGGATTAGGACC
AGGATTATATTCTTCAAATTGGTTTCAATTGGTTTTAAGGTGG
TCGATTTTTCTTTCGGTTTTTGTATATACA
```

Com esta sequência, faz-se então uma busca através do gene ao qual a sequência pertence usando o comando `blastn`, tal como está feito abaixo, considerando-se que esta sequência está em um arquivo chamado `saidaCuff.fasta`. O comando para isto é `blastn -db nt -query saidaCuff.fasta -num_threads 16`. Outra forma de busca do gene pode ser feita através do site do NCBI, (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) usando a sequência desejada.

Após a busca, são obtidos os genes, que tem a identificação do tipo, LOC\_Os0RgXYZKW, R,X,Y,Z,k,W são números de 0 a 9. Com estes genes, faz-se uma busca sobre a função de cada um usando o site <http://bioinfo.cau.edu.cn/agriGO>. E a opção d *Analysis Tool*. Ao acessar esta opção, basta passar um conjunto de genes que o site mostra em que atividade cada gene participa, conforme ilustra a Figura 1.

**Job ID:** 816760793  
**GO Accession:** GO:0005623  
**Ontology:** Cellular Component  
**Description:** cell  
**Annotated/Total number in query list:** 7/17  
**Annotated/Total number in background/reference:** 22048/34296

Name	GO terms
LOC_Os04g54360	GO:0009058 biosynthetic process GO:0005975 carbohydrate metabolic process GO:0016740 transferase activity GO:0005739 mitochondrion
LOC_Os03g17300	GO:0009719 response to endogenous stimulus GO:0016049 cell growth GO:0016301 kinase activity GO:0016043 cellular component organization GO:0009791 post-embryonic development GO:0007165 signal transduction GO:0005886 plasma membrane GO:0006464 protein modification process GO:0009653 anatomical structure morphogenesis
LOC_Os06g05050	GO:0016301 kinase activity GO:0005515 protein binding GO:0006464 protein modification process GO:0005886 plasma membrane
LOC_Os06g39760	GO:0005829 cytosol GO:0000166 nucleotide binding
LOC_Os05g41172	GO:0006464 protein modification process GO:0005634 nucleus GO:0016740 transferase activity GO:0040029 regulation of gene expression, epigenetic GO:0016043 cellular component organization

**Figura 1.** Resultados de genes usando o site agriGO.

São vários genes envolvidos, e todos aqueles que tiverem GO terms “stress response” ou “response to biotic stimulus” ou “biotic stress” são genes que podem ser considerados candidatos a serem validados para verificar a participação deste no processo ( o gene é poderá estar relacionado ao combate ao fungo).

## CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou uma forma de uso de ferramentas computacionais para encontrar genes envolvidos em resposta a estresse biótico. Para o caso deste trabalho, foi focado o fungo que causa a Brusone. Os softwares usados para a análise dos dados são gratuitos e qualquer pessoa poderá realizar este procedimento, para uma situação similar. O tempo de execução destes programas depende da quantidade de processadores que o computador que vai rodar os programas tiver. O tempo médio para executar estas tarefas de análise por tophat e cuffdiff é de 1 a 3 dias. Se o computador tiver apenas um processador, o tempo vai ser maior, mas a análise será feita da mesma forma.

## REFERÊNCIAS

AVERNA-SACCA, R. O “**brusone**” do arroz. São Paulo, 1912. v. 13. (Boletim de agricultura).

**BOWTIE**. Disponível em <http://bowtie-bio.sourceforge.net/index.shtml>, Site visitado em 25/09/2013.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolate of *Pyricularia oryzae* infecting rice, wheat and grasses in Brazil. **Tropical Pest Management**, v.38, p.367-371, 1992.

PRABHU, A. S. Araujo, L.G. de; Faustina, C.; Berni, R.F. Estimation of grain losses caused by blast in upland rice. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p.1045-1051. 2003.

**TOPHAT**. Disponível em <http://tophat.cbcb.umd.edu/manual.html#toph>. Site visitado em 25/09/2013.

**Trapnell, C.; Roberts, A.; Goff, L.; Pertea, G.; Kim, D.; Kelley, R.; Pimentel, H.; Salzberg, S.; Rinn, J.; Pachter, L.** Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. Published online 1 March 2012; doi:10.1038/nprot.2012.016.

---

## ANÁLISE DE TRANSFERIBILIDADE DE PRIMERS MICROSSATELITES DE MELÃO PARA ABÓBORA

**Ricarte, A. de O<sup>(1)</sup>; Dantas, A. C. de A.<sup>(1)</sup>; Alves, E. de O.<sup>(1)</sup>, Nascimento, E. C. do<sup>(1)</sup>; Antonio, R. P.<sup>(2)</sup>; Silveira, L. M. da<sup>(1)</sup>; Alves, Nunes, G. H. de S<sup>(1)</sup>.** anankia-ricarte@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Arido – UFRSA, Mossoró-RN, Brasil;

<sup>(2)</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Semi-Árido, Mossoró-RN, Brasil.

### RESUMO

A abóbora (*Cucurbita moschata*) é uma espécie que tem ampla participação na alimentação da população do Nordeste do Brasil, uma expressiva parte da produção destas culturas tem sido realizada com o uso de variedades locais, que se apresenta bastante diversificada, essa diversidade é uma importante fonte de variabilidade para os programas de melhoramento genético vegetal.

Neste contexto, torna-se importante o conhecimento da variabilidade genética. Uma ferramenta bastante utilizada no estudo da diversidade genética são os marcadores de DNA. Dentre estes marcadores, os microsatélites ou SSR se destacam pelo tipo de polimorfismo detectado. Estes detectam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA e são codominantes. Considerando o alto custo para o desenvolvimento destes marcadores, a estratégia de análise de transferibilidade de SSR é bastante oportuna. Para algumas espécies dentro do mesmo gênero a taxa de transferência de marcadores tem sido elevada. Diante disso, o objetivo do trabalho foi verificar a transferibilidade de *primers* desenvolvidos para *Cucumis melo* para *Curcubita moschata*. Portanto, uma bateria de 28 *primers* microsatélites de *Cucumis melo* tiveram sua transferibilidade testada em dois indivíduos de *Curcubita moschata*. Após PCR, vinte pares de *primer* (72%) amplificaram com sucesso. Esses dados serão úteis para dar subsídio a pesquisas moleculares com a cultura da abóbora.

**Palavras-chave:** Germoplasma, Diversidade Genética, Biologia Molecular.

## INTRODUÇÃO

A abóbora (*Curcubita moschata*) é uma espécie que tem ampla participação na alimentação da população do Nordeste do Brasil, visto que toda região apresenta o cultivo desta espécie em larga escala ou a nível de subsistência, esta cultura apresenta um importante papel econômico, alimentar e social (QUEIROZ et al., 2001; BARBIERI e STUMPF, 2008; RAMOS et al., 2010).

Uma expressiva parte da produção destas culturas tem sido realizada com o uso de variedades locais, cujas sementes são mantidas tradicionalmente por pequenos e médios agricultores nordestinos, tendo sido indicada a existência de grande diversidade genética neste germoplasma (QUEIROZ, 1993; QUEIROZ et al., 1999; SILVA,

2010). Essa diversidade é uma importante fonte de variabilidade para os programas de melhoramento genético vegetal.

Neste contexto, torna-se importante o conhecimento da variabilidade genética e de como esta variabilidade é distribuída, pois pode-se fazer o uso racional e sustentável dos recursos genéticos naturais (FERREIRA e GRATTAPAGLIA,1998).

Uma das técnicas mais utilizadas para a detecção desta variabilidade são os marcadores de DNA SSR (“*Simple Sequence Repeats*”) ou microssatélites (LITT e LUTY, 1989; WEBWER e MAY, 1989), a qual se baseia no uso de pares de *primers*, na reação de PCR, para encontrar variações em *locos* de sequências repetidas. Estas são constituídas de 1 a 6 nucleotídeos que se repetem lado a lado no genoma de eucariotos, revelando polimorfismo em um *loco* devido a diferenças no número de vezes que cada um aparece naquele *loco*. Essas variações no número de repetições constituem-se, em última análise, em variações no comprimento do segmento detectado pela reação de polimerase em cadeia e na separação de fragmentos amplificados em gel de eletroforese.

Considerando o alto custo para o desenvolvimento de marcadores moleculares SSR, a análise de transferibilidade desses microssatélites de uma espécie para outra é bastante viável (RITSCHHEL et al., 2004). Se o desenvolvimento de iniciadores microssatélites para uma espécie necessita de alto investimento financeiro, de trabalho e de tempo, por

outro lado é possível transferir iniciadores desenvolvidos de uma espécie para outra, uma vez que podem ocorrer os mesmos sítios microsatélites entre espécies relacionadas (BARBARÁ et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2006).

Por fazer parte da mesma família que o melão (*Cucumis melo* L.), a abóbora foi submetida a uma análise comparativa referente ao mesmo, para se detectar o polimorfismo entre sequências de DNA.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a transferibilidade de *primers* desenvolvidos para melão em abóbora.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta e extração do material***

Foram utilizados dois genótipos de abóbora, escolhidos ao acaso, do banco de germoplasma da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, campos Mossoró. As sementes foram plantadas e cultivadas em casa de vegetação até a germinação de suas folhas. Essas foram coletadas e posteriormente foi realizado o processo de extração do DNA genômico de acordo com o protocolo Doyle e Doyle (1990).

### ***Reação da Polimerase em Cadeia (PCR)***

Foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da UFERSA, após a extração foram escolhidos 28 *primers* desenvolvidos para melão, que são: CMMS 1-3, CMMS2-3, CMMS3-2, CMMS4-3, CMMS12-6,

CMMS15-4, CMMS22-2, CMMS24-3, CMMS30-3, CMMS33-1, CMMS33-2, CMMS34-8, CMMS34-10, CMMS35-4, CMMS35-5, CMBR16, CMBR44, CMBR95, CMBR98, CMBR109, CMBR111, CMAGN3, CMAGN68, CMCT505, CMAGN32, CMGA165, CSAR425, os quais foram utilizados nas reações de amplificação, essas foram feitas em um volume total de 10  $\mu$ L, contendo 10 mM (pH 8,3) de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 2,5 mM de  $MgCl_2$ , 0,25 mM de cada dNTP, 250  $\mu$ M de cada dos *primers* SSR, 0,5 U, de Taq DNA polimerase e 10 ng de DNA. Em seguida, seguiu-se com as amplificações, as quais foram realizadas em termociclador de acordo com o seguinte programa: 94°C por 2 min, seguida de 40 ciclos de 94°C por 30 seg, a temperatura de anelamento variou de 45 a 60°C por 1 min, 72°C por 1 min, extensão final de 72°C por 4 min e redução a 15°C.

Para verificar a qualidade da amplificação, cada amostra foi corada com 3  $\mu$ L de azul de bromofenol, e aplicadas em gel de agarose a 3% em TBE 1X (EDTA 2 mM e Tris-borato 90 mM). Após a eletroforese a 80 V, os géis foram banhados com brometo de etídio (10 mg/mL) e as bandas foram fotodocumentadas sob luz ultravioleta em sistema de fotodocumentação.

### ***Análise dos resultados***

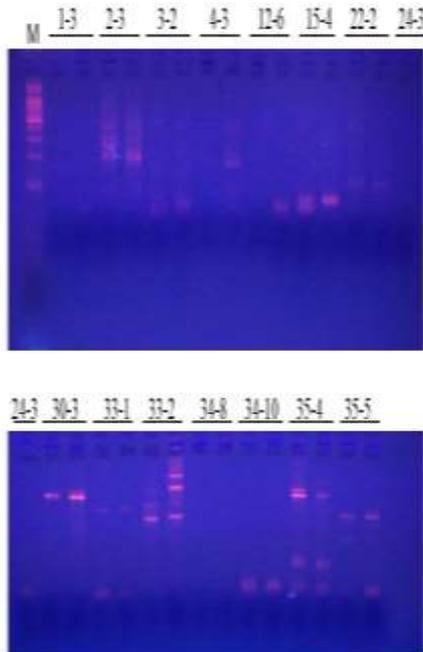
Os géis foram analisados de acordo com a presença “1” ou ausência “0” de transferibilidade dos *primers* de melão para abóbora.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os 28 iniciadores testados em abóbora, vinte *primers* foram transferidos, o que corresponde a uma taxa de transferibilidade de aproximadamente de 72%, esta taxa de transferibilidade é maior que a encontrada por Leite et al. (2007) que foi de 31,25% em um estudo de transferibilidade de *primers* desenhados para *C. melo* em *C. moschata* e bucha vegetal. Esse valor também é maior do que encontrado por Ritschel et al, (2004) que foi de 16,4% de *C. melo* para *C. moschata*. E menor da encontrada por Priori (2011) que foi de 85% e 80% transferibilidade de locos SSR de *C. pepo* para *C. argyrosperma* e *C. ficifolia*, respectivamente. Dessa forma, há possibilidade de utilização dos marcadores SSR de *C. melo* para acesso ao polimorfismo de DNA em espécies de curcubitáceas. Como mostrado por Chiba et al (2003) que testou 31 *primers* de SSR desenvolvidos para melão em curcubitáceas e observou que quatro marcadores amplificaram com todas as espécies testadas e treze *primers* amplificaram com as principais culturas (melancia, abóbora, pepino).

Na Tabela 1 são descritos, os *primers* testados e a temperatura de anelamento ideal. Todos os marcadores foram testados inicialmente à temperatura de 50°C (Figura1). Os marcadores que não amplificaram foram submetidos às condições de amplificação de menor estringência, favorecendo o anelamento entre o *primers* e a sequência complementar na fita de DNA. A menor temperatura de anelamento utilizada foi de

45°C. Os marcadores submetidos a essa condição de amplificação foram: CMBR16, CMBR44, CMBR95, CMBR109, CMAGN 68, CMGA 165. Apesar dos marcadores terem sido desenvolvidos para amplificarem produtos específicos, alguns apresentaram padrão de amplificação com múltiplas bandas. Na tentativa de aumentar a especificidade do produto amplificado esses marcadores tiveram suas temperaturas de anelamento elevadas para o máximo de 60°C. Os marcadores que amplificaram sob essas condições foram os CMMS2-3, CMMS33-2, CMMS35-4, CMMS35-5 (Tabela1).



**Figura 1.** Análise de transferibilidade de primers SSR com temperatura de anelamento de 50°C de melão para abóbora.

**Tabela 1.** Otimização de temperatura de Primers de SSR de *C. melo* para transferibilidade em *C. moschata*. Mossoró, UFERSA, 2013.

Primer	Temperatura de anelamento		
	45°C	50°C	60°C
CMMS 1-3	*	0	*
CMMS 2-3	*	1	1
CMMS 3-2	*	1	*
CMMS 4-3	*	1	*
CMMS 12-6	*	1	*
CMMS 15-4	*	1	*
CMMS 22-2	*	1	*
CMMS 24-3	*	1	*
CMMS 30-3	*	1	*
CMMS 33-1	*	1	*
CMMS 33-2	*	1	1
CMMS 34-8	*	0	*
CMMS 34-10	*	1	*
CMMS 35-4	*	1	1
CMMS 35-5	*	1	1
CMBR 16	1	*	*
CMBR 44	1	*	*
CMBR 83	*	0	*
CMBR 95	1	0	*
CMBR 98	*	0	*
CMBR 109	1	0	*
CMBR 111	*	0	*
CMAGN 3	*	1	*
CMAGN 68	1	*	*
CMCT 505	0	*	*
CMAGN 32	0	*	*
CMGA 165	1	*	*
CSAT 425	0	*	*

(\*)Não realizou teste, (1) houve transferibilidade e (0) Não houve transferibilidade.

A determinação da temperatura de anelamento ideal para que o marcador apresente um produto amplificado o mais próximo do específico, e que seja passível de interpretação, é fundamental em um

processo de otimização de locos SSRs. A partir da determinação das condições adequadas de amplificação, qualquer estudo que evolva o uso dos marcadores SSRs, como o de caracterização genética, parentesco e análise de ligação podem ser realizados utilizando os parâmetros pré-estabelecidos, independente do tipo de genótipo que esteja sendo utilizado (CAMARGO, 2008).

## CONCLUSÃO

Obteve-se uma boa taxa de transferibilidade dos iniciadores de *C. melo* para *C. moschata*.

Os dados gerados por este trabalho poderão ser utilizados no estabelecimento de estudos genéticos de abóbora.

## REFERÊNCIAS

CAMARGO, G.S.O. Ajuste das condições de amplificação de marcadores microssatélites derivados de seqüências gênicas e genômicas em feijão comum e análise de segregação na população de mapeamento bat93 x jalo eep558. Centro Universitário de Goiás, Uni-Anhanguera, 2008. Disponível em: [http://www.anhanguera.edu.br/home/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_details&gid=220&Itemid=239](http://www.anhanguera.edu.br/home/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=220&Itemid=239)

BARBARA, T.; PALMA-SILVA, C.; PAGGI, G.M.; BERED, F.; FAY, F.M & LEXER, CHRISTIAN. Cross-species transfer of nuclear microsatellite markers: potential and limitations. **Molecular Ecology**, v.16, p.3759-3767, 2007.

BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. 1 ed. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica. 2008. 909 p.

DOYLE, I.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, p.13-15, 1990.

CHIBA, N.; SUWABE, K.; NUNOME, T.; HIRAI, M. Development of Microsatellite Markers in Melon (*Cucumis melo* L.) and Their Application to Major Cucurbit Crops. **Breeding Science**, n. 53, p. 21-27, 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.Ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220p.

LEITE, T. L.; MARCO, A. F.; TARCHETTI, B. D.; FERREIRA, M. A. J. F.; AMARAL, Z. P. S.; BUSO, G. S.C. Análise de transferibilidade de *primers* microssatélites de *Cucumis melo* para *Curcubita moschata* e *Luffa cylindrica*. Brasília, 2007. Disponível em: <http://www.cenargen.embrapa.br/clp/publicacoes/2007/bpd/bpd203.pdf>.

LITT, M.; LUTY, J. A. A Hypervariable Microsatellite Revealed by Invitro Amplification of A Dinucleotide Repeat Within the Cardiac-Muscle Actin Gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 397-401, 1989.

OLIVEIRA, E. J.; PADUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; V. R. & VIEIRA, M. L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p.294-307, 2006.

PRIORI, A. **Caracterização molecular de recursos genéticos de *Cucurbita argyrosperma*, *Cucurbita ficifolia* e *Cucurbita pepo***. 2011. 79f. Dissertação. Universidade Federal de Pelotas.

QUEIROZ, M.A. Potencial do germoplasma de cucurbitáceas no Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira** 11: 7-9. 1993

QUEIROZ, M.A. et al. (1999) Situação atual e prioridades do banco ativo de germoplasma (BAG) de cucurbitáceas do Nordeste brasileiro. **Horticultura Brasileira** 17: 25-29. Suplemento.

QUEIROZ MA et al. Avaliação botânico-agronômica de acessos de melancia (*Citrullus lanatus*) coletados nas regiões de Irecê-BA e Pastos Bons - MA. **Sitientibus Série Ciências Biológicas** 1: 79-83. 2001

RAMOS, S.R.R. et al. Aspectos técnicos do cultivo de abóbora na região Nordeste do Brasil. **Documentos**, Aracajú – SE, n. 154. 33 p. 2010

RITSCHER, P.S.; LINS, T.C. DE L.; TRISTAN, R.L.; BUSO, G.S.C.; BUSO, A.; FERREIRA, M.E. Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon *Cucumis melo* L. Br. Med. Chem. **Plant Biol.**, n.14,p. 1-14, 2004.

SILVA, M.L. **Avaliação molecular da variabilidade genética do banco ativo de germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste brasileiro.** 2010. 161 f. 2010. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

WEBER, J. L.; MAY, P. E. Abundant Class of Human Dna Polymorphisms Which Can be Typed Using the Polymerase Chain-Reaction. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 388-396, 1989.

---

## **ANÁLISE DO CONTEÚDO DE ANIMAIS PEÇONHENTOS ABORDADOS NOS LIVROS DIDÁTICOS DE CIÊNCIAS**

**Santos, A. B.<sup>(1)</sup>; Silva, N. A.<sup>(2)</sup>; Martins, R. D.<sup>(1)</sup>** adrianasantos123@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil / Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil.

### **RESUMO**

O livro didático é um recurso acessível a todos os alunos, sendo este fundamental para construção de um ambiente de sala de aula que represente o ensino como um processo de elaboração coletiva e cooperativa entre professores e aprendizes. No Brasil, uma das principais causas de acidentes por animais peçonhentos está na falta de conhecimento da população sobre a biologia desses animais e formas de prevenção de acidentes, tendo a maior parte da população acesso a essas informações apenas nas aulas de ciências e biologia. Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo analisar os conteúdos sobre o tema animais peçonhentos em livros didáticos de ciências do ensino fundamental, utilizados em escolas públicas do município de Vitória

de Santo Antônio - Pernambuco. Nos livros analisados pode-se constatar que, mesmo com trabalhos de avaliação constante, ainda há um reducionismo nas informações trazidas pelos mesmos, tornando-se necessária uma reorganização contínua dos conteúdos abordados, a fim de possibilitar uma maior compreensão dos temas por parte dos alunos.

**Palavras-chave:** Avaliação, Educação, Espécies Venenosas.

## INTRODUÇÃO

O livro didático é um recurso acessível a todos os alunos, ele se torna fundamental para construção de um ambiente de sala de aula que represente o ensino como um processo de elaboração coletiva e cooperativa entre professores e aprendizes (BRASIL, 2007). A relevância do livro didático no processo de ensino e aprendizagem é um dos principais argumentos que justifica seu rigoroso processo avaliatório (AZEVEDO, 2003). Atualmente, há uma crescente discussão a respeito da abordagem dos conteúdos dos livros didáticos. Apesar dos avanços, grande parte dos professores tem acesso limitado a recursos que possibilitem a análise dos livros (VASCONCELOS e SOUTO, 2003). Os conteúdos teóricos vêm sendo muito questionado por pesquisadores e diversos trabalhos vêm destacando problemas metodológicos e erros conceituais no material analisado, havendo inclusive programas governamentais de melhoria da qualidade do livro didático brasileiro (ALVES, 2006; SILVA, 2012).

Os desafios para a elaboração de conhecimentos na escola são resultados das diferenças e aproximações entre o já conhecido pelos alunos, pelo professor e pelos conhecimentos expressos nos livros, e,

ainda, pelo não conhecido. Portanto, não se trata de substituir o que os alunos já sabem, mas qualificar mais os saberes. Isto se dá na medida em que se constroem, no ambiente escolar, práticas educativas voltadas para o diálogo, a problematização e a auto-reflexão que proporcionam mecanismos de autoconhecimento e de interação social fundamentais para uma educação libertadora (BRASIL, 2007). Entretanto, o universo de referências do professor e do aluno não pode limitar ao uso restrito do livro didático (BRASIL, 2007).

Os animais peçonhentos são aqueles que, por meio de um mecanismo de caça e defesa, são capazes de injetar nas suas presas substâncias tóxicas produzidas diretamente por glândulas especializadas. Eles estão presentes tanto em meios rurais, quanto urbanos e são responsáveis por inúmeros acidentes, em variadas regiões brasileiras, com índices crescentes ano após ano. Como exemplos desses animais, temos: serpentes, aranhas e escorpiões (SECRETARIA DE SAÚDE, 2012).

Segundo dados do Ministério da Saúde, acidentes por animais peçonhentos e, em particular, os acidentes ofídicos, foram incluídos pela Organização Mundial da Saúde, na lista das doenças tropicais negligenciadas por acometerem, na maioria dos casos, populações pobres que vivem em áreas rurais. Em agosto de 2010, o agravo foi incluído na Lista de Notificação de Compulsória (LNC) do Brasil, publicada na Portaria Nº 2.472 de 31 de agosto de 2010 (ratificada na Portaria Nº 104, de 25 de janeiro de 2011). Essa importância se dá pelo alto número de notificações registras no Sistema de Informação de

Agravos de Notificação (SINAN), sendo acidentes por animais peçonhentos um dos agravos mais notificados (BRASIL, 2013).

Sabe-se que entre as principais causas de acidentes por animais peçonhentos está: condições precárias de habitação e falta do conhecimento da população sobre a biologia desses animais, além de escassez de informações sobre prevenção de acidentes, informações estas que a maioria da população tem acesso apenas durante as aulas seja de ciências ou biologia (FERREIRA, 2008). Portanto, o livro didático, sendo o recurso mais utilizado pela população, este, “talvez represente o único texto com que muitos brasileiros interagem durante suas vidas” (FRACALANZA, 1986; FERREIRA, 2008), torna-se de grande importância que as informações contidas no mesmo sejam suficientes e corretas (FERREIRA, 2008). O livro deve contribuir para que o professor organize sua prática e fornecer sugestões de aprofundamento das concepções pedagógicas desenvolvidas na escola. Deve oferecer uma orientação para que o professor busque, de forma autônoma, outras fontes e experiências para complementar seu trabalho (COSTA, 1989). Para tanto, o presente estudo tem como objetivo analisar os conteúdos sobre o tema animais peçonhentos em livros didáticos de ciências do ensino fundamental, utilizados em escolas públicas do município de Vitória de Santo Antão - Pernambuco.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para esta análise foi realizada uma revisão da literatura científica sobre o tema animais peçonhentos e selecionados quatro livros didáticos de ciências do ensino fundamental, estes sendo denominados de A, B, C e D (Tabela 1), que são atualmente utilizados em escolas da rede pública do município de Vitória de Santo Antão - Pernambuco. Os livros selecionados nesta análise foram publicados no período de 2008 a 2012. Todo o material didático avaliado foi comparado, levando-se em consideração primeiramente: os conteúdos teóricos (erros, reducionismo ou simplificação de conceitos e lacunas teóricas); recursos visuais (relevância das imagens para compreensão dos textos); atividades propostas (propõe questões ao final de cada capítulo/tema, propõe atividades em grupo e/ou projetos para trabalho em grupo do tema exposto, as atividades tem relação direta com o conteúdo trabalhado); e informações complementares (importância para levantar discussões a respeito da aplicação do conteúdo). Estes itens compõem a ficha de análise dos livros didáticos, conforme Vasconcelos e Souto (2003). Como base para as respectivas análises, utilizou-se como referenciais teóricos livros especializados, a fim de corrigir eventuais erros conceituais.

**Tabela 1.** Lista de livros didáticos analisados

LIVRO	OBRA	EDITORA	AUTORES	ANO
A	Ciências naturais: Aprendendo com o cotidiano	Moderna	Eduardo Leite do Canto	2012
B	Ciências: Os seres vivos	Ática	Carlos Barros e Wilson Paulino	2009
C	Observatório de Ciências	Moderna	Editora Moderna	2011
D	Ciências: Para viver junto	SM	João Batista Aguilar	2008

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na abordagem dos conteúdos teóricos, os quatro livros foram avaliados quanto a aspectos específicos, relacionando-os com aspectos educacionais como: o grau de cognição, o estímulo à problematização e o nível de contextualização do conhecimento. Partimos do princípio de que as informações trabalhadas nos livros didáticos devem promover o contato do aluno com o conhecimento disponível, possibilitando a compreensão da realidade que o cerca (VASCONCELOS e SOUTO, 2003).

O conteúdo teórico do livro A ocupa três páginas. No livro B o assunto ocupa quatro páginas, enquanto que no livro C apenas duas páginas e meia, e por fim o livro D, três páginas. No livro A os conteúdos teóricos analisados nesse estudo são abordados nos capítulos 6, que trata da diversidade da vida animal de vertebrados e no capítulo 8, diversidade da vida animal dos invertebrados; O livro B, C e D também abordam o conteúdo em diversidade de vertebrados e invertebrados. Na análise do conteúdo teórico, foi observado que o tema serpente no livro A é

abordado apenas citando-as como sendo classificadas como um dos principais grupos de répteis que vivem atualmente, como:

“Os principais grupos de répteis que vivem atualmente são... escamados – incluem o grupo das serpentes...” (p. 85).

O texto, não trata da morfologia desses animais ou quando, apenas cita de maneira muito vaga algumas características, também não aborda habitat e importância ecológica, tendo o aluno que buscar informações em outras fontes de pesquisa. Com relação aos acidentes ofídicos, o livro A apresenta na sessão “Em destaque”, abordagem com alguns cuidados que devem ser tomados em caso de acidentes por serpentes e algumas medidas preventivas. O livro também trás o site do Instituto Butantã, para que o aluno possa através deste buscar maiores informações. O livro B, também aborda pouca informação sobre a morfologia das serpentes, não descrevendo sobre habitat, nem importância ecológica, da mesma forma que os livros C e D. Os livros A, B e D trazem ao final dos capítulos, algumas informações sobre acidentes com serpentes e medidas preventivas em sessões como encontradas no livro B:

“Para ir mais longe: Serpentes peçonhentas e não peçonhentas no Brasil” capítulo 21, p. 225.

No caso do Livro C, não há nenhuma informação sobre acidentes e medidas preventivas em caso de acidentes ofídicos. Algo que mostra ser preocupante, pois, segundo consta no manual de diagnóstico de

acidentes por animais peçonhentos do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), os acidentes ofídicos têm importância médica em virtude de sua grande frequência e gravidade.

Em relação ao conteúdo de aranhas e escorpiões os livros A, C e D, tratam dos temas de forma geral, citando apenas características gerais e exemplos de aracnídeos como no trecho do livro A:

“Os aracnídeos não tem antenas e apresentam quatro pares de pernas locomotoras e um par de quelíceras. Exemplo desse tipo de artrópodes são carrapatos, aranhas, os escorpiões e os ácaros”, (p. 117).

Em contrapartida, o livro B aborda separadamente a morfologia de aranhas e escorpiões. O texto também trás informações reduzidas sobre habitat, curiosidades e uma parte dedicada a informações sobre cuidados em caso de acidentes por esses animais. Fica claro nas observações que todos os livros trazem informações muito reduzidas, cabendo ao aluno a utilização de outras fontes de pesquisa. Porém não é suficiente um livro apresentar uma linguagem clara e coerente se ele não priorizar o reconhecimento do universo do estudante em suas páginas.

### ***Recursos visuais***

A observação das imagens veiculadas pelos livros didáticos contempla questões como a qualidade da impressão, a sua inserção ao longo do texto, e a relação estabelecida entre texto e imagem. As ilustrações contidas no livro C embora sejam poucas, apenas quatro, apresentam

boa qualidade. Já nos livros A e B, possuem mais ilustrações, também de boa qualidade, porém não possuem número suficiente para representar os exemplos que estão dispostos no texto. O livro D foi o mais ilustrado, com boa qualidade de imagem, nitidez e apresentando imagens de todos os exemplos citados no texto. Este também demonstra a diferenciação da denteição de serpentes peçonhentas e não peçonhentas. A relação das imagens com o texto se mostra coerente nos livros analisados, apesar de que no livro C, estas se encontram em número reduzido. No livro B, embora apresente imagens de boa qualidade, as informações contidas nas legendas são insuficientes, dificultando a aprendizagem e a associação entre o contexto e a imagem apresentada.

Segundo Vasconcelos e Souto (2003), uma imagem adequada deve ser compreensível, possuir legenda autoexplicativa, ter relação direta com o texto, e ser inserida à medida que a informação é apresentada. E ainda, a ilustração deve conter o nome do autor e a fonte, caso não seja original.

### ***Atividades propostas***

Para a análise das atividades propostas foram utilizados critérios como: propõem questões no final de cada capítulo ou tema, questões memorísticas, atividades em grupo ou projeto de trabalhos. Os livros A, B, C e D apresentam questões memorísticas tradicionalista, questões objetivas e subjetivas que exigem mais conhecimento por parte dos

alunos, poucas questões relacionadas ao conteúdo abordado e questões problemáticas. O livro A apresenta algumas atividades que podem ser trabalhadas em grupo. O livro C foi o único que apresentou fontes complementares de informação para a elaboração de questões discursivas.

Nos livros analisados não se observa o cuidado em relacionar os animais peçonhentos (em nosso estudo, temos como foco serpentes, aranhas e escorpiões) com aspectos de sua alimentação, habitat, hábitos, e interação com outros seres vivos e o ambiente. Além disso, os conteúdos, por estarem inseridos juntamente com outros grupos de animais, dispõem questões desordenadas, o que dificulta a assimilação satisfatória do assunto por parte dos discentes.

### ***Recursos adicionais***

Os critérios utilizados para a análise dos recursos adicionais foram: fontes complementares de informação, glossários, atlas e resumo.

Constatou-se que os livros A, B e C apresentam escassez de fonte de recursos adicionais como: bibliografia complementar, glossários e atlas. Esquemas referentes à fisiologia e/ou a características específicas de serpentes, aranhas e escorpiões são apresentados em todos os livros, sendo os livros B e D os únicos que apresentam fonte de recursos adicionais para tais esquemas, como: quadros explicativos, curiosidades e resumo sobre o que está exposto no final de cada capítulo analisado.

## CONCLUSÃO

As informações contidas nos livros didáticos analisados apresentam informações bastante reduzidas, acarretando numa superficialidade dos temas abordados, tornando necessária a busca por outras fontes adicionais de pesquisa para a complementação das informações.

Os livros didáticos precisam, mais do que nunca, conter ferramentas que promovam uma discussão sobre o conteúdo teórico a fim de permitir sua conversão em conhecimento. É necessário uma reorganização dos conteúdos abordados nos livros didáticos, a fim de possibilitar, para os alunos, uma maior compreensão dos temas trabalhados.

É preciso a realização de contínuas mudanças e reavaliações nos livros didáticos para satisfazer as necessidades encontradas, principalmente no conteúdo teórico.

Os livros analisados em questão, não estão completos, apresentando uma escassez em recursos complementares, que comprometem uma aprendizagem significativa por parte dos alunos.

## REFERÊNCIAS

ALVES, L. F. A.; BUSARELLO, G. D.; GIANNOTTI, S. M. Os Artrópodes nos materiais didáticos utilizados em escolas da rede particular do ensino médio em cascavel, PR. **Revista Varia Scientia**, v. 06, n. 12, p. 107-120, 2006.

AZEVEDO, E. M. Livro didático: uma abordagem histórica e reflexões a respeito de seu uso em sala de aula. (**Fucamp**) 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação nacional de Saúde (FUNASA). **Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos**. 2. ed. revisada-Brasília 2001.

BRASIL. Ministério da Educação. **Guia de livros didáticos PNLD 2008: Ciências/Ministério da Educação - Brasília: MEC, 2007.**

BRASIL. Ministério da Saúde. **Acidentes por animais peçonhentos**. Disponível em:<[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=31479&janela=1](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31479&janela=1)>. Acesso em: 15 de Outubro de 2013.

COSTA, W.F; FREITA, G, B; MOTTA, V.R. O histórico do livro didático no Brasil. In: **O livro didático em questão**. São Paulo: Cortez/Autores Associados, p. 13,1989.

FERREIRA, A. M.; SOARES, C. A. A. Aracnídeos peçonhentos: Análise das informações nos livros didáticos de ciências. **Ciência & Educação**, v. 14, n. 2, p. 307-314, 2008.

FRACALANZA, H.; AMARAL, I. A.; GOUVEIA, M. S. F. **O ensino de Ciências no 1º grau**. São Paulo: Atual Editora, 1986.

SECRETARIA DE SAÚDE. Acidentes por animais peçonhentos. **Boletim epidemiológico**, ano 1; n. 03. 2012

SILVA, L.G.L.; SANTOS, C.F. Uma Análise Crítica do Conteúdo Mammalia em Livros Didáticos do Ensino Médio Utilizados em Escolas Públicas e Privadas de Florianópolis-PI. Em **VII CONNEPI**, 2012.

VASCONCELOS, S.; SOUTO, E. O Livro Didático de Ciências no Ensino Fundamental – proposta de critérios para análise do conteúdo zoológico. **Ciência & Educação**, Bauru, v. 9, n. 1, p. 93-104, 2003.

---

# ANÁLISE DO PERFIL FITOQUÍMICO E DA TOXICIDADE AGUDA DA *Turnera subulata*

Gouveia, A.L.A.<sup>(1)</sup>; Silva, T.R.P.M.<sup>(1)</sup>; Silva, N.M.B.<sup>(1)</sup>; Magnata, S.S.L.P.<sup>(1)</sup>

allana.gouveia@gmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Laboratório de Biofísica Celular e Molecular da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil, CNPq.

## RESUMO

Apesar das investigações e estudos científicos sobre plantas com o uso medicinal, não se conhece muito sobre os princípios ativos e as qualidades curativas de muitas espécies vegetais. As espécies de *Turnera*, da família Turneraceae, são conhecidas no Nordeste brasileiro pelo nome popular de “chanana”, são empregadas na medicina popular no tratamento de amenorréias, dismenorréias e como abortivo. Outras espécies, como *Turnera diffusa* Willd. e *Turnera ulmifolia* L., são utilizadas principalmente como afrodisíaco, abortivo, expectorante, no tratamento de úlceras gástricas e do diabetes. O objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil fitoquímico e a toxicidade aguda da espécie *Turnera subulata*. O extrato aquoso de *T. subulata* foi submetido à análise fitoquímica para pesquisa de saponinas, polifenóis, alcalóides e terpenos. Para o preparo do extrato aquoso foram utilizadas 20g folhas de *T. subulata* pelo método de infusão e após liofilizado. O extrato aquoso liofilizado (EAL) de *T. subulata* foi administrado por via oral (Gavagem), foram utilizados camundongos albinos swiss. As doses administradas foram de 100mg/Kg, 250mg/kg e 500mg/kg de peso, para o teste de toxicidade. A análise fitoquímica do extrato aquoso evidenciou a presença de O-glicosídeos (quercetina e kampferol) e C-glicosídeos(orientina/iso-orientina e vitexina/isovitexina). Na determinação da toxicidade no período de 48 horas, não foi observada letalidade.

**Palavras-chave:** *Turnera subulata*; Fitorerápico; Toxicidade Aguda.

## INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, o uso dos remédios naturais e as plantas medicinais baseadas no conhecimento popular foram os principais e únicos recursos disponíveis aos médicos. Isto produziu um grande conhecimento, ainda que empírico, sobre as espécies vegetais que possuem propriedades medicinais e ampliou experiências no uso de produtos extraídos destas espécies. (GRACIOSO et al., 2002).

Apesar das investigações e estudos científicos sobre plantas com o uso medicinal, não se conhece muito sobre os princípios ativos e as extraordinárias qualidades curativas de muitas espécies vegetais. (SIMÕES et al., 1999; MIGUEL & MIGUEL, 2000).

A família Turneracea é encontrada em diversas partes do mundo, com aplicação na medicina popular. No Brasil, a *Turnera subulata*, é conhecida como chanana, ela é de fácil cultivo e bastante adaptável aos diversos climas. As plantas que compõem a família Turneraceae são típicas de florestas úmidas, campos e jardins tropicais, por isso, são consideradas como erva daninha (ARBO, 2007).

A *Turnera subulata*, é um arbusto denso perene, 30-80 cm de altura, com folhas lanceoladas ou estreita-elíptica. Suas flores são formadas por pétalas que variam do amarelo a brancas-amareladas de cor marrom na base. Suas flores se abrem logo pela manhã, depois de receber a luz direta do sol, e se fecham após o meio-dia (SHORT & COWIE, 2011).

Através de vias metabólicas secundárias os vegetais produzem compostos como os alcalóides, flavonóides, isoflavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, poliacetilenos e substâncias oleosas, que por vezes, são específicos a determinadas famílias, gêneros ou espécies (CECHINEL FILHO , YUNES, 1998), e estes metabólitos são alvo de uma diversidade de estudos que vão desde sua estrutura molecular até suas aplicações ( FERREIRA et al. 2008; VIEIRA et al., 2008).

Muitos flavonóides agem como protetores químicos, protegendo as plantas dos efeitos causados pela fotoxidação e também contra insetos, então, tendo um melhor conhecimento desses compostos químicos, é possível entender mais sobre sua dinâmica biológica (FERREIRA, et al. 2008).

Uma substância altamente tóxica promoverá um efeito prejudicial ao organismo, ainda quando empregado em mínimas quantidades, enquanto que as substâncias de baixa toxicidade precisam de altas doses para promover um efeito tóxico (VENANCIO, 2006). Para que se conheçam esses efeitos, faz-se necessário a realização de testes toxicológicos.

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo fazer um estudo fitoquímico da *T. subulata*, através de um estudo fitoquímico e avaliar a toxicidade aguda dessa espécie vegetal.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material Botânico***

A *Turnera subulata* utilizada no estudo foi coletada na região metropolitana, Olinda-PE, onde as plantas crescem sob condições naturais. A exsicata foi feita e depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, sob o número de registro 85651.

### ***Obtenção do extrato aquoso***

Após coleta, selecionou-se as folhas, e foram descartadas as que apresentaram fungos e insetos. As folhas foram submetidas à secagem (de forma natural) ao abrigo de sol, calor, vento e à temperatura ambiente até completa desidratação.

Através de uma balança de precisão pesou-se 20g das folhas trituradas, em seguida foi adicionada 500 mL de água destilada aquecida a temperatura de 90°C, para obtenção da infusão.

As folhas ficaram em contato com a água destilada por 30 (trinta) minutos. Em seguida, o conteúdo foi filtrado em funil de vidro simples na presença de algodão, sendo posteriormente submetido à liofilização.

### ***Abordagem fitoquímica***

O extrato aquoso de *T. subulata* foi submetido à análise fitoquímica no departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Para análise fitoquímica, foram realizadas pesquisas de

saponinas, polifenóis, alcalóides e terpenos, segundo os procedimentos descritos no manual de análise fitoquímica e cromatografia de extratos vegetais (BARBOSA et al., 2004), e no Plant Drug Analysis (WAGNER E BLADT, 1996).

### ***Animais Experimentais***

O estudo foi realizado com camundongos (*Mus musculus*) albinos Swiss, fêmeas, com 60 dias de idade, pesando em média de 30 a 35 gramas. Os animais foram alojados em gaiolas de plástico, em estantes com ventilação interna, temperatura e umidade controlada e mantidos em ciclo de 12 horas de claro e de 12 horas de escuro, de acordo com as normas internacionais do conselho de laboratório de animais experimentais (ICLAS). Os animais permaneceram em jejum “overnight” antes da realização de cada experimento.

Os procedimentos experimentais apresentados nesta pesquisa foram submetidos e aprovados pelo comitê de ética e experimentação animal da Universidade Federal de Pernambuco (Comitê de Ética em Experimentação Animal / Centro de Ciências Biológicas / Universidade Federal de Pernambuco – CEUA-UFPE, ofício nº 143/09).

### ***Toxicidade Aguda (DL<sub>50</sub>)***

O extrato aquoso liofilizado de *Turnera subulata* foi dissolvido em água destilada e administrado por via oral (Gavagem), a um grupo de 15 animais. Os animais foram divididos em 3 (três) grupos de 5 (cinco)

animais cada. O Grupo I recebeu uma dose de 250mg/Kg, o grupo II recebeu 100mg/kg e o grupo III recebeu 500mg/kg de peso.

Após administração os animais foram observados nos primeiros 30 minutos, após 2 horas, 24 horas e 48 horas. Foram observados sinais tóxicos de caráter geral, sendo avaliados os seguintes parâmetros: atividade motora, piloereção, sensibilidade, tremores, irritabilidade, contorções e respiração.

A toxicidade aguda foi definida como a mortalidade observada 48 horas após a administração oral e expressa em termos de  $DL_{50}$ , que é definida como a quantidade de sólidos solúveis capaz de causar morte em 50% dos animais testados.

Os resultados foram calculados segundo Souza (2001), obedecendo à seguinte fórmula:

$$DL_{50} = \frac{D_f - \sum (a \times b)}{N}$$

Onde: N – número de camundongos / lote;  $D_f$  – dose numérica capaz de matar todos os animais; a – diferença entre 2 doses consecutivas; b – média de animais mortos entre 2 lotes consecutivos

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise fitoquímica do extrato aquoso de *T. subulata* mostrou a presença de O-glicosídeos (quercetina e kampferol) e C-glicosídeos orientina/iso-orientina e vitexina/isovitexina, porém, foi negativo para os outros testes fitoquímicos realizados, conforme evidenciado na Tabela 1.

Os compostos fenólicos de origem vegetal têm sido alvo de muitas pesquisas atuais por causa de suas ações biológicas associadas à prevenção de doenças e com potencial curativo (VINUEZA, FARIA, CESAR, 2008).

Silva (2010) em um estudo utilizando a planta *Turnera ulmifolia* obteve a presença positiva de cumarina e flavonóides no extrato aquoso a partir das folhas.

Em um estudo fitoquímico da *T. ulmifolia*, Gracioso et. al. (2002), obteve flavonóides (flavonas C-glicosiladas) como constituintes majoritários da fração aquosa, como também saponinas, terpenos e taninos foram positivos utilizando outros solventes.

A investigação fitoquímica da *Turnera diffusa* foi positiva para flavonóides (luteolina e apigenina), terpenos, sacarídeos e derivados cianogênicos, dados obtidos por Zhao et. al. (2002).

A infusão das partes aéreas (folhas) da *T. diffusa* foi examinada fitoquimicamente e também foi positiva para flavonóides (PIANCENTE et. al. 2007).

Correia, et. al. (2010), observaram a presença de saponinas, taninos, açúcares redutores e alcalóides ao analisar o extrato alcoólico obtido das a partir das folhas de *T. ulmifolia*.

**Tabela 1.** Resultado da análise fitoquímica do extrato aquoso de *T. subulata*.

TESTES FITOQUIMICOS	RESULTADO
Pesquisa de Saponinas	Negativo
Pesquisa de Polifenóis	Positivo: presença de O-glicosídeos (quercetina e kampferol) e C-glicosídeos(orientina/iso-orientina e vitexina/isovitexina).
Pesquisa de Alcalóides	Negativo
Pesquisa de Terpenos	Negativo

Segundo Gracioso et al. (2002), preparações como infusões, extratos ou frações contendo flavonóides como maior componente geralmente não se apresentam toxicas *in vivo*.

Durante o período de até 48 horas, não foram observadas letalidade dos animais após administração das doses de 100, 250 e 500mg/kg do extrato bruto aquoso de *Turnera subulata*. Este dado corrobora com o

achado de Gracioso et al. (2002) para os extratos alcoólico 100%, diclorometano e hexânico de folhas de *Turnera ulmifolia*, onde estes não apresentaram nenhum efeito tóxico até a dose de 5000mg/kg. Dados semelhantes foram encontrados por Silva (2010) após administração dos extratos aquoso, n-hexano, acetato de etila e n-butanol de *Turnera ulmifolia* na dose de 300mg/kg.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo foi possível concluir que a análise fitoquímica demonstrou a presença de O-glicosídeos (quercetina e kampferol) e C-glicosídeos (orientina/iso-orientina e vitexina/isovitexina) no extrato aquoso de *Turnera subulata*.

No estudo sobre a toxicidade aguda (DL50) não foi observado letalidade em nenhuma das doses administradas;

## REFERÊNCIAS

ARBO, M.M. Turneraceae. In Kubitzki, K. (ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer-Verlag Vol. 9, 2007.

CECHINEL FILHO, V. e YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova** 21(1), 1998.

CORREIA, M. J.; FRANÇA, M.C.; ARAUJO, J.A.; JANSEN, A.F.; CHAVES, D.C.; ARAUJO, J.A.; ARAUJO, T.P.. **Análise fitoquímica do extrato alcoólico da *Turnera ulmifolia* L.** Área: Produtos naturais. Resumo Expandido. 2010. Disponível

em: <http://www.abq.org.br/cbq/2010/trabalhos/7/7-195-7796.htm>. acesso em: 08/10/2011.

FERREIRA, M. M. M.; OLIVEIRA, A. H. C. DE.; SANTOS, N. S. DOS.. Flavonas e flavonóis: novas descobertas sobre sua estrutura química e função biológica. Revista **Agro@ambiente**, on line. Vol. 2, n.2, 2008.

GRACIOSO, J. DE S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; BRITO, A.R.M.S.. Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs. **Biol. Pham.** Vol. 25, 2002.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Desenvolvimento de Fitoterápicos. São Paulo: **Robe Editorial**, 2000.

PIACENTE, S.; CAMARGO, E.E.; ZAMPELLI, A.; GRACIOSO, J.S.; SOUZA BRITO, A.R.; PIZZA, C.; VILEGAS, W.. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa*. **J Nat Prod.** Vol. 70, 2007. Disponível em: [www.znaturforsch.com](http://www.znaturforsch.com).

SHORT, P. S. & COWIE, I. D. Flora of the Darwin Region. **National Library of Australia Cataloguing-in-publication entry (PDF)**. Vol. 1, 2011.

SILVA, J. O. DA.. **Avaliação das atividades antiinflamatória, antitumoral e citotóxica de extratos brutos de *Turnera ulmifolia* L.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco- UFPE, 2010.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. Florianópolis: UFSC e UFRS, 1999.

VENANCIO, A. M. **Toxicidade aguda e atividade antinoceptiva do *Ocimum basilicum* L. (Manjeriço), em *Mus musculus* (camundongo).** (Dissertação de Mestrado) – UFSE, 108p., 2006.

VIEIRA, A. P.; SANTOS, N.R. DOS.; BORGES, J. H. S.; VINCENZI, M. P. A.; SCHIMITZ, W. O.. Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Vol. 29, n 1, 2008.

VINUEZA, J. C.; FARIA, J. B.; CÉSAR, T. B. Hesperidina diminui colesterol sanguíneo de ratos alimentados com gordura saturada. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 473-479, 2008.

## **ANÁLISE *IN SILICO* DEMONSTRA GRANDE DIVERSIDADE DE ESNAQUINAS EM SOJA**

Lima, M.O.<sup>(1)</sup>; Belarmino, L.C.<sup>(1,2)</sup>; Benko-Iseppon, A.M.<sup>(1)</sup>. olima.marx@gmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

<sup>2</sup>Johann Wolfgang Goethe- Universität, Frankfurt am Main, Alemanha, CNPq/FACEPE/DAAD.

### **RESUMO**

Esnaquinas são peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *Antimicrobial peptide*) compostos por cerca de 90 aminoácidos, sendo 12 cisteínas conservadas. Até o momento foram descritos dois tipos de Esnaquinas (Esnaquina-1 e 2). O objetivo deste trabalho foi catalogar sequências de esnaquinas no genoma expresso da soja bem como analisar suas estruturas e mapear tais genes. Utilizando sequências proteicas de Esnaquinas-1 e 2 de *Solanum tuberosum*, realizou-se uma busca via tBLASTn no transcriptoma da soja. As etiquetas de sequências expressas (EST – *Expressed Sequence Tag*) obtidas foram então alinhadas com proteínas depositadas no NCBI, através da ferramenta BLASTx. Posteriormente, os transcritos foram traduzidos com o auxílio do programa ORF-finder. Em seguida, o algoritmo BLASTp foi utilizado para identificar proteínas similares com função conhecida, possibilitando uma avaliação da presença e da integridade do domínio. Através do alinhamento dos ESTs contra o o genoma da soja foi possível gerar um mapa posicional dos membros dessa família gênica. Um total de 38 possíveis genes codificadores para esnaquinas foi observado distribuídos em 15 cromossomos da soja, refletindo possíveis rearranjos genômicos. O padrão de expressão observado parece estar associado ao crescimento e desenvolvimento vegetal, bem como na resposta a infecção por patógenos.

**Palavras-chave:** Peptídeos Antimicrobianos; Bioinformática; Defesa Vegetal.

## INTRODUÇÃO

A soja cultivada [*Glycine max* (L.) Merr.] é hoje o principal produto do agronegócio brasileiro, o qual já chegou a corresponder por 12% do total das exportações deste setor, ocupando grandes áreas para seu cultivo e conseqüentemente demandando uma considerável quantidade de mão-de-obra para o seu manejo, gerando assim, milhares de empregos nas mais diversas regiões do país, principalmente no centro-oeste (EMBRAPA, 2010).

Por ser o Brasil um país tropical de dimensões continentais, diversas são as condições às quais estão submetidos os organismos aqui viventes. Situações como o ataque de patógenos e adversidades climáticas, comumente geram grandes prejuízos à produção de soja. Só no Brasil, aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus afetam as plantações de soja. Esse número continua aumentando como decorrência da monocultura da soja e de sua expansão para novas áreas. A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições climáticas de cada safra. As perdas anuais de produção por doenças são estimadas em cerca de 15% a 20%, podendo algumas doenças ocasionar perdas de quase 100% (EMBRAPA, 2010). Nesse contexto, os peptídeos antimicrobianos (*antimicrobial peptides* – AMP) que são eficientes componentes da barreira química da defesa vegetal,

tanto de modo constitutivo quanto induzido por estresse, seja ele por patógeno, predação ou abiótico, surgem como uma excelente alternativa para mitigar os efeitos causados por situações adversas (Silverstein *et al.*, 2007).

Tais peptídeos vegetais foram organizados em famílias distintas, das quais as esnaquinas compreendem uma categoria descoberta recentemente, conhecendo-se dois tipos principais: Esnaquina-1 (SN1) e Esnaquina-2 (SN2), os quais compartilham o domínio conservado GASA, apresentam cerca de 90 aminoácidos, sendo 12 cisteínas com um arranjo diferencial conservado, formando seis pontes dissulfídicas estabilizantes. Tais peptídeos mostraram um grande potencial antibiótico *in vitro* contra bactérias e fungos, respondendo a concentrações do hormônio vegetal ácido giberélico, um dos principais fatores de crescimento em plantas (Belarmino & Benko-Iseppon, 2010).

O estudo de sequências relacionadas a esses peptídeos em soja poderá fornecer informações sobre os mecanismos de defesa, bem como sobre processo de desenvolvimento da soja, servindo de base para o melhoramento de cultivares e consequente aumento da produtividade desta cultura.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As sequências de aminoácidos das esnaquinas 1 e 2 pertencentes a *S. tuberosum* (SN1 e SN2 – acessos Q948Z4.1 e Q93X17) foram

utilizadas como sondas na busca por sequências similares no banco de ESTs da base de dados do GENOSOJA através da ferramenta tBLASTn, utilizando como ponto de corte um e-value inferior ou igual a e-04. As sequências obtidas foram então alinhadas com aquelas depositadas no banco nr-Protein do NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) através da ferramenta BLASTx (Altschul *et al.*, 1990).

Os transcritos assim obtidos foram traduzidos no quadro de leitura indicado pelo BLASTx com o auxílio do programa ORF-finder, sendo utilizados para identificar proteínas similares com função conhecida, possibilitando uma avaliação da presença e da integridade de domínios conservados por meio do algoritmo rpsBLAST integrado a ferramenta BLASTp (Altschul *et al.*, 1990) utilizando os parâmetros padrão.

Após a identificação no transcriptoma da soja, realizou-se uma busca por genes codificadores de esnaquinas no genoma da soja disponível no SoyBase ([www.soybase.org](http://www.soybase.org)), utilizando a ferramenta BLASTn, objetivando a ancoragem dos ESTs. Para localizar no genomas locos não expressos de esnaquinas (ausentes no transcriptoma) foi realizada uma busca com o auxílio da ferramenta tBLASTn, utilizando as sequências peptídicas codificadas pelos genes obtidos previamente com a ferramenta BLASTn, possibilitando a construção de um ideograma da distribuição de esnaquinas nos cromossomos de soja. O Perfil de expressão tecidual foi traçado a partir de uma análise comparativa

hierárquica das bibliotecas de ESTs, usando os programas CLUSTER 3.0 e TreeView. (Eisen *et al.*, 1999; Page, 1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento realizado identificou 63 seqüências candidatas (SN1-29 e SN2-34) no banco de dados do GENOSOJA no limite do valor estatístico  $e^{-4}$  considerado. Dado que ambos os tipos de esnaquinhas apresentam o domínio GASA, a análise de redundância mostrou que clusters redundantes, i. e., com alinhamento ótimo tanto para SN1 como para SN2 correspondiam a 29 seqüências referentes à sonda SN1, sendo cinco clusters extras considerados exclusivos de SN2.

A comparação das 34 seqüências obtidas no transcriptoma da soja com proteínas disponíveis no banco de dados proteicos do NCBI revelou que 33 seqüências eram similares a proteínas desconhecidas e apenas uma foi identificada como sendo um provável precursor da proteína regulada por giberelina (Gibberellin-regulated protein 2 precursor, putative). Considerando a espécie obtidas nesse alinhamento, observou-se que *G. max* foi a espécie mais frequente, com 97% das correspondências.

A avaliação do domínio conservado indicou a presença do domínio GASA em 30 das seqüências alinhadas, sendo que nas quatro restantes não foi observada a presença de qualquer domínio. Em relação a integridade do domínio constatou-se que quatro das 30 seqüências apresentavam o domínio incompleto.

O número considerável de prováveis das esnaquinas no expressas (34 clusters) deve-se possivelmente ao fato de que, não apenas esta espécie, mas os vegetais de uma forma geral necessitam de mecanismos eficientes no combate às mais diversas situações, sendo a velocidade e a competência destas defesas fatores determinantes para a sobrevivência e sucesso evolutivo de uma espécie. Além disso, a versatilidade de atividades das esnaquinas como resposta a fungos, bactérias além de estresses abióticos, reforçam a utilidade de sua presença constante (Segura *et al.*, 1999; Berrocal-Lobo *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2007; Tavares *et al.*, 2008).

A utilização das sondas de batata (*S. tuberosum*, genes StSN1 e StSN2) possibilitou a identificação de possíveis representantes das esnaquinas no genoma expresso da soja. Considerando o ponto de corte adotado, 30 sequências dessa subfamília apresentaram o domínio GASA, presente também em proteínas reguladas pela giberelina (Aubert *et al.*, 1998). O domínio GASA é geralmente caracterizado por uma assinatura única de resíduos ricos em cisteínas, muito similar à encontrada nas esnaquinas, na qual constam doze aminoácidos em posições altamente conservadas: XCX3CX3CX8CX3CX2CCX2CXCX11CXCX12CX (Peng *et al.*, 2008). A conservação de características estruturais presentes nas esnaquinas, provavelmente explica as redundâncias observadas devido à similaridade cruzada entre membros deste grupo gênico e membros de outros grupos. A grande representatividade de leguminosas entre as espécies com proteínas relacionadas obtidas nos alinhamentos BLASTx

juntamente com organização genômica do grupo, indica fortemente que processos evolutivos da linhagem podem ter gerado uma especialização funcional dos membros das esnaquinas em leguminosas.

A alta similaridade das sequências com proteínas desconhecidas reflete a carência de estudos sobre estes genes, uma vez que eles são os AMPs mais recentemente descobertos, com dados ainda insipientes ou inexistentes quanto à sua estrutura (Segura et al., 1999 & Berrocal-Lobo, 2002), sendo o presente trabalho a primeira tentativa de identificação destes peptídeos antimicrobianos em soja.

A expressão desses genes candidatos foi observada em 47 bibliotecas criadas pelo GENOSOJA, representando mais de 1.500 *reads* prevalentes em tecidos de sementes, raízes, hipocótilos, epicótilos, folhas e cotilédones. O padrão de expressão traçado a partir dos dados normalizados dos transcritos de soja mostrou uma prevalência de transcritos em folhas, seguido por sementes, cotilédones e raízes.

Os dados observados acerca da expressão sugerem que esses genes são requeridos em regiões que além de apresentarem crescimento ativo, representam sítios alvos de Patógenos, como sementes e folha, órgãos onde já foi observada a expressão de esnaquinas (Chen *et al.*, 2007; Segura *et al.*, 1999) Análises anteriores demonstraram a expressão das esnaquinas em tecidos jovens em desenvolvimento onde se observa divisão celular constante. Contudo, os resultados obtidos nas análises

de expressão tem sido conflitante, permanecendo uma questão em aberto (Berrocal-Lobo, 2002).

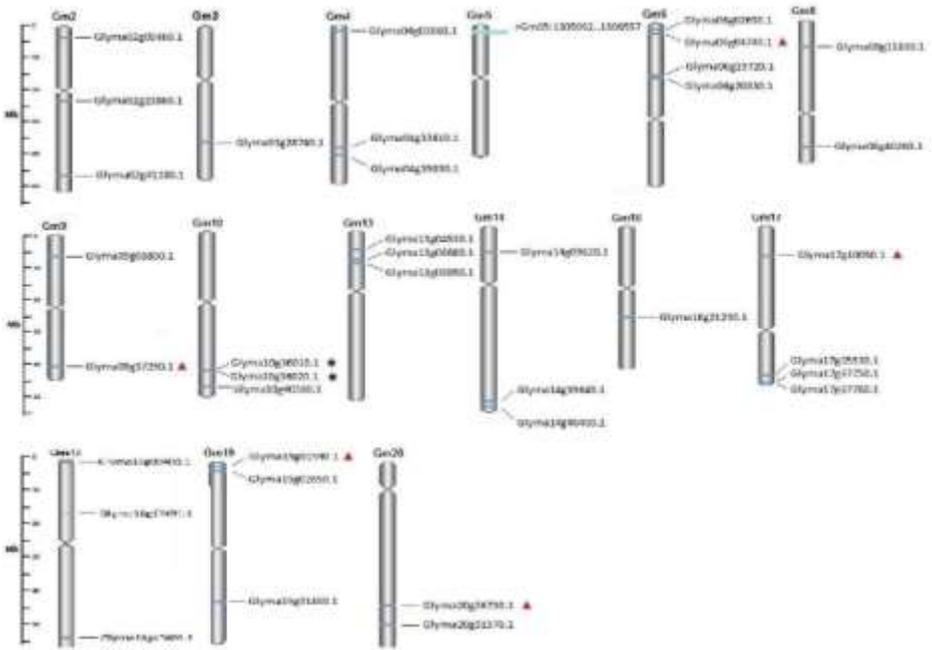
Os dados apresentados aqui podem indicar um papel das esnaquinas, enquanto AMPs, na “imunidade inata” dos vegetais (Benko-Iseppon *et al.*, 2010), fato evidenciado por sua presença mais acentuada em regiões suscetíveis a ataques por microrganismos patogênicos, como é o caso de sementes e cotilédones que contêm altas concentrações de material nutritivo (carboidratos), um atrativo para organismos, principalmente fungos (Selitrenikoff, 2001).

Com relação à sua expressão acentuada em folhas, tal condição pode estar relacionada com a defesa contra vírus, que invadem o organismo vegetal pelas folhas ou com uma atuação em sinergismo com inibidores de protease, conferindo uma defesa considerável contra herbivoria (Kim *et al.*, 2009).

A ancoragem dos ESTs no genoma evidenciou que os transcritos eram oriundos de 24 locos gênicos, dos quais apenas um representa um gene não identificado anteriormente. As sequências peptídicas codificadas por cada loco quando confrontadas com o próprio genoma através de tBLASTn, reportaram 14 novos locos de prováveis esnaquinas não representadas nos transcritos ou com baixa similaridade com as sondas de *S. tuberosum* inicialmente utilizadas nas buscas em nível de transcriptoma.

Os dados referentes à expressão, ao mapeamento e à estruturas destes genes são inéditos para soja. Em relação à estrutura gênica (íntrons e éxons) há uma prevalência de genes com quatro éxons e três íntrons, estrutura comum aos representantes da subfamília GASA. Contudo, dois grupos merecem notável atenção, o das sequências com 1 e 2 íntrons, uma vez que estas apresentaram maior similaridade com as sondas. Esnaquinas-1 possuem apenas um íntron, fato já antes observado em boa parte dos AMPs, enquanto as prováveis esnaquinas-2 possuem dois íntrons, segundo observado por Berrocal-Lobo *et al.* (2002), havendo ainda a possibilidade de que tenham ocorrido alinhamentos com genes de estrita similaridade, como de fato se observa entre os membros das subfamílias GAST e GASA, os quais são comumente agrupados junto com esnaquinas (Chen *et al.*, 2007).

A análise das informações disponíveis a cerca da localização destes genes, sugerem que a soja contém uma mistura de regiões com alto grau de conservação gênica e regiões com alto grau de perda e rearranjo gênico, estando os referidos genes situados nas regiões mais eucromatizadas, ou seja, regiões onde há uma maior concentração gênica (Shoemaker *et al.*, 2008) (Figura.1).



**Figura 1.** Idiograma representativo com as sequências encontradas através do tBLASTn realizado no SoyBase indicando sítios de alinhamento das sequências que tiveram sua posição especificada por tal ferramenta. Sequências marcadas com um triângulo vermelho referem-se a transcritos alternativos, enquanto aquelas marcadas com asterisco compreendem prováveis transcritos alternativos.

## CONCLUSÃO

A soja apresenta em seu genoma 38 prováveis esnaquinas, distribuídas com base na similaridade de suas sequências. Com maior representatividade para áreas em desenvolvimento, com divisão celular constante e frequentemente visada por patógenos. A distribuição genômica destes genes parece ser resultado de rearranjos cromossômicos. Os genes encontram-se distribuídos em 15 dos 20

cromossomos, apresentando regiões sintênicas com outros AMPs. Têm-se neste grupo gênico, importantes candidatos para estudos fisiológicos e de defesa além da posterior aplicação no melhoramento da soja.

## REFERÊNCIAS

AUBERT, D. et al. Expression patterns of GASA genes in *Arabidopsis thaliana*: the GASA4 gene is up-regulated by gibberellins in meristematic regions. *Plant Molecular Biology*, Bélgica, v. 36, p 871-883. 1998.

BELARMINO, L. C ; BENKO-ISEPPON, A. M. Data Bank Based Mining on the Track of Antimicrobial Weapons in Plant. *Current Protein and Peptide Science*, Holanda, v. 11, p. 195-198, 2010.

BERROCAL-LOBO, M. et al. Snakin-2, an antimicrobial peptide from potato whose gene is locally induced by wounding and responds to pathogen infection. *Plant Physiology*, EUA, v. 128, n°. 3, p. 951-961, 2002.

CHEN, I. C. et al. GASA4, a GA-stimulated gene, participates in light signaling in *Arabidopsis* sp. *Plant Science*, EUA, v.172, p.1062-1071, 2007. Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias. Disponível em: <[cnpso.embrapa.br/index.php?op\\_page=25&cod\\_pai=29](http://cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=25&cod_pai=29)>. Acesso em: 27 nov. 2010.

KIM, Y. J. et al. Protease Inhibitors from Plants with Antimicrobial Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, Suíça, v.10, 2860-2872, 2009.

PENG, J.Z.; LAI, L.J.; WANG, X.J. PRGL: a cell wall proline-rich protein containing GASA domain in *Gerbera hybrida*. *Science China Life Science*, China, v. 51, p. 520–525, 2008.

SEGURA, A. et al. Snakin-1, a peptide from potato that is active against plant pathogens. *Molecular Plant Microbe Interaction*, EUA, v.12, p. 16–23, 1999.

SELITRENIKOFF, P. C. Antifungal Proteins. *Applied Environmental Microbiology*, EUA, v. 67, p. 2883-2894. 2001.

SHOEMAKER, R.C.; SCHLUETER, J.A.; JACKSON, S.A. Soybean genome structure and organization. In: Plant Genetics and Genomics: Crops and Models. G. Stacey ed. A: Springer Science, 2008. Cap. 6, p. 91-99.

SILVERSTEIN, K.A.T. et al. Small cysteine-rich peptides resembling antimicrobial peptides have been under-predicted in plants. The Plant Journal, EUA, v. 51, p.262-280. 2007.

TAVARES, L. S. et al. Biotechnological potential of antimicrobial peptides from flowers. Peptides, EUA, v. 29, p. 1842-1851, 2008.

---

## **ANÁLISE SAZONAL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FOLHAS DE *Anadenanthera colubrina* var. *cebil***

**Araújo, D.R.C.<sup>(1)</sup>; Silva, C.M.A.<sup>(1)</sup>; Macedo, C.B.F.<sup>(1)</sup>; Ramos, B.A.<sup>(1)</sup>; Costa, M.C.M.F.<sup>(1)</sup>; Malafaia, C.B.<sup>(1)</sup>; Silva, M.V.<sup>(1)</sup>; Correia, M.T.S.<sup>(2)</sup>**  
danielrodrigo7@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Produtos Naturais, Recife – PE, Brasil, Rede NANOBIOTEC – Brasil e FACEPE;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Bioquímica de Proteínas, Recife – PE, Brasil, Rede NANOBIOTEC – Brasil e FACEPE.

### **RESUMO**

Um indivíduo de *Anadenanthera colubrina* var *cebil* teve suas folhas coletadas em épocas diferentes, representando as quatro estações. Este material vegetal foi submetido ao método de esgotamento a quente, em aparelho Soxhlet, seguindo-se a série eluotrópica, a partir dos solventes, ciclohexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Nesta perspectiva, avaliou-se o efeito antimicrobiano das semi-frações através do método de microdiluição em série onde se verificou a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) em mg/mL. Foi verificado que a semi-fração mais ativa foi à oriunda do solvente acetato de etila e percebeu-se que esta atividade

antimicrobiana, o CIM, se manteve em todas as épocas coletadas. No entanto a CBM da semi-fração acetato de etila mudou bruscamente no período coletado em Abril de 2011. Os valores da CIM variaram entre 6,25 mg/mL e 0,1953 mg/mL. Os valores da CBM variaram entre >50 mg/mL e 0,7812 mg/mL. O método de extração Soxhlet mostrou ser um bom norteador para determinar os meios cromatográficos para uma futura caracterização das moléculas que participam da inibição.

**Palavras-chave:** Método de Extração Soxhlet, *Staphylococcus aureus*, Concentração Inibitória e Bactericida Mínima.

## INTRODUÇÃO

A descoberta dos antibióticos na década de 30 revolucionou a medicina global, mudando completamente um cenário de doenças sem tratamento e medicamentos. No entanto, 70 anos depois estamos em um ponto crítico no tratamento de doenças infecciosas: As novas drogas não estão sendo desenvolvidas em um ritmo necessário para se manter a frente da capacidade natural das bactérias de evoluir e se defender contra os antibióticos (IDSA, 2011; WHO, 2012).

Diante desta problemática, as buscas por moléculas bioativas de origem natural se intensificaram, e foram elucidadas estruturas moleculares de compostos do metabolismo secundário, como as da classe dos flavonóides, taninos e de outros polifenóis com alto poder antibacteriano, antifúngico e antiviral (Cushnie et al, 2005; Newman et al, 2007; Daglia, 2012). Estudos evidenciam que a síntese destes metabólitos é mediada por fatores de influência, tais como: sazonalidade, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta,

temperatura, altitude etc. (Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Morais, L.A.S, 2009)

Sendo assim o bioma Caatinga é visto como fonte de moléculas bioativas, por apresentar variações extremas nestes fatores e por ser uma formação vegetal única no mundo. O bioma está situado no nordeste brasileiro, estende-se de 2°54' a 17°21'S e está estimada em 800.000 km<sup>2</sup>. Comparado a outras formações vegetais brasileiras apresentam muitas características extremas dentre os padrões meteorológicos: a mais alta radiação solar, baixa nebulosidade, a mais alta temperatura média anual, as mais baixas taxas de umidade relativa, evapotranspiração potencial mais elevada e, sobretudo precipitações limitadas em um período muito curto do ano (Leal et al, 2003;Mello, C.M.A., et al 2012)

O presente trabalho tem como objetivo analisar a atividade antimicrobiana de semi-frações de folhas de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* oriundas de quatro coletas ,representando as quatro estações do ano, frente a uma cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 provenientes do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleção de plantas e armazenamento de plantas***

Folhas de *A. Colubrina* var. *cebil* foram coletadas no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil, em setembro de 2010, Janeiro de 2011, Abril de 2011 e Junho de 2011. A identificação botânica foi feita pela equipe do Herbário do Instituto de Pesquisa Agrônômica de Pernambuco (IPA), Brasil e espécimes testemunho foram depositados no herbário (IPA 84,039) Folhas foram secas à temperatura ambiente. As plantas secas foram moídas para um pó fino em um moinho de Macsalab (Modelo 200 LAB), Eriez®, Bramley, e armazenado à temperatura ambiente em recipientes fechados no escuro até ser utilizado.

### ***Semi-fracionamento do material vegetal***

*Os semi-fracionados foram obtidos pelo método de esgotamento a quente, em aparelho Soxhlet, seguindo-se a série eluotrópica, a partir dos solventes, ciclohexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Nesta perspectiva, avaliou-se o efeito antimicrobiano das semi-frações de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* através do método de microdiluição em série*

### ***A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (MCB)***

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição (CLSI, 2011). Uma série de diluição dupla do extrato / semi-frações foi preparada em caldo Mueller Hinton (MHB) e 100 ul (cerca de  $1,5 \times 10^8$  CFU / ml) da suspensão de bactérias foi adicionado. As amostras foram incubadas durante 24 h a 37 ° C. Solução Resazurina (0,01%) foi utilizada como um indicador de mudança de cor através da visualização: nenhuma mudança de cor de púrpura a cor rosa representa nenhum crescimento e a mudança de cor púrpura a cor de rosa foram registrados como o crescimento bacteriano. A menor concentração em que não ocorreu nenhuma mudança de cor foi determinada como a CIM. Posteriormente, as culturas foram semeadas em meio de MHA e incubadas durante 24 h a 37 ° C para determinar o MCB que corresponde à concentração mínima de extrato / semi-frações que eliminaram as bactérias. Concentração da amostra: 100 mg / mL

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Vários estudos mostram o bioma Caatinga como uma potencial fonte de moléculas bioativas, alguns deles incluindo a espécie *Anadenanthera colubrina* var *cebil* (Trentin et. al., 2011; Da Silva et al., 2011, 2012; Silva et al., 2012; Da Silva et al., 2013; Oliveira, Y.LC. et. al., 2012; Jandú et al., 2013; Trentin et. al., 2013).

Gonçalves et al. (2005) em estudos com a casca (coletados em Iracemópolis, Limeira e Rio Claro, SP, Sudeste, Brasil) relatam que *A.colubrina* não apresenta atividade antimicrobiana. No entanto Trentin et al (2013) em estudos com a casca (coletados em Buíque, PE, Nordeste, Brasil) relatam atividade antibacteriana, porém de caráter bacteriostático e propõe que esta inibição microbiana é causada por taninos identificados por MALDI-TOF que agridem a membrana bacteriana. Esta discrepância entre os autores reafirma que fatores como disponibilidade hídrica e radiação ultravioleta podem determinar nos níveis de metabólitos secundários (Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Morais, L.A.S., 2009).

Os estudos preliminares do nosso grupo com folhas da *A. colubrina* var *cebil* são evidenciados na tabela 1. Os Extratos hidroalcoólicos brutos da folha inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 com halo de inibição de  $14.67 \pm 0.57$ mm e CIM e CBM de 0,7812 mg/mL e 12,5 mg/mL (Tabela 1).

Os passos seguintes para uma melhor elucidação desta atividade foi o semi-fracionamento do material vegetal pelo método Soxhlet. Os valores da CIM foram mais significativos na semi-fração acetato de etila em todos os materiais vegetais oriundos das quatro estações do ano contra *Staphylococcus aureus* ATCC . Os valores da CIM do semi-fracionado acetato de etila oriundo da folha frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 foram: 0,390625mg/mL para setembro de 2010,

0,78125mg/mL para janeiro de 2011, 0,1953125mg/mL para abril de 2011, 0,390625 mg/mL para junho de 2011.

Valores de CBM para a semi-fração acetato de etila oriundo da folha frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 foram: 6,25mg/mL para setembro de 2010, 12,5mg/mL para janeiro de 2011, 0,78125 mg/mL para abril de 2011 e 1,56mg/mL para junho de 2011.

Os valores dos semi-fracionados ciclohexano, clorofórmio e metanol encontram-se na tabela 2. A atividade antimicrobiana de folhas se manteve na semi-fração acetato de etila independentemente do período da coleta, quanto ao CIM não foi visualizada uma variação brusca, porém a CBM da coleta de abril de 2011 variou bruscamente em comparação as outras estações tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

**Tabela 1.** Atividade Antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico bruto da folha de *A. colubrina var cebil*.

(UFPEDA) Micro-organismo	Inibição (mm)	CIM (mg/mL)	CMB (mg/mL)
	EHF	EHF	EHF
(02) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	14,67 ± 0,57	0,7812	12,5

Nota: valores oriundos de Silva et al 2012

Estes dados colaboram com os estudos de Da Silva et. al. (2012) e Silva et al (2012) e ao que parece o semi-fracionamento Soxhlet foi importante para um bom norteamto de um futuro processo cromatográfico, pois é notório que as possíveis moléculas responsáveis pelas inibições mais significativas apresentam afinidade ao solvente

acetato de etila. Percebe-se na literatura que este solvente é responsável por extrair moléculas de caráter antimicrobianos como taninos, leucoantocianidinas e alguns grupos de flavonóides, visto que esta classe de compostos apresentam grupos polares e apolares (Havsteen, 2002; Peitz et. al., 2003).

## CONCLUSÃO

Folhas de *A. colubrina* var. *cebil* foram apresentadas como potenciais fontes de moléculas para uso biotecnológico, porém foi possível enxergar pelo método Soxhlet a afinidade das moléculas responsáveis pela inibição microbiana ao solvente acetato de etila, podendo este método de extração ser usado como um norteador para os processos de purificação e de caracterização estrutural, que serão o próximo passo deste estudo.

**Tabela 2.** Análise sazonal da atividade antimicrobiana de *A.colubrina* var. *cebil* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 utilizando semi-frações de diferentes polaridades oriundas do método de extração Soxhlet.

(UFPEDA) Micro-organismo	Semi-fração CICLOHEXANO		Semi-fração CLOROFORMIO		Semi-fração ACETATO DE ETILA		Semi-fração METANOL	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<b>SETEMBRO 2010 Folhas</b>								
(02) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6,25	>50	1,5625	12,5	0,3906	6,25	12,5	25
<b>JANEIRO 2011 Folhas</b>								
(02) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6,25	50	3,125	>50	0,7812	12,5	12,5	50
<b>ABRIL 2011 Folhas</b>								
(02) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,5625	1,5625	0,7812	0,7812	0,1953	0,7812	12,5	12,5
<b>JUNHO 2011 Folhas</b>								
(02) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	12,5	12,5	3,125	3,125	0,3906	1,56	12,5	12,5

## REFERÊNCIAS

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2011). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement; M100-S21. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, PA.

Cushnie, T.P.T and Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents** 26 343–356.

Da Silva LCN, Sandes JM, Paiva MM, Araújo JM, Figueiredo RCBQ, Silva MV, Correia MTS (2012). Anti-*Staphylococcus aureus* action of three Caatinga fruits evaluated by electron microscopy. **Nat. Prod. Res.** 2012:1-5.

Da Silva LCN, Silva-Júnior CA, Souza RM, Macedo AJ, Silva MV, Correia MTS (2011). Comparative analysis of the antioxidant and DNA protection capacities of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits. **Food Chem. Toxicol.** 49:2222-2228.

Da Silva, L.C.N<sup>1,2</sup>, Miranda, R. C. M., Gomes, B., Macedo, A. J., de Araújo, J. M., Bressan, R. C., Queiroz de Figueiredo, M. V. D. S., & dos Santos Correia, M. T. Evaluation of combinatory effects of *Anadenanthera colubrina*, *Libidibia ferrea* and *Pityrocarpa moniliformis* fruits extracts and erythromycin against *Staphylococcus aureus*. Vol. 7(32), 2358-2364, 25 August, 2013

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. **Food biotechnology - Plant biotechnology**. Volume 23, Issue 2, April 2012, 174–181 Diversidade.

Gobbo-Neto, L. and Lopes, N. P. (2007). **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 2, 374-381

Gonçalves, A.L. et al (2005). Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, jul./set.

Havsteen, B.H (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics** 96 (2002) 67– 202

Infectious Diseases Society of America (2011). **Antimicrobial resistance: Public policy and Facts about Antibiotic Resistance**. Available in <<http://www.idsociety.org>> accessed on 09/10/2013

Jandú, J.J.B.; Da Silva, L.C.N.;Pereira, A.P.C., et al. (2013). *Myracrodruon urundeuva* bark: an antimicrobial, antioxidant and non-cytotoxic agent. **Journal of Medicinal Plants Research** Vol. 7(8), pp. 413-418, 25 February

Leal, I.R; Tabarelli,M; and Da Silva, J.M.C.(2003) Ecologia e conservação da caatinga. Ed. **Universitária da UFPE**.

Mello C.M.A; Silva, I.R; Pontes, J.S., et al (2012) Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 26(4): 938-943. 2012.

Morais L.A.S. 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** 27: S4050- S4063

Newman D.J, Cragg G.M (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **J. Nat. Prod.** 75:311-335.

Oliveira Y.L.C, Nascimento da Silva LC, Silva AG, Macedo AJ, Araújo JM, Correia MTS, Silva MVD (2012). Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of *Buchenavia tetraphylla* (Aubl.) RA Howard (Combretaceae: Combretaceae). TSWJ. pp.1-6.

Peitz, C.; Cúnico, M.M.; Miguel, O.G.; Miguel, M.D.; Kerber, V.A (2003). Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das folhas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. (Leguminosae). **Rev. bras.farmacogn.** vol.13 no.2 Maringá July/Dec. 2003

Trentin D.S, Giordani R.B, Zimmer K.R, Silva A.G, Silva M.S, Correia M.T.S, Baumvol I.J.R, Macedo AJ (2011). Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **J. Ethnopharmacol.** 137:327-335.

Trentin DS, Silva DB, Amaral MW, Zimmer KR, Silva MV, Lopes NP, Giordani RB, Macedo AJ (2013). Tannins Possessing Bacteriostatic Effect Impair *Pseudomonas aeruginosa* Adhesion and Biofilm Formation. **PLoS one** 8:e66257.

World Health Organization (2012). The evolving threat of antimicrobial resistance: Options for action. NLM classification: QV 250. ISBN 978 92 4 150318 1

# ANATOMIA FOLIAR DE *ATRIPLEX NUMMULARIA* LINDL. CULTIVADAS SOB ESTRESSE SALINO

Dias, M. R. P. <sup>(1)</sup>; Melo, H. F. <sup>(2)</sup>; Souza, E. R. <sup>(2)</sup>; Arruda, E. <sup>(1)</sup>  
dias.maryana@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife – PE, Brasil.

## RESUMO

A fitoextração é uma técnica da fitorremediação que utiliza espécies vegetais para absorver sais presentes nos solos e acumular nas partes aéreas. A *Atriplex nummularia* é uma espécie recomendável para a técnica de fitoextração devido à afinidade de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>. O objetivo desse estudo foi avaliar as alterações anatômicas das folhas de *Atriplex nummularia* cultivadas sob estresse salino. Os indivíduos foram cultivados em casa de vegetação e irrigados com água com diferentes níveis de condutividade elétrica, indicando aumento na concentração de NaCl. As amostras foram fixadas em FAA50 por 48h e posteriormente foram submetidas à série etanol-butanol terciário e infiltradas em parafina. O material foi corado com azul de Alcian e safranina e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Foram medidas a espessura da epiderme e do mesofilo, além do comprimento e largura da nervura central. Observou-se aumento na espessura de ambas as faces da epiderme, estreitamento do mesofilo e aumento no número de feixes na nervura central. Além dos aspectos quantitativos, observaram-se alterações na morfologia das drusas, diminuição da lignificação e o aparecimento de tilos. Sendo assim, conclui-se que o aumento da concentração de NaCl provocou alterações anatômicas nas folhas de *Atriplex nummularia*.

**Palavras-chaves:** Morfoanatomia, Amaranthaceae, Salinidade.

## INTRODUÇÃO

A alta concentração salina do solo é uma das causas de degradação em ambiente semiárido, pois ocasionam danos às propriedades do solo, desenvolvimento dos vegetais e à sociedade (SOUZA, 2010). A aplicação de corretivos químicos e orgânicos, remediação mecânica e fitorremediação são alternativas para a recuperação do solo (RAVINDRAN et al., 2007). A fitoextração é uma técnica da fitorremediação que utiliza espécies vegetais para absorver e acumular sais nas partes aéreas a qual pode ser retirada e usada para outros fins (RAVINDRAN et al., 2007).

As plantas halófitas podem ser usadas em projetos de fitorremediação e no controle de balanço de água (JORDAN et al., 2008). De acordo com Flowers; Colmer (2008), caracteriza-se plantas halófitas aquelas plantas capazes de sobreviver e se reproduzir em ambientes onde a concentração de sal excede a  $200 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl ( $\sim 20 \text{ dS m}^{-1}$ ). Entre as plantas halófitas, o gênero *Atriplex* possui espécies de grande importância, devido à sua adaptabilidade a salinidade e deficiência de água (SOUZA et al., 2012).

O gênero *Atriplex* pertence à família Amaranthaceae (APG III), é nativo da Austrália e tem se adaptado muito bem nas regiões áridas e semi-áridas da América do Sul, em particular na Argentina, Chile e Brasil (ARAÚJO, 2006). Frequentemente cultivadas como plantas

forrageiras em áreas mais secas, devido à sua grande resistência à seca e tolerância ao sal (AGANGA, 2003).

Além disso, segundo Souza (2010) a *Atriplex nummularia* é uma espécie recomendável para a técnica de fitoextração devido a afinidade de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  e a produção de biomassa é satisfatória para a extração e retirada de sais.

Estudos sobre a alta salinidade demonstram que pode ocasionar alterações anatômicas como a redução no número de estômatos, espessura da folha e distância entre os feixes vasculares, mudanças no diâmetro e número de vasos do xilema (BOUGHALLEB; DENDEN; TIBA, 2009).

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar as alterações anatômicas das folhas de *Atriplex nummularia* cultivadas sob diferentes níveis de salinidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Tratamento salino da Atriplex nummularia***

As amostras foram cedidas pelo Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup> Edivan Rodrigues de Souza, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os indivíduos foram cultivados em casa de vegetação e eram irrigados com água com diferentes níveis de condutividade elétrica (CE) 0 ds/m (controle), 5

ds/m, 10 ds/m, 20 ds/m, 30 ds/m, 40 ds/m, indicando aumento na concentração de NaCl.

### ***Análises anatômicas***

As amostras foram fixadas em FAA50 por 48h e preservadas em etanol 70%. Posteriormente foram submetidas a série etanol-butanol terciário e infiltradas em parafina. (KRAUS; ARDUIN, 1997). O material incluído foi seccionado em micrótomo rotativo, corado em dupla coloração azul de Alcian e safranina e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá (BUKATSCH, 1972).

### ***Análise estatística***

Para as análises das medições dos caracteres anatômicos foi realizado o ANOVA- Teste de Dunnett usado o software BioEstat 5.3 (AYRES et al., 2007).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A folha da *Atriplex nummularia* apresenta um sistema de revestimento constituído por uma epiderme unisseriada com presença de tricomas vesiculares em toda a superfície (Figura 1), em ambas as faces, corroborando com as análises de Black (1954) e Souza et al., (2012), essa característica pode ser encontrada em outras espécies do gênero como a *Atriplex vesicaria* e *Atriplex buchananii* (BLACK, 1954; TROUGHTON; CARD, 1974). A espessura de ambas as faces foi

alterada com o aumento da salinidade (Figura 1) (Tabela 1). Souza et al., (2012) relatou que indivíduos de *Atriplex nummularia* cultivadas em solo salino e sob condições de estresse hídrico tem aumento no volume e no diâmetro das vesículas, sendo assim, sugere-se que esse é um dos fatores que promove o espessamento da epiderme.

Em algumas halófitas como a *Atriplex patula* e a *Suaeda marítima* o aumento da salinidade acarreta um aumento da espessura da folha (BOUGHALLEB; DENDEN ; TIBA, 2009). No entanto o estresse salino também pode ocasionar na redução da espessura do mesofilo (HU et al., 2005; ÇAVUŞOĞLU et al., 2008). No presente estudo o aumento da concentração de NaCl houve redução significativa na espessura do mesofilo (Figura 1) a partir dos indivíduos irrigados com CE da água 10 ds/m (Tabela 2). Resultados semelhantes foram observados em *A. halimus* quando submetidas a uma salinidade superior a 100 mM de NaCl (BOUGHALLEB; DENDEN; TIBA, 2009) e em *Tessaria absinthioides* quando tratadas com NaCl-0,8MPa (DEGANO, 1999). Os maiores níveis de salinidade promoveram o aumento na quantidade de drusas. Observa-se que os níveis mais altos de concentrações de cloreto de sódio ocasionam ampliação e deformação nesses cristais (Figura 1). De acordo Hunsche et al., (2010), as drusas constituem um reservatório que assegura o suprimento de cálcio para os processos metabólicos, quando sua absorção e a translocação são reduzidas, devido ao estresse salino.

Os feixes vasculares são do tipo colateral, as células do mesofilo dispõem-se de forma radiada em torno da endoderme (Figura 1), caracterizando a anatomia Kranz (MUHAIDAT; SAGE; DENGLER, 2007). Observa-se que com o aumento da salinidade há também aumento na largura e comprimento da nervura mediana (Tabela 3), decorrente ao acréscimo do número de feixes vasculares na nervura central. Indicando provavelmente diminuição da capacidade de transporte de água com salinidade (BOUGHALLEB; DENDEN; TIBA, 2009). As células do xilema ficam menos lignificadas à medida que aumenta a salinidade (Figura 2) e os indivíduos irrigados com CE da água 40 ds/m há o aparecimento dos tilos (Figura 2), que são projeções de células parenquimáticas através das pontoações para o lume do elemento de vaso e possui a função de evitar a o fenômeno da cavitação e dessa forma permitir que o transporte de água pelos elementos condutores permaneçam ativos (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREITO, 2012).

**Tabela 1.** Espessura das faces adaxial e abaxial da epiderme de *Atriplex nummularia* tratadas com NaCl.

Tratamento	Média (µm)	Desvio padrão	Diferença	SE	Q	V crítico	p
<i>Face adaxial</i>							
CE 5	21.6667	5.99603	8.3333	1.5072	5.5288	3.0970	p < 0.01
CE 10	24.2857	5.029583	10.9524	1.5339	7.1401	3.0970	p < 0.01
CE 20	16.8000	1.740279	3.4667	1.5072	2.3000	3.0970	ns
CE 30	20.2667	3.058166	6.9333	1.5072	4.6000	3.0970	p < 0.01
CE 40	24.6667	4.760952	11.3333	1.5072	7.5192	3.0970	p < 0.01
<i>Face abaxial</i>							
CE 5	27.5333	5.553206	13.5333	1.5160	8.9272	3.0970	p < 0.01
CE 10	29.2857	4.33995	15.2857	1.5428	9.9078	3.0970	p < 0.01
CE 20	20.1333	3.204164	6.1333	1.5160	4.0458	3.0970	p < 0.01
CE 30	22.0667	3.369329	8.0667	1.5160	5.3212	3.0970	p < 0.01
CE 40	27.3333	4.805751	13.3333	1.5160	8.7953	3.0970	p < 0.01

Pelo teste de *Dunnnett* verifica-se que houve aumento significativo na espessura da epiderme entre todos os tratamentos quando comparado ao controle ( $p < 0.01$ ), exceto na face adaxial dos indivíduos tratados com CE 20 ds/m de NaCl (*ns*).

**Tabela 2.** Espessura do mesofilo de *Atriplex nummularia* tratadas com NaCl.

Tratamento	Média (µm)	Desvio padrão	Diferença	SE	Q	Valor crítico	p
CE 5	77.4000	12.56298	1.8667	2.7150	0.6875	3.0970	ns
CE 10	60.1429	4.737041	19.1238	2.7631	6.9212	3.0970	p < 0.01
CE 20	65.4667	5.330059	13.8000	2.7150	5.0828	3.0970	p < 0.01
CE 30	56.9333	3.411465	22.3333	2.7150	8.2259	3.0970	p < 0.01
CE 40	51.5333	5.383396	27.7333	2.7150	10.2148	3.0970	p < 0.01

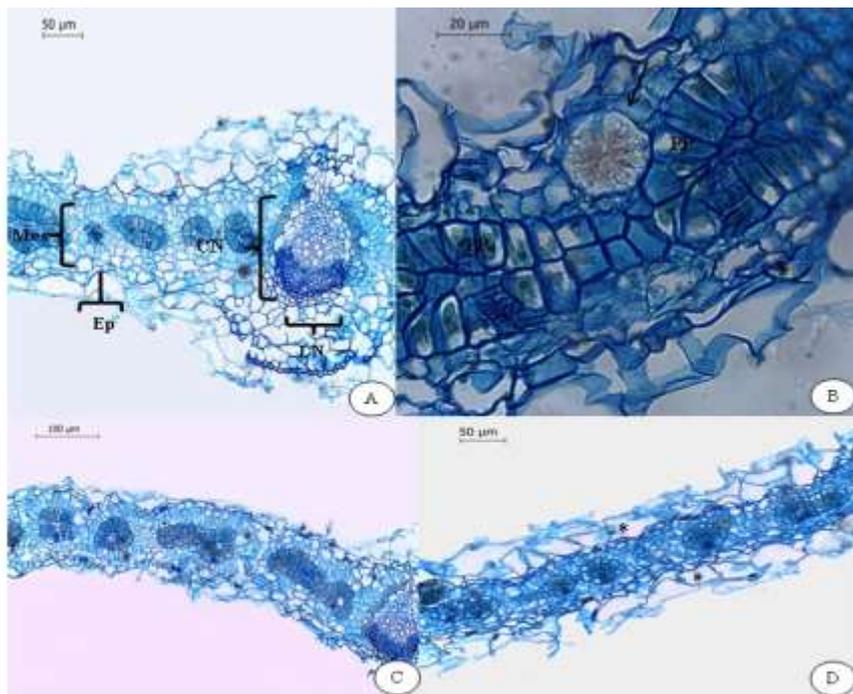


Figura 1. Corte transversal de *Atriplex nummularia*. (A) Aspecto geral da *Atriplex nummularia*. Onde foram realizadas as medida da espessura da epiderme (Ep), do mesofilo (Mes) e o comprimento (CN) e largura (LN) da nervura mediana. (B) Drusa (seta) em indivíduos irrigados com CE da água 40 ds/m. Detalhe para o parênquima paliádico (PF) em torno da endoderme dos feixes vasculares, anatomia Kranz. (C) e (D): Diferença na espessura da epiderme e do mesofilo entre (C) o grupo controle e (D) indivíduos irrigados com CE da água 40 ds/m, observar a presença de vesículas (\*) em ambas as faces da epiderme.

Observa-se diminuição na espessura do mesofilo entre todos os tratamento quando comparado ao grupo controle ( $p < 0.01$ ), exceto os indivíduos tratados com CE 5 ds/m de NaCl, não havendo alteração significativa (*ns*).

**Tabela 3.** Largura e comprimento da nervura mediana de *Atriplex nummularia* tratadas com NaCl.

Tratamento	Média ( $\mu\text{m}$ )	Desvio padrão	Diferença	SE	Q	Valor crítico	<i>p</i>
<i>Largura</i>							
CE 5	61.6000	7.385314	2.8667	2.2210	1.2907	3.0970	ns
CE 10	92.0714	7.279733	27.6048	2.2603	12.2129	3.0970	$p < 0.01$
CE 20	87.4667	3.292126	23.0000	2.2210	10.3557	3.0970	$p < 0.01$
CE 30	71.1333	1.9223	6.6667	2.2210	3.0017	3.0970	ns
CE 40	76.2667	3.32666	11.8000	2.2210	5.3129	3.0970	$p < 0.01$
<i>Comprimento</i>							
CE 5	84.0000	4.765951	2.7333	2.2038	1.2403	3.0970	ns
CE 10	113.2143	6.941276	31.9476	2.2428	14.2445	3.0970	$p < 0.01$
CE 20	109.3333	3.154739	28.0667	2.2038	12.7356	3.0970	$p < 0.01$
CE 30	104.8667	3.481926	23.6000	2.2038	10.7088	3.0970	$p < 0.01$
CE 40	96.2667	5.311264	15.0000	2.2038	6.8065	3.0970	$p < 0.01$

Verifica-se aumento na largura e comprimento dos feixes centrais em indivíduos tratados com NaCl ( $p < 0.01$ ), não havendo diferença significativa nos tratamentos CE 5 ds/m e na largura dos indivíduos com CE 30 ds/m (*ns*).

## CONCLUSÃO

Com o aumento da concentração de NaCl foi possível notar diferenças quantitativas e morfológicas na estrutura das folhas de *Atriplex nummularia*.

O aumento da salinidade promoveu aumento na espessura da epiderme, redução na espessura do mesofilo. Além da alteração do número de feixes vasculares na nervura mediana e alteração na lignificação das células do xilema.

Nos indivíduos de *Atriplex nummularia* irrigados com CE da água 5 ds/m nota-se alterações morfológicas mais sutis e as análises estatísticas não demonstram diferenças significativas em alguns aspectos como a

espessura do mesófilo, sugerindo certa tolerância do vegetal a esse grau de salinidade.

## REFERÊNCIAS

AGANGA, A. A.; MTHETHO, J. K.; TSHWENYANE, S. *Atriplex nummularia* (Old Man Saltbush): A potential forage crop for arid regions of Botswana. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 72-75, 2003.

APG III. Na update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v.161, p. 105-121, 2009.

ARAÚJO, G. G. L.; SEVERINO, G.; GUIMARÃES FILHO, C. Opções no uso de forrageiras arbustivo-arbóreas na alimentação animal no semi-árido do Nordeste. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SISTEMAS AGROFLORESTAIS PECUARIOS NA AMERICA DO SUL, 2000, Juiz de Fora. **Anais... Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite/FAO**, 2000. CD-ROM.

AYRES, M. et al. BioEstat 5.0-Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas: Sociedade Civil Mamirauá, Belém. **Brasília: CNPq**, 2007.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Microkosmos**, v. 61, p. 255, 1972.

BLACK, R. F. The leaf anatomy of Australian members of the genus *Atriplex*. I. *Atriplex vesicaria* Heward and *A. nummularia* Lindl. **Australian Journal of Botany**, v. 2, n. 3, p. 269-286, 1954.

BOUGHALLEB, F.; DENDEN, M.; TIBA, B. B. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 31, n. 5, p. 947-960, 2009.

ÇAVUŞOĞLU, K.; KILIÇ, S.; KABAR, K. Effects of some plant growth regulators on leaf anatomy of radish seedlings grown under saline conditions. **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 2, n. 2, p. 47-50, 2008.

COSTA, C. G. et al. Xilema. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. Anatomia Vegetal. 3. ed. Viçosa: Editora Ufv, 2012. p. 124-146.

DEGANO, C. Respuestas morfológicas y anatómicas de *Tessaria absinthioides* (Hook. et Arn.) DC. a la salinidad. **Rev. Bras. Bot. São Paulo**, v. 22, p. 357-363, 1999.

FLOWERS, Timothy J.; COLMER, Timothy D. Salinity tolerance in halophytes\*. **New Phytologist**, v. 179, n. 4, p. 945-963, 2008.

HU, Y.; FROMM, J.; SCHMIDHALTER, U. Effect of salinity on tissue architecture in expanding wheat leaves. **Planta**, v. 220, n. 6, p. 838-848, 2005.

HUNSCHE, M. et al. Effects of NaCl on surface properties, chlorophyll fluorescence and light remission, and cellular compounds of *Grewia tenax* (Forssk.) Fiori and *Tamarindus indica* L. leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 61, n. 03, p. 253-263, 2010.

JORDAN, F. et al. Natural bioremediation of a nitrate-contaminated soil-and-aquifer system in a desert environment. **Journal of Arid Environments**, v. 72, n. 5, p. 748-763, 2008.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Edur, 1997.

MUHAI DAT, R.; SAGE, R. F.; DENGLER, N. G. Diversity of Kranz anatomy and biochemistry in C4 eudicots. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 3, p. 362-381, 2007.

RAVINDRAN, K. C. et al. Restoration of saline land by halophytes for Indian soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 39, n. 10, p. 2661-2664, 2007.

SOUZA, E. R. **Fitorremediação de neossolo flúvico sódico salino de Pernambuco com *Atriplex nummularia***. 2010. 77 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

SOUZA, E. R. et al. Biomass, anatomical changes and osmotic potential in *Atriplex nummularia* Lindl. cultivated in sodic saline soil under water stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 82, p. 20-27, 2012.

TROUGHTON, J. H.; CARD, K. A. Leaf anatomy of *Atriplex buchananii*. **New Zealand journal of botany**, v. 12, n. 2, p. 167-177, 1974.

# APLICAÇÃO DO BIOSSURFACTANTE PRODUZIDO POR *Candida bombicola* NA REMEDIAÇÃO AMBIENTAL

Luna, J.M.<sup>(1)</sup>; Rufino, R.D.<sup>(1)</sup>; Filho Santos, A.S.<sup>(1)</sup>; Brasileiro, P. P. F.<sup>(1)</sup> Freitas,  
B.G.<sup>(1)</sup>; Sarubbo, L. A.<sup>(1)</sup> julianamouraluna@gmail.com

<sup>(1)</sup>Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife – PE, Brasil, CAPES-FACEPE, UNICAP, TERMOPE, CNPq, ANEEL.

## RESUMO

O desenvolvimento de surfactantes biodegradáveis e menos tóxicos, como os biossurfactantes, torna-se uma estratégia importante na obtenção de compostos compatíveis com o meio ambiente. Muito têm sido produzidos embora poucos sejam comercializados em virtude de alto custo de produção desses compostos e dos processos de purificação. Nesse sentido, foi utilizando o meio contendo água destilada suplementada com 5% de milhocina, 5% de melaço de cana e 5% de óleo de fritura residual como substratos para a produção de biossurfactante por *Candida bombicola* durante 120 horas de cultivo a 200 rpm. O biossurfactante demonstrou capacidade de redução de tensão superficial (31 mN/m) e valor de CMC (0,5%), estabilidade a diferentes pHs relacionadas a capacidade de emulsificação e redução da tensão superficial, além de tolerância a condições salinas. A caracterização do biossurfactante indicou sua natureza aniônica e a presença de 70% de lipídeos, 20% de proteína e 10% de carboidratos. O potencial de aplicação da biomolécula na remoção de óleo de motor foi de 63%. Testes de dispersão em água do mar demonstraram 70% de eficiência da biomolécula frente a poluentes hidrofóbicos, sugerindo seu potencial de aplicação na contenção de manchas de petróleo e/ou derivados em ambientes aquáticos.

**Palavras - chave:** Surfactantes, Poluentes Hidrofóbicos, Biopolímero.

## INTRODUÇÃO

O derramamento de hidrocarbonetos provoca a contaminação ambiental, gerando consequências desastrosas para os organismos

vivos. Estima-se que 0,08%-0,4% da produção mundial de petróleo alcancem, eventualmente, os oceanos. No Brasil, acidentes envolvendo hidrocarbonetos derivados de petróleo tais como gasolina e óleo combustível, têm causado sérios problemas ambientais. Em 1998, 1200m<sup>3</sup> de óleo combustível foram derramados devido à corrosão de um oleoduto na cidade de Cubatão, no Estado de São Paulo. A corrosão de oleodutos também foi responsável pelo derramamento de 1300 m<sup>3</sup> de óleo combustível na Baía de Guanabara, que já havia sido contaminada anteriormente por outros derramamentos de petróleo (SILVA et al., 2010).

Acidentes como os citados acima têm intensificado o desenvolvimento de procedimentos e técnicas de combate à poluição ambiental por derivados de petróleo. Os solos contaminados por petróleo e derivados normalmente são tratados através de metodologias físicas, químicas ou biológicas. Entretanto, as novas diretrizes de recuperação de solos e águas têm restringido o uso de produtos químicos. Dentre as técnicas de remediação disponíveis, a biorremediação tem se destacado, embora a solubilidade reduzida dos hidrocarbonetos dificulte o acesso dos micro-organismos e a consequente biodegradação do poluente (SANTOS et al., 2013).

Uma das possíveis soluções para a baixa disponibilidade dos poluentes hidrofóbicos consiste no uso de biopolímero. Os biossurfactantes constituem uma classe importante de compostos químicos muito

utilizados em diversos setores industriais. Esses compostos são formados por estruturas moleculares contendo porções hidrofílicas e hidrofóbicas que tendem a se distribuir nas interfaces entre as fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). Estas propriedades promovem a redução da tensão superficial e interfacial, conferindo a capacidade de detergência, emulsificação, lubrificação, solubilização e dispersão de fase (LUNA et al., 2013).

Nesse sentido, presente trabalho foi desenvolvido visando produzir surfactantes a partir de *Candida bombicola* utilizando resíduos industriais como substratos de baixo custo, estudo das propriedades do biossurfactante obtido e aplicações na remoção de compostos hidrofóbicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismo***

*Candida bombicola*, mantida em meio YMA (Yeast Mold Ágar) foi utilizada como micro-organismo produtor do biossurfactante. Repiques foram mensalmente realizados para manter a viabilidade celular.

### ***Produção do biossurfactante***

As fermentações para produção do biossurfactante foram realizadas em frascos de Erlenmeyer com 250 ml de capacidade contendo 100 ml do meio de produção contendo 5% de melaço de cana, 5% de milhocina e

5% de óleo de soja residual de fritura e incubados com a suspensão celular de 5%(v/v). Os frascos foram mantidos sob agitação orbital de 200 rpm, durante 120 horas, à temperatura de 28 °C.

### ***Determinação da atividade de emulsificação***

Para a determinação da atividade de emulsificação, as amostras foram centrifugadas a 2000g durante 20 minutos e, em seguida, analisadas segundo a metodologia proposta por Cooper e Goldenberg (1987).

### ***Estabilidade dos agentes surfactantes (efeito do pH, e da adição de NaCl)***

Os efeitos de diferentes concentrações de NaCl (2%, 4%, 6%, 8% e 10%) e de diferentes pH (2, 4, 6, 8, 10 e 12) na tensão superficial e atividade de emulsificação do biossurfactante foram avaliados no líquido metabólico livre de células.

### ***Determinação da tensão superficial e da concentração micelar crítica (CMC)***

A tensão superficial e a CMC foram medidas em tensiômetro automático (Modelo Sigma 70, KSV Ltd., Finland) utilizando o anel de NUOY.

### ***Isolamento do biossurfactante***

O pH do líquido metabólico livre de células foi ajustado para 2 com HCl 6M e precipitado com 2 volumes de metanol. Após repouso durante 24 horas a -15°C, as amostras foram centrifugadas à 4000g por

30 minutos, e mantidas em dessecador até peso constante, sendo o rendimento em produto isolado calculado em g/L.

### ***Composição química do biossurfactante***

A concentração de proteína do biossurfactante isolado foi determinada através do Kit Labtest. Os carboidratos foram determinados pelo método ácido fenol-sulfúrico, usando D-glicose como padrão (HANSON et al., 1981) e os lipídios quantificados de acordo com Manocha et al. (1980).

### ***Determinação da carga iônica do biossurfactante***

A carga iônica do biossurfactante foi determinada pela técnica de difusão dupla em Agar modificada (SILVA et al., 2010). A substância aniônica selecionada foi o dodecil sulfato de sódio (SDS), na concentração de 0,02 M, enquanto que a substância catiônica foi o cloreto de bário, na concentração de 0,05 M.

### ***Experimentos de lavagem de composto hidrofóbico adsorvidos em pedra***

A remoção de óleo de motor adsorvido em pedra foi realizada embebendo-se o material no contaminante até completa cobertura do mesmo. Em seguida, o material foi cuidadosamente colocado, com auxílio de uma pinça, em um becker de 100mL, o qual foi submetido à adição do líquido metabólico livre de células após o cultivo. A quantidade de óleo remanescente foi determinada no sólido lavado, por

gravimetria, após extração com hexano, e expressa em percentual.

### ***Experimentos de deslocamento (dispersão/agregação) de composto hidrofóbico em água do mar***

A capacidade de dispersão ou agregação de manchas de derivados de petróleo foi simulada em laboratório contaminando-se amostras de água do mar com óleo de motor. Os testes foram conduzidos pela adição do líquido metabólico livre de células em 15µL do óleo motor. Os resultados foram observados visualmente.

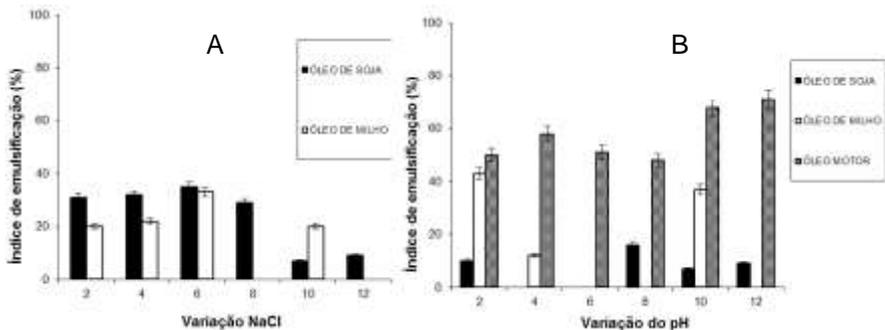
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Estabilidade do biossurfactante relacionada à habilidade de emulsificação***

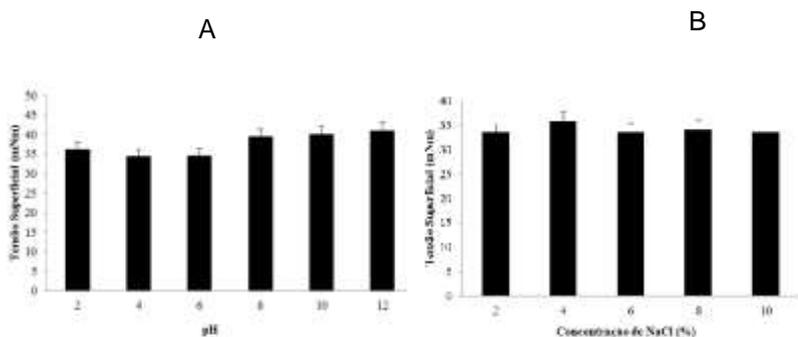
A estabilidade do biossurfactante também foi avaliada no líquido metabólico livre de células após 144 horas de cultivo em função do índice de emulsificação do biopolímero. Como mostra a figura 1A, observou-se que o surfactante não emulsificou em óleo motor, independente da concentração de NaCl a qual foi submetido. Testes também foram realizados para variação do pH (2,4,6,8,10 e 12). Observou-se que o maior índice de emulsificação foi obtido com óleo motor, independente da variação dos pHs (Figura 1B).

## *Estabilidade do biossurfactante relacionada à tensão superficial*

A estabilidade do biossurfactante foi avaliada no líquido metabólico livre de células após 120 horas de cultivo quanto a diferentes valores de pH, e concentrações de NaCl em função da tensão superficial do biopolímero. Com relação à variação do pH, demonstraram que o biossurfactante obtido não apresentou alterações significativas no valor da tensão superficial (Figura 2A). A tensão superficial no líquido metabólico livre de células contendo o biossurfactante mostrou-se estável, independente da concentração de sal adicionada (Figura 2B).



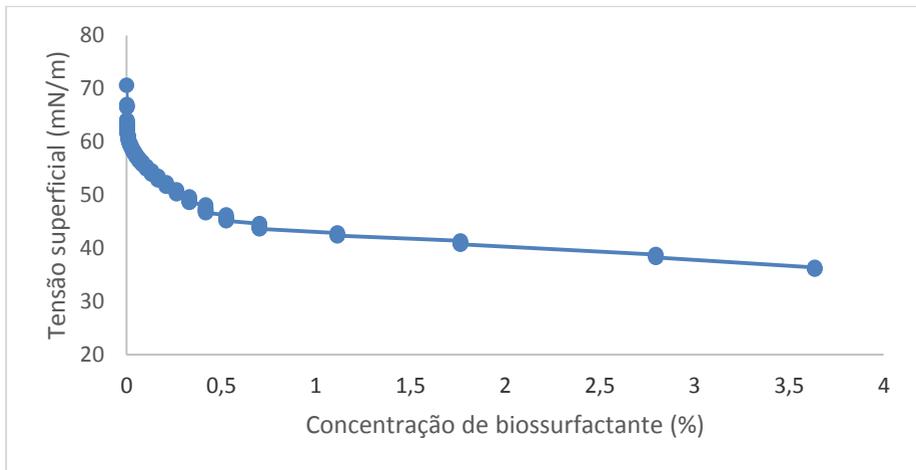
**Figura 1.** Estabilidade do biossurfactante relacionada à habilidade de emulsificação frente a mudanças de concentração de pH (A) e NaCl (B).



**Figura 2.** Estabilidade do biossurfactante relacionada à tensão superficial, frente a mudanças na concentração de pH (A) e NaCl (B).

### ***Tensão superficial e concentração micelar crítica (CMC) do biossurfactante***

O biossurfactante de *C. bombicola* exibiu capacidade de redução da tensão superficial, uma vez que a tensão superficial da água foi reduzida de 70 mN/m para 31mN/m com o aumento da concentração do biossurfactante até 0,5% (Figura 3). O biossurfactante de *C. bombicola* demonstrou maior capacidade de reduzir a tensão do que os surfactantes de *C. lipolytica* (32 mN/m) (Rufino et al., 2008), de *C. glabrata* (31 mN/m) (Sarubbo et al., 2006). O biossurfactante produzido nas condições estudadas nesse trabalho também demonstrou uma CMC muito inferior do que a CMC de outros surfactantes de leveduras descritos na literatura, considerando os valores de 2,5 % encontrados para os biossurfactantes de *C. glabrata* (Sarubbo et al., 2006) .



**Figura 3.** Concentração Micelar Crítica do biossurfactante produzido por *Candida bombicola* cultivada em água destilada suplementada com 5% de melação de cana, 5% de milhocina e 5% de óleo de soja residual de fritura.

### ***Composição química do biossurfactante***

A análise preliminar do biossurfactante isolado a partir do cultivo de *C. bombicola* indicou a presença de 70% de lipídios, 10% de carboidratos e 20% de proteínas. Souza - Sobrinho et al. (2008) observaram que o biossurfactante isolado de *C. sphaerica* indicou a presença de 75% de lipídeos e 25 % de carboidratos.

### ***Determinação da carga iônica do biossurfactante***

O biossurfactante produzido por *C. bombicola* cultivado em resíduos industriais apresentou caráter aniônico. Outros biossurfactantes

produzidos por espécies de *Candida* também apresentaram caráter aniônico quando submetidos ao mesmo teste (LUNA et al., 2013; SOBRINHO et al., 2008).

### ***Experimentos de lavagem de composto hidrofóbico adsorvidos em pedra***

Os resultados obtidos para o biossurfactante de *C. bombicola* demonstraram que o líquido metabólico foi capaz de remover 63 % do óleo de motor adsorvido na amostra de areia testada.

### ***Experimentos de deslocamento (dispersão) de composto hidrofóbico em água do mar***

Os resultados obtidos através do teste com o líquido metabólico apresentou uma dispersão de 70% a partir do diâmetro inicial. O biossurfactante apresentou atividade dispersante do óleo lubrificante de motor, o que poderia facilitar o direcionamento de manchas oleosas no oceano.

## **CONCLUSÃO**

O biossurfactante produzido pela *C. bombicola* apresentou tensão superficial e atividade de emulsificação estável frente diferentes pHs e condições salinas elevadas.

O biopolímero produzido, demonstrou potencial para aplicações industriais e ambientais, em especial na recuperação de óleos, como

também na biorremediação de solos contaminados com poluentes hidrofóbicos, setores da indústria petroquímica que requerem produtos baratos, eficientes e estáveis frente a condições ambientais extremas.

## REFERENCIAS

COOPER, D.G., GOLDENBERG, B.G. Surface active agents from two *Bacillus species*. **Applied Enviromental Microbiology**, v.53, p. 224-229, 1987.

HANSON, R.S., PHILLIPS, J.A., GHERHARDT, P. **Manual of Methods for General Bacteriology**, American Society for Microbiology, Washington, DC. p. 328-364, 1981.

LUNA, J. M., RUFINO, R. D., SARUBBO, L. A., CAMPOS-TAKAKI, G. M. Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and surface**, p. 36, 2013.

MANOCHA, M.S., SAN-BLAS, G., CENTENO, S. Lipid composition of *Paracoccidioides brasilienses*: possible correlation with virulence of different strains. **Journal of General Microbiology**, v. 117, p.147-154, 1980.

RUFINO, R. D., SARUBBO, L. A., CAMPOS-TAKAKI G.M. Enhancement of stability of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using industrial residue as substrate. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 729-734, 2008.

SANTOS, D.K.F., RUFINO, R.D., LUNA, J.M., SANTOS, V.A., SALGUEIRO, A.A., SARUBBO, L.A. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v.105, p.45-50, 2013.

SARUBBO, L.A., LUNA, J.M., CAMPOS-TAKAKI, G.M. Production and stability studies of the bioemulsifier obtained from a new strain of *Candida glabrata* UCP 1002. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 9, p.400 – 406, 2006.

SILVA, S. N. R. L.; FARIAS, C. B. B.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; SARUBBO, L.A. Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *pseudomonas*

*aeruginosas* UCP 0992. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v.79, p.174-183, 2010.

SOBRINHO, H. B. S.; RUFINO, R. D.; LUNA, J. M., SALGUEIRO, A. A.; CAMPOS-TAKAKI, G. M.; LEITE, L. F. C.; SARUBBO, L. A. Utilization of two agroindustrial by-products for the production of a surfactant by *Candida sphaerica* UCP0995. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 912-917, 2008.

---

## **APRENDIZAGEM NO ENSINO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS VINCULADA À PRÁTICA PEDAGÓGICA**

**Divino, E.P.A.<sup>(1)</sup>; Silva, M. N. S.<sup>(1)</sup>; Caldeira, R. D.<sup>(1)</sup>** elane.01@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Faculdade de Castanhal - FCAT, Castanhal - PA, Brasil.

### **RESUMO**

O trabalho mostra que a educação deve proporcionar a reflexão crítica enquanto que a didática procura estabelecer o vínculo entre a teoria e a prática. Estudos discutidos em muitas décadas dão destaque às atividades experimentais. O ensino de biologia deve estar ligado ao cotidiano. O aprender se dá de varias formas na aprendizagem escolar e cognitiva. Objetivou-se mostrar que a prática, vinculada à teoria, contribui para o processo de ensino-aprendizagem e, ainda, incentivar à doação de sangue e medula óssea. O trabalho foi desenvolvido no município de Castanhal, região Nordeste do Estado do Pará, em escolas de ensino fundamental e médio da rede estadual de ensino. Foi apresentada palestra educativa, dando ênfase a temáticas como, doação de sangue e medula óssea, tecido sanguíneo e sistema sanguíneo ABO. Participaram alunos do 1º ao 3º ano do ensino médio, coordenadores professores e servidores do apoio das instituições. Foi perceptível que os alunos em sua maioria tinham um conhecimento restrito sobre o assunto, e apresentaram interesse no momento da apresentação, participando da discussão fazendo perguntas e construindo opiniões. O trabalho na área da educação é importante, principalmente em escolas públicas, onde o público é vasto e a necessidade em, se realizar palestras informativas, bem como

atividades práticas experimentais, é grande. Este tipo de trabalho proporciona momento de reflexão e a disseminação dos conhecimentos.

**Palavras - chave:** Sangue, Doação, Experimentais.

## **INTRODUÇÃO**

A educação é vista como ato político, que deve provocar e criar condições para que se desenvolva uma atitude de reflexão crítica, tendo como finalidade subsidiar o desenvolvimento do ser humano, que se configuram por definições filosóficas, políticas, pedagógicas e didáticas (LUCKESI, 2011).

A didática exerce função importante na sistematização e organização do ensino, ao procurar estabelecer o vínculo entre teoria e prática. O lado teórico é representado por um conjunto de ideias constituído pelas teorias pedagógicas, sistematizando a partir da prática realizada dentro das condições concretas (VEIGA, 1989).

O estudo sobre as diferentes práticas pedagógicas vem sendo bastante discutido nas últimas décadas. Dentre elas, destaca-se o uso das atividades experimentais, considerada por muitos professores, como indispensável para o bom desenvolvimento do ensino (REGINALDO, SHEID & GULLICH, 2012). A ideia da realização de experimentos é difundida como uma grande estratégia didática para seu ensino e aprendizagem (BUENO & KOVALICZN, 2008). Segundo Sobrinho (2009) as ações experimentais unem-se com as informações teóricas e

propiciam a construção de uma rede de esquemas mentais, auxiliando de um modo lógico e ordenado a compreensão dos conteúdos em biologia.

O ensino de ciências e de biologia é imprescindível para a formação cidadã, sua atual importância é extrema, e tende a crescer ainda mais com o passar do tempo e com a evolução da ciência e da sociedade (JUNIOR & BARBOSA, 2009). Segundo Vasconcelos et al. (2002), vivemos neste país uma situação paradoxal quanto ao ensino de ciências e biologia. Enquanto nos discursos pedagógicos e políticos ninguém seja capaz de negar a importância social de abordar, em todos os níveis pedagógicos, o conhecimento científico e biotecnológico, na prática cotidiana das escolas, este tem sido o mais ausente.

Lima et al, (1999) afirma que a experimentação inter-relaciona o aprendiz e os objetos de seu conhecimento, a teoria e a prática nas aulas práticas no ensino de Ciências Biológicas.

A aula de biologia trabalhada pelos professores deve-se apresentar à vida cotidiana como uma possibilidade de explicitar os conceitos biológicos, provocando o interesse do aluno para dar visibilidade aos conceitos da biologia (SOBRINHO, 2009).

Aprendemos de várias formas, e as duas mais usadas e tradicionais para a aprendizagem escolar e cognitiva são ouvir e ler, as quais possuem limitações, mas também enormes virtudes por serem relativamente simples e flexíveis, podendo abarcar um grande número de

conhecimento e tipos de aprendizagem (ARAUJO & CHADWICH, 2001).

A aprendizagem é a capacidade e a possibilidade que as pessoas têm para perceber, conhecer, compreender e reter na memória as informações obtidas. Trata-se de um processo complexo que possibilita a criação e o desenvolvimento de novos conhecimentos. E é por meio do aprendizado que se modifica o comportamento intelectual e social dos indivíduos, sendo o mesmo um processo fundamental na vida do ser humano (TOPCZEWSKI, 2011).

Com base nisso, este trabalho teve por objetivo mostrar que a prática, vinculada à teoria nas escolas, contribui para o processo de ensino-aprendizagem dos alunos, possibilitando aos mesmos a observação da aglutinação do sangue, e a diferenciação dos tipos sanguíneos a partir das técnicas utilizadas, e a importância em ser um doador de sangue e medula óssea.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido no município de Castanhal, região Nordeste do Estado do Pará, o qual possui 173. 149 habitantes, com aproximadamente 1.028,889 Km<sup>2</sup> de extensão territorial (IBGE, 2013).

Segundo o portal da Secretaria de Estado e Educação (SEDUC), o município apresenta 19 escolas estaduais, das quais três foram

selecionadas para o desenvolvimento do projeto: Escola estadual de ensino fundamental e médio Clotilde Pereira, Escola estadual de ensino fundamental e médio José Salles e Escola estadual de ensino fundamental e médio Maria das Mercês Conôr, todas da área urbana, sendo a última de região da periferia.

Nas escolas foram realizadas palestras educativas, ministradas por discentes do curso de Licenciatura em Ciências biológicas da Faculdade de Castanhal, sobre a importância da doação de sangue como responsabilidade social, enfatizando os critérios para ser um doador de sangue, importância do cadastro no Banco de medula, o tecido sanguíneo e ao final de cada palestra foi realizado o procedimento demonstrativo da prática de tipagem sanguínea (Figura 1).



**Figura 1.** Procedimento demonstrativo da prática da tipagem sanguínea na Escola Estadual de Ensino Fundamental e Médio José Salles em Castanhal – Pará.

Para a prática da tipagem sanguínea foram utilizadas lancetas descartáveis, lâminas de vidro, soro anti-A, soro Anti-B, soro anti-D, álcool e algodão.

No desenvolvimento das atividades nas escolas estiveram presentes, alunos do 1º ao 3º ano do Ensino médio do turno da noite, bem como coordenadores técnicos pedagógicos, professores e funcionários de apoio das instituições, que participaram interagindo com as temáticas abordadas.

As atividades foram realizadas entre os meses de abril e agosto de 2013 em diferentes dias, sendo a primeira atividade realizada na Escola Clotilde Pereira, a segunda atividade realizada na Escola José Salles, tendo sido realizada por duas visitas nesta escola, visto que o público alvo era maior e, terceira e última atividade, realizada na Escola Maria das Mercês Conôr.

As atividades desenvolvidas tiveram duração de cerca de três horas. Temas importantes e de relevância social, foram debatidos, como a doação de sangue e a importância do mesmo para a sociedade, esclarecendo os mitos a respeito da doação, bem como os grupos sanguíneos considerados raros, com incentivo à doação de sangue e de medula óssea nos participantes presentes.

Em seguida, uma demonstração prática de tipagem sanguínea, foi realizada para a observação da aglutinação das hemácias, mostrando aos alunos os tipos sanguíneos e sua definição a partir desta prática.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O trabalho extensivo dos universitários e estudantes do curso de Ciências Biológicas mostra que é fundamental a realização desse tipo de atividade, visto que o conhecimento é algo que deve ser compartilhado para o melhor desenvolvimento da Ciência e o melhoramento da aprendizagem.

O trabalho permitiu assegurar aos alunos uma boa aula prática sobre o tecido sanguíneo e o sistema ABO, em que os mesmos apresentaram interesse no momento da apresentação, participando com perguntas a respeito do assunto.

Foi perceptível que os alunos em sua maioria tinham um conhecimento restrito sobre o tecido sanguíneo e o sistema ABO, não souberam diferenciar os grupos sanguíneo, mesmo já tendo ouvido falar em algum momento sobre o assunto.

De acordo com Zampero e Laburu (2011) isso acontece quando o ensino ocorre de modo mecânico, ou seja, sem significado. Em se tratando de estratégia de ensino aprendizagem, a utilização de atividades práticas experimentais e investigativas é de extrema relevância, contribuindo para a maior captação das informações (AZEVEDO, 2006; BORGES, 2002).

## CONCLUSÃO

O trabalho na área da educação é importante, principalmente em escolas públicas, já que a qualidade do ensino deixa a desejar, seja por falta de tempo do professor, ou culpa do governo. É notório que planejar aula prática não é algo fácil, porém proporciona aos alunos um momento de reflexão, e exige do mesmo que questione e argumente a respeito do que esta sendo abordado. Por isso à teoria vinculada a prática proporciona um bom aprendizado.

## REFERENCIAS

ARAUJO, J. B. ; CHADWICK, C. **Aprender e ensinar**. São Paulo: Global, 2001

AZEVEDO, M. C. P. S. Ensino por investigação: problematizando as atividades em sala de aula. In A. M. P. de Carvalho (Org.), **Ensino de ciências: unindo a pesquisa e a prática** (pp. 19-33). São Paulo: Pioneira Thomson Learning. 2006.

BORGES, A. T. Novos rumos para o laboratório escolar de ciências. **Caderno Brasileiro**. Ensino de Física. 2002.

BUENO, R. de S. M.; KOVALICZN R. A. **O ensino de ciências e as dificuldades das atividades experimentais**. Programa de Desenvolvimento Educacional do Paraná, 2008. Disponível em:<<http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/23-4.pdf>> Acesso em: 14 set. 2013.

**IBGE**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=150240>> Acesso em 19 jun. 2013.

JUNIOR, A. N. S.; BARBOSA, J.R. A. **repensando o ensino de ciências e de biologia na educação básica: o caminho para a construção do conhecimento científico e biotecnológico**. Universidade Castelo Branco. 2009.

LIMA, M. E. C. C.; JÚNIOR, O. G. A.; BRAGA, S. A. M.. **Aprender ciências: um mundo de materiais**. Belo Horizonte: Ed. UFMG. 1999.

LUCKESI, C. C. **Avaliação da aprendizagem componente do ato pedagógico**, 1. ed. São Paulo: Cortez, 2011.

REGINALDO, C. C.; SHEID, N. J.; GULLICH, R. I. C. O ensino de ciências e a experimentação. **Anais do Anped Sul**, 9, 2012.

SOBRINHO, R. S. **A importância do ensino da biologia para o cotidiano**. Fortaleza: FGF. 2009.

TOPCZEWSK, A. **Aprendizado e suas habilidades; como lidar?** São Paulo: Casa do psicólogo, 2011.

VASCONCELOS, A. L. S.; COSTA, C. H. C.; SANTANA, J. R.; CECCATTO, V. M, **Importância da abordagem Prática no ensino de biologia para a formação de professores**. Fortaleza UECE. 2002.

VEIGA, P.A. **A prática pedagógica do professor de didática**. Campinas: Papirus, 1989.

ZOMPERO, A.F.; LABURU, C.E. **Significados de fotossíntese apropriados por alunos do ensino fundamental a partir de uma atividade investigativa mediada por multimodos de representação**. Universidade Estadual de Londrina. 2011.

---

## **APROVEITAMENTO DOS SUBPRODUTOS DO PESCADO**

**Gralha, T. S.<sup>(1)</sup>; Pessano, E. F. C.<sup>(1)</sup>; Querol, M. V. M.<sup>(1)</sup>**

thiagogralha@unipampa.edu.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA / NUPILABRU, Rio Grande do Sul, Brasil.

### **RESUMO**

O pescado apresenta muito mais vantagens nutricionais do que qualquer outro alimento de origem animal. A proteína de peixes, crustáceos e moluscos representa aproximadamente 20% das fontes alimentares de proteína animal

consumidas no mundo. Ao longo dos últimos cinquenta anos o setor pesqueiro tem apresentado um crescimento considerável tanto em termos de quantidade de pescado produzido quanto em relação aos valores monetários gerados. Porém, o aumento da produção traz uma elevação da quantidade de resíduos que gera consequentemente um aumento dos impactos ambientais dela decorrente. A implantação de uma legislação ambiental foi um marco importante para a proteção e o combate à degradação ambiental. Atualmente, torna-se necessário outro tipo de ação voltada principalmente para a otimização de processos de forma que se obtenha um maior rendimento com o mesmo ou um menor esforço e de forma a se gerar uma menor quantidade de resíduos. Sendo assim, a utilização dos rejeitos do pescado para a obtenção de novos subprodutos deve ser estimulada possibilitando um aumento de emprego e renda e contribuindo para a preservação ambiental.

**Palavras-chave:** Resíduos, Sustentabilidade, Preservação.

## INTRODUÇÃO

O pescado apresenta muito mais vantagens nutricionais do que qualquer outro alimento de origem animal, como exemplos, a presença de todos os aminoácidos essenciais, o alto teor de lisina e a alta digestibilidade protéica, o fato de ser fonte das vitaminas lipossolúveis e as do complexo B, a alta insaturação dos ácidos graxos, com a presença dos  $\omega$ -3 e o baixo teor de colesterol (GONÇALVES, 2006). A proteína de peixes, crustáceos e moluscos representa cerca de 20% das fontes alimentares de proteína animal consumidas no mundo (FAO, 2010).

Os números que envolvem a produção pesqueira e aquícola no Brasil chamam a atenção para este importante setor produtivo do país. O setor tem apresentado um crescimento considerável tanto em termos de quantidade de pescado produzido quanto em relação aos valores

monetários gerados (BRASIL, 2009). Outro indicador importante é o consumo per capita de pescado. Os dados de 2003 apontavam que um brasileiro consumia em média 6,8 kg/ano, considerando as especificidades regionais. Os dados mais recentes revelam que o consumo aparente de pescado teve um crescimento médio anual de 6% entre 2003 e 2009, e atualmente o consumo de peixe pelo brasileiro está na ordem de 9 kg/ano (BRASIL, 2010).

Porém, o aumento da produção traz uma elevação da quantidade de resíduos que gera consequentemente um aumento dos impactos ambientais dela decorrente. Em 2009, os cinco principais estados produtores de pescado do Brasil, Santa Catarina, Pará, Maranhão, Bahia e Rio de Janeiro, capturaram 370 mil toneladas de pescado, sendo que cerca de 50% do montante produzido, provavelmente, foi descartado. Este número pode evidenciar a quantidade de resíduo de pescado que vêm sendo produzida. Este material devido a sua qualidade nutricional deve ser considerado como matéria-prima à espera de transformação e também como um problema que aguarda esforço conjunto do governo e das indústrias para ser solucionado (MARTINS, 2011).

A implantação de uma legislação ambiental foi um marco importante para a proteção e o combate à degradação ambiental, tanto regrido os empreendimentos potencialmente causadores de impactos ambientais como punindo os agentes responsáveis por crimes ambientais. Atualmente, torna-se necessário outro tipo de ação voltada

principalmente para a otimização de processos de forma que se obtenha um maior rendimento com o mesmo ou um menor esforço e de forma a se gerar uma menor quantidade de resíduos. Sendo assim, a utilização dos rejeitos do pescado para a obtenção de novos subprodutos deve ser estimulada possibilitando um aumento de emprego e renda e contribuindo para a preservação ambiental.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente artigo busca, através de uma revisão bibliográfica, contribuir para a construção de visão sócio-econômica e ambiental a respeito das possibilidades de aproveitamento dos subprodutos do pescado, possibilitando aumento de renda dos atores envolvidos na cadeia de exploração e produção de pescado e ajudando a diminuir os impactos ambientais causados pelos resíduos da pesca no meio ambiente.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Segundo o último relatório publicado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura, referente à produção pesqueira e aquícola brasileira, ocorreu um crescimento de 25% do setor no período de 2003 a 2009. Do total de aproximadamente 1.240.000 t de pescado produzidas no ano de 2009, em torno de 825.000 t correspondem a produção pesqueira, sendo os aproximadamente 415.000 t restantes relativas à produção

aquícola. Analisando os dados da pesca extrativa é possível observar que mais de 2/3 de toda produção é proveniente da pesca marinha, sendo o 1/3 restante oriundo da pesca continental. Observando os valores da aquicultura percebe-se que quase a totalidade da produção, 81% correspondem a piscicultura, 16% são relativos à carcinicultura e os 3% restantes são provenientes de outros cultivos menos tradicionais (BRASIL, 2009).

No que se refere à legislação, o Brasil apresenta uma série de atos administrativos normativos regulamentadores (leis, decretos, portarias e resoluções) para a organização da atividade pesqueira. Dentre os principais pode-se citar o Código de Águas de 1934, a Política Nacional do Meio Ambiente de 1981, o Plano Nacional de Gerenciamento de Costeiro de 1988, a Política Nacional de Recursos Hídricos de 1997, as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente de 1998, a nova Lei da Pesca e Aquicultura de 2009, entre outras.

Apesar da legislação existente atualmente apresentar a base legal para o desenvolvimento das atividades pesqueiras em território nacional em relação a sua implantação e desenvolvimento, o país ainda carece de legislação específica que regulamente um dos principais problemas decorrentes da produção de pescados, a geração de resíduos provenientes da incapacidade da indústria de aproveitar melhor a sua capacidade total produzida.

O aumento da produção de resíduos vem provocando impactos ambientais, porque a sua taxa de geração é bem maior que a taxa de degradação. Contudo, devido a implantação de leis ambientais mais severas, que valorizam o gerenciamento ambiental, tem havido uma conscientização gradual dos efeitos nocivos provocados pelo despejo contínuo de resíduos sólidos e líquidos no meio ambiente. Sendo assim, a utilização do resíduo do processamento de peixes para obtenção de novos produtos deve ser realizada de forma correta possibilitando um aumento da receita e contribuindo para preservação ambiental (VIDOTTI, 2011).

Segundo as diretrizes de Ciência e Tecnologia da Agenda 21, o fortalecimento do comércio e da indústria a serviço da sustentabilidade, é necessário a fim de reduzir os efeitos sócio-ambientais nocivos das atividades econômicas, requerendo a implantação de processos de produção mais eficientes, estratégias preventivas, tecnologias e procedimentos mais “limpos” de produção ao longo do ciclo de vida do produto, de modo a minimizar ou evitar resíduos (STORI et al., 2002).

Baseado neste novo cenário mundial de desenvolvimento sustentável o governo brasileiro adotou uma postura governamental que visa promover a utilização racional do recurso pesqueiro conforme explicitado na nova lei da pesca e aquicultura de 2009, onde se objetiva o desenvolvimento sustentável da pesca e da aquicultura como fonte de alimentação, emprego, renda e lazer, garantindo-se o uso sustentável

dos recursos pesqueiros, bem como a otimização dos benefícios econômicos decorrentes, em harmonia com a preservação e a conservação do meio ambiente e da biodiversidade.

Após a exposição dos principais caminhos e entraves que norteiam a produção de pescado no Brasil, faz-se necessário apontar algumas alternativas sobre as principais possibilidades de aproveitamento dos subprodutos pescado. Estima-se que, da captura mundial de pescado, aproximadamente 72% é utilizado no mercado de peixe fresco, congelado, empanado, enlatado, entre outros. Os 28% restantes ou são utilizados no preparo de rações ou são desperdiçados como resíduos. No Brasil, aproximadamente 50% da biomassa capturada é descartada durante o processamento (STEVANATO et al., 2007). A utilização racional dessas sobras pode ser um importante fator econômico, gerando novos produtos, além de minimizar o impacto negativo ao ambiente (GONÇALVES, 2006).

Os resíduos gerados no beneficiamento do pescado, que podem representar 50% da matéria-prima utilizada variando conforme as espécies e o processamento, incluem todas as sobras de processamento e apresentam valores relativamente baixos e incluem cabeça, espinhas, pele, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne (STEVANATO et al., 2007; FELTES et al., 2010). Os resíduos podem ser basicamente divididos em dois grupos, um destinado à produção animal e vegetal e o outro para uso na

alimentação humana. O primeiro grupo seria composto pelos resíduos não adequados para a elaboração de produtos de valor agregado destinados à alimentação humana (vísceras, escamas e o esqueleto incluindo a cabeça). Estes resíduos geralmente são descartados ou utilizados na produção de farinhas, óleos, silagens e compostagens de peixes, destinados à alimentação animal e/ou como fertilizantes. O segundo grupo inclui os resíduos que podem ser submetidos a processos para a obtenção de matéria-prima destinada à elaboração de produtos de valor agregado (empanados, embutidos, entre outros) para uso na alimentação humana (VIDOTTI, 2011).

Além da destinação à produção animal e vegetal e uso na alimentação humana, os resíduos provenientes da indústria do pescado podem também ser utilizados para obtenção de outros produtos agregando emprego e renda aos atores envolvidos na cadeia de exploração e produção do pescado. A pele dos peixes representa uma fonte alternativa de renda de significativa importância para as indústrias de processamento, apresentando um rendimento médio de 7,5% nos peixes (STORI et al., 2002; GONÇALVES, 2006; VIDOTTI, 2011). Considerando que atualmente as peles são descartadas ou adicionadas ao resíduo destinado à produção de farinha, a importância de seu processamento e aproveitamento pode ser vista de duas formas: redução dois impactos ambientais e agregação de valor ao produto com aumento na rentabilidade da indústria. Após o curtimento, a pele de peixe torna-se um produto nobre e de alta qualidade, tendo como uma de suas

características a resistência, inclusive superior ao couro bovino, além de apresentar um aspecto peculiar de difícil imitação, principalmente as peles de peixes com escamas (GONÇALVES, 2006; VIDOTTI, 2011).

Além dos peixes, os crustáceos, principalmente o camarão, merecem atenção quando se fala em produção de pescado, tanto em relação ao volume produzido quanto em relação aos valores comercializados. O camarão produzido é geralmente comercializado na forma *in natura*, inteiro congelado, descabeçado e/ou descascado. Os resíduos de alguns crustáceos, dependendo da espécie e do processamento, chegam a atingir 85% do peso inicial. No caso específico de camarões, o cefalotórax constitui entre 29 a 44% do peso total, de acordo com a espécie e o tamanho. Estes descartes, comumente desperdiçados, representam um sério problema para a indústria, pois são de difícil disposição e fácil deterioração quando não são devidamente manipulados, interferindo nos custos e na eficiência de produção, além de causar poluição ambiental (GONÇALVES et al., 2009). Em 2006 os resíduos gerados pela indústria carcinícola brasileira alcançaram um volume expressivo, 70 mil toneladas (FERNANDES, 2009).

Porém os subprodutos do camarão também apresentam utilidade. Com o cefalotórax é fabricada a farinha de camarão, utilizada na indústria de rações, que apresenta um elevado valor nutritivo, devido ao seu elevado teor de proteínas e minerais, além de ser altamente energética, devido ao elevado teor de lipídeos (GONÇALVES et al., 2009). Seguido da de-

acetilação da quitina por processo químico utilizando álcali, é possível obter quitosana. A quitosana tem se tornado um produto de grande procura no mercado. Serve de matéria-prima para a elaboração de princípios ativos farmacológicos com diferentes propriedades: imunestimulante, antitumoral, anticoagulante, redução de peso e até em cosméticos (STORI et al., 2002). Outro exemplo, trata-se de uma pílula produzida à base de quitosana, o produto, quando ingerido, libera um odor de lavanda pelo suor e isso ocorre sem causar danos à saúde (SEBRAE, 2008).

Existem ainda alguns outros produtos menos comuns que podem ser produzidos a partir do processamento dos resíduos do pescado de animais produzidos em menor quantidade. É o caso da matéria-prima extraída das conchas de moluscos (ostras e mariscos) ricas em carbonato de cálcio, que podem ser utilizados na produção de medicamentos indicados na reposição de cálcio para manutenção de um esqueleto ósseo sadio, ajudando a corrigir problemas de osteoporose, evitando o enfraquecimento dos tecidos ósseos, minimizando as dores resultantes da contração muscular e prevenindo a deformação óssea a qual pode conduzir ao raquitismo. Estudos a partir de conchas de ostras secas e moídas, obtiveram um produto capaz de fornecer a vacas em fase de lactação, cerca de 65% de cálcio (STORI et al., 2002).

## CONCLUSÃO

A importância do pescado como fonte de alimento é indiscutível, o peixe é uma importante fonte de alimento contendo energia, proteínas e uma gama de nutrientes essenciais. Porém, o beneficiamento do pescado gera uma quantidade de resíduo que se aproxima de metade do peso capturado, ou seja, existe uma grande quantidade de matéria-prima disponível para a elaboração de subprodutos do pescado que deveria estar sendo utilizada, agregando assim maior valor aos resíduos de peixes e diminuindo a poluição ambiental.

Os resultados obtidos em inúmeros trabalhos permitem afirmar que a utilização de descartes do processamento do pescado, é uma alternativa viável para minimizar as perdas no processamento, uma vez que, a composição química dos resíduos industriais demonstra que a parte descartada do pescado possui, em muitos casos, valores nutricionais aproximados da parte comestível dos peixes, incentivando o melhor aproveitamento dessa proteína de origem animal. As inúmeras propostas apresentadas ao longo do artigo podem assegurar melhores condições para que os subprodutos provenientes de resíduos de pescado sejam valorizados, incrementando a geração de renda para os atores envolvidos na cadeia de exploração e produção dos recursos pesqueiros.

Porém, a gestão de resíduos de pescado no Brasil ainda é crítica, há poucas indústrias de processamento de resíduos, sendo que na maioria do país o descarte é feito em aterros e lixões. A flutuação na geração de

resíduos reflete na indústria de processamento destes tornando esta atividade pouco atrativa, de modo que existem poucas empresas atuando neste setor no Brasil, como consequência os resíduos das indústrias da pesca constituem um problema ambiental concreto, ainda não solucionado pelas indústrias do setor, tornando o descarte uma alternativa mais prática do ponto de vista econômico e operacional.

Concluindo, é fundamental para o futuro da atividade pesqueira que se ampliem os estudos a respeito de possibilidades do reaproveitamento como matéria-prima dos resíduos disponíveis da pesca aliados a um planejamento adequado do processamento do pescado como um todo, permitindo conciliar ao mesmo tempo o lucro dos atores envolvidos na cadeia de exploração e produção do setor e a mitigação dos impactos ambientais baseado no conceito de desenvolvimento sustentável.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Produção Pesqueira e Aquícola. Brasília, 2009. 30 p;

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Relatório de Avaliação - Exercício 2011 - Ano Base 2010. Brasília, 2010. 27 p;

FAO - **The State of World Fisheries and Aquaculture 2010**. Rome, FAO. 2010. 197p;

FERNANDES, T. M. **Aproveitamento dos subprodutos da indústria de beneficiamento do camarão na produção de farinha**. João Pessoa, 2009. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba;

GONÇALVES, A. A. **Aproveitamento integral da tilápia no processamento**. In: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática (Org.). Aquaciência: tópicos

especiais em biologia aquática e aquíicultura. Jaboticabal – SP: Sociedade Brasileira de Aquíicultura e Biologia Aquática, 2006, cap. 18, p. 237-259;

GONÇALVES, A. A; NOGUEIRA, W. M; LOURENÇO, L. F. H. **Aproveitamento do descarte do processamento da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) e do camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) na produção de salsicha sabor camarão.** B. Inst. Pesca, São Paulo, 35(4): 623 - 635, 2009;

MARTINS, W. S. **Inquérito exploratório referente à geração, armazenamento, transporte e descarte de resíduos em indústrias de pesca no Brasil.** 2011. 100 p. Tese (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011;

SEBRAE. **Aquíicultura e Pesca: Camarões.** Estudos de Mercado SEBRAE/ESPM. 46 p. 2008.

STEVANATO, F. B; PETENUCCI, M. E; MATSUSHITA, M; MESOMO, M.C; de SOUZA, N. E; VISENTAINER, J. E. L; ALMEIDA, V. V; VISENTAINER, J. V. **Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27, p. 567-571, 2007;

STORI, F. T; BONILHA, L. E. C; PESSATTI, M. L. **Proposta de Reaproveitamento dos Resíduos das Indústrias de Beneficiamento de Pescado em Santa Catarina a Partir de um Sistema Gerencial de Bolsa de Resíduos.** In: Instituto Ethos; Jornal Valor Econômico. (Org.). Responsabilidade Social das Empresas: Uma Contribuição das Universidades. 1 ed. Peirópolis: Editora Fundação Peirópolis, 2002, v. 1, p. 373-406;

VIDOTTI, R. M. **Tecnologias para o Aproveitamento Integral de Pescados.** Curso Técnica de Manejo em Piscicultura Intensiva. Macapá. 2011.

---

## **ASPECTOS DA ALIMENTAÇÃO DE *Rachycentron canadum* (LINNAEUS, 1766) NA BAÍA DE TODOS OS SANTOS (ESTADO DA BAHIA, NORDESTE DO BRASIL)**

**Lopes, P.R.D.<sup>(1)</sup>; Oliveira-Silva, J.T.<sup>(1)</sup>; Sena, M.P.<sup>(1)</sup> andarilho40@gmail.com**

<sup>(1)</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana - BA, Brasil.

## RESUMO

Este estudo visa fornecer informações sobre a presença e alimentação de *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766) (Actinopterygii: Rachycentridae) na Baía de Todos os Santos (BTS, estado da Bahia, região nordeste do Brasil) contribuindo para o conhecimento desta espécie. Foram coletados 3 exemplares de *R. canadum* com arrasto manual na baixa-mar em 08 de outubro de 1995 (1) e em 18 de maio de 1996 (2) na Praia de Itapema (município de Santo Amaro da Purificação, cerca de 12°42'S - 38°45'W, região ocidental da BTS) medindo entre 178,4 mm e 307,4 mm de comprimento total. Algumas variações no colorido com relação aos adultos foram observadas principalmente nas nadadeiras e na região ventral do corpo. O conteúdo gastro-intestinal estava constituído por Crustacea Decapoda Brachyura (siris) com 100,0% de ocorrência e Actinopterygii Teleostei (peixes) e matéria orgânica digerida (ocorrência de 33,3% cada) e indica que *R. canadum* aproxima-se do fundo para se alimentar. Deste modo, amplia-se o conhecimento sobre a biologia de *R. canadum* e identifica-se áreas onde podem ser obtidos indivíduos para ampliar a variabilidade genética para o cultivo.

**Palavras-chave:** Praia de Itapema, Dieta, Beijupirá.

## INTRODUÇÃO

*Rachycentron canadum*, único membro da família Rachycentridae, é conhecido como bijupirá e atinge 2,0 m de comprimento. Tem ampla distribuição no Atlântico e no Indo-Pacífico, sua carne é bastante estimada sendo também apreciado na pesca esportiva (FIGUEIREDO, MENEZES, 1980; ROBINS *et al.*, 1986).

A partir da década de 1990 iniciou-se a criação desta espécie em cativeiro motivada pela sua elevada taxa de crescimento.

No Brasil, embora tenha havido grande interesse na criação do *R. canadum*, inclusive com iniciativas de empresas privadas e apoio

governamental, são raros os estudos disponíveis sobre sua biologia e tecnologia de criação. Além disso, as rações disponíveis no mercado nacional não têm proporcionado resultados de desempenho esperado no seu cultivo (CAVALLI *et al.*, 2011).

O presente estudo busca fornecer informações sobre a presença e alimentação de *R. canadum* na Baía de Todos os Santos, ecossistema estuarino-lagunar na região nordeste do Brasil e o maior acidente geográfico desta natureza na costa brasileira, contribuindo para um melhor conhecimento sobre esta espécie visando contribuir para seu cultivo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram coletados e examinados 3 exemplares de *R. canadum* coletados com rede de arrasto manual, na baixa-mar, em 08 de outubro de 1995 (1 exemplar) e em 18 de maio de 1996 (2) na Praia de Itapema (município de Santo Amaro da Purificação, cerca de 12°42'S - 38°45'W, região ocidental da Baía de Todos os Santos) medindo entre 178,4 mm e 307,4 mm de comprimento total.

As medidas apresentadas foram obtidas com paquímetro (precisão de 0,05 mm) e são expressas em milímetros e seguem Cervigón *et al.* (1992).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exemplares aqui analisados indicam que as variações descritas por Dawson (1971) para a morfologia externa de *R. canadum* entre 12,6 e 55,0 mm de comprimento padrão parecem se concentrar em alterações de colorido, principalmente nas nadadeiras e região ventral do corpo sendo também observadas nos exemplares analisados.

Os dados obtidos sobre alimentação confirmam que *R. canadum* aproxima-se do fundo em busca de alimento, como observado por Collette (1978), Figueiredo, Menezes (1980) e Smith, Merriner (1982).

**Tabela 1.** dados merísticos de 3 exemplares de *R. canadum* na BTS (nad. = nadadeira).

Raios da nad. peitoral	Espinhos e raios da nad. dorsal	Raios da nad.. pélvica	Raios da. nad. anal	Rastros branquiais, arco inferior
16	VIII + I, 27	I + 4	I + 20	6
18	VIII, + I, 30	I + 4	I + 23	9
16	VIII, + I, 30	I + 4	I + 23	9

**Tabela 2.** dados morfométricos de 3 exemplares de *R. canadum* na BTS.

COMPRIMENTO				Diâmetro orbital	Altura cabeça
Total	Padrão	Cabeça	Focinho		
307,4	247,6	68,8	27,7	11,0	40,0
178,4	147,0	40,6	14,9	7,4	23,2
218,7	185,0	47,2	19,5	8,3	30,0

**Tabela 3.** Categorias alimentares de 3 exemplares de *R. canadum* na BTS.

<b>Categorias alimentares</b>	<b>Material digerido</b>	<b>Crustacea Decapoda Brachyura (sirís)</b>	<b>Actinopterygii Teleostei (peixes)*</b>
Frequência ocorrência	33,3%	100,0%	33,3%
Frequência numérica	-----	84,2%	15,8%

\* 2 exemplares Anguilliformes?

## CONCLUSÃO

As informações apresentadas contribuem para o aumento do conhecimento sobre a ictiofauna da BTS e sobre a biologia de *R. canadum* em particular ao mesmo tempo em que identifica áreas onde exemplares desta espécie podem ser obtidos para ampliar e melhorar a variabilidade genética necessárias para seu cultivo no Brasil.

## AGRADECIMENTOS

Aos pescadores da Praia de Itapema, que doaram 2 dos exemplares examinados.

## REFERÊNCIAS

CAVALLI, R.O.; DOMINGUES, E.C.; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, supl. esp., p. 155-164, 2011.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ,

B. **Guia de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur America.** Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 1992. 513 p.

DAWSON, C.E. Occurrence and description of prejuvenile and early juvenile Gulf of Mexico cobia, *Rachycentron canadum*. **Copeia** v. 1971, n. 1, p. 65-71, 1971.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2).** São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 1980. 90 p.

ROBINS, C.R.; RAY, G.C.; DOUGLASS, J. **A field guide to Atlantic coast fishes of North America.** The Peterson Field Guide Series n. 31. Boston: Houghton Mifflin Company. 1986. 354p.

SMITH, J.W.; MERRINER, J.V. Association of cobia, *Rachycentron canadum*, with cownose ray, *Rhinoptera bonasus*. **Estuaries**, v. 5, n. 3, p. 240-242, 1982.

---

## **ATIVIDADE INSETICIDA DE LECTINA DE *Myracrodruon urundeuva* CONTRA *Sitophilus zeamais***

**Belmonte, B.R.<sup>(1)</sup>; Napoleão, T.H.<sup>(1)</sup>; Pontual, E.<sup>V(1)</sup>; Albuquerque, L.<sup>P(1)</sup>; Sá, R.A.<sup>(1)</sup>; Paiva, L.M.<sup>(1)</sup>; Coelho, L.C.B.<sup>B(1)</sup>; Paiva, P.M.G.<sup>(1)</sup>**

bernardo\_belmonte@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil, FACEPE, CNPq e CAPES.

### **RESUMO**

O presente trabalho avaliou o efeito da lectina de folhas de *Myracrodruon urundeuva* (MuLL) sobre adultos de *Sitophilus zeamais*, praga de grãos armazenados. MuLL foi isolada a partir do tratamento do extrato salino de folhas com sulfato de amônio e cromatografia em coluna de quitina. Ensaio de toxicidade por ingestão consistiu na incubação de grupos de 20 insetos com

dieta alimentar constituída por discos de farinha de trigo contendo MuLL em uma determinada concentração (3–150 mg de lectina/g de trigo). Após 7 dias, foi determinada a taxa de mortalidade e calculados o índice de deterrência alimentar (IDA) e os parâmetros nutricionais dos insetos. Ingestão de MuLL não resultou em indução da mortalidade dos insetos. Por outro lado, a lectina apresentou forte ação deterrente, com IDAs variando de 61% (3 mg/g) a 91% (150 mg/g). Insetos que ingeriram MuLL também apresentaram diminuição da taxa de consumo relativo. Nos tratamentos com as maiores concentrações de lectina, os valores de taxa de crescimento relativo e eficiência de conversão do alimento ingerido foram negativos, evidenciando forte desbalanço nutricional. Em conclusão, MuLL apresentou forte ação deterrente sobre adultos de *S. zeamais*, levando-os à situação de inanição e promovendo efeitos deletérios na fisiologia dos insetos.

**Palavras-chave:** *Sitophilus zeamais*; *Myracrodruon urundeuva*; Atividade Inseticida.

## INTRODUÇÃO

As lectinas constituem um grupo heterogêneo de proteínas que se ligam a carboidratos e se diferenciam entre si quanto à especificidade ao carboidrato ligante, estrutura molecular e atividades biológicas. As lectinas possivelmente estão envolvidas em mecanismos de defesa de plantas e animais. As lectinas têm sido descritas como agentes antibacteriano, antifúngico, antitumoral e inseticida (PAIVA et al., 2010, 2011). Tem sido demonstrado que lectinas de plantas interferem na alimentação, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência de insetos em diferentes estágios de vida (SÁ et al., 2009).

O potencial biotecnológico de lectinas inseticidas tem sido explorado para controle de insetos através da engenharia genética (SADEGHI et

al., 2008). Uma lectina ligadora de quitina isolada da folha de *Myracrodruon urundeuva* (denominada MuLL, do inglês *M. urundeuva* leaf lectin) apresentou atividade larvicida contra larvas de *Aedes aegypti* e termiticida contra cupins *Nasutitermes corniger* (NAPOLEÃO *et al.*, 2011, 2012).

*Sitophilus zeamais* Motsch, conhecido como gorgulho do milho, pertence à Ordem Coleoptera e à Família Curculionidae. Destaca-se como uma das principais pragas de grãos armazenados no Brasil por possuir elevada capacidade de infestação cruzada e de penetração nos grãos e grande número de hospedeiros, tanto das larvas como dos adultos. Causam danos aos grãos de milho, trigo, arroz e alimentos processados (GALLO *et al.*, 1988, 2002).

O presente trabalho avaliou o efeito de MuLL sobre a sobrevivência, comportamento alimentar e parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Extração de proteínas***

O extrato de folhas de *M. urundeuva* (EF) foi preparado a partir da homogeneização da farinha (10 g) de folhas saudáveis em NaCl 0,15 M (100 mL) durante 16 h a 4 °C, sob agitação constante.

### ***Precipitação com sulfato de amônio***

EF foi tratado com sulfato de amônio (0-60% e 60-80%) sob agitação suave durante 4 h a 28 °C. A fração de proteínas precipitadas a 60-80% (F60-80) foi coletada após centrifugação (3.000 g a 4 °C) e dialisado contra água destilada (4 h) e NaCl 0,15 M (2 h).

### ***Dosagem de proteínas***

A dosagem protéica foi realizada de acordo com Lowry *et al.* (1951) utilizando curva-padrão de albumina sérica bovina (31,25–500 µg/mL).

### ***Purificação de MuLL***

O isolamento de MuLL foi realizado segundo o protocolo descrito por Napoleão *et al.* (2011). A F60-80 foi cromatografada em coluna (7,5 x 1,5 cm) de quitina equilibrada com NaCl 0,15 M (fluxo 20 mL/h). Após lavagem com a solução de equilíbrio, MuLL foi eluída com ácido acético 1,0 M e dialisada contra água destilada (4 h) para eliminação do eluente.

### ***Ensaio de toxicidade por ingestão***

O ensaio foi realizado de acordo com Xie *et al.* (1996). Cada bioensaio consistiu em uma placa de Petri de vidro contendo cinco discos de uma mistura de farinha de trigo com uma determinada concentração de MuLL. Para preparação dos discos, 5 mL de uma solução da amostra ou de água destilada (controle negativo) foram adicionados a 2 g de farinha de trigo autoclavada. Após homogeneização por 5 min, cada disco foi

preparado retirando-se uma alíquota de 200  $\mu\text{L}$  da mistura. As placas foram postas em estufa a 56  $^{\circ}\text{C}$  por 24 h e, em seguida, a massa dos discos foi registrada. Foram avaliadas concentrações de 3, 15, 30, 45, 75 e 150 mg/g de MuLL por g de farinha de trigo. Ao final, grupos de 20 insetos com peso conhecido foram transferidos para cada placa. Os bioensaios foram realizados em quadruplicata e mantidos a  $28 \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ . Após 7 dias de experimento, a taxa de mortalidade o peso dos discos e dos insetos foram determinados. O índice de deterrência alimentar (IDA) foi calculado segundo a fórmula:  $\text{IDA} = [100 \times (C-T)]/C$ , onde  $C$  corresponde à massa ingerida no controle e  $T$  à massa ingerida no teste. Os seguintes índices nutricionais foram também calculados: Taxa de crescimento relativo: (biomassa adquirida) / (biomassa inicial dos insetos x dias). Taxa de consumo relativo: (massa ingerida) / (biomassa inicial dos insetos x dias). Eficiência de conversão do alimento ingerido: (biomassa adquirida / massa ingerida) x 100.

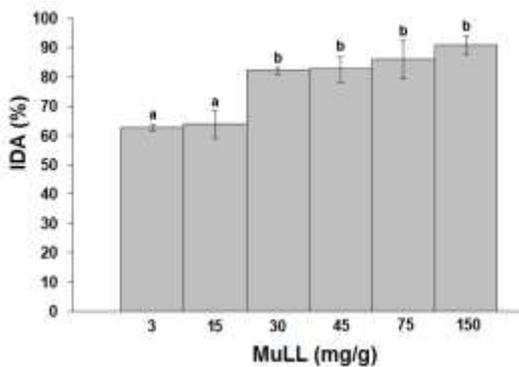
### ***Análise estatística***

Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos foram calculadas através do Teste de Tukey. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

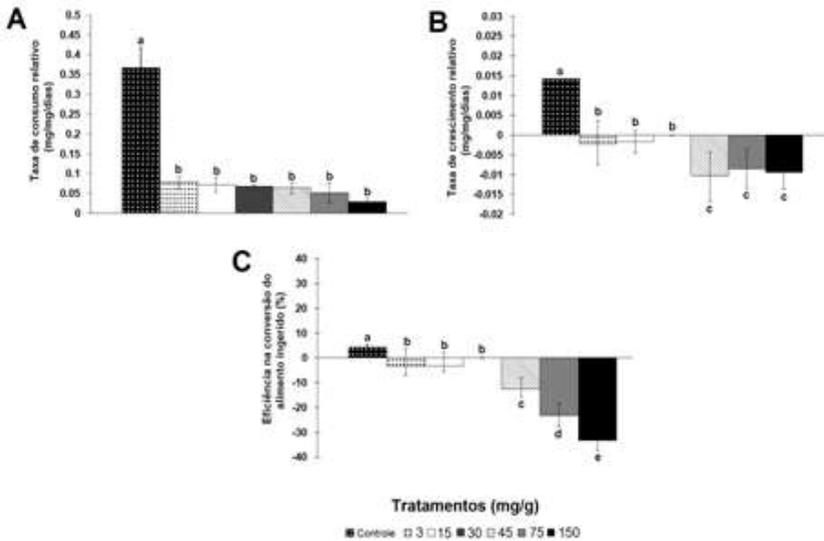
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

MuLL não induziu significativamente ( $p > 0,05$ ) a mortalidade de *S. zeamais* em nenhuma das concentrações avaliadas. Por outro lado,

MuLL apresentou efeito deterrente moderado nas concentrações de 3 e 15 mg/g e forte nas demais (30 a 150 mg/g) (Figura 1). A Figura 2 mostra os parâmetros nutricionais de insetos do grupo controle e dos vários tratamentos com MuLL. Os valores da taxa de consumo relativo para insetos que ingeriram a lectina foram, em média, 4,75 vezes menores que aqueles determinados no controle. As taxas de crescimento relativo e a eficiência de conversão do alimento ingerido foram negativas nos tratamentos com MuLL.



**Figura 1.** Índices de deterrência alimentar (IDA) de *Sitophilus zeamais* mantidos em dieta contendo MuLL em diferentes concentrações (3–150 mg/g).



**Figura 2.** Índices nutricionais de *Sitophilus zeamais* mantidos em dieta contendo MuLL em diferentes concentrações (3–150 mg/g) ou NaCl 0,15 M (controle negativo).

Uma vez que nenhuma mortalidade foi detectada após 7 dias, os elevados valores de deterrência provavelmente estão ligados à rejeição da dieta contendo MuLL e não a uma diminuição no número de insetos vivos. Os valores da taxa de consumo relativo foram menores que o controle, de acordo com o forte efeito deterrente. Os valores negativos de taxa de crescimento relativo provavelmente estão ligados à ausência de uma alimentação adequada pelos insetos e prejuízos causados nos processos de digestão e absorção, induzindo o inseto a metabolizar suas reservas para sobreviverem. A eficiência de conversão do alimento ingerido também foi negativa nos tratamentos com maior concentração

de MuLL demonstrando que a incorporação da lectina à dieta levou a um desbalanço na fisiologia do inseto.

## CONCLUSÃO

MuLL apresenta potencial para uso no controle do gorgulho do milho por apresentar forte efeito deterrente, impedindo que os adultos aproveitem uma determinada fonte de alimento e induzindo situação de inanição e efeitos deletérios na fisiologia dos insetos.

## REFERÊNCIAS

GALLO, D. *et al.* **Manual de entomologia agrícola**, 2ª ed., São Paulo: Ed. Agronômica Ceres; p. 603-604, 1988.

GALLO, D. *et al.* **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

LOWRY, O.H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.

NAPOLEÃO, T.H. *et al.* Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, p. 609-616, 2012.

NAPOLEÃO, T.H. *et al.* Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 52-59, 2011.

PAIVA, P.M.G. *et al.* Plant compounds with *Aedes aegypti* larvicidal activity and other biological properties. In: LIONG, M-T. (Org.) **Bioprocess Sciences and Technology**. New York: Nova Science Publishes, 2011, pp. 269-294.

PAIVA, P.M.G. *et al.* Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. In: VILAS, A.M. (Org.) **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology: Current Research**,

**Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology.** Badajoz, Formatex Research Center, 2010, pp. 396-406.

SÁ, R.A. *et al.* Larvicidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* on *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**, v. 149, p. 300-306, 2009.

SADEGHI, A.; SMAGGHE, G.; BROEDERS, S.; HERNALSTEENS, J.; GREVE, H.; PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.M. Ectopically expressed leaf and bulb lectins from garlic (*Allium sativum* L.) protect transgenic tobacco plants against cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*). **Transgenic Research**, v. 17, p. 9-18, 2008.

XIE, Y.S.; BODNARYK, R.P.; FIELDS, P.G. A rapid and simple flour-disk bioassay for testing substances active against stored-product insects. **Canadian Entomology**, v. 128, p. 865-875, 1996.

---

## ÁREAS PRIORITÁRIAS PARA CONSERVAÇÃO: ESTUDO DE CASO EM NATAL/RN

Lisboa, C. M. C. A<sup>(1)</sup>; Advíncula, A. C. C.<sup>(1)</sup>; Souza, T. A.<sup>(2)</sup>; Santos, T. O. B.<sup>(2)</sup>  
carolisboabio@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Secretaria Municipal de Meio Ambiente e Urbanismo, Natal - RN, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Caicó - RN, Brasil.

### RESUMO

A criação de Unidades de Conservação (UCs) visando proteger espaços naturais que representem a biodiversidade da região em que estão situadas é uma política pública fundamental. Entretanto, na maioria das vezes não é possível preservar todas as áreas naturais remanescentes, sendo necessário priorizá-las. No município de Natal-RN, seu Plano Diretor define dez Zonas de Proteção Ambiental (ZPAs), áreas nas quais as características do meio físico restringem o uso e ocupação do solo urbano com objetivo de garantir a qualidade de vida, resguardando os ecossistemas e demais áreas de preservação. O presente trabalho visa classificar, numa escala de prioridades, as oito ZPAs (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10) que não são UCs, com base em critérios

como tamanho, conectividade entre fragmentos, heterogeneidade da paisagem e oferta de serviços ambientais. Para cada critério foram atribuídas pontuações, sendo estabelecido um ranking de ZPAs prioritárias para criação de UCs. A de maior potencial foi a ZPA 8, seguida pelas ZPAs 9, 6, 4 e 3. As ZPAs 5 e 10 empataram em pontuação, seguidas pela ZPA 7. Recomenda-se, portanto, a adoção de políticas públicas para proteção dessas áreas, garantindo as finalidades para as quais foram criadas.

**Palavras-chave:** Priorização; Método de Pontuação; ZPAs.

## INTRODUÇÃO

Fragmentos naturais inseridos em cidades têm grande importância urbanística, pois amenizam a temperatura, elevam a umidade relativa do ar e trazem grandes benefícios à população, além de manter a biodiversidade local se corretamente conservados (CARVALHO, 2001). Contudo, crescentes expansões urbanas, na maior parte das vezes desordenadas, levam à extrapolação do potencial urbanístico, refletindo na degradação ambiental.

Com o objetivo de conferir proteção a tais fragmentos, Unidades de Conservação da Natureza (UCs) têm sido criadas em várias partes do mundo. Entretanto, geralmente as áreas são escolhidas com base em valores como belezas naturais, potencial para recreação e turismo, proteção de mananciais, proteção de valores históricos ou até mesmo interesses políticos, fatores estes geralmente combinados com baixo valor da terra, procedimentos normalmente utilizados em seleção *ad hoc* (PRESSEY, 1994). Essa forma de seleção não leva em conta a

representatividade da diversidade dos ecossistemas naturais, deixando a desejar quanto à eficácia das áreas protegidas.

No município de Natal/RN, como em tantos centros urbanos, observam-se conflitos no uso da terra que, em geral, acabam por causar perda de áreas verdes para usufruto humano, declínio na riqueza de espécies nativas, perda e fragmentação de habitats, extinções locais e introdução de espécies exóticas (RAMALHO; PIMENTA, 2010; LISBOA et al., 2011). A simples existência de uma malha urbana pode dificultar processos biológicos de diferentes espécies da fauna e flora, tais como deslocamento, busca por alimentos e reprodução, etc., podendo levar até mesmo a extinções locais. Seguindo este pensamento, locais que aumentam a permeabilidade da matriz da paisagem, como fragmentos naturais, corredores ou trampolins ecológicos se tornam essenciais para manutenção da biodiversidade (ISERNHAGEN et al., 2009). Em Natal, estes locais podem ser representados por áreas de grande potencialidade ambiental, encontradas nas Zonas de Proteção Ambiental (ZPAs), unidades de conservação, remanescentes de dunas e as demais áreas verdes no espaço urbano (LISBOA et al., 2011).

As Zonas de Proteção Ambiental de Natal são áreas nas quais as características do meio físico restringem o uso e ocupação do solo urbano com vistas à proteção, manutenção e recuperação dos aspectos paisagísticos, históricos, arqueológicos e científicos (Lei Complementar

Nº. 082, de 21 de junho de 2007 - Dispõe sobre o Plano Diretor de Natal). Abrangem os ecossistemas mais representativos de dunas fixas, dunas semifixas, rios, lagoas e remanescentes de tabuleiros costeiros do município. Estudos constataam que tais áreas abrigam uma rica biodiversidade e a área dunar constitui-se importante unidade de captação de águas pluviais para recarga dos aquíferos. Apenas o Aquífero Barreiras, por exemplo, abastece 70% da cidade de Natal.

Em diversos países, métodos para a seleção áreas para compor UCs têm sido publicados. Em uma revisão dos métodos mais utilizados, Morsello (2001), os agrupa em três categorias: métodos de pontuação, análise de lacunas e métodos iterativos. Os métodos de pontuação (*scoring procedures*) classificam individualmente as áreas com base em seu valor para conservação, calculado a partir de um conjunto de critérios (USHER, 1986; SMITH; THEBERGE, 1987; ROSSI E KUITUNEN, 1996). De acordo com Durigan et al. (2009), os métodos de pontuação foram amplamente utilizados até a década de 1990 nos Estados Unidos, Grã-Bretanha, Holanda e Austrália, contudo, foram abandonados mediante a tendência atual de propostas baseadas na criação simultânea de uma rede de unidades (Margules et al., 1988), usualmente denominada planejamento sistemático de criação de áreas protegidas.

Visto que as políticas públicas devem selecionar e priorizar algumas áreas para conservação, o presente trabalho visa classificar, numa

escala de prioridades dentre as oito ZPAs (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10) de Natal que não são UCs, quais são prioritárias para criação dessas Unidades com base em critérios de paisagem e oferta de serviços ambientais, bem como fornecer diretrizes para políticas públicas de conservação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Estudos teóricos sobre métodos de seleção de reservas são unânimes em afirmar que, para priorização, as áreas devem ser comparadas com base no mesmo tipo de informação e com o mesmo nível de detalhe. Para tanto, foi realizada uma análise das oito ZPAs municipais que não contem UCs com base nos seguintes critérios: Tamanho em hectares de cada zona; Conectividade entre ZPAs-ZPAs, UCs ou fragmentos não protegidos; Heterogeneidade da paisagem, representada pelo número de habitats e; oferta de serviços ambientais para cada área, também representada pela sua quantidade (Tabela 1).

**Tabela 1.** Pontuações referentes a cada critério de avaliação das ZPAs de Natal.

Critérios	Pontuação			
	1	2	3	4
<b>Tamanho (ha)</b>	<50	50 - 500	500 - 1.000	> 1.000
<b>Conectividade entre fragmentos</b>	Isolada	Conectada a outra ZPA por fragmento não protegido ou a uma área relevante e não protegida	Conectada a outra ZPA ou UC e/ou a um fragmento não protegido	Conectada a outras duas ou mais ZPAs ou UCs
<b>Número de habitats</b>	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12
<b>Número de serviços ambientais</b>	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12

Com base no somatório de pontos atribuídos para cada aspecto, as ZPAs foram classificadas em ordem decrescente em relação à prioridade para conservação. A partir desses dados, foi estabelecido com um ranking de áreas prioritárias para a criação de UCs e desenvolvimentos de políticas públicas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tamanho das oito ZPAs analisadas variou de 15 a 2.210 ha. Quanto às conectividades, variaram de isoladas a conectadas a dois ou mais fragmentos protegidos.

Foram levantados 12 diferentes habitats nas ZPAs (Tabela 2), cujas ocorrências variaram de dois a sete habitats em cada uma.

Dentre os serviços ambientais fornecidos pelas ZPAs à população de Natal, foram levantados e avaliados 12 deles, que ocorreram nas ZPAs de acordo com o Tabela 3.

Com base na Tabela 1 de pontuações, cada ZPA foi avaliada e a cada uma foi atribuída uma pontuação, conforme Tabela 4.

**Tabela 2.** Ocorrências de habitats em cada ZPA de Natal-RN.

Habitats	ZPA							
	3	4	5	6	7	8	9	10
Rios, planície fluvial e de inundação, várzeas e áreas alagáveis								
Estuário								
Recifes de arenito								
Praia								
Manguezal								
Mata ciliar								
Nascentes								
Lagoas, lagos ou reservatórios de água naturais ou artificiais								
Dunas e vegetação de restinga								
Vales interdunares								
Tabuleiros costeiros								
Vegetação arbórea nativa ou exótica								

**Tabela 3.** Serviços ambientais fornecidos pelas ZPAS no município de Natal-RN.

Serviços Ambientais	ZPA							
	3	4	5	6	7	8	9	10
Recarga do aquífero subterrâneo								
Proteção contra a intrusão salina nos aquíferos								
Provimento de água para lagoa de abastecimento								
Contribuição para as bacias hidrográficas								
Regulação do ciclo hidrológico								
Proteção da zona costeira								
Proteção contra ventos								
Retenção e fixação de sedimentos ou de metais pesados								
Refúgio, abrigo, alimentação e reprodução para a biodiversidade								
Regulação do clima								
Beleza cênica e potencial para atividades contemplativas e turísticas								
Sustentação de atividades econômicas, como pesca artesanal, agricultura de subsistência ou atividade turística e contemplativa								

**Tabela 4.** Pontuação de cada ZPA com base nos critérios da paisagem e nos serviços ambientais que disponibilizam para a população.

Critérios	ZPA							
	8	9	6	4	3	10	5	7
Tamanho de Área (ha)	4	3	2	3	2	1	2	2
Conectividade entre fragmentos	4	4	3	4	2	3	2	1
Número de habitats	3	3	2	1	2	1	2	2
Número de serviços ambientais	3	3	4	2	3	3	2	2
<b>Pontuação Total</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>7</b>

As áreas que protegem grande número de nascentes e corpos d'água são imprescindíveis para a conservação e para o próprio abastecimento humano. Esse atributo, somado à grande extensão e à condição favorável para a formação de grandes corredores biológicos (alta conectividade), fizeram com que a ZPA 8 se destacasse das demais como prioritária para a criação de uma Unidade de Conservação, seguida pelas ZPAs 9, 6, 4 e 3. As ZPAs 5 e 10 empataram na pontuação, seguidas pela ZPA 7. Desta forma, todas as ZPAs indicaram potencialidades para criação de unidades de conservação, porém algumas delas em sua totalidade e outras em áreas específicas.

Entretanto, nenhuma das áreas avaliadas é superior às outras em todos os critérios. As combinações de atributos pretendem representar, da melhor forma possível, a diversidade biológica e a probabilidade de sua persistência em cada área, bem como os benefícios advindos da conservação dessas áreas. Essa classificação hierárquica poderá nortear a tomada de decisão para que sejam criadas novas Unidades de Conservação, desafio que sempre dificulta e atrasa o processo decisório.

A lacuna entre o planejamento da conservação e a implementação efetiva de uma política de gestão da paisagem requer produtos simples e explícitos, desenhados especificamente para tomadores de decisão locais. Além disso, o uso de uma base de dados no planejamento da conservação da biodiversidade pode ser instituído como política pública, auxiliando a avaliação de propostas de UC com um sistema de suporte de decisões e uma base de dados com atualizações periódicas.

## **CONCLUSÃO**

O presente estudo fornece diretrizes que podem servir de apoio para tomada das decisões na criação de políticas públicas, como a criação de estratégias de proteção das áreas obedecendo a legislação ambiental em vigência; a proteção efetiva das ZPAs existentes e; uma maior compreensão dos munícipes da importância destas áreas. O conjunto dessas ações possibilitará a recuperação dos biótipos remanescentes nas ZPAs para que essas possam servir como habitat seguro da fauna e flora nativas, bem como garantir a qualidade de vida dos munícipes.

Apesar dos danos e agressões ambientais aos quais estas áreas encontram-se submetidas, associados à fragilidade da política ambiental municipal em proteger as feições ambientais aí existentes, recomenda-se prioritariamente a adoção de políticas públicas capazes de mitigar os danos ambientais e recuperar as características ambientais dessas áreas, para garantir as finalidades para as quais foram criadas.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, M. M. **Clima urbano e vegetação: estudo analítico e prospectivo do Parque das Dunas em Natal.** Natal. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2001.

DURIGAN, G.; IVANAUSKAS, N. M.; NALON, M. A.; RIBEIRO, M. C.; KANASHIRO, M. M.; COSTA, H. B.; SANTIAGO, C. M. Protocolo de avaliação de áreas prioritárias para a conservação da Mata Atlântica na região da Serra do Mar/Paranapiacaba. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 39-54. 2009.

ISERNHAGEN, I.; LE BOURLEGAT, J. M. G.; CARBONI, M. Trazendo a riqueza arbórea regional para dentro das cidades: possibilidades, limitações e benefícios. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana** 4(2): 117-138. 2009.

LISBOA, C. M. C. A.; CAMPOS, U. M.; SOUZA, S. K. S. Mapeamento e caracterização dos remanescentes de dunas do município de Natal – RN, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana** 6(3): 64-83. 2011.

MARGULES, C.; NICHOLLS, A. O.; PRESSEY, R. L. Selecting networks of reserves to maximize biological diversity. **Biological Conservation**, Barking, v. 43, p. 663-676. 1988.

MORSELLO, C. **Áreas protegidas públicas e privadas: seleção e manejo.** São Paulo: Annablume: FAPESP. 344 p. 2001.

PRESSEY, R. L. *Ad hoc* reservations: forward or backward steps in developing representative reserve systems? **Conservation Biology**, Cambridge, v. 8, n. 3, p. 662-668. 1994.

RAMALHO, A. M. Z.; PIMENTA, H. C. D. Valoração econômica do dano ambiental ocasionado pela extração ilegal da orquídea *Cattleya granulosa* no Parque Natural Dom Nivaldo Monte, Natal/RN. **Holos** 1(26): 62-82. 2010.

ROSSI, E.; KUITUNEN, M. Ranking of habitats for the assessment of ecological impact in land use planning. **Biological Conservation**, Barking, v. 77, n. 2-3, p. 227-234. 1996.

SMITH, P. G. R.; THEBERGE, J. B. Evaluating natural areas using multiple criteria: theory and practice. **Environmental Management**, New York, v. 11, n. 4, p. 447-460. 1987.

USHER, M. B. **Wildlife conservation evaluation: attributes, criteria and values.**  
In: Usher, M.B. (Ed.). Wildlife conservation evaluation. London: Chapman & Hall. p.  
3-44. 1986.

---

## **ATTITUDES OF HIGH SHOOOL STUDENTS ABOUT SOLID WASTE AND RECYCLING**

**Oliveira, H.M<sup>(1)</sup>; Silva, E. <sup>(1)</sup>; Lima, J.R. <sup>(1)</sup>** habby\_habanne@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campus de Patos – PB, Brasil.

### **ABSTRACT**

Among the environmental problems, there is rapid growth of the volume of solid waste, caused by population growth and the increasing consumption of durables and non-durable goods. In Brazil, the National Plan for Environmental Education (PNEA) has been established for over 15 years, but the scenario of environmental education in inclusive education is still fragile. The aim of this study was to evaluate the profile of public school students in Patos, Paraíba – Brasil about their ecological attitudes related with recycling and solid waste. The research was conducted in a school high school located in Patos, Paraíba, where a questionnaire on the model of the Likert scale (5 levels) was applied to 31 high school students. According to the mean scores of the responses of each student participant, it was observed that 41.09 % of them are in an average score classified as negative attitude (41.09 %), 53.49 % had conflicting attitude and only 5.43 % had positive attitude in most of his responses. These results indicate the need for inclusion of environmental education in school, specifically, about solid waste and recycling programs.

**Keywords:** Environmental Education, High school, Likert Scale.

## RESUMO

Dentre os problemas ecológicos, há crescimento acelerado do volume de resíduos sólidos, causado pelo aumento populacional e a expansão do consumo de bens duráveis e não duráveis. No Brasil, apesar da criação, a quase 15 anos, do Plano Nacional de Educação Ambiental (PNEA), o cenário inclusivo da Educação Ambiental no ensino, particularmente, o ensino público, ainda se encontra fragilizado. O objetivo desse trabalho foi avaliar o perfil dos alunos de uma escola pública da cidade de Patos, Paraíba quanto as suas atitudes ecológicas sobre a coleta seletiva e resíduos sólidos. A pesquisa foi desenvolvida numa escola de Ensino Médio localizada na cidade de Patos, Paraíba com a aplicação de um questionário no modelo da escala de Likert (cinco níveis) a 92 alunos. De acordo com as médias de escores das respostas de cada aluno participante, observou-se que 41,09% dos entrevistados encontram-se numa média de escore classificada como atitude negativa (41,09%); 53,49% com atitude conflitante e somente 5,43% deles tiveram atitude positiva na maioria de suas respostas. Esses resultados indicam a necessidade da inclusão da Educação Ambiental na escolar, especificamente, sobre resíduos sólidos e coleta seletiva.

**Palavras-chave:** Educação Ambiental, Escolar pública, Escala de Likert.

## INTRODUCTION

Environmental Education in Brazil had its beginning probably in the 90s (GELSLEICHTER and SLONSKI, 2012). In that decade was signed, in Brazil, the Law N° 9,795/1999, pioneer in Latin America. It establishes the National Policy for Environmental Education (PNEA).

Among the several regulations of this law stands it requires that all levels of education (Basic and University) the inclusion of Environmental Education. Although passed over almost 15 years since the creation of PNEA, the scenario of environmental education in inclusive education, particularly public education, is still fragile.

Among the environmental problems, there is rapid growth in the volume of solid waste, caused by population growth and the increasing consumption of durables and non-durable goods (JUNIOR et al., 2010).

In Brazil, was enacted in 2010, 12,305 law establishing the National Policy on Solid Waste (PNRS). It ensures new environmental policy objectives and establishing new priorities for solid waste management, which implies major changes in the processes of collection and disposal of waste.

However, the basis for this change is the mobilization and sensitization of citizens, which must be educated for sustainable development (SORRETINO et al., 2005; ANGELS and FERREIRA, 2001), is fundamental to the implementation and promotion of practices and activities in teaching school that provides students with an awareness of the environment and him.

The aim of this study was to evaluate the profile of public school students in Patos, Paraíba – Brasil about their ecological attitudes related with recycling and solid waste.

## **MATERIAL AND METHODS**

The research was conducted in a high school located in the town of Patos, Paraíba – Brasil, in July-2013.

It was applied a questionnaire to 92 high students (Standard Error = 10 %). It had seven questions prepared according to the model of the Likert

scale, with five possible answers for each one. The questionnaire has been validated through the test Cornbach alpha (Cronbach, 1996), obtaining a Cronbach's alpha value of 0.82.

The classification of attitude was obtained by the overall mean scores (M) for each response scale item as follows:  $M < 3$  = negative attitude,  $M 3.0 - 4.0$  = conflicting attitude,  $M > 4.0$  = positive attitude (Miranda et al., 2009).

The Ethics Committee of the Universidade Federal de Campina Grande – (CEP HUAC) under the CAAE N ° 15725013.4.0000.5182 approved this study.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The result of each alternative answers the questions are listed in Table 1. There was a wide variation in responses between questions, but the answers related with a negative attitude were more frequent. One of them is about the "fate they give the electronic waste" where 45.12 % (59 students) said throw them in the trash, and other 37.12% (46 students) store them. So, 82 % of respondents did not give appropriate destination for these wastes, as store them for a long time (such as batteries) is not safe and inappropriate.

Regarding the selective collection, almost 72% do not accomplish it, and out of this percentage, 26.83% declare that never cared about that. And none of them claim to have practice example of selective collection

at home. Furthermore, 75% of students rarely reuse plastic grocery bags.

They also discard organic waste improperly; more than half of the interviewed students (58.54%) stated that this type of waste generated are discarded in the trash in their homes. Another part (40.24%) responded that use this waste to feed livestock.

There is also a lack of knowledge, for about half of the students on the environmental consequences of the byproducts generated in landfills. Besides 64.64% do not know about the contamination caused by the oil improperly disposed into rivers, and out of these, 34.59% have never heard of this problem.

**Table 1.** Percentage of student responses for each alternative interviewees.

Question	Alternative*				
	1	2	3	4	5
Level of importance considering the selective collection	54.88	32.93	2.44	7.32	2.44
Appropriate destination of your organic waste	1.29	0.00	40.24	29.27	29.27
In your school do you separate the garbage collector by color?	7.32	31.71	25.61	31.71	3.66
What do you do with eletronic waste from your home?	3.66	12.20	3.66	35.37	45.12
The know about the risks of toxic byproducts generated in the landfill (lixão)?	6.10	18.29	25.61	25.61	24.39
Do you reuses the grocery bags (sacola plástica)?	2.44	6.10	13.41	73.17	4.88
Do you care about the trash (lixo) it produces?	6.10	13.41	30.49	35.37	14.63

\* The alternative 5 is the worst option response (disagrees /No practice completely) and the alternative 1 the best option (agree/Practice completely) that students could choose.

Among the questions that had positive responses with greater frequency there is: talking about the "importance of selective collection", where 87.81% recognized it as important practice despite 32.93% not practicing it. That is, there is a distortion between what they think and action practiced before the previous responses.

Moreover, despite believing in the importance of selective collection, their participation in collection at school is conditioned also the ease of collectors and there is no personal effort to practice the collection at school, once 57.32% of students said discarding the residue in the right sink if it is close.

The classification of ecological attitude of students regarding their knowledge and habits related to solid waste was as follows: 41.09% of respondents are on average score classified as negative attitude (41.09%), 53.49% with conflicting attitude and only 5.43% had positive attitude in most of responses.

## **CONCLUSION**

Almost all students in the school investigated have negative or conflicting attitudes.

The results indicate the need for inclusion of Environmental Education in high school, specifically about solid waste and recycling programs.

## REFERENCES

CROMBACH, L.J. **Fundamentos da testagem psicológica**. Trad. Silveira Neto e Veronese. M.A.V. 5 ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 1996.

FERREIRA, J. A., ANJOS, L. A. **Aspectos de saúde coletiva e ocupacional associados à gestão dos resíduos sólidos municipais**. Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro. v.17, n.3; p.689-696.2001.

GELSLEICHER, M., SLONSKI, G. T. **Educação Ambiental nos cursos do PROEJA do Instituto Federal de Santa Catarina Campus Florianópolis continente**. Ambiente & Educação, 2012;v.17, n.2, p. 39-52.2012.

JÚNIOR, F. S. S.; SILVA, N. F.; SOUZA, L.; EVANGELISTA, J. P. C.; CAMACHO, R. G. V. Associação comunitária reciclando para a vida (ACREVI) e suas experiências de educação ambiental para minimizar os impactos ambientais em Mossoró/RN. **Informativo Técnico do Semiárido (INTESA)**. v.3, n.1, p.01-06 jan/dez. 2010.

MIRANDA, S. M., PIRES, M. M., NASSAR, S. M., SILVA, C. A. J. Construção de uma Escala para Avaliar Atitudes de Estudantes de Medicina The Construction of a Scale to Measure Medical Students- Attitudes. **Revista Brasileira de Educação Médica**. v. 33, n.1, p. 104-110.2009.

SORRENTINO, M.; TRAJBER, R.; MENDONÇA, P.; JUNIOR, L. A. F. Educação Ambiental como política pública. **Revista Educação e Pesquisa**, São Paulo. v. 31, n. 2, p. 285-299, maio/ago.2005.

---

## AUMENTO DA BIODEGRADAÇÃO DE PACLOBUTRAZOL EM SOLOS NÃO SATURADOS

Santos, E.A.F.<sup>(1)</sup>; Vaz, F. L.<sup>(1)</sup>; Gouveia, E.R.<sup>(1)</sup> [nandavaz@gmail.com](mailto:nandavaz@gmail.com)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, CAPES.

## RESUMO

O paclobutrazol (PBZ) é um composto xenobiótico que atua como regulador do crescimento vegetal, mas, em contrapartida, permanece ativo no solo e

pode afetar o crescimento e desenvolvimento dos cultivos subsequentes. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de nutrientes e de um inóculo composto por três linhagens de *Pseudomonas* spp. sobre a biodegradação de PBZ em solos da região do semiárido nordestino. Foi aplicado um planejamento fatorial  $2^4$ , cujos fatores foram: glicerol; meio mineral; inóculo e solo com histórico de aplicação. A quantificação de PBZ e do crescimento microbiano foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência e contagem de colônias viáveis, respectivamente. Com exceção do solo utilizado, todos os demais fatores foram significativos e favoreceram a biodegradação de PBZ. Dentre estes, o meio mineral apresentou o maior efeito. A biodegradação variou entre 8 e 96 % e um modelo com coeficiente de determinação de 0,98 foi bem ajustado aos dados experimentais.

**Palavras-chave:** Biorremediação, *Pseudomonas* spp., Modelo Empírico.

## INTRODUÇÃO

Os reguladores de crescimento vegetal são agroquímicos usados na agricultura e horticultura para o controle vegetativo e aumento do rendimento reprodutivo de plantas. O paclobutrazol, cujo modo de ação é a inibição da síntese da giberelina, é um regulador do crescimento utilizado na cultura da manga para o controle do crescimento vegetativo e aumentando a capacidade reprodutiva da planta (JACOBS & BERG, 2000). Entretanto, este composto permanece ativo no solo por vários anos e pode afetar severamente o crescimento e o desenvolvimento de plantios subsequentes, principalmente pela redução do vigor vegetativo do solo (SILVA *et al.*, 2003). Por ser o paclobutrazol um derivado dos triazóis, também possui efeitos na microbiota do filoplano da mangueira, alterando o seu equilíbrio, principalmente pela sua atividade fungicida (JACOBS & BERG, 2000).

A necessidade de reduzir o impacto ambiental de agroquímicos tem despertado o interesse para a biodegradação de tais compostos, uma vez que a ação dos micro-organismos do solo contribui para a dissipação dessas moléculas do ambiente (ARAÚJO, 2002). O bioestímulo e o bioaumento constituem-se como estratégias que utilizam micro-organismos e cuja aplicação isolada ou combinada poderá conduzir a uma rápida e completa degradação de poluentes. O bioestímulo tem por objetivo aumentar o número ou estimular a atividade dos micro-organismos degradadores da comunidade nativa de uma determinada região contaminada, através da adição de receptores de elétrons, nutrientes ou doadores de elétrons. O bioaumento consiste na adição de micro-organismos, pertencentes ou não à comunidade nativa, crescidos em laboratório e com capacidade para degradar o contaminante a remover. São cada vez mais frequentes os estudos baseados na adição de micro-organismos para degradar compostos químicos, bem como a degradação total ou parcial de pesticidas por populações microbianas naturais presentes em solos (UETA et al., 1999).

Diante do exposto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do bioestímulo e do bioaumento sobre a biodegradação de paclobutrazol em solos não saturados de duas regiões do semiárido nordestino. Dentre os objetivos específicos, investigar a biodegradação do paclobutrazol diante de diversos fatores tais como; i) influência de uma fonte de carbono adicional, ii) o efeito da adição do inóculo de uma cultura mista

de linhagens de *Pseudomonas*, iii) a influência da adição de um meio mineral.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Solos*

Os solos utilizados foram coletados de duas regiões (A e B) com plantio de manga (*Mangifera indica* L. cv. Tommy Atkins), com histórico de aplicação de paclobutrazol, ambas pertencentes à EMBRAPA Semiárido, localizadas no Vale do São Francisco no Nordeste do Brasil. Os solos das regiões A e B são classificados como Neossolo Quartzarênico e Vertissolo, respectivamente.

### *Meios de cultura*

Para preservação, manutenção e reativação das culturas, foi utilizado o meio Ágar Triptona Soja (TSA) fabricado pela MERK composto por (em g/L): peptona de caseína (15), peptona de farinha de soja (5), NaCl (5), ágar (15). Na preparação do inóculo foi utilizado o meio caldo nutriente composto por extrato de carne (1 g/L), extrato de levedura (2 g/L), peptona (5 g/L) e NaCl (5 g/L). O meio mineral utilizado nos ensaios de biodegradação de paclobutrazol (Ridgway *et al.*, 1990) com modificações, era composto de (em µg/g):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1360),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1420),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (50),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (3),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,039),

ZnCl<sub>2</sub> (0,021), CaCl<sub>2</sub> (10), MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O (1,54), COCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (0,041), Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (0,025), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1000).

### ***Micro-organismos***

Foram utilizadas três linhagens de bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* spp. isoladas por VAZ (2006), de solos da região do Vale do São Francisco, utilizando a técnica de enriquecimento com paclobutrazol.

### ***Biodegradação de paclobutrazol***

Foi aplicado um planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para investigar a biodegradação de paclobutrazol. Nos ensaios com adição de glicerol, a concentração utilizada foi 2400 µg/g. Todos os ensaios foram realizados em batelada em condições não saturadas com histórico de aplicação. Cada ensaio foi realizado em duplicata, em erlenmayer de 125 mL com 2,5 g de solo. Nos ensaios com a adição de inóculo, o mesmo foi preparado a partir das três linhagens de *Pseudomonas* spp. em meio TSA a 30 °C para reativação. Após 24 h, foi realizado o repique em 50 mL de caldo nutriente. Após um período, de cinco horas de incubação, a 30 °C e 250 rpm de agitação, foi realizada filtração em membrana de 0,45 µm de todo volume do caldo nutriente. As células foram ressuspensas em água destilada estéril no mesmo volume de meio que foi filtrado. Em todos os ensaios foi adicionado 1 mL de água destilada estéril para manter a umidade. Os experimentos foram conduzidos à temperatura ambiente e sem agitação, durante o período de 40 dias.

Amostras foram retiradas no tempo 0 dias e 40 dias para a quantificação de PBZ, do crescimento e do pH.

### ***Métodos Analíticos***

O crescimento microbiano foi quantificado pela técnica de contagem de células viáveis em placas. A amostra foi diluída serialmente em água destilada estéril e essas diluições foram inoculadas em placas de Petri com meio de cultura TSA e incubadas por 48 horas em estufa a 30 °C para a contagem das colônias. O resultado foi expresso em UFC (unidade formadora de colônia) / mL (MADIGAN, et al., 2010).

Para a quantificação de PBZ, exatamente 2,5 g de solo seco foram pesados e misturados com 20 mL de metanol. As condições de extração foram: 30 °C, 200 rpm, durante dois ciclos de 30 minutos cada. Após a extração e filtração em papel qualitativo, 5 mL de água ultrapura foram adicionados a cada extrato metanólico. O metanol foi evaporado a 40 °C utilizando um evaporador rotativo. Após a evaporação a amostra foi aplicada num cartucho C-18 previamente acondicionado com 5 mL de metanol. Após a lavagem do cartucho com 5 mL de água ultrapura, o analito foi eluído em 3 mL de metanol e injetado em cromatógrafo líquido. O sistema cromatográfico utilizado foi o da Agilent (HP 1100, Waldbronn, Alemanha), equipado com um detector UV/VIS, injetor automático, desgaseificador, bomba quaternária, e compartimento de colunas termostaticado. As condições cromatográficas foram baseados naquelas utilizadas por VAZ *et al.* (2007). Uma eluição isocrática foi

obtida pela mistura de água (20 %) e Metanol (80 %). O fluxo foi ajustado para 0,4 mL/min numa coluna C<sub>18</sub>. A detecção foi a 221 nm e a temperatura da coluna, 30 °C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a matriz de planeamento fatorial 2<sup>4</sup> e os resultados de biodegradação, crescimento e variação do pH obtidos nas condições experimentais de cada ensaio. Nos ensaios em que houve menor biodegradação (1, 5, 9 e 13), houve redução do crescimento e um leve aumento no pH dos solos (na faixa de 3 % para o solo B e 4,5 % para o solo A). Nestes ensaios não foram realizados o bioestímulo, mas o bioaumento no caso dos ensaios 5 e 13 e água destilada estéril no caso dos ensaios 1 e 9 (controle).

**Tabela 1.** Matriz de planeamento e biodegradação de cada ensaio do planeamento fatorial 2<sup>4</sup>.

Ensaio	Meio		Inóculo	Solo	Biodegradação (%)	Δ X (%)	Δ pH (%)
	Glicerol	Mineral					
1	-	-	-	-	13,66	-37	5,2
2	+	-	-	-	78,51	101	9
3	-	+	-	-	94,48	279	2,2
4	+	+	-	-	85,23	519	12
5	-	-	+	-	30,06	-42	4,2
6	+	-	+	-	80,86	22	8
7	-	+	+	-	94,74	29	-17
8	+	+	+	-	88,59	19	-14
9	-	-	-	+	7,75	-51	3,2
10	+	-	-	+	59,79	210	3,4
11	-	+	-	+	93,65	142	-2,4
12	+	+	-	+	84,85	185	1,6
13	-	-	+	+	28,74	-39	3,4
14	+	-	+	+	93,65	21	5,4
15	-	+	+	+	95,85	13	-12
16	+	+	+	+	94,13	52	-5

Nos ensaios onde foram adicionados glicerol ou meio mineral (2, 3, 10 e 11) houve aumento da biodegradação e do pH, com exceção ao ensaio 11, que quando o meio mineral foi adicionado no solo B, houve redução do pH. Com relação ao crescimento o mesmo aumentou nos quatro ensaios avaliados. Nos ensaios em que foram utilizados bioestímulo (adição de glicerol e/ou meio mineral) e bioaumento (adição de inóculo), ensaios 6, 7, 8, 14, 15 e 16 houve aumento da biodegradação em relação aos ensaios controle, bem como aos ensaios com apenas o bioaumento (5 e 13). O crescimento aumentou em todos estes ensaios, mas o pH apresentou aumentos e decréscimos. Quando foram adicionados glicerol e meio o pH aumentou, independente dos solos utilizados (ensaios 4 e 12) e quando foram adicionados glicerol e inóculo (ensaios 6 e 14) também houve aumento no pH. Entretanto, nos ensaios em que foram adicionados meio e inóculo com e sem glicerol (ensaios 7, 8, 15 e 16) o pH reduziu em ambos os solos.

Os efeitos principais (glicerol, meio mineral, inóculo e solo) e de interação de dois fatores foram calculados no *Statistica 7.0* e são apresentados na Tabela 2. Os efeitos significativos estão em **negrito**.

**Tabela 2.** Efeitos principais, efeitos de interação e erros padrão.

Efeito	Biodegradação (%)	Erros padrão
<b>Média</b>	<b>70,78</b>	<b>1,60</b>
<b>1 Glicerol</b>	<b>24,84</b>	<b>3,20</b>
<b>2 Meio mineral</b>	<b>41,31</b>	<b>3,20</b>
<b>3 Inóculo</b>	<b>12,09</b>	<b>3,20</b>
4. Solo	-1,97	3,20
<b>12</b>	<b>-31,31</b>	<b>3,20</b>
13	0,12	3,20
14	1,77	3,20
<b>23</b>	<b>-8,31</b>	<b>3,20</b>
24	3,33	3,20
34	4,50	3,20

Com exceção do solo, os demais efeitos principais foram significativos. A adição de glicerol, de meio mineral e de inóculo, aumentaram a biodegradação de PBZ, em ambos os solos utilizados, uma vez que este fator ( $x_4$ ) não foi significativo. Dentre os fatores principais que apresentaram efeito significativo, o maior efeito foi apresentado pela adição do meio mineral seguido da adição de glicerol e de inóculo. Apenas dois fatores de interação apresentaram efeitos significativos sobre a biodegradação: os fatores  $x_1x_2$  e  $x_2x_3$ . Como se pode observar, ambos os fatores são relacionados com a adição do meio mineral (fator  $x_2$ ). Estes efeitos de interação ( $x_1x_2$  e  $x_2x_3$ ) foram ambos negativos, o que indica que a adição de glicerol ou do inóculo junto com o meio mineral, não favoreceram a biodegradação de PBZ, sendo a adição de

glicerol junto com o meio mineral mais significativa do que a adição do meio mineral junto com o inóculo.

O modelo de regressão utilizando o método dos mínimos quadrados é apresentado na equação abaixo:

$$y = 70,78 + 12,41x_1 + 20,65x_2 + 6,04x_3 - 0,98x_4 - 15,65x_1x_2 + 0,06x_1x_3 + 0,88x_1x_4 - 4,14x_2x_3 + 1,66x_2x_4 + 2,24x_3x_4$$

Onde:  $y$  - biodegradação (%);  $x_1$  - glicerol;  $x_2$  - meio mineral;  $x_3$  - inóculo;  $x_4$  - solo

A partir da soma quadrática devido à regressão e da soma quadrática total, foi calculado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). O valor deste coeficiente foi 98,58% da variação total em torno da média é explicada pela regressão.

## CONCLUSÃO

O bioestímulo (pela adição do meio mineral) pode ser aplicado em ambos os solos. Os solos por já apresentarem histórico de aplicação do paclobutrazol apresentam micro-organismos capazes de degradar este composto, o que facilita futuros estudos *in situ*.

## REFERÊNCIAS

JACOBS, K. A.; BERG, L. C. Inhibition of fungal pathogens of woody plants by the plant growth regulator paclobutrazol. **Pest Management Science**, v. 56, p. 407-412, 2000.

SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F.; JONSSON, C. M. Paclobutrazol – Regulador de crescimento vegetal. In: SILVA, C. M. M. S.; FAY, E. F. **Impacto Ambiental do**

**Regulador de Crescimento Vegetal Paclobutrazol**, Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2003. p. 09-14.

ARAÚJO, A. S. F. **Biodegradação, extração e análise de glifosato em dois tipos de solos**. 2002. 72 p. (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2002.

UETA, J. PEREIRA, N. L.; SHUHAMA, I. K.; CERDEIRA, A. L. **Biodegradação de herbicidas e biorremediação - Micro-organismos degradadores do herbicida Atrazina**. 17 de novembro de 2002. Disponível em: <<http://www.herbario.com.br/bot/toxicologia/biodegre.htm>>. Acesso em: 02 out. 2007.

RIDGWAY, H. F.; SAFARIK, J.; PHIPPS, D.; CARL, P. & CLARK, D. Identification and catabolic activity of well-derived gasoline-degrading bacteria from a contaminated aquifer. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3565-3575, 1990.

VAZ, F. L. **Avaliação sobre a biodegradação de paclobutrazol utilizando culturas mistas de bactérias**. 2006. 83p. (Mestrado em biotecnologia de produtos bioativos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2006.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P.; Crescimento Microbiano. **Microbiologia de Brock**, Ed. 12ª, Ed. Artmed. Cap.6, 2010.p.142-156.

VAZ, F. L.; MILFONT, M. L. B.; SOUTO-MAIOR, A. M.; GOUVEIA, E. R.; Determinação de Paclobutrazol em Amostras Aquosas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Química Nova**. v. 30, p. 281-283, 2007.

---

## AVALIAÇÃO DA ÁGUA PURIFICADA DE FARMÁCIAS DE MANIPULAÇÃO EM TERESINA-PI

Duarte, L.H.S.<sup>(1)</sup>; Araújo, A.M.<sup>(1)</sup>; Sousa, L.S.<sup>(2)</sup>; Reis, A.S.<sup>(3)</sup>

lorenahayla@gmail.com

<sup>(1)</sup> Acadêmicos do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – UNINOVAFAPÍ, Teresina – PI, Brasil;

<sup>(2)</sup> Biomédico do Centro Universitário de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – UNINOVAFAPI, Teresina – PI, Brasil;

<sup>(3)</sup> Docente do Centro Universitário de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – UNINOVAFAPI, Teresina – PI, Brasil.

## **RESUMO**

Na formulação de medicamentos a água é um constituinte direto no processo de produção, portanto precisa enquadrar-se dentro de padrões estabelecidos pela legislação para conferir qualidade aos produtos fabricados. Assim sendo, avaliar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água utilizada em farmácias de manipulação é imprescindível para certificar que os medicamentos produzidos são de qualidade e não terão sua atuação afetada. Para tanto, este estudo objetivou avaliar a qualidade da água purificada utilizada em farmácias de manipulação de Teresina-PI. A coleta dos dados e análise das amostras seguiu a metodologia Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20 ed., 1998., publicação da AWWA, APHA e WPCF. As amostras analisadas neste trabalho encontravam-se dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente, indicando assim que as farmácias envolvidas no estudo possuem métodos eficientes de produção, armazenamento e manipulação de água purificada.

**Palavras-chave:** Água Destilada, Deionização, Ultrafiltração.

## **INTRODUÇÃO**

De acordo com a portaria n° 2.914 da ANVISA (2011), a qualidade da água é determinada pelos elementos nela contidos e sua utilização, sendo o padrão de potabilidade estabelecido mediante um conjunto de características próprias para o consumo humano. Nesse contexto, a água tornou-se elemento imprescindível para a indústria farmacêutica, pois é utilizada como insumo na composição de medicamentos, exigindo assim, análise periódica de seus constituintes por vir a conter

substâncias que comprometam tanto a qualidade dos medicamentos produzidos, bem como a vida útil dos sistemas de purificação da mesma (OLIVEIRA, 2011).

No Brasil, os requisitos de qualidade da água para uso farmacêutico são estabelecidos em normas técnicas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e também na Farmacopeia Brasileira. O regulamento técnico vigente que descreve os princípios de BPF é a RDC nº. 17, de Abril de 2010 e a Farmacopeia Brasileira, 5º Edição, que foi estabelecida pela RDC nº. 49, de 23 de Novembro de 2010.

Há diferentes tecnologias que podem ser empregadas para a produção de água purificada. Geralmente é produzida através de deionizadores, osmose reversa, ultrafiltração e/ou eletro-deionização. Contudo, o mais comum é uma combinação dessas tecnologias (ANVISA, 2013). Os parâmetros farmacopeicos de qualidade exigidos para água purificada são a descrição de caracteres físicos (aspecto, cor, odor e sabor), ensaios de pureza (acidez ou alcalinidade, substâncias oxidáveis, condutividade elétrica, amônio, cálcio e magnésio, cloretos, nitratos, sulfatos, metais pesados, resíduo por evaporação) e contagem de microrganismos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2005).

Em Teresina não se conhecem trabalhos realizados com essa temática, portanto o conhecimento a esse respeito é restrito, fazendo-se necessária uma abordagem sobre o mesmo. Sendo assim, esse estudo objetivou

avaliar a qualidade da água purificada utilizada em farmácias de manipulação do município de Teresina-PI.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Tipo e local do estudo***

Este estudo foi baseado em um modelo transversal quantitativo e qualitativo de investigação, delineado de forma a permitir que se obtivesse uma avaliação físico-química e microbiológica das águas purificadas utilizadas em farmácias de manipulação na cidade de Teresina, Piauí.

### ***Desenho do estudo***

Foram analisadas as águas purificadas, do tipo destilada, utilizadas na manipulação de remédios de 2 farmácias, escolhidas de forma aleatória, cujas amostras foram colocadas em frascos de plástico para as análises físico-químicas e frascos de vidro para análises microbiológicas e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Análises Ambientais da UNINOVAFAPI, Teresina – PI, Brasil.

### ***Protocolo experimental***

A metodologia utilizada, assim como as soluções empregadas na realização dos testes físico-químicos foi baseado na metodologia de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20 ed., 1998., publicação da AWWA, APHA e WPCF. Analisou-se os

parâmetros de pH, cloretos, amônia, sulfeto, cromo e cobre, bem como parâmetros microbiológicos. Para a realização destes seguiu-se a metodologia padrão do Kit da Colipaper da Alfakit e do Colilert, realizados em capela de fluxo laminar com os devidos cuidados de assepsia.

### *Análise dos dados*

A análise dos dados obedeceu à norma padrão estabelecida pela legislação mediante comparação com a RDC nº 67 e a Farmacopeia Brasileira (2005), que preconizam sobre a qualidade da água purificada utilizada em farmácias de manipulação. Os resultados obtidos foram expressos em tabelas construídas no Exel 2008, para a determinação da percentagem de farmácias em condições padrão.

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos nos testes físico-químicos das águas destiladas produzidas pelas duas farmácias mostraram valores abaixo dos preconizados pela legislação, sendo considerados “irrelevantes ou nulos” para amônia, cromo, cobre, sulfeto, cloretos e nitrato, como pode ser visto na Tabela 1. Observa-se também que os valores de pH encontrados, apesar de diferentes entre as duas amostras, estavam dentro dos padrões exigidos pela Farmacopeia Brasileira (2005), USP (2008), que refere o intervalo de 5 a 7 como ideal para águas purificadas.

Moreno *et. al* (2010), em seu trabalho sobre água purificada utilizada por farmácias magistrais, trata traços de amônia, cromo, cobre, sulfeto e cloretos como impurezas e afirma ainda que eles aparecem em águas purificadas por uma remoção insatisfatória dos sais dissolvidos na água potável usada na produção da água pura. Estes resultados ratificam a indicação da Farmacopeia Brasileira (2005) de que a eficiência dos equipamentos utilizados nos diversos processos de purificação de água seja constantemente monitorada.

Além dos parâmetros físico-químicos, é de suma importância avaliar também os microbiológicos, visto que a presença de coliformes termotolerantes (*E. coli*) é tida como indicador de potabilidade da água e, de um modo geral, das condições higiênico-sanitárias do ambiente (SILVA, 2006). Os testes microbiológicos para coliformes totais e termotolerantes apresentaram resultados bastante satisfatórios, já que as duas amostras mostraram-se negativas para este parâmetro em ambas as metodologias a que foram submetidas (Tabela 2). Para a contagem total de bactérias, a legislação preconiza que esta deve ser inferior a 100 UFC/mL. No ensaio deste trabalho as provas qualitativas, que detectam a presença de coliformes totais e termotolerantes, foram negativas, bem como as provas quantitativas, que não apresentaram contagem para os microrganismos em questão.

**Tabela 1.** Resultados obtidos nos testes físico-químicos das amostras de água purificada de Farmácias de Manipulação de Teresina-PI.

Parâmetro	Amostra 1	Amostra 2
pH	5,0	7,0
Amônia	0,0 mg/L-1	0,0 mg/L-1
Cromo	>0,1 mg/L-1	>0,1 mg/L-1
Cobre	>0,25 mg/L-1 Cu	>0,25 mg/L-1 Cu
Sulfeto	0,0 mg/L-1	0,0 mg/L-1
Cloretos	10,5 mg/L	10,5 mg/L
Nitrato	0,03 mg/L	0,0 mg/L

**Tabela 2.** Resultados obtidos nas análises microbiológicas das amostras de água purificada de Farmácias de Manipulação em Teresina-PI.

Método	Referência	Amostra 1	Amostra 2
Colilert	Ausência de cor	Ausência de cor	Ausência de cor
Colipaper	Não reagente	Não reagente	Não reagente

O “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” define o grupo coliforme como ‘todas as bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, gram negativas, não esporuladas e na forma de bastonete’, sendo especificamente a *E. coli* fermentadora da lactose com formação de gás dentro de 48h a 35°C. Neste grupo incluem-se organismos que diferem nas características bioquímicas, sorológicas e no seu habitat. Podem ser classificadas, além do gênero *Escherichia*, em *Aerobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiela* e outros gêneros que quase nunca aparecem em fezes como a *Serratia* (CETESB, 1997).

Andrade (2005), em um estudo que avaliou as condições microbiológicas de matérias primas e formulações farmacêuticas, encontrou resultados que estavam em desacordo com as especificações farmacopéicas. Das 59 amostras de água purificada analisadas, 44% foram consideradas impróprias por apresentarem contagem excedente de bactérias heterotróficas e 1 apresentou contaminação por *E. coli*.

A fim de impedir a contaminação de águas purificadas, a RDC 67 (2007), que dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Farmácias, determina que as mesmas devem ser estocadas e utilizadas em no máximo 24 horas e que sua qualidade deve ser atestada a cada mês, pelo estabelecimento que a produziu, ou por terceiros.

## **CONCLUSÃO**

As águas purificadas analisadas neste estudo, que eram do tipo destiladas, estavam de acordo com o que preconizam a RDC 67 (2007) de Boas Práticas de Manipulação de Farmácias e a Farmacopeia Brasileira (2005), USP 31 (2008), no que diz respeito às suas características físico-químicas e microbiológicas.

Os resultados deste trabalho, mesmo sendo favoráveis, incitam a realização de outros trabalhos que venham a confirmar tal conclusão em outras farmácias de manipulação e que comprovem a eficácia dos processos de purificação e a segurança das formulações farmacêuticas.

## REFERENCIAS

APHA, AWWA, WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20 ed., Washington, D. C., 1998.

ANDRADE, F. R. O; SOUZA, A. A.; ARANTES, M. C. B.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2(2), 38-44, 2005.

**BRASIL**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, Brasília, 2010.

**BRASIL**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC No. 17, De 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de Abril de 2010.

**BRASIL**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 33, de 19 de abril de 2000. Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em Farmácias e seus Anexos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, republicação de 08 de janeiro de 2001, Seção 1.

**BRASIL**. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico, 2013.

**CETESB**. Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental. Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais. São Paulo; 1997. p. 152-4.

FREITAS, A. A. AMORIM, C. O DE. MENEGASSO, J. R. S. TEIXEIRA, J. A. Água purificada: obtenção e controle de qualidade. **Trabalho de conclusão de curso para obtenção de grau no curso de Farmácia da Faculdades Integradas de Fernandópolis**. 2011

MORENO, A.H.; TOZO, G.C.G. SALGADO, H.R.N. Avaliação da qualidade da água purificada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 32(1):69-75, 2011.

OLIVEIRA, Fabiely Cristina. PELEGRINI, Denise Davanço. Controle de qualidade do sistema de produção de água purificada obtida por osmose reversa em indústria farmacêutica. **Revista Saúde e Biologia**, v.6, n.1, p.36-42, jan./abr., 2011

SILVA, M. P. CAVALLI, D. R. OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm ec na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em Alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 26(2): 352-359, abr.-jun. 2006.

TSUKUDA, S. Qualidade de água para laboratórios. **In: XV-ENCONTRO NACIONAL SOBRE METODOLOGIAS E GESTÃO DE LABORATÓRIOS; II-SIMPÓSIO SOBRE METODOLOGIAS DE LABORATÓRIOS DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS**, 2010, Rio Grande do Sul: Embrapa clima temperado.

---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *MICONIA PRASINA* (SW) DC

Leite, T. C. C. <sup>(1)</sup>; Santos, R. H. S. <sup>(2)</sup>; Borba, E. F. O. <sup>(1)</sup>; Nerys, L. L. A. <sup>(1)</sup>;  
Chagas, E. C. O. <sup>(3)</sup>; Sena, A. R. <sup>(2)</sup>; Silva, T. G. <sup>(1)</sup> toycly@gmail.com

<sup>(1)</sup> Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos, Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Laboratório de Microbiologia, Instituto Federal de Pernambuco - IFPE, *Campus Barreiros* - PE, Brasil;

<sup>(3)</sup> Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas - IMA, Maceió - AL, Brasil.

## RESUMO

*Miconia* é o maior gênero da família Melastomataceae com mais de 1000 espécies, sendo que aproximadamente 300 são encontradas no Brasil. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de *Miconia prasina* a partir de extratos com diferentes polaridades. Os métodos escolhidos para esta avaliação foi a difusão em ágar com disco de papel segundo o CLSI e microdiluição em caldo segundo o NCCLS. Neste trabalho foram utilizados os extratos em hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) de *M. prasina* frente a nove micro-organismos. Os extratos foram testados na concentração de 300 mg/mL. Os resultados demonstraram que os extratos metanólicos e acetato de etila apresentaram atividade antimicrobiana para maioria dos micro-organismos avaliados para o método de difusão. No entanto, o extrato acetato de etila apresentou atividade frente a um maior

espectro de micro-organismos e também maior diâmetro nos halos de inibição. Os extratos de *M. prasina* apresentaram atividade antimicrobiana e que esta pode estar relacionada à polaridade dos compostos presentes nos extratos.

**Palavras-chave:** Efeito Inibitório, Extrato Acetato de Etila, Melastomataceae.

## INTRODUÇÃO

Historicamente as plantas medicinais foram utilizadas como um importante recurso terapêutico e após um período de desvalorização, resultante dentre outros motivos ao avanço da química sintética e o consequente surgimento de diversas drogas provenientes deste método, sua utilização voltou a ganhar relevância nas últimas décadas principalmente devido aos elevados números de casos ocorrentes de efeitos adversos provenientes dos medicamentos alopáticos bem como a busca por parte da população em cultivar hábitos saudáveis e que pode se relacionar indiretamente no consumo de produtos de origem natural (MACIEL et al., 2002; VEIGA JÚNIOR et al., 2005).

Um outro fator que está diretamente relacionado ao incentivo no uso dos produtos naturais na terapêutica antimicrobiana, além da demanda, é a busca por novos agentes antimicrobianos visto que a disseminação exacerbada dos casos de resistência aliada à baixa disponibilidade de novos agentes com esta função, tem levado os especialistas a conceber um prognóstico preocupante relacionado a esta terapêutica (GUIMARÃES et al., 2010).

Esta busca se reflete também no aumento das pesquisas relacionadas à descoberta de novos agentes antimicrobianos derivados de produtos naturais. Com relação a isto, Melastomataceae é uma família botânica promissora uma vez que possui, aproximadamente, 180 gêneros e 4500 espécies e ainda é pouco estudada sob os aspectos biológicos e químicos (GOLDENBERG, 2000).

Entre os diversos gêneros, encontra-se o *Miconia* que figura com o maior número de espécies, mais de mil, sendo que no Brasil ocorrem aproximadamente 300 espécies presentes nos mais diversos biomas como Mata-Atlântica, Cerrado, Caatinga e Amazônia e ainda muito pouco estudado do ponto de vista biológico e químico (FORZZA et al., 2010).

Nativa das Antilhas, México, Trinidad, América-central e zonas tropicais da América do sul, *Miconia prasina* é conhecida popularmente como Mandapuça-branco ou ainda como mundurú-branco e lacre-branco. Esta espécie tem hábito arbustivo a arbóreo e seu fruto tem importância alimentícia para a população da Amazônia brasileira e como fonte de polinização, visto que é o alimento preferido de importantes espécies de morcegos sul-americanos. Este fruto tem diâmetro aproximado de 4 mm, é globoso com coloração variada (MBG, 2002; PAPAVERO, 2002).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de diferentes polaridades de *Miconia prasina*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material vegetal***

Foram coletadas 2000 g das partes aéreas de *Miconia prasina* nos municípios de Maceió e Satuba e posteriormente foram identificadas pelo botânico MSc. Earl Celestino de Oliveira Chagas e depositadas no herbário do Instituto de Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA-MAC) sob o número da exsicata 50398.

### ***Obtenção dos extratos***

As partes aéreas da espécie coletada foram secas por 4 dias, em estufa com temperatura controlada e renovação constante de ar. A mesma foi moída em moinho de facas e extraída por maceração por um período de 7 dias em temperatura ambiente e protegida da luz. Os solventes utilizados foram hexano, acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH) e produziram os extratos: Hexânico (Hex, 2 g), acetato de etila (AcOEt, 3 g) e metanólico (MeOH, 10 g).

### ***Micro-organismos***

As linhagens de bactérias e fungos leveduriformes utilizados foram obtidas a partir da Coleção de Microrganismos do Departamento de

Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA). Para este ensaio foram utilizadas quatro bactérias gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 02), *Micrococcus luteus* (UFPEDA 100), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 86) e *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138); três bactérias gram-negativas: *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Serratia marcescens* (UFPEDA 352) e *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 416); uma álcool-ácido-resistente: *Mycobacterium smegmatis* (UFPEDA 71) e a levedura *Candida albicans* (UFPEDA 1007).

#### ***Atividade antimicrobiana: Método de difusão em disco***

A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada pela metodologia de difusão em ágar, utilizando-se discos de papel de filtro com diâmetro de 6 mm, conforme *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) para conhecer o perfil de atividade dos extratos. Para este ensaio utilizou-se alíquotas de 10 µL dos extratos na concentração de 300 mg/mL para impregnar os discos de papel. Anteriormente, os extratos hexânico e acetato de etila foram solubilizados em DMSO e o metanólico em água destilada estéril e então esterilizados por filtração em membrana de 0,22 µm (TPP).

Uma suspensão do microrganismo-teste ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL para bactérias e  $1,5 \times 10^5$  UFC/mL para leveduras) foi determinada através de comparação visual com um padrão na concentração de 0,5 na escala de Mc Farland e espalhada (0,1 mL) sobre a superfície de meio sólido

AMH (Ágar Müeller–Hinton) em placa de Petri de (15 x 90 mm). Posteriormente foram adicionados sobre as placas inoculadas os discos impregnados com os extratos. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h (bactérias) e a 28 °C por 48 h (leveduras). Após este período foi realizada a leitura visual observando-se o halo de inibição de crescimento microbiano quantificado em mm com o auxílio de um halômetro.

Como controle positivo impregnou-se 10 µL dos padrões nos discos na concentração de 10 mg/mL de eritromicina para bactérias e 20 mg/mL de nistatina para fungos leveduriformes e como controle negativo utilizou-se os discos impregnados com os solventes utilizados. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os mesmos repetidos duas vezes.

### ***Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Microbicida (CMM)***

Após conhecer o perfil de inibição dos extratos, foi realizado o ensaio de susceptibilidade pela metodologia da microdiluição em caldo para determinação da Concentração Mínima inibitória (CIM) e Concentração Mínima Bactericida segundo o NCCLS (2002; 2003).

A determinação da concentração inibitória mínima foi realizada utilizando placas com 96 poços estéreis, próprias para microdiluição. Os extratos hexânico e acetato foram solubilizados em DMSO e o

metanólico em água destilada estéril e então estéreis por filtração em membrana de 0,22  $\mu\text{m}$  (TPP).

Inicialmente colocou-se em cada poço 90  $\mu\text{L}$  do meio Caldo Muller Hinton (CMH) e posteriormente adicionou-se a partir da terceira coluna (A3) 90  $\mu\text{L}$  do extrato na concentração de 16 mg/mL esta alíquota foi homogeneizada e transferida para a quarta coluna (A4) e assim por diante até a décima segunda coluna (A12) que recebeu o extrato na concentração de 0,03 mg/mL, nesta última a alíquota (90  $\mu\text{L}$ ) depois de homogeneizada é descartada. Os extratos foram testados em triplicatas.

Por último foi adicionada uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  da suspensão do micro-organismo preparada conforme o método anterior. Logo, cada poço recebeu como volume final uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  (90  $\mu\text{L}$  de meio e extrato e 10  $\mu\text{L}$  do microrganismo). Posteriormente as placas foram incubadas por 24 horas (37 °C) para bactérias e 48 horas (28 °C) para leveduras.

Após este período de incubação foram adicionados 30  $\mu\text{L}$  de Rezasurina na concentração final de 0,01 % para análise quantitativa do crescimento microbiano nos poços de ensaio e determinação da atividade antimicrobiana relativa de cada diluição das amostras. Neste ensaio foram realizados os controles: de viabilidade dos micro-organismos testados, da esterilidade do meio de cultura, do extrato e do potencial de inibição do DMSO sobre os microrganismos testados.

Também foram utilizados como controle positivo os antimicrobianos eritromicina (15 mg) e nistatina (20 mg) e suas diluições.

Para a determinação da Concentração Mínima Microbicida (CMM) repicou-se uma alíquota de 5 µL, das concentrações que apresentaram atividade na placa do CIM, em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (AMH). Estas placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas para bactérias e 28 °C por 48 horas para leveduras. A CMM foi considerada a menor concentração do extrato onde não houve crescimento celular sobre a superfície do AMH.

### *Análise estatística*

Após obtenção dos resultados, os mesmos foram analisados através do programa SISVAR – Sistema de Análise de Variância (FERREIRA, 2000), realizando-se a análise de comparação de médias pelo Teste de Skott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No teste de difusão em disco, os diferentes extratos foram testados na concentração de 300 mg/mL frente a nove microrganismos, entre os quais 4 Gram-positivos, 3 Gram-negativos, 1 álcool-ácido-resistente e 1 levedura e os resultados estão expressos na Tabela 1.

Na metodologia da difusão em disco os extratos tiveram perfil de inibição diferente visto que o extrato hexânico não foi ativo frente a

nenhum micro-organismo e isto se deve a limitações do método, pois já é bem documentado na literatura que substâncias apolares não se difundem bem em meio sólido (RIOS et al., 1988). Já o extrato acetato demonstrou ter um perfil de inibição mais amplo comparado ao metanólico uma vez que este inibiu o crescimento de três bactérias gram-positivas, uma gram-negativa, uma álcool-ácido resistente e uma levedura. O extrato metanólico foi ativo contra apenas as três bactérias gram-positivas e uma bactéria gram-negativa.

Vale destacar que os halos de inibição apresentado pelo extrato acetato foram estatisticamente superiores em diâmetro quando comparados aos halos do extrato metanólico o que pode estar relacionado à maior concentração dos compostos responsáveis pela ação antimicrobiana.

Os micro-organismos que foram inibidos no ensaio anterior foram submetidos à microdiluição em caldo para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Microbicida (CMM) e os resultados estão resumidos na Tabela 2.

Neste ensaio todos os extratos mostraram atividade frente aos micro-organismos o que contrasta com os resultados da difusão em que somente os extratos com determinada polaridade foram ativos e isto pode ser atribuído a uma limitação do método visto que o extrato hexânico na concentração de 300mg/mL não apresentou atividade antimicrobiana pelo método de difusão contudo o mesmo foi ativo pelo método da microdiluição em caldo, em concentrações até 1000 vezes

inferior. Uma das explicações para este comportamento pode ser a baixa capacidade de substâncias apolares se difundirem através de um meio sólido.

Analisando os dados sob o ponto de vista químico pode-se inferir que em ambos os métodos o extrato acetato é considerado, de acordo a inibição microbiana, o melhor e esta conclusão é alicerçada tanto nos maiores halos presentes na difusão como também nos menores valores da Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Microbicida para todos os microrganismos testados.

Comparando os resultados obtidos com outras espécies de *Miconia* pode-se perceber uma atividade superior de *M. prasina*, espécie vegetal utilizada neste estudo, com CIM sempre inferior a 1 mg/mL, uma vez que *M. Cabucu*, *M. stenotachya* e *M. rubiginosa* apresentaram CIM com valores superiores a 1 mg/mL frente às bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras (QUEIROZ et al., 2011; RODRIGUEZ et al., 2008). Vale ressaltar que não foram relatados na literatura trabalhos de atividade antimicrobiana com a espécie vegetal analisada neste estudo.

**Tabela 1.** Média dos diâmetros dos halos de inibição em mm do crescimento microbiano pelo método de difusão em disco dos extratos de *Miconia prasina*.

<i>M. prasina</i>		Gram-positivas				Gram-negativas			AAR*	Levedura
		02	100	86	138	224	352	416	71	1007
300 mg/L	hexano	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	AcOEt	13,3 b	20,0 b	12,3 b	ND	ND	ND	11,0 a	12,7 b	22,0 b
	MeOH	7,3 c	14,7 c	8,7 c	ND	ND	ND	8,0 b	ND	ND
C+	Eritromicina/nistatina	28,0 a	33,0 a	30,0 a	-	-	-	-	23,0 a	25,0 a

\*Bactéria Álcool Ácido Resistente, ND – Não detectado. 02: *S.aureus*; 100: *M. luteus*; 86: *B. subtilis*; 352: *S. marcescens*; 138: *E. faecalis*; 416: *P. aeruginosa*; 224: *E. coli*; 71: *M. smegmatis*; 1007: *C. albicans*. C+: Controle positivo. Médias seguidas por letras distintas na vertical diferem entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo Teste de Skott-Knott.

**Tabela 2.** Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Microbicida (CMM) em mg/mL dos extratos de *Miconia prasina*.

CIM/CMM	Gram-positiva			Gram negativa	AAR*	FUNGO
Microrganismos/ Extrato	02	100	86	416	71	1007
Hexano	0,5/8	1/8	0,5/32	1/4	1/2	1/4
AcOEt	0,25/2	0,06/0,5	0,25/2	1/2	0,5/0,5	0,12/1
MeOH	-	2/8	8/32	8/16	8/32	16/32

\*Bactéria Álcool Ácido Resistente.

## CONCLUSÃO

Os extratos metanólico e acetato de etila de *M. prasina* apresentaram atividade contra a maioria dos microrganismos testados e esta atividade pode estar associada aos compostos polares presentes nos mesmos, pois o extrato acetato de etila apresentou maior efeito inibitório sendo comprovado por todos os métodos utilizados neste estudo.

## AGRADECIMENTOS

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), pelas bolsas concedidas e ao CNPq pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

CLSI. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests - M02-A11**. 11. ed. Wayne: CLSI, Wayne: USA 2012.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. *In*: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45. 2000. São Carlos, **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000, p. 255-258.

FORZZA, R. C.; et al. 2010. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010>>. Acesso em: 21 ago. 2013.

GOLDENBERG, R. **O Gênero Miconia Ruiz & Pav. (Melastomataceae): I Listagens Analíticas, II Revisão Taxonômica da Seção Hypoxanthus (Rich. Ex DC.) Hook.** 259p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)-UNICAMP, Campinas, 2000.

GUIMARAES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

MACIEL, M. A. M.; et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MBG. 2002. Flora of Costa Rica: *Miconia prasina*. Disponível em: <<http://www.mobot.org/manual.plantas/023023/S024494.html>>. Acesso em: 20 set. 2013.

NCCLS. **Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras - M27-A2**. 2. ed. NCCLS, Wayne: USA, 2002.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically** – M7-A6. 6. ed. NCCLS, Wayne: USA, 2003.

PAPAVERO, N.; et al. **Landi: fauna e flora da Amazônia brasileira**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 2002. 260 p.

QUEIROZ, G. M. Absence of the antibacterial activity of the crude extracts and compounds isolated from *M. rubiginosa* against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing enterobacteria. **Journal of Pharmaceutical negatives results**, v. 2, n. 1, p. 1-7, 2011.

RODRIGUES, J.; et al. Antimicrobial activity of *Miconia* species (Melastomataceae). **Journal of medicinal foods**, v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

---

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Mangifera indica*

Nerys, L. L. A.<sup>(1)</sup>; Ramos, E. H. S.<sup>(1)</sup>; Borba, E. F.O<sup>1</sup>; Silva, T. G.<sup>(1)</sup>

lais\_nerys@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

### RESUMO

*Mangifera indica* L. conhecida popularmente como manga, possui substâncias ativas em sua composição com elevado potencial terapêutico, sendo utilizada na medicina popular para o tratamento de atividades anti-virais, anti-bacterianas e anti-inflamatória. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antinociceptiva do óleo essencial do exsudato de *Mangifera indica* L. da variedade Espada. Foram utilizados camundongos albinos *Swiss* (*Mus musculus*), pesando entre 20 - 25 g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Para o estudo da atividade antinociceptiva realizou-se o teste de contorções abdominais

induzidas por ácido acético (1 %) e o teste da formalina. Os fármacos utilizados como padrão no teste de contorções abdominais foram o ibuprofeno e indometacina (10 mg/kg), enquanto que a morfina (10 mg/kg) foi utilizada no teste da formalina. Os resultados para o teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético foram: óleo essencial 12,5 mg/kg (44,23 %), 25 mg/kg (46,19 %) e 50 mg/kg (59,06 %). O teste da formalina indicou que o óleo testado apresenta tanto ação central como periférica na inibição da dor indicando que o mesmo apresenta atividade antinociceptiva promissora, porém mais estudos são necessários para a comprovação de seu uso como antinociceptivo.

**Palavras-chave:** Manga, Exsudato, Atividade Analgésica.

## INTRODUÇÃO

O uso das espécies vegetais, com fins terapêuticos, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a consciência e começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para o seu próprio benefício (DI STASI, 1996). Há evidências de que o homem pré-histórico já se valia das plantas para amenizar os sofrimentos de males físicos que lhe acometiam. Desde aqueles recuados tempos até nossos dias às plantas têm fornecido inúmeras substâncias de uso medicinal (CASTRO; CHEMALE, 1995).

No Brasil, o cultivo e a utilização de plantas no tratamento de doenças apresentam, fundamentalmente, influências da cultura indígena, africana e, naturalmente, europeia. E seu uso, quando feito com critério, só tem a contribuir para a saúde de quem o pratica. Tais critérios referem-se à identificação do quadro clínico apresentado (doença ou

sintoma), escolha correta da planta a ser utilizada e adequada preparação (MARTINS, 1989).

Dentre as plantas medicinais brasileiras destacamos a *Mangifera indica* L. (manga), natural da Ásia tropical, muito popular na Índia é conhecida há pelo menos 4000 anos, e no Brasil há cerca de 300 anos, tendo-se difundido sua cultura em todas as regiões tropicais e subtropicais. Na medicina popular é tradicionalmente utilizada como laxativa, antigripal, antitussígena, contra escorbuto, antianêmica, diurética (CRAVO, 1995).

Considerando a importância farmacognóstica relatada na medicina popular, na forma de chás e infusos, este trabalho visa contribuir com os estudos farmacológicos do óleo essencial do exsudato da referida planta verificando sua possível atividade antinociceptiva em dois diferentes modelos animais de dor.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção do óleo essencial***

O óleo foi cedido pelo Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da Área de Química Orgânica do Departamento de Química da URFPE.

### ***Animais experimentais***

Para o ensaio de Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético e o teste de Formalina foram utilizados seis grupos de 8 animais, cada, de camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) de ambos os sexos,

pesando entre 20 e 25g com 2 meses de idade provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

### ***Teste de Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético***

Os animais receberam o tratamento via oral com o óleo essencial do exsudato de *M. indica* L., variedade Espada (MIE) nas doses de 12,5 mg/kg, 25 mg/kg e 50 mg/kg, indometacina e ibuprofeno na dose de 10 mg/kg (substância padrão) e o veículo (solução salina 0,9% e Tween 80 a 3%), respectivamente. Após uma hora, o ácido acético 1% foi injetado (0,1mL/10g do peso do animal) na cavidade peritoneal dos animais para induzir contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. Dez minutos após a aplicação do ácido, os camundongos foram colocados em funis transparentes, onde foram observados e registrado o número de contorções abdominais durante 20 minutos. A porcentagem de inibição das contorções abdominais foi calculada comparando a média de contorções do grupo tratado com o a média do grupo controle (KOSTER, 1959).

### ***Teste da Formalina***

Para a avaliação da nocicepção induzida pela formalina os animais receberam por via oral o óleo essencial do exsudato de *M. indica* L., variedade Espada (MIE) nas doses de 12,5 mg/kg, 25 mg/kg e 50 mg/kg, respectivamente, por via oral. Um grupo controle recebeu o veículo (solução salina 0,9% e Tween 80 a 3%). O sulfato de morfina,

utilizada como padrão na dose de 10 mg/kg, foi administrado por via subcutânea no dorso dos animais. Uma hora após a administração todas as substâncias, foi injetado 20µL de formalina a 2,5% (formaldeído 0,92% diluído em solução salina 0,9%) na área subplantar da pata traseira direita dos animais. O tempo acumulado em segundos que os animais permanecerem lambendo a pata foi medido em duas fases distintas, sendo de 0 a 5min (primeira fase) e 15 a 30 min (segunda fase), após a injeção de formalina (GOMES et al., 2007).

### ***Análise dos Dados***

Os dados experimentais foram estatisticamente avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%, utilizando-se o software GraphPadprism. 5.0. Valores de “p” menores que 0,05 ( $p < 0,05$ ) foram considerados como indicativos de significância.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A avaliação farmacológica do óleo essencial do exsudato de *M. indica* L. variedade Espada (MIE) no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, revelou atividade antinociceptiva periférica para as três doses testadas (12,5, 25 e 50 mg/kg) em relação ao controle (Tabela 1). A redução significativa do número de contorções abdominais quando comparadas ao grupo controle foram de 44,23 %, 52,99 % e 59,06 %, respectivamente.

A dose de 50 mg/kg apresentou atividade antinociceptiva estatisticamente semelhante ao ibuprofeno (10 mg/kg).

As doses de 12,5 e 25 mg/kg mostraram-se estatisticamente significativas em relação ao ibuprofeno, já em relação à indometacina todas as doses se apresentaram estatisticamente significantes. Quando comparadas entre si as doses apresentam valores estatisticamente significativos. Observamos que aumentando a dose aumenta-se a ação antinociceptiva do óleo mostrando assim uma dose-dependência.

A indometacina e o ibuprofeno, drogas padrões que inibem a síntese de prostaglandinas, reduziram em 67,38 % e 55,38 %, respectivamente, o número de contorções em relação ao grupo controle.

**Tabela 1.** Efeito do exsudato de *M. indica* L no teste de contorções induzidas por ácido acético

Tratamento	Dose (mg/Kg)	Contorções abdominais (nº/20min)	Inibição (%)
Controle	-	83.5±4.82	-
Indometacina	10	24.86±1.95	67.38
Ibuprofeno	10	34.00±1.83	55.38
MIE	12,5	42.50±4.72*	44.23
	25	41.00±4.08*	52,99
	50	31.20±3.36*	59.06

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M) do número de contorções abdominais em 20 minutos de observação. Veículo (solução salina 0,9% e Tween 80 a 3%), MIE (12,5, 25 e 50 mg/kg v.o.) ibuprofeno e indometacina (10 mg/kg v.o., cada) foram administrado uma hora antes da injeção intraperitoneal de ácido acético 1%. \*Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). #Diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão indometacina ( $p < 0,05$ ). +Diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão ibuprofeno ( $p < 0,05$ ). Após análise de variância (ANOVA); Teste de Bonferroni com intervalo de confiança de 95%.

Ibrar et al. (2012) avaliando a atividade antinociceptiva do óleo essencial da folha de *Zanthoxylum armatum* observou que este óleo mostrou-se eficaz na redução da atividade antinociceptiva na dose de 400 mg/kg, inibindo 58,1 % da sensação dolorosa. Resultado similar foi conseguido por Lima et al. (2012) estudando o óleo essencial das raízes de *Chrysopogon zizanioides* (L.) na dose de 50 mg/kg, reduzindo em 51,9 % a sensação dolorosa. Ambos os trabalhos corroboram com os resultados apresentados em nossa pesquisa no qual a taxa de inibição foi de 59,06 % para a dose de 50 mg/kg do óleo do exsudato de *M. indica* L.(MIE), sugerindo uma redução na resposta ao estímulo álgico do ácido acético frente a nocicepção visceral.

Embora as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético representem um modelo de nocicepção periférica, este não é um modelo específico, uma vez que diferentes classes de substâncias também inibem as contorções como: hipotensores, depressores e estimulantes do sistema nervoso e anti-histamínicos (LE BARS; GOZARIU; CADDEN, 2001). Sendo comum a ocorrência de falsos positivos neste teste, então, decidimos avaliar o efeito do óleo essencial do exsudato extrato utilizando outro modelo de nocicepção, como o da formalina.

Neste teste, as doses de MIE foram capazes de reduzir significativamente o tempo de lambida, em relação ao grupo controle tanto na primeira quanto na segunda fase. A morfina foi capaz de

reduzir significativamente o tempo de lambida nas duas fases 43,05 % (1ª fase) e 81,33 % (2ª fase).

O efeito produzido na primeira fase para a dose de 50 mg/kg foi semelhante à morfina (tabela 2). A ação do MIE durante o desenvolvimento da dor neurogênica, sugere uma ação direta sobre as fibras aferentes nociceptivas, que pode reduzir o limiar de estimulação dos neurônios do corno dorsal.

Os resultados encontrados nos óleos essenciais obtidos de *Rosmarinus officinalis* (FARIA et al, 2011) na dose de 300 mg/kg reduziram na primeira e segunda fase o tempo de lambadura em 40 % e 48 %, respectivamente. Num estudo sobre o óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. a dose de 100 mg/kg inibiu o tempo, em ambas as fases, em 21 % e 70 %, respectivamente (MEDEIROS et al., 2011). As doses utilizadas para a realização dos testes foram bem superiores ao exposto neste trabalho, porém sugerem a existência de substâncias no óleo que possam atuar sobre as terminações nervosas periféricas, através da inibição de ciclo-oxigenases (ASONGALEM et al., 2004).

**Tabela 2.** Efeito do exsudato de *M. indica* L no teste de formalina.

Tratamento	Dose (mg/Kg)	1º Tempo (nº de lambidas/5min)	Inibição (%)	2º Tempo (nº de lambidas/15min)	Inibição (%)
Controle	-	64.09±5.34	-	112.54±14.93	-
Morfina	10	36.50±6.35	43.05	21.01±0.82	81.33
MIE	12,5	48.16±4.36 *#	24,06	76.45±6.60*#	32,07
	25	50.66±5.19*#	56.23	69.04±2.83*#	52,99
	50	33.56±3.22*#	53.72	77.85±6.56*#	30.82

Os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) do tempo de lambadura da pata em segundos. O óleo essencial do exsudato de *M. indica* L (MIE) e veículo foram administrados (v.o.) e assim como a morfina (s.c.) uma hora antes da injeção intraplantar de formalina 2,5% (20µL/animal) na pata traseira direita. O tempo gasto, em segundos, pelo animal lambendo a pata foi regtrado durante os períodos de 0-5 min (1ª fase) e 15-30 min (2ª fase) após administração da formalina. \*Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). #Diferença estatisticamente significativa em relação ao padrão morfina ( $p < 0,05$ ). Análise de variância (ANOVA); Teste de Bonferroni.

Na segunda fase, os efeitos do óleo essencial em estudo foram comparados com o controle positivo, a morfina. Conforme dados relacionados na tabela 2 pode-se observar que, em relação à inibição da dor causada pelo processo inflamatório (fase tardia), todas as três doses do óleo do exsudato de *M. indica* L. (MIE) não apresentaram significância estatística em relação ao fármaco padrão. Porém, mesmo apresentando uma taxa de inibição inferior ao fármaco padrão, esta taxa ainda assim sugere que o efeito antinociceptivo apresentado pelo óleo do exsudato de *M. indica* L. (MIE) envolve mecanismos centrais e periféricos, o que confirma o teste de contorções induzidas pelo ácido acético.

Os resultados complementam aqueles obtidos no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético em conjunto com os resultados do teste da formalina permite concluir que o mecanismo de ação do óleo essencial testado está relacionado à ação periférica e central, estando provavelmente relacionado com uma provável capacidade da substância testada de reduzir e/ou inibir a produção de prostaglandinas e pela atuação sobre as fibras aferentes nociceptivas e receptores opioides.

Fica evidente a necessidade de estudo complementares, como testes de placa-quente, e outros estudos em outros alvos biológicos, que possam contribuir para o melhor entendimento dos possíveis mecanismos de ação, da substância testada nestes ensaios.

## **CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos mostraram que o óleo essencial do exsudato da *M. indica* L. variedade Espada (MIE) possui um importante efeito antinociceptivo em relação à dor induzida quimicamente, apresentando poucos efeitos tóxicos, sendo bem tolerado quando testado em camundongos.

No teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético sugerem que o óleo essencial do exsudato de *M. indica* L. variedade Espada (MIE) apresenta atividade antinociceptiva quando administrada via oral reduzindo as contorções abdominais.

Os resultados do teste de formalina sugerem que o óleo essencial do exsudato de *M. indica* L. variedade Espada (MIE) apresenta atividade antinociceptiva de caráter inflamatório e neurogênica, porém sem mecanismo de ação conhecido. Assim, os resultados do presente trabalho apresenta um importante efeito antinociceptivo evidenciado nos dois modelos experimentais de dor, o que torna este óleo atraente para o estudo e desenvolvimento de fármacos analgésicos.

## REFERÊNCIAS

- ASONGALEM, E. A. et al. Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 301-308, 2004.
- CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. Plantas medicinais, condimentares e aromáticas - descrição e cultivo. Guaíba: **Agropecuária**, p. 9-10, 1995.
- CRAVO, A. B.; Frutas e ervas que curam - usos, receitas e dosagens, vitaminas e fibras. 5. ed. São Paulo: **Hemus**, 1995.
- DI STASI, L. C. et al; **Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudo interdisciplinar**. 5 e.d São Paulo: UNESP, 1996.
- FARIA, L. R. D. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (LAMIACEAE). **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**. v. 7, n. 2, 2011.
- GOMES N.M. et al. Antinociceptive activity of Amazonian Copaiba oils. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 486-492, 2007.
- IBRAR, L. M. et al. Antinociceptive and anticonvulsant activities of essential oils of *Zanthoxylum armatum*. **Phytopharmacology**, v. 3, n. 1, p. 191-198, 2012.
- KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc**, v. 18, p. 412, 1959.

LE BARS D; GOZARIU M; CADDEN SW: Animals models of nociception. **Pharmacology Review**. 2001; v.53, n. 4, p. 597-652, 2001.

LIMA et. al. Phytochemical screening, antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Chrysopogon zizanioides* essential oil. **Journal of Pharmacognosy**. v. 22, n. 2, 2012.

MARTINS, E. R. et al. Plantas medicinais, **CEJUP**; Belém - PA, p. 15-40, 1989.

MEDEIROS, V. A. et al. Chemical Composition, Acute Toxicity, and Antinociceptive Activity of the Essential Oil of a Plant Breeding Cultivar of Basil (*Ocimum basilicum* L.) **Planta Médica**, v. 77: p. 825–829, 2011.

RAMOS, E. H. S.; DUARTE, H. S.; JIMENEZ, G. C. Análisis toxicológico de la fase I del exudado del fruto de *Mangifera indica* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 17, n. 2, p. 134-148, 2012.

---

## AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO BIOSSURFACTANTE DE *Pseudomonas sp*

Ferreira I.N.<sup>(1)</sup>; Rufino. R.D.<sup>(1)</sup>; Luna J.M.<sup>(1)</sup>; Sarubbo. L.A.<sup>(1)</sup>

isabelanatalia13@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife – PE, Brasil, CAPES, FACEPE.

### RESUMO

Acidentes envolvendo hidrocarbonetos derivados de petróleo têm intensificado o desenvolvimento de técnicas e procedimentos de combate à poluição ambiental. O presente estudo teve como principal objetivo formular um aditivo estável, à base de biossurfactante. Nesse sentido, o líquido metabólico livre de células contendo o biossurfactante de *Pseudomonas sp.* produzido em biorreator, foi submetido a processo de vapor fluente, a fim de testar sua estabilidade frente a diferentes variações de pH, temperatura e sal. Após formulação dos líquidos metabólicos contendo o biossurfactante

produzido, as amostras foram estocadas à temperatura ambiente por 180 dias. Durante esse período foram realizados testes de tensão superficial, atividade de emulsificação e capacidade de dispersão, nos intervalos de tempo: 0, 15, 30, 70, 110 e 180 dias. A tensão superficial apresentou variações em torno de 26 a 30mN/m. A atividade de emulsificação alcançou valores de 100% para o óleo de motor, e a capacidade de dispersão também apresentou índices de 100% com a proporção de 1:25 (biossurfactante/óleo). Dessa forma, pode-se concluir que o biossurfactante de *Pseudomonas* sp, apresentou resultados satisfatórios após sua conservação a partir do processo de vapor fluente, podendo ser usado como coadjuvante no controle da poluição causada por derivados de petróleo, em ambientes aquáticos.

**Palavras-chave:** Vapor Fluente, Tensão Superficial, Formulação.

## INTRODUÇÃO

O derramamento de hidrocarbonetos provoca a contaminação ambiental, gerando consequências desastrosas para os organismos vivos, isso tem intensificado o desenvolvimento de procedimentos e técnicas de combate à poluição ambiental por derivados de petróleo. Dentre as técnicas de remediação disponíveis, a biorremediação tem se destacado, embora a solubilidade reduzida dos hidrocarbonetos dificulte o acesso dos micro-organismos e a consequente biodegradação do poluente (SILVA et al., 2013; BENINCASA et al., 2007).

Uma das possíveis soluções para a baixa disponibilidade dos poluentes hidrofóbicos consiste no uso de surfactantes. A grande maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, as novas legislações de controle ambiental têm levado à procura por surfactantes naturais como

alternativa aos produtos existentes (MAYER e SOBERON-CHAVES, 2000). Surfactantes microbianos ou biossurfactantes são metabólitos produzidos principalmente por bactérias e leveduras, embora alguns fungos também os produzam (SILVA *et al.*, 2013). As bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus* são descritas na literatura como grandes produtoras de biossurfactantes (SEYDLOVÁ e SVOBODOVÁ, 2008).

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo formular um aditivo à base de biossurfactante estável, a partir do processo de vapor fluente, para aplicação como coadjuvante da biorremediação de ambientes aquáticos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismo***

A *Pseudomonas* sp. isolada em área portuária e depositadas no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco foi testada como produtora do biossurfactante.

### ***Meio de cultura de crescimento do inóculo***

Para crescimento do inóculo foi utilizado o meio Caldo Nutritivo (CN), com a seguinte composição: Extrato de carne (5,09g), Peptona (15,0g), NaCl (5,0g), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (5,0g), Água destilada (1,0L), pH (7,0).

### ***Meio de cultura de produção***

O meio mineral descrito por Bushnell e Hass (1941), composto por 1 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1g/L de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 g/L de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,2g/L de  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e 0,05g/L de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  foi utilizado para a produção do biossurfactante. As fontes de carbono (melaço de cana) e nitrogênio (milhocina) foram adicionadas nas concentrações de 3% cada.

### ***Preparação do inóculo***

As culturas jovens da bactéria obtidas após 24 horas de cultivo em meio AN foram transferidas para Erlenmeyer contendo 50 mL de Caldo Nutritivo (CN), o qual foi mantido sob agitação orbital de 150 rpm durante um período de 10-14 horas a 28°C para obtenção de uma D.O. (Densidade Óptica) de 0,7 (correspondente a um inóculo de  $10^7$  U.F.C./mL) a 600 nm. Esta leitura foi utilizada como inóculo na concentração de 3% (v/v).

### ***Produção do biossurfactante***

As fermentações para produção dos biossurfactantes foram realizadas em biorreator de 50L de capacidade, contendo o meio de produção e incubados com 3% do pré-inóculo. O biorreator foi mantido sob agitação durante 48 horas, à temperatura de 28°C. Ao fim do cultivo, amostras foram retiradas para determinação da tensão superficial e do rendimento em biossurfactante isolado.

### ***Determinação da tensão superficial***

A tensão superficial foi medida no líquido metabólico livre de células em tensiômetro KSV Sigma 700 (Finland) utilizando-se o anel de NUOY. A tensão superficial foi medida através da imersão do anel de platina no líquido metabólico e registrando-se a força requerida para puxá-lo através da interface ar-líquido.

### ***Capacidade de dispersão***

A capacidade de dispersão ou agregação de manchas de petróleo foi simulada em laboratório contaminando-se amostras de água do mar com óleo de motor. Os testes foram conduzidos pela adição do líquido metabólico livre de células 10 $\mu$ L em 15 $\mu$ L do óleo de motor. Os resultados foram observados visualmente.

### ***Atividade de emulsificação***

Para a determinação da atividade de emulsificação, amostras do líquido metabólico livre de células foram analisadas segundo a metodologia descrita por Cooper e Goldenberg (1987): 1,0 mL de um substrato oleoso (petróleo, querosene, hexano, n-hexadecano, decano, ciclohexano, benzeno, tolueno, óleos vegetais, etc.) foram adicionados a 1,0mL do líquido metabólico em tubo graduado e a mistura agitada em vortex por 2 minutos. Após 24 as emulsões água em óleo foram expressas em centímetros, devido à altura do halo formado.

### ***Estabilização do líquido metabólico com propriedade surfactante***

O líquido metabólico do biossurfactante produzido em biorreator foi conservado de acordo com os procedimentos: O líquido metabólico foi aquecido a 80°C (vapor fluente) durante 30 minutos. Em seguida, o líquido metabólico tratado conforme os procedimentos descritos acima foram estocados à temperatura ambiente ao longo de 180 dias para observação da estabilidade. Testes foram realizados para determinação do tempo de estocagem (0, 15, 30, 70, 110 e 180 dias) à temperatura ambiente de 28-30 °C, verificando-se a tensão superficial, a capacidade de emulsificação e a estabilidade frente a condições específicas como presença de sal (1, 3 e 5%), aquecimento (40 e 50 °C) e variações de pH (5, 7 e 9). Testes de dispersão/agregação também serão realizados.

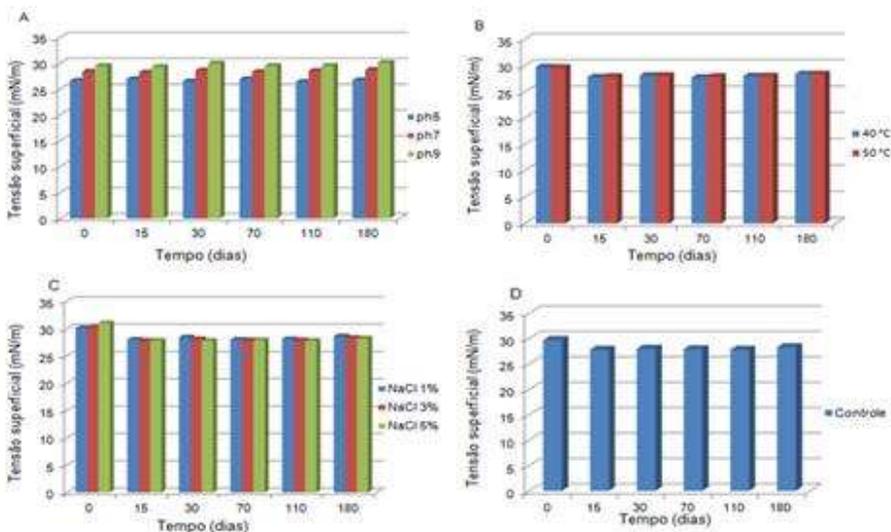
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A tensão superficial é a força de atração existente entre as moléculas dos líquidos (RUFINO et al., 2008). A figura 1 mostra os valores de tensão superficial do líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp após submetido ao processo de conservação por vapor fluente, e variações de pH (5, 7 e 9), temperatura (40, 50°C) e adição de diferentes concentrações de NaCl (1, 3 e 5%) para determinação de sua estabilidade frente a condições ambientais extremas.

As tensões superficiais do líquido metabólico submetido a variações de pH apresentaram as seguintes alterações: durante os 180 dias de

experimento a tensão do líquido metabólico submetido ao pH 5 permaneceu em torno de 26,6 mN/m. Ao ser submetido ao pH 7 o líquido metabólico apresentou tensão superficial de 28,5mN/m. Quando submetido ao pH 9 a tensão superficial aumentou para 29,5mN/m. Conforme a figura 1A.

Nas amostras submetidas a variações de temperatura, diferentes concentrações de NaCl e controle (líquido metabólico sem conservação), pode-se observar um aumento nas tensões do tempo zero, em torno de 29 e 30mN/m. Nos demais dias de conservação as tensões superficiais ficaram em torno de 27 28mN/m, conforme figura 1B, C e D. As tensões superficiais do controle não apresentaram diferenças quando comparadas as tensões dos líquidos submetidos a variações de pH, temperatura e NaCl.



**Figura 1.** Tensão superficial do líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp, após 180 dias de conservação e submetido ao processo de vapor fluyente e aos seguintes procedimentos: A) diferentes variações de pH: 5, 7 e 9; B) diferentes temperaturas: 40 e 50°C, C) diferentes concentrações de NaCl: 1, 3, e 5% e D) controle

A Figura 2 apresenta os resultados da atividade de emulsificação do líquido metabólico produzido por *Pseudomonas* sp, após 180 dias de estocagem, submetido a processo de vapor fluyente, diferentes variações de pH e temperatura e diferentes concentrações de NaCl.

Após submetido a variação de pH 5, 7 e 9 pode-se observar melhores resultados nos primeiros 70 dias de experimento, nas emulsificações com óleo de motor, alcançando valores de até 98%. Na variação de pH os resultados com óleo motor apresentaram 95% de emulsificação

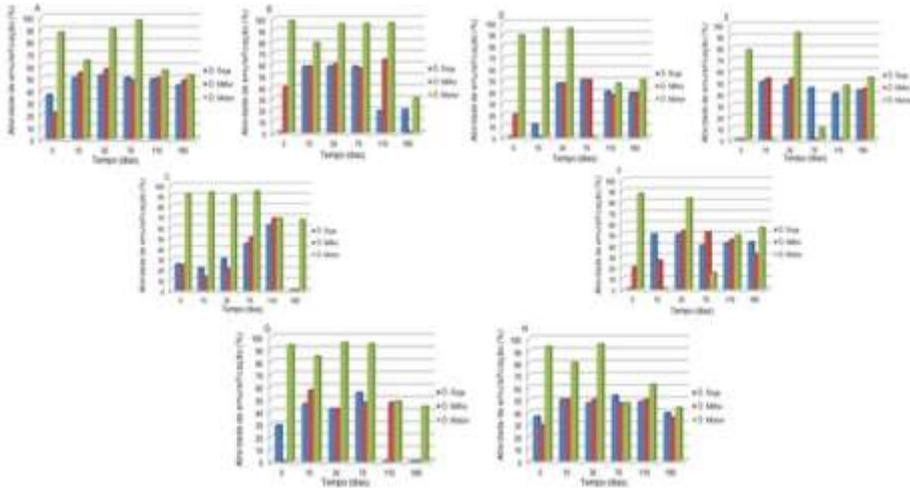
durante 110 dias de experimento. As emulsificações com óleo de soja e milho obtiveram valores de até 68%, conforme figura 2A, B e C.

Ao ser submetido a adição de diferentes concentrações de NaCl, o líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp apresentou melhores resultados de emulsificação na menor concentração de sal, 1%, nos primeiros 70 dias de experimento. Alcançando valores de até 87% de emulsificação. Nas concentrações de 3 e 5% de sal, os melhores resultados foram observados no tempo zero e 70 dias de experimento com óleo de motor. Os demais dias de conservação alcançaram até 60% de emulsificação com todos os óleos, conforme figura 2D, E e F.

Ao ser submetido a 40°C de temperatura, o líquido metabólico de *Pseudomonas* sp atingiu cerca de 95 % de emulsificação com óleo de motor durante os primeiros 70 dias de conservação. Após aquecido a 50°C, o líquido metabólico apresentou cerca de 90% de emulsificação com óleo de motor nos primeiros 30 dias de experimento. Nos demais dias de experimento a atividade de emulsificação atingiu valores de até 62% para todos os óleos, conforme figura 2G e H.

A Figura 3 apresenta os resultados da capacidade de dispersão, com óleo de motor, nas proporções 1:2, 1:8 e 1:25 (biossurfactante/óleo) do líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp, após processo de vapor fluente e submetido a diferentes variações de

pH (5, 7 e 9); temperatura (40 e 50°C); diferentes concentrações de NaCl (1, 3 e 5%).



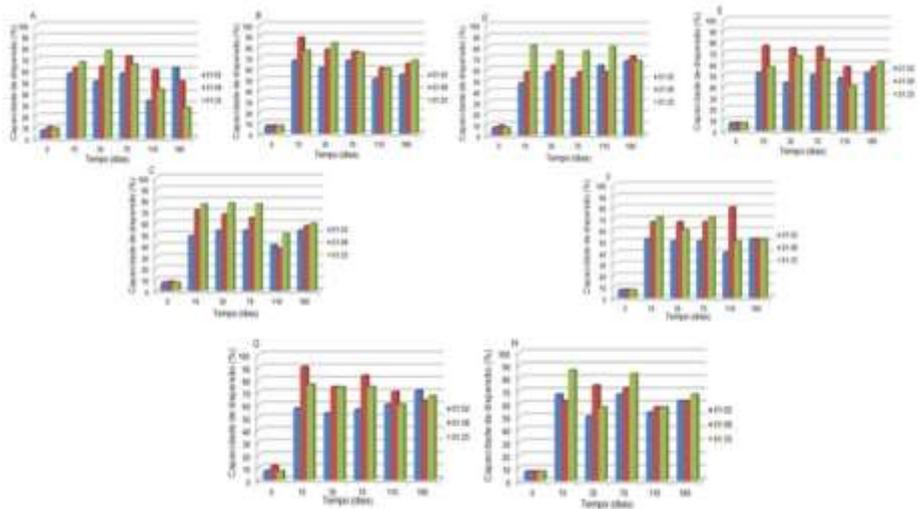
**Figura 2.** Atividade de emulsificação do líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp, após 180 dias de conservação, submetido ao processo de vapor fluyente e variações de pH: A) 5; B)7; C)9 ; NaCl: D) 1%; E)3%; F)5%; temperatura: G) 40°C; H) 50°C

Após submetido a variações de pH, o líquido metabólico apresenta seus melhores resultados de capacidade de dispersão de 15 a 70 dias de experimento. Alcançando valores entre 50 e 88%. Observa-se melhor desempenho nas proporções 1:8 e 1:25 (biossurfactante/óleo).

No primeiro dia de experimento, em todas as variações de pH, a capacidade de dispersão da gota de óleo obtiveram valores até 10%. Vale ressaltar, que a condição pH 7 obteve melhor desempenho entre as demais, conforme figura 3A, B e C.

Após adição de variadas concentrações de NaCl, o líquido metabólico apresentou melhores resultados de capacidade de dispersão nas proporções 1:8 e 1:25 (biossurfactante/óleo). Podemos observar bom desempenho entre 15 e 30 dias de experimento, alcançando valores entre 52 e 81%. O primeiro dia de experimento obteve valores de capacidade de dispersão em torno de 50 a 82%, conforme figura 3D, E e F.

Ao ser submetido a variações de temperatura os valores da capacidade de dispersão do biossurfactante de *Pseudomonas* sp manteve-se estável entre 15 e 180 dias de experimento, atingindo valores de até 90% para todos os óleos, conforme figura 3G e H.



**Figura 3.** capacidade de dispersão, com óleo de motor, nas proporções 1:2, 1:8 e 1:25 (biossurfactante/óleo) do líquido metabólico livre de células produzido por *Pseudomonas* sp, após processo de vapor fluente e submetido a diferentes variações de pH: A) 5; B)7; C)9 ; NaCl: D) 1%; E)3%; F)5%; temperatura: G) 40°C; H) 50°C.

## CONCLUSÃO

A tensões superficiais do biossurfactante de *Pseudomonas* sp não apresentaram alterações significativas durante os 180 dias de experimento.

Quanto aos resultados de emulsificação, pode-se observar grande variação na atividade. Os melhores resultados podem ser observados com óleo de motor nas variações de pH 7 e 9, 40°C e 1% de NaCl.

A capacidade de dispersão apresentou seus melhores resultados nas variações de pH 7 e 9, 40°C e 1% de sal.

O biossurfactante de *Pseudomonas* sp, apresentou resultados bastante satisfatórios quanto a sua conservação pelo processo de vapor fluente. Podendo ser utilizado como coadjuvante na biorremediação de ambientes aquáticos impactados por contaminação de derivados de petróleo.

## REFERÊNCIAS

- BENINCASA, M. Rhamnolipid produced from agroindustrial wastes enhances hydrocarbon biodegradation in contaminated soil. **Curr. Micr.**, v. 54 p, 445-449, 2007.
- MAYER, R. M.; SOBERON-CHAVEZ, G. Pseudomonas aeruginosa rhamnolipids: byosynthesis and potential applications. **App. Mico. and Biotec.**, v. 54, p, 625-633, 2000.
- RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A.; BARROS-NETO, B.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Experimental design for the production of tensio-active agent by *Candida lipolytica*. **Journal Industrial Microbiology and Biotechnology**, 35, p.907-914. 2008.
- SEYDLOVÁ, G.; SVOBODOVÁ, J. Review of surfactin chemical properties and the potential biomedical applications. **Cent. Europ. Jour. of Med.**, v. 2, p, 123-133, 2008.
- SILVA, R.C.F.S. RUFINO, R.D., LUNA, J.M., FARIAS, C.B.B., SANTOS, V.A., FILHO, H.J.B.L., SARUBBO, L.A. Enhancing biosurfactant production from *Pseudomonas cepacia* CCT6659 by optimizing nutritional parameters using a response surface methodology. **Tens. Surf. Det.**, v.50, n.2, p. 137-142, 2013.
- 

## AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DO BIOSURFACTANTE DE *Pseudomonas aeruginosa*

Rufino, R. D.<sup>(1)</sup>; Silveira, G. N. M.<sup>(1)</sup>; Luna, J. M.<sup>(1)</sup>; Corrêa, P.F.<sup>(1)</sup>;  
Sarubbo, L. A.<sup>(1)</sup> raqueldrufino@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup> Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil, CAPES, FACEPE, UNICAP, CNPq, TERMOPE, ANEEL.

## RESUMO

O uso de surfactantes de origem microbiana tem se destacado em função de suas características, como: biodegradabilidade e eficiência na remoção de compostos hidrofóbicos em águas e solos. Os biossurfactantes, como moléculas de natureza anfipática podem ser adicionados em soluções, facilitando a solubilização e a dispersão dos contaminantes. Em virtude do crescimento da zona portuária de SUAPE em Pernambuco, se faz necessário o desenvolvimento de tecnologias que amenizem os impactos ao meio ambiente, causados principalmente pelas indústrias que usam a água do mar como fonte de resfriamento de seus equipamentos. Dessa forma, o biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* foi conservado a temperatura ambiente, acrescido de um estabilizante comercial, para manter as suas propriedades. Ao longo de quarenta e cinco dias foi testado o seu comportamento, para avaliar a manutenção de suas características surfactantes e emulsificantes. Em seguida o biopolímero foi submetido a diferentes pH's, concentrações de sal e temperatura. Os resultados revelaram que o biossurfactante manteve suas propriedades tenso-ativas ao longo do período estudado, apresentando resultados positivos para a dispersão e emulsificação do óleo de motor. Sendo assim, o bioproduto estudado apresentou resultados satisfatórios para estudos posteriores de aplicação no controle da poluição ambiental, causada por petróleo e derivados.

**Palavras-chave:** Biossurfactante, Conservação, Petróleo.

## INTRODUÇÃO

As refinarias de petróleo, assim como outros processos industriais em grande escala, são fontes potenciais de poluição ambiental. A biorremediação pode ser definida como um processo de estimulação de situações naturais de biodegradação para limpeza de derramamentos de óleos e tratamento de ambientes terrestres e aquáticos contaminados com compostos xenobióticos (SANTOS et al., 2013).

Nesse sentido, a utilização de compostos surfactantes torna-se uma alternativa atrativa na remoção de contaminantes hidrofóbicos gerados

pela indústria de petróleo. Os surfactantes são compostos anfipáticos que se particionam, na interface entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade, apresentando várias aplicações industriais. Os surfactantes possuem estrutura molecular com grupos hidrofílicos e hidrofóbicos que exibem diversas propriedades como: adsorção, formação de micelas, formação de macro ou micro emulsões, ação espumante, solubilidade e detergência, todas ligadas à capacidade de redução da tensão superficial por essas moléculas (RUFINO et al., 2013).

Nos últimos anos, os estudos voltados para a produção de biossurfactantes têm se intensificado em função das características desses compostos como biodegradabilidade, baixa toxicidade, especificidade e estabilidade sob condições ambientais extremas de temperatura, pH e salinidade (LUNA et al., 2013). Nesse contexto, as indústrias de petróleo e petroquímica destacam-se como os maiores campos de aplicação dos biossurfactantes.

Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias tecnológicas para prevenir problemas indesejáveis causados por possíveis acidentes ambientais. Neste caso, o desenvolvimento de tecnologias de aplicação de biossurfactante na contenção e degradação de resíduos de derivados de petróleo, apresenta-se como solução para evitar danos ao meio ambiente. A referida estratégia, contudo, deve assegurar as capacidades de: detergência, emulsificação, lubrificação,

solubilização e dispersão de fases, de biossurfactantes estáveis que garantam a preservação dos recursos ambientais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismo***

*Pseudomonas aeruginosa* (UCP0992) foi utilizada como produtora de agente surfactante. A cultura foi mantida em meio Ágar Nutriente (AN). Repiques foram mensalmente realizados para manter a viabilidade celular.

### ***Meio de produção e substratos***

A produção do biossurfactante foi realizada conforme Farias *et al.* (2007). Após o preparo dos meios o pH foi ajustado para 7,0 com auxílio de uma solução 5M de NaOH e estes foram autoclavados a 121°C por 20 minutos.

### ***Produção do biossurfactante***

As fermentações para produção dos biossurfactantes foram realizadas em frascos de Erlenmeyer de 500 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio de produção e incubados com 1% do pré-inóculo. Os frascos foram mantidos sob agitação orbital de 250 rpm durante 120 horas, à temperatura de 37°C.

### ***Conservação do líquido metabólico contendo o biossurfactante***

O líquido metabólico contendo o biossurfactante foi conservado com estabilizante comercial. Em seguida, o líquido metabólico tratado foi estocado à temperatura ambiente ao longo de 45 dias. Testes foram realizados para determinação do tempo de estocagem (0, 15, 30, 45 dias) à temperatura ambiente de 28-30 °C, verificando-se a tensão superficial, a capacidade de emulsificação e a estabilidade frente a condições específicas como: presença de sal (1, 3, e 5%), variações de temperatura (40 e 50 °C) e variações de pH (5, 7 e 9).

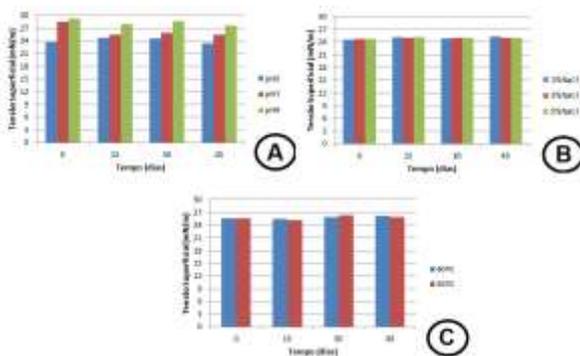
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Determinação das atividades do biossurfactante após conservação***

O presente estudo teve como principal objetivo avaliar o comportamento do biossurfactante frente a diferentes condições de conservação. A tensão superficial é a força de atração, existente entre as moléculas dos líquidos, e diminui quando a concentração de surfactante no meio aquoso aumenta (RUFINO *et al.*, 2013). A Figura 1 ilustra a estabilidade do biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* contendo 0,2% do conservante em condições ambientais extremas de variações de pH, concentrações de NaCl e temperaturas.

O líquido metabólico contendo o biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* apresentou uma tensão superficial de 27,46

mN/m e se apresentou estável, ao se adicionar o conservante a uma concentração de 0,2%, no primeiro dia de análise (tempo zero). Levando em consideração que o pH 7 é o líquido metabólico apenas com a adição do conservante, nota-se um decaimento significativo na tensão superficial para todas as condições analisadas, o que não pôde ser observado para os valores de pH 5 e 9, no primeiro dia do experimento (dia zero) antes da adição do conservante, não mantiveram o valor da tensão original do líquido metabólico.

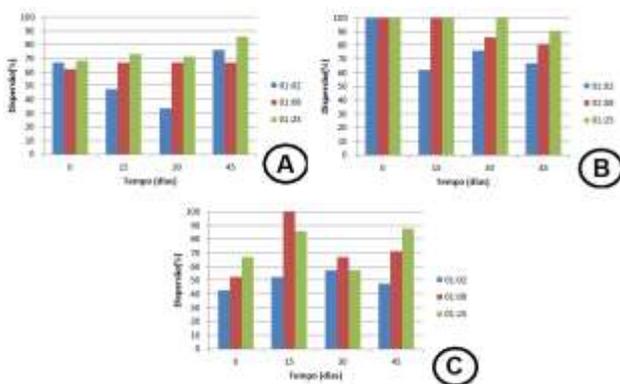


**Figura 1.** Estabilidade do biosurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa* contendo 0,2% de conservante, frente a condições extremas de pH (A), concentração de NaCl (B) e Temperatura (C).

Outra importante característica dos biosurfactantes é a atividade de dispersão, que é o processo no qual o hidrocarboneto é disperso na fase aquosa como emulsões muito pequenas. As emulsões não são estáveis termodinamicamente. Contudo, elas podem permanecer estáveis por períodos significantes de tempo em função de restrições cinéticas. A dispersão está relacionada à tensão interfacial e à concentração do surfactante e difere do deslocamento uma vez que o processo de

deslocamento está relacionado apenas à tensão interfacial entre as fases aquosa e hidrofóbica, sem a formação de emulsões (BAI et al., 1997).

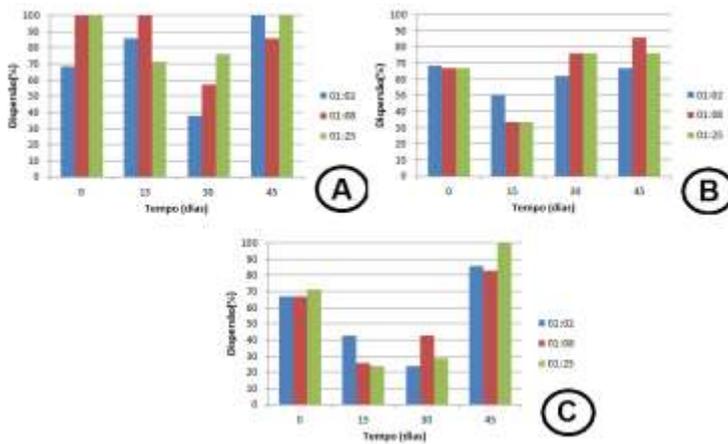
Na Figura 2 é possível observar a determinação da dispersão do óleo de motor nas proporções 1:2; 1:8 e 1:25 (biossurfactante bruto:óleo - v/v), onde observa-se que ao alterar o pH normal do biossurfactante, que é 7 (Figura 2.B) para pH 5 e 9, a sua ação como dispersante começa a decair (Figura 2A e 2C), apresentando o melhor resultado de dispersão no 45º dia de análise.



**Figura 2.** Dispersão de óleo motor em água do mar pelo biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa*, contendo 0,2% de conservante frente a diferentes valores de pH: pH5 (A), pH 7 (B) e pH 9 (C).

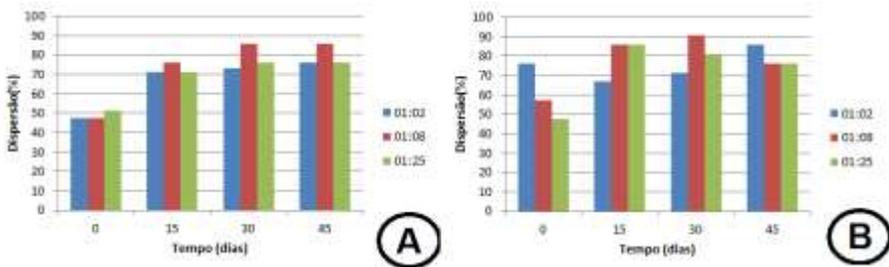
A Figura 3 ilustra a dispersão do óleo motor variando as concentrações de NaCl (1%, 3% e 5%) (Figuras 3A, 3B e 3C, respectivamente). Pode-se observar que o biossurfactante apresentou melhores resultados de dispersão para o óleo motor na menor concentração de NaCl, obtendo

no dia zero, uma dispersão 100% para as diferentes proporções de óleo utilizadas.



**Figura 3.** Dispersão de óleo motor pelo biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa*, contendo 0,2% de conservante, frente a diferentes concentrações de 1% de NaCl (A), 3% de NaCl (B) e 4% de NaCl (C).

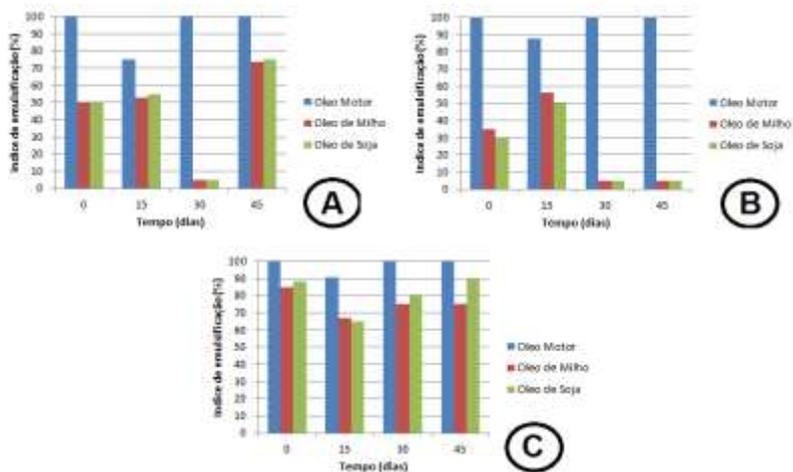
A Figura 4 mostra o comportamento de dispersão para o biossurfactante conservado com 0,2% de sorbato, submetido a diferentes temperaturas: 40°C (Figura 4A) e 50°C (Figura 4B). Os resultados obtidos demonstraram que o biossurfactante apresentou os melhores valores de dispersão do óleo motor no trigésimo dia de experimento, com valores próximos a 90%.



**Figura 4.** Dispersão de óleo motor pelo biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa*, contendo 0,2% de conservante, submetido a temperaturas de 40°C (A) e 50°C (B).

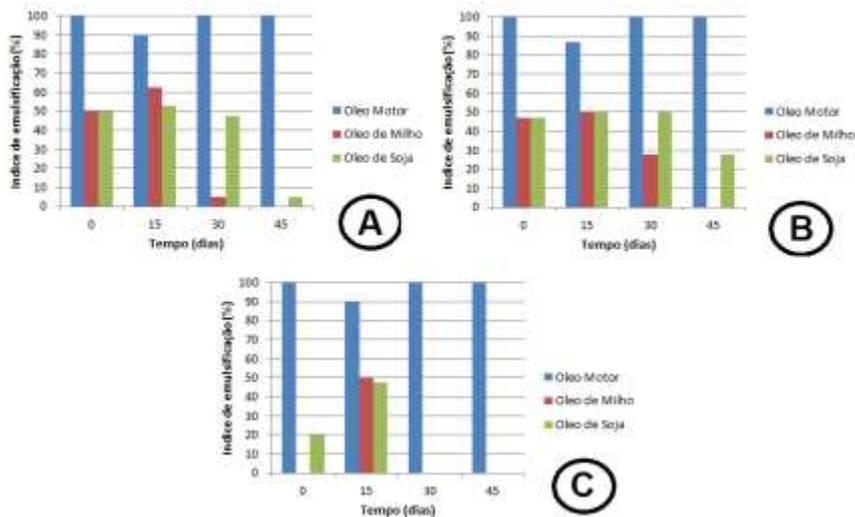
Em adição à tensão superficial e interfacial, à estabilização de emulsões de óleo e água é comumente utilizada como indicador de atividade superficial (RUFINO et al., 2013). A atividade de emulsificação do biossurfactante produzido por *Pseudomonas aeruginosa* contendo 0,2% de conservante foi determinada para vários substratos imiscíveis em água: óleo motor, óleo de milho e óleo de soja.

Nos testes para determinação do índice de emulsificação observou-se que em todas as condições testadas, o biossurfactante produzido apresentou valores de 90% a 100% de emulsificação do óleo motor. Os resultados obtidos mostraram que quando o biossurfactante conservado foi submetido ao pH 9 (Figura 5 C) as atividades de emulsificação foram observadas para o óleo de milho e o óleo de soja, chegando a valores em torno de 88% quando comparado ao pH 7 (Figura 5 B) e ao pH 5 (Figura 5 A).



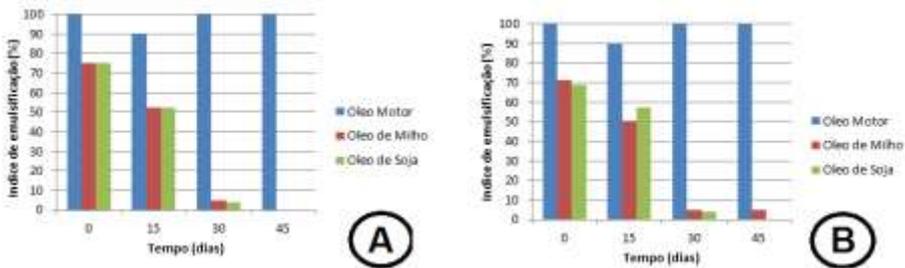
**Figura 5.** Índice de emulsificação do biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa*, contendo 0,2% de conservante, frente a diferentes valores de pH5 (A), pH 7 (B) e pH 9 (C).

Para as concentrações de NaCl a Figura 6 mostra que o biossurfactante apresentou o melhor percentual de emulsificação 62,5%, para o óleo de milho, quando adicionou-se 1% de NaCl (Figura 6 A) ao líquido metabólico, no décimo quinto dia de experimento. Já na concentração de 3% de NaCl (Figura 6 B) os índices de emulsificação mantiveram-se constantes, tendo uma pequena queda no trigésimo dia. Para a condição contendo 5% de NaCl (Figura 6 C) o biossurfactante apresentou boas emulsões no décimo quinto dia.



**Figura 6.** Índice de emulsificação do biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa* contendo 0,2% de conservante, frente a concentração de 1% de NaCl (A), 3% de NaCl (B) e 4% de NaCl (C).

Quando o líquido metabólico, contendo o biossurfactante produzido, foi submetido a variações de temperatura (Figura 7), observou-se que houve uma diminuição gradativa na atividade de emulsificação, tanto para o óleo de milho quanto para o óleo de soja. Já para as temperaturas de 40°C e 50°C (Figura 7A e 7B) no dia zero foram observados índices de emulsificação com valores de 75% e 70% de óleo de milho e de soja, respectivamente.



**Figura 7.** Índice de emulsificação do biossurfactante bruto produzido por *Pseudomonas aeruginosa* contendo 0,2% de conservante frente a temperatura de 40°C (A) e 50°C (B).

## CONCLUSÃO

O biossurfactante de *Pseudomonas aeruginosa* formulado apresentou pequenas variações na tensão superficial podendo ser considerado estável frente a diferentes condições extremas de pH, salinidade e temperatura.

Os testes de dispersão e atividade de emulsificação, mostraram que as atividades do biossurfactante permaneceram viáveis mesmo após um longo período de armazenamento do produto.

O biopolímero obtido pode ser considerado um produto promissor para utilização no controle da poluição ambiental causada por petróleo e derivados no meio ambiente terrestre e aquático.

## REFERÊNCIAS

BAI, G.; BRUSSEAU, M.L.; MILLER R.M. Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. **Journal of Contaminant Hydrology**. v. 25, p.157-170, 1997.

FARIAS, C.B.B.; SARUBBO, L.A. Biosurfactante de *Pseudomonas aeruginosa*: caracterização, aplicação na remoção de poluentes oleosos e otimização da produção. In: 9ª Jornada de Iniciação Científica da UNICAP, v. 9. Recife, 2007.

LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Characterisation, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and Surfaces B: Biointerface**. v. 102, p. 202-209, 2013.

RUFINO R.D., LUNA J.M., MARINHO P.H.C., FARIAS C.B.B., FERREIRA S.R.M., SARUBBO L.A. Removal of petroleum derivative adsorbed to soil by biosurfactant Rufisan produced by *Candida lipolytica*. **Journal of Petroleum Science and Engineering**. v. 109, p. 117–122, 2013.

SANTOS D.K.F. RUFINO R.D., LUNA J.M., SANTOS V.A., SALGUEIRO A.A., SARUBBO L.A. Synthesis and evaluation of biosurfactant produced by *Candida lipolytica* using animal fat and corn steep liquor, **Journal of Petroleum Science and Engineering**. v. 105, p. 43–50, 2013.

---

## AVALIAÇÃO DE BIOSSURFACTANTES COMO DESESTABILIZANTES DE EMULSÕES COM HIDROCARBONETOS

**Rocha e Silva, F.C.P.<sup>1</sup>; Rocha e Silva, N.M.P.<sup>1</sup>; Rufino, R.D.<sup>1</sup>; Luna,  
J.M.<sup>1</sup>; Santos, V.A.<sup>1</sup>;  
Sarubbo, L.A.<sup>1</sup>. padilha.nanda@gmail.com**

<sup>(1)</sup> Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil, FACEPE, CAPES, UNICAP, TERMOPE, CNPq, ANEEL.

## RESUMO

Os derramamentos de petróleo tem se caracterizado como uma problemática ambiental tendo em vista os desastres causados ao ambiente marinho. A maior dificuldade que os especialistas enfrentam no controle e remediação dos ambientes poluídos é a desestabilização das emulsões formadas entre o óleo e a água. Dessa maneira, biossurfactantes obtidos por diferentes espécies de microrganismos foram testados na desestabilização de emulsões modelo A/O e O/A, além das emulsões com óleo motor. A taxa de desestabilização foi determinada, sendo os melhores resultados obtidos para as emulsões modelo tipo A/O através dos biossurfactantes de *Candida lipolytica*, com valores acima de 44% de desemulsificação. Entretanto, para as emulsões com óleo motor, as melhores taxas foram obtidas para o biossurfactante de *Candida sphaerica*, com valores em torno de 40%. Com base nos ensaios realizados e resultados obtidos, é possível observar que a adição de biossurfactante aumentou a eficiência de desemulsificação das emulsões modelo e de óleo motor, sendo possível sugerir testes com variação de pH das emulsões a fim de melhorar ainda mais o desempenho dos biossurfactantes.

**Palavras-chave:** Desemulsificação, Derivados de Petróleo, Tensoativos.

## INTRODUÇÃO

A extração do petróleo nos oceanos é realizada através plataformas fixas ou móveis, que bombeiam o petróleo para o navio ou oleodutos, apresentando um risco iminente a desastres ambientais provenientes de falhas de operação. Dessa maneira, os derramamentos de petróleo tornaram-se um problema ambiental bastante frequente na última década, devido à falta fiscalização das empresas e ao transporte

inadequado entre os processos de upstream e downstream (WIECZOREK, 2006).

Os acidentes ambientais causados por derramamentos de hidrocarbonetos são difíceis de serem controlados, tendo em vista o potencial de contaminação quando os compostos entram em contato com o solo ou o mar, ocasionando a contaminação dos lençóis freáticos ou da micro-biota marinha (LUNA et al., 2013).

Em caso de derrames de óleo no mar, devem ser tomadas todas as medidas cabíveis para que o óleo não venha a atingir os sistemas costeiros. As medidas de contingência denominadas mecânicas, as quais removem o óleo da água e dispõem em outro local, podem ser as primeiras a serem colocadas em prática num acidente, ao mesmo tempo em que se pode atear fogo nas manchas, desde que as condições do mar assim o permitam, isto é, desde que a energia das ondas e correntes não seja um obstáculo difícil de ser vencido. Esta prática não é permitida no Brasil. É importante ressaltar que os métodos mecânicos de limpeza de derrames de óleo no mar, tipicamente, não recuperam mais do que 10 a 15% do produto derramado (OTA, 1991).

Para estimular a regeneração das áreas impactadas, tem sido empregado em diversos países o uso de surfactantes químicos e biológicos como auxiliares no tratamento biológico. A utilização destes agentes promove o aumento da interação interfacial de sistemas água/óleo e promove a

deissorção de compostos orgânicos acelerando a degradação microbiana de vários hidrocarbonetos (GUSMÃO et al., 2010).

Dessa maneira o presente trabalho teve como objetivo o estudo da desestabilização de emulsões óleo/água, através da adição de biossurfactantes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismo***

Diferentes micro-organismos foram utilizados para a produção dos biossurfactantes: a bactéria *Pseudomonas cepacia* (CCT 6659) e as leveduras *Candida lipolytica* (UCP 0988) e *Candida sphaerica* (UCP 0995). Todos os micro-organismos estão depositados no Banco de Culturas do Núcleo de Pesquisa em Ciências Ambientais (NPCIAMB) da Universidade Católica de Pernambuco.

### ***Meios de manutenção***

Para a manutenção das diferentes espécies de *Candida* foi utilizado o meio Yeast Mold Agar (YMA) com a seguinte composição: extrato de levedura (3g/L), extrato de malte (3g/L), D- glicose (10g/L), triptona (5g/L), ágar (5g/L), pH 7. Os constituintes foram solubilizados e esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos.

Analogamente, para a manutenção da espécie de *Pseudomonas* foi utilizado o meio Ágar Nutriente (AN), com a seguinte composição:

extrato de carne (5g/L), peptona (10g/L), NaCl (5g/L), Ágar (5g/L), pH 7. Os constituintes foram solubilizados e esterilizados em autoclave a 121°C por 20 minutos.

### ***Meios de cultivo e condições de produção dos biossurfactantes***

#### ***Biossurfactante de Pseudomonas cepacia***

Meio mineral descrito por Dubey e Juwarkar (2001), acrescido de 2% óleo de fritura (residual) e 2% de milhocina, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 250 rpm e um inoculo de  $10^7$  U.F.C./mL.

#### ***Biossurfactante Candida lipolytica 1***

Meio mineral suplementado com 6% de resíduo de refinaria de óleo de soja e 1% ácido glutâmico, durante 72 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inoculo de  $10^8$  U.F.C./mL.

#### ***Biossurfactante Candida lipolytica 2***

Meio mineral contendo gordura animal 5% e milhocina 2,5%, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inoculo de  $10^4$  U.F.C./mL.

#### ***Biossurfactantes Candida sphaerica***

Água destilada acrescida de 9% de resíduo de refinaria de óleo de soja e 9% de milhocina, durante 144 horas de cultivo, sob agitação de 200 rpm e um inóculo de  $10^4$  U.F.C./mL.

### ***Determinação da tensão superficial***

A tensão superficial foi medida a partir do líquido metabólico livre de células em tensiômetro KSV Sigma 70 (Finland) utilizando-se o anel de NUOY.

### ***Preparação das emulsões modelo água/óleo (A/O) e óleo/água (O/A)***

Emulsões preparadas pela adição das fases oleosas (querosene) e aquosa, contendo 0,01% (v/v) de emulsificantes e agitadas em homogeneizador a 15000 rpm por 5 minutos. A razão volumétrica de fase oleosa para fase aquosa foi de 6:4 (CAIRNS et al., 1982). Para preparar a emulsão modelo O/A, 200 mL de querosene contendo 0,8g/L de Span 80 e 300 mL de água deionizada contendo 1g/L de Tween 80 foram misturados a 15000 rpm por 5 minutos (NADARAJAH et al., 2002).

A emulsão modelo A/O foi obtida pela mistura de 300 mL de querosene contendo 16,7g/L de Span 80 com 200mL de água deionizada 15000 rpm por 5 minutos (HUANG et al., 2009).

O desempenho da desemulsificação foi avaliado calculando-se a taxa de desemulsificação como mostrado abaixo:

$$\text{Desm. \%} = \left[ 1 - \frac{\text{volume da emulsão remanescente}}{\text{volume total da emulsão} + \text{volume de amostra adicionada}} \right] \times 100$$

### ***Teste de desemulsificação para emulsões com óleo motor***

Para o teste de desemulsificação, 2mL do líquido metabólico livre de células contendo cada biossurfactante foi adicionado a tubo graduado contendo 18mL da emulsão de óleo de motor e água na proporção de 1:1 (v/v). Um branco contendo 2mL do meio de produção estéril foi usado, bem como um tubo contendo apenas a emulsão óleo de motor/água. Os tubos foram, então, deixados em repouso à temperatura ambiente. A alteração do volume da fase aquosa foi registrada após 24 horas. O desempenho da desemulsificação também foi avaliado, calculando-se a taxa de desemulsificação como mostrado anteriormente.

## **RESULTADOS**

### ***Determinação das tensões superficiais***

A redução da tensão superficial é utilizada como critério primário para selecionar microrganismos produtores de biossurfactantes, embora agentes emulsificantes e dispersantes não possuam, necessariamente, habilidade em reduzir a tensão superficial (YOUSSEF et al., 2004).

Neste sentido, foram produzidos 4 biossurfactantes, obtidos por diferentes micro-organismos e cultivados em diferentes condições, a fim de analisar a redução da tensão superficial do meio de cultivo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores de tensão superficial para os diferentes micro-organismos testados.

<b>Micro-organismo produtor de biossurfactante</b>	<b>Tensão Superficial (mN/m)</b>
<i>Candida lipolytica</i> (1)	25,0
<i>Candida lipolytica</i> (2)	27,75
<i>Candida sphaerica</i>	25,0
<i>Pseudomonas cepacia</i>	27,57

De acordo com a literatura, a espécie *Pseudomonas* tem sido o microrganismo mais estudado para a produção de biossurfactantes potentes. A maioria dos biossurfactantes produzidos tem demonstrado capacidade de reduzir a tensão superficial para valores que variam em torno de 32-27 mN/m (SILVA et al., 2010). Resultados semelhantes e igualmente satisfatórios foram obtidos pelas espécies de leveduras *C. sphaerica* e *C. lipolytica* (LUNA et al., 2013; RUFINO et al., 2011).

### ***Testes de Desemulsificação***

Sabe-se que os microrganismos são capazes de modificar propriedades das emulsões entre óleo e água, através de sua interação na interface entre as fases (LIU et al., 2011). Bactérias pertencentes aos gêneros *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Alcaligenes* e

*Micrococcus* têm sido testadas como desemulsificantes e vem apresentando resultados satisfatórios (HUANG et al., 2009). Desemulsificantes microbianos possuem baixa toxicidade, biodegradabilidade e alta eficiência sob condições extremas (LIU et al., 2011a).

Os experimentos de desemulsificação foram conduzidos de acordo com Liu et al. (2009). Sendo estes realizados para os quatro biossurfactantes, onde os resultados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

**Tabela 2.** Taxa de desemulsificação (%) para as emulsões modelo.

Micro-organismo produtor de biossurfactante	Tipo de emulsão (%)	
	A/O	O/A
<i>Candida lipolytica</i> (1)	60,15%	0%
<i>Candida lipolytica</i> (2)	44,0%	0%
<i>Candida sphaerica</i>	0%	0%
<i>Pseudomonas cepacia</i>	0%	0%

**Tabela 3.** Taxa de desemulsificação (%) para as emulsões com óleo motor.

Micro-organismo produtor de biossurfactante	Tipo de emulsão (%)	
	Água destilada	Água do mar
<i>Candida lipolytica</i> (1)	37,0%	21,9%
<i>Candida lipolytica</i> (2)	27,3%	26,9%
<i>Candida sphaerica</i>	38,8%	40,6%
<i>Pseudomonas cepacia</i>	0%	0%

Na literatura, é comum encontrar artigos que estudam o efeito da variação de pH nas emulsões estudadas, bem como, a variação de pH nos meios de cultivo dos biossurfactantes, a fim de promover o aumento

da eficiência de desemulsificação (LIU et al., 2011b; LONG et al., 2013; COUTINHO et al., 2013).

Os resultados aqui apresentados foram obtidos sem ajuste de pH. Contudo, os pHs das emulsões modelo e com óleo motor foram medidos, apresentando valores entre 6,0 e 6,8. Testes semelhantes foram realizados por Long et al. (2013) para emulsões modelo, onde foi constatado o aumento da eficiência de desemulsificação de 4% para 78% através da adição de um ramnolípido nas emulsões A/O. No entanto, os melhores resultados de desemulsificação para emulsões modelo A/O ou O/A foram obtidos para os biossurfactantes produzidos pela *C. lipolytica*, os demais microrganismos apresentaram taxa de desemulsificação de 0%, sendo justificada pelo fato de os biossurfactantes terem ocasionado o aumento da emulsão, ou seja, apresentaram característica emulsificante.

Entretanto, para as emulsões com óleo motor, Shin et al. (2008) enfatiza que o aumento de pH é essencial para a potencialização da atividade desemulsificante, pois o efeito da alteração dessa propriedade pode ser associado à manipulação físico-química da performance do biossurfactante. A exposição a ambientes alcalinos torna os biossurfactantes mais hidrofílicos, facilitando o processo de desemulsificação da emulsão. Para a faixa de pH analisada, entre 6,0 e 6,8, os resultados obtidos estão em consonância com os apresentados na literatura, tendo em vista que os biossurfactantes obtidos por *C.*

*lipolytica* e *C. sphaerica* apresentaram resultados superiores 20% de desemulsificação para os ensaios com água destilada e água do mar.

## CONCLUSÃO

A adição de biossurfactante às emulsões com óleo motor promoveu o aumento da eficiência em relação à atividade de desemulsificação.

Em relação às emulsões modelo, houve separação nas emulsões A/O, entretanto um comportamento não similar foi observado quanto às emulsões tipo O/A, onde todos os biossurfactantes testados apresentaram característica emulsificante, fato que pode ser explicado pela não alteração do pH. Dessa maneira, é necessário analisar a eficácia da alteração de pH nas faixas ácidas e alcalinas, a fim de promover a desemulsificação nas emulsões modelo tipo O/A e A/O.

## REFERÊNCIAS

- CAIRNS, L.; COOPER, D.G.; ZAJIC, J. E.; WOOD, J. M.; KOSARIC, N. Characterization of *Nocardia amaral* as potent biological coalescing agent of water-in-oil emulsions. **Appl. Environ. Microbiol.** v.43, p.362-366. 1982.
- COUTINHO, J. O. P. A.; SILVA, M. P. S.; MORAES, P. M.; MONTEIRO, A. S.; BARCELOS, J. C. C.; SIQUEIRA, E. P.; SANTOS, L. L. Demulsifying properties of extracellular products and cells of *Pseudomonas aeruginosa* MSJ isolated from petroleum-contaminated soil. **Bioresource Technology.** v.128, p.646-654. 2013.

DUBEY, K.; JUWAKAR, A. Distillery and curd whey wastes as viable alternative sources for biosurfactant production. **W. J. Microbiol. Biotechnol.**, Amsterdam, v. 17, n. 1, p. 61-69, 2001.

GUSMÃO, C.A.B.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A. Laboratory production and characterization of a new biosurfactant from *Candida glabrata* UCP1002 cultivated in vegetable fat waste applied to the removal of hydrophobic contaminant. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 26, p. 1683-1692, 2010.

HUANG, X. F.; LIU, J.; LU, L. J.; WEN, Y.; XU, J. C.; YANG, D. H.; ZHOU, Q. Evaluation of screening methods for demulsify bacteria and characterization of lipopeptide bio-emulsifier produced by *Alcaligenes sp.* **Bioresour. Technol.** v.100, p. 1358-1365. 2009.

LIU, J.; HUANG, X. F.; LU, L. J.; XU, J. C.; WEN, Y.; YANG, D. H. Comparison between waste frying oils and paraffin as carbon source in the production of biodemulsifier by *Alcaligenes sp.* S-JS-1. **Bioresour. Technol.**, v.24, n. 100, p. 6481-9487, 2009.

LIU, J.; LU, L. J.; HUANG, X. F.; SHANG, J. J.; LI, M. X.; XU, J. C.; DENG, H. P. Relation ship between surface physico chemical properties and its demulsifying ability of an alkaliphilic strain of *alcaligenes sp.* S-XJ-1. **Process Biochem.** v.46, p.1456-1461. 2011a.

LIU, J.; PENG, K.; HUANG, X.; LU, L.; CHENG, H.; YANG, D.; ZHOU, Q.; DENG, H. Application of waste frying oils in the biosynthesis of biodemulsifier by a demulsifying strain *Alcaligenes sp.* S-XJ-1. **Journal of Environmental Sciences.** v.23, p.1020-1026. 2011b.

LONG, X.; ZHANG, G.; SHEN, C.; SUN, G.; WANG, R.; YIN, L.; MENG, Q. Application of rhamnolipid as a novel biodemulsifier for destabilizing waste crude oil. **Bioresour. Technol.** v.131, p.1-5. 2013.

LUNA, J. M., RUFINO, R. D., SARUBBO, L. A., CAMPOS-TAKAKI, G. M. Characterization, surface properties and biological activity of a biosurfactant produced from industrial waste by *Candida sphaerica* UCP0995 for application in the petroleum industry. **Colloids and surface**, p. 36, 2013.

MILLIOLI, V.S. **Avaliação da potencialidade da utilização de surfactantes na biorremediação de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo.** Rio de Janeiro, 2009. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

NADARAJAH, N.; SINGH, A.; WARD, O. Evaluation of mixed bacterial culture for de-emulsification of water-in-petroleum oil emulsions. *World J. Microbiol. Biotechnol.*v.18, p.435-440, 2002.

OTA – Office of Technology Assessment. **Biorremediation for marine oil spills – Background paper.** Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1991. 36p.

RUFINO, R. D.; LUNA, J. M.; FARIAS, C. B. B.; SANTOS, V. A.; SARUBBO, L. A. Biosurfactante de baixo custo utilizado na remoção de contaminantes ambientais derivados de petróleo. **Simpósio Nacional de Bioprocessos**, 2011.

SHIN, K. H.; KIM, K. W.; KIM, J. Y.; LEE, K. E. HAN, S. S. Rhamnolipid morphology and phenanthrene solubility at different pH values. *J. Environ. Qual.* v.37, p.509-514, 2008.

WIECZOREK, A. **Mapeamento de sensibilidade a derramamento de petróleo do parque estadual da Ilha de Cardoso – PEIC e áreas de entorno.** Rio Claro, 2006. Dissertação (Mestrado em Geociências e Meio Ambiente), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro, São Paulo, 2006.

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. 399-347, 2004.

---

## **AVALIAÇÃO DE DUAS NASCENTES DA CAATINGA ATRAVÉS DE MACROINVERTEBRADOS AQUÁTICOS**

**Soares, R. K. S.<sup>(1)</sup>; Cunha, J. C. S.<sup>(1)</sup>; Ribeiro, A. S.<sup>(1)</sup>; Rodrigues, G. G.<sup>(1)</sup>**  
rayanny.soares@yahoo.com.br

## RESUMO

A utilização dos macroinvertebrados aquáticos como forma de avaliar a qualidade da água oferece vantagens quando comparada com outros métodos, como a facilidade na amostragem além de seu ciclo de vida e pouca mobilidade. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade da água de duas nascentes do Alto Trecho do Rio Pajeú – Pernambuco, a partir da análise dos macroinvertebrados bentônicos. As coletas foram realizadas em duas nascentes semiperenes, localizadas em Quixaba-PE, em Julho de 2013, em seis pontos amostrais. O método de coleta manual, com uso de rede de mão (0,01mm de abertura) foi empregado para a amostragem. Para a avaliação da qualidade da água foi utilizado a riqueza e abundância dos táxons e o índice BMWP. Foi coletado um total de 139 indivíduos, dos quais 66 indivíduos pertencentes a nascente do riacho Baixio e 73 a nascente do riacho Salobra. No Baixio houve maior representatividade de Ostracoda (Crustacea) com 64%, enquanto que no Salobra Thiaridae (Mollusca) apresentou 32%. O índice BMWP foi maior em Salobra do que no Baixio, mostrando que de acordo com a pontuação, a qualidade da água do Salobra é melhor que em Baixio, embora a água apresente teor de salinidade.

**Palavras-chave:** Alto Trecho do Pajeú; Índice BMWP; Qualidade da Água.

## INTRODUÇÃO

Na relação homem e meio ambiente em áreas rurais, principalmente no semiárido brasileiro, as condições de vida podem chegar a ser precária, devido à escassez de recursos naturais, como a água. A preservação dos cursos de água, o seu uso consciente e sustentável, deve fazer parte do dia-a-dia das pessoas que dependem do mesmo para viver, seja para uso próprio, para agricultura ou cuidado animal.

O semiárido nordestino é caracterizado por ter um regime de chuvas irregular, chovendo forte e rapidamente mediante diferentes períodos do ano, concentrados em uma única estação. Apesar de suas temperaturas elevadas e alta taxa de evapotranspiração, os rios do semiárido podem ser classificados de acordo com sua perenidade como intermitentes ou temporários. Os temporários são aqueles em que sua duração depende de chuvas e cheias, e perenes, os que não secam nunca, possuindo curso de água durante o ano inteiro (LEAL; TABARELLI; SILVA, 2003).

São considerados bons indicadores biológicos aqueles que, mediante a sua condição e disposição, servem como indicadores de impacto de um determinado meio, tanto impacto natural quanto provido pelo homem, reagindo rapidamente a essas influências externas. Estes são amplamente usados como bioindicadores, pois possuem vantagens significativas como o ciclo de vida curto, serem relativamente grandes, reagirem rapidamente a qualquer tipo de impactos (mudança de pH, concentração de solutos, oxigenação, temperatura, etc.), serem abundantes e terem uma grande diversidade, e, em sua maioria, sedentários, permitindo, assim, uma fácil coleta, entre outros fatores (PERESCHI, 2008).

Os macroinvertebrados bentônicos são organismos que possuem tamanho maior que 200 $\mu$ m, sendo seus principais representantes insetos, moluscos, crustáceos, dentre outros. Possuem diversos tipos de hábito, como detritívoros, herbívoros e carnívoros. Eles habitam cursos

d'água lóticos e lênticos, tais como folhas, madeiras, detritos e troncos durante toda ou parte do seu ciclo de vida (ROSENBERG; RESH, 1993; HAUER; RESH, 1996). Os macroinvertebrados participam da ciclagem dos nutrientes, da alimentação de organismos das cadeias tróficas superiores, do processo de decomposição e podem ser usados como indicadores de impactos ambientais.

Desde meados do século passado, mas precisamente no final da década de 1960, os países europeus passaram a utilizar metodologias de avaliação da qualidade da água baseadas em índices bióticos de macroinvertebrados aquáticos. No ano de 1976, na Grã-Bretanha, um grupo de trabalho foi formado para discutir e sintetizar o conhecimento acerca dos índices de qualidade ambiental até então conhecidos (ARMITAGE; MOSS, D.; WRIGHT; FURSE, 1983). Surgindo daí um sistema de monitoramento denominado “Biological Monitoring Working Party score system” (BMWP) (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

A avaliação de áreas ou ecossistemas de importância socioambiental, como rios, nascentes, lagos, açudes, represas e brejos da Caatinga, são de suma importância para a conservação e/ou recuperação destes, visando manter conhecidas as condições reais necessárias para a manutenção de vida no local (BAPTISTA; BUSS; EGLER, 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da água de duas nascentes do Alto Trecho do Pajeú, a partir da análise dos

macroinvertebrados aquáticos. Ambas nascentes são divisoras de água do Estado da Paraíba e Pernambuco, contribuindo de forma significativa para a formação da bacia hidrográfica do Rio Pajeú.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A Bacia hidrográfica do Rio Pajeú está localizada entre as coordenadas 07°16'20" e 08°56'01" de latitude sul, e 36°59'00" e 38°57'45" de longitude oeste, entre os Estados Pernambuco e Paraíba, sendo uma das sub-bacias do Rio São Francisco e a mais extensa de Pernambuco, desaguardo no Rio São Francisco. São incluídos dentro desta área os municípios de Afogados da Ingazeira, Betânia, Brejinho, Calumbi, Flores, Ingazeira, Itapetim, Quixabá, Santa Cruz da Baixa Verde, Santa Terezinha, São José do Egito, Serra Talhada, Solidão, Tabira, Triunfo e Tuparetama (RIBEIRO; SOUTO; RODRIGUES, 2012). No alto trecho do Rio Pajeú são localizadas as nascentes dos primeiros formadores da rede hidrográfica, onde para este estudo, foram escolhidas duas nascentes semi-perenes, localizadas no município de Quixaba, divisa geográfica entre Pernambuco e Paraíba. As nascentes estudadas foram a nascente do riacho do Baixio (7°44'14.19"S e 37°54'44.68"O) e a nascente do riacho Salobra (7°42'56.67"S e 37°54'58.26"O).

Em cada nascente de cabeceira foram escolhidos três pontos amostrais da à jusante da nascente. Foi utilizado o método de coleta manual, com rede de mão de abertura de malha de 100µm. Através de movimentos horizontais, rente ao substrato de cada nascente, foi realizado um

esforço amostral de 5 minutos por ponto. No total foram amostrados 6 pontos de coleta, totalizando um esforço de 15 minutos em cada nascente. O material coletado foi acondicionado em frascos com formol 4% e transportados para o laboratório. Em seguida, os macroinvertebrados foram triados, separados em grupos taxonômicos e conservados em álcool 70% para posterior identificação específica. A identificação foi feita a partir de literatura especializada e consulta a especialistas. Para a avaliação da qualidade da água das nascentes foi utilizada a riqueza, abundância e o índice BMWP.

O método BMWP utiliza os macroinvertebrados aquáticos, identificados ao nível taxonômico de família, a partir de um sistema de pontuação para a determinação da qualidade da água (PELLI, 2001). De forma que o índice BMWP agrupa os macroinvertebrados bentônicos em nove grupos, classificando-os em diferentes níveis de tolerância, variando de 1 a 10. Os organismos mais sensíveis são os que possuem maior pontuação e os mais tolerantes as menores (LOYOLA, 2000). Quanto mais tolerante e/ou resistente o grupo, maior sua ocorrência em determinado ambiente degradado. Quanto mais sensível o grupo, menor sua ocorrência em ambientes poluídos, sendo passível comparar o somatório das pontuações de diferentes sistemas aquáticos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados no total 139 macroinvertebrados bentônicos, sendo 66 indivíduos na nascente do riacho Baixio e 73 na nascente do riacho Salobra. A nascente do Baixio apresentou sete taxas nos três pontos de coleta, sendo o mais abundante Ostracoda (64%), seguido por Oligochaeta (17%) e Gastropoda (12%). A partir do índice BMWP foi encontrado um escore total de 24 pontos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Macroinvertebrados bentônicos da nascente do riacho do Baixio, Quixaba-PE, coletados de 04 a 07 de julho de 2013.

Macroinvertebrados bentônicos	Família	Pontos			Média (±dp)	Escore BMW P
		1	2	3		
Annelida-Oligochaeta		6	0	5	3,67 (±3,2)	1
Mollusca-Basommatophora	Planorbidae	2	1	1	1,33 (±0,6)	3
Mollusca-Mesogastropoda	Thiaridae	1	0	3	1,33 (±1,5)	6
Crustacea-Copepoda		1	0	0	0,33 (±0,6)	-
Crustacea-Ostracoda		2	14	26	14,0 (±12,0)	2
Hydracarina		1	0	0	0,33 (±0,6)	4
Insecta-Diptera	Ceratopogonidae	1	0	0	0,33 (±0,6)	4
Insecta-Diptera	Stratiomyidae	1	0	1	0,67 (±0,6)	4
<b>TOTAL</b>	<b>Abundância</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>35</b>		<b>Escore total 24</b>
	<b>Riqueza de taxa</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>5</b>		

A nascente do Salobra apresentou doze taxas nos três pontos de coleta, sendo o mais abundante Thiaridae (32%), seguido por Chironomidae e

Hydrophilidae (19%) e Anisoptera (13,5%). O escore do índice BMWP apresentou no total de 34 pontos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Macroinvertebrados bentônicos da Nascente Salobra, Quixaba-PE, coletados de 04 a 07 de julho de 2013.

Macroinvertebrados bentônicos	Família	Pontos			Média ( $\pm$ dp)	Escore BMWP
		1	2	3		
Annelida-Hirudinae		0	2	0	0,67 ( $\pm$ 1,2)	3
Mollusca- Basommatophora	Planorbidae	1	2	0	1,0 ( $\pm$ 1,0)	3
Mollusca-Mesogastropoda	Thiaridae	1	5	9	5,0 ( $\pm$ 4,0)	6
Crustacea-Ostracoda		0	0	1	0,33 ( $\pm$ 0,6)	2
Insecta-Diptera	Culicidae	0	0	2	0,67 ( $\pm$ 12,0)	2
Insecta-Diptera	Chironomidae (larva)	5	4	5	4,67 ( $\pm$ 0,6)	2
	Chironomidae (pupa)	0	0	1	0,33 ( $\pm$ 0,6)	-
Insecta-Coleoptera	Dysticidae	1	0	1	0,67 ( $\pm$ 0,6)	5
Insecta-Coleoptera	Hydrophilidae	1	1 2	1	4,67 ( $\pm$ 6,4)	6
Insecta-Coleoptera	Noteridae	0	6	1	2,33 ( $\pm$ 3,2)	3
Insecta-Odonata	Anisoptera	0	4	6	3,33 ( $\pm$ 3,1)	8
	Zygoptera	0	1	0	0,33 ( $\pm$ 0,6)	6
Insecta-Hemiptera		0	0	1	0,33 ( $\pm$ 0,6)	-
<b>TOTAL</b>	<b>Abundância</b>	<b>9</b>	<b>3 6</b>	<b>2 8</b>		<b>Escore total</b>
	<b>Riqueza de taxa</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>1 0</b>		<b>34</b>

Comparando as duas nascentes, verificamos que a nascente do riacho do Baixo apresenta-se com menor pontuação do índice BMWP, apresentando também menor riqueza e abundância dos táxons. O taxa com maior pontuação foi o gastrópode Thiaridae. Porém a abundância dos ostracodas mostrou-se bem maior do que no riacho Salobra. Neste, os taxóns que apresentaram maior pontuação foram os odonatas (Anysoptera e Zygoptera), seguido de Thiaridae, Hydrophilidae e Dysticidae. A partir deste índice, tem-se que o riacho Salobra possui o maior escore BMWP do que o riacho do Baixo, apresentando uma melhor qualidade da água. No entanto, a salinidade média do riacho Salobra que é de 1,70 mg/L, o que torna sua água não apropriada para o consumo humano, sendo utilizada em períodos de escassez para a dessedentação animal. Esta característica pode ser comprovada pela baixa abundância de Ostracoda, quando comparado com o riacho do Baixo, que possui salinidade abaixo de 0,5 mg/L. A abundância de Ostracoda aumentou exponencialmente à medida que se distanciava da nascente do riacho, assim como abundância total da fauna, decrescendo a riqueza de taxas. A maioria dos táxons encontrados no riacho do Baixo apresenta-se como tolerantes (Acari, Ceratopogonidae, Planorbidae e Stratiomyidae) e/ou indicadores de poluição (Oligochaeta).

Estudos que utilizaram o índice BMWP como ferramenta de medição dos níveis de tolerância a diferentes graus de poluição mostram que é possível o uso e aplicação deste índice, desde que associado a outras

variáveis ambientais, como a riqueza de espécies e/ou abundância dos táxons (PELLI, 2001; FERNANDES, 2007; SILVA, 2007; OLIVEIRA, 2007; MONTEIRO et al., 2008, MOREIRA, 2012).

Com isso, o estudo indica que, embora as nascentes do Baixio e Salobra estejam localizadas em um ambiente com resquício de mata ciliar, de algum modo sofrem algum tipo de interferência antrópica como o uso do solo para agricultura, assoreamento, dessedentação do gado, entre outras atividades. Isto torna este sistema impróprio para o consumo humano, não apenas pela salinidade da água, mas também pelo risco de contaminação por matéria orgânica.

## **CONCLUSÃO**

Os macroinvertebrados bentônicos mostraram-se bons bioindicadores da qualidade da água das nascentes.

A nascente do riacho Salobra apresentou maior riqueza e abundância de organismos, apresentando também o maior índice BMWP, porém sua água possui teores de NaCl, o que torna esta água imprópria para o consumo humano.

A nascente do riacho do Baixio apresentou menor riqueza e abundância dos táxons, apresentando o menor índice BMWP, quando comparado ao riacho Salobra. Estes valores podem estar relacionados ao uso do solo pela agricultura, assoreamento e falta de conservação da mata

circundante e contaminação da água por fezes de animais. A maior abundância de Ostracoda neste corpo d'água pode servir como indicador da qualidade da água.

## REFERÊNCIAS

ARMITAGE, P. D.; MOSS, D.; WRIGHT, J. F.; FURSE, M. T. 1983. The Performance of a New Biological Water Quality Score System Based on Macroinvertebrates Over a Wide Range of Unpolluted Running-Water Sites. **Water Research**. V. 17, n. 3, p.333-347.

BAPTISTA, D. F.; BUSS, D. F.; EGLER, M. 2003. **Macroinvertebrados como bioindicadores de ecossistemas aquáticos contaminados por agrotóxicos**. In: Frederico. (Org.). Agrotóxico: É veneno ou é Remédio. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. 2003. Bases Conceituais para aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 465-473.

FERNANDES, A. C. M. 2007. Macroinvertebrados bentônicos como indicadores biológicos de qualidade da água: proposta para elaboração de um índice de integridade biológica. **Tese de Doutorado**. Universidade de Brasília, Brasília.

HAUER, F. R.; V. H. RESH. 1996. Benthic macroinvertebrates, p. 339-369. In: F.R. HAUER & G. A. LAMBERTI (Eds). **Stream ecology**. San Diego, Academic Press, 674p.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. 2003. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Recife: Editora da Universidade Federal de Pernambuco. v. 1. 815p.

LOYOLA, R. G. N. 2000. Atual estágio do IAP no uso de índices biológicos de qualidade. **Anais do V Simpósio de Ecossistemas Brasileiros: Conservação**. ACIESP, São Paulo, p. 46-52.

MONTEIRO, T. R.; OLIVEIRA, L. G.; GODOY, B. S. 2008. Biomonitoramento da qualidade de água utilizando macroinvertebrados bentônicos: adaptação do índice biótico BMWP à bacia do Rio Meia Ponte-GO. **Oecol. Bras.**, 12 (3): 553-563.

MOREIRA, A. I. G. 2012. Avaliação do impacto das descargas da ETAR de Castro Daire no Rio Paiva. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Porto.

OLIVEIRA, A. M. 2007. Macroinvertebrados bentônicos bioindicadores de qualidade de água em um fragmento de Mata Atlântica (MG). **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PELLI, A. 2001. Proposta de índice para avaliação da qualidade de água em ambientes lóticos: estudo de aplicação no córrego Gameleira (Uberaba, MG). **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

PERESCHI, D. C. 2008. Macroinvertebrados bentônicos como indicadores de qualidade de água em rios e reservatórios da Bacia Hidrográfica do Tiete-Jacaré (SP). **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo.

PIEDRAS, S. R. N.; BAGER, A.; MORAES, P. R. R.; ISOLDI, L. A.; FERREIRA, O. G. L.; HEEMANN, C. 2006. Macroinvertebrados como bioindicadores da qualidade de água na Barragem de Santa Bárbara, Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, **36** (2): 494-500.

RIBEIRO, A. S.; SOUTO, A. C. G.; RODRIGUES, G. G. 2012. Degradação ambiental, manejo do solo e biodiversidade em áreas de nascentes no semi-árido Pernambucano. **Conferência da Terra**, **4**: 659 – 670.

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. 1993. **Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrate**. New York: Chapman & Hall, 488 p.

SILVA, N. T. C. 2007. Macroinvertebrados bentônicos em áreas com diferentes graus de preservação ambiental na Bacia do Ribeirão Mestre d'Armas, DF. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília, Brasília.

---

## AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA *Eichhornia crassipes* EM ÁGUAS OLEOSAS

Nascimento, L.A.<sup>(1)</sup>; Lima, B.G.A.<sup>(1)</sup>; Luna, J.M.<sup>(1)</sup>; Rufino, R.D.<sup>(1)</sup>; Sarubbo,  
L.A.<sup>(1)</sup>; Santos, V.A.<sup>(1)</sup>

e-mail: lais.an@yahoo.com.br

(1) Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP, Recife – PE, Brasil, ANEEL; Termopernambuco S. A.; CNPq; CAPES; FACEPE.

## RESUMO

A *Eichhornia crassipes*, macrófita popularmente conhecida como Aguapé, é uma poderosa arma natural contra a poluição hídrica. Seu sistema radicular absorve diversas substâncias e as transforma em nutrientes, mesmo que estas sejam consideradas tóxicas e incomuns ao seu metabolismo. Portanto, devido a este mecanismo eficiente de filtração de poluentes e por se tratar de uma técnica sem aditivos químicos, a utilização de macrófitas é considerada uma alternativa viável e sustentável no tratamento de águas residuárias, incluindo as que apresentam fração oleosa. Objetivou-se com este trabalho estudar a resistência de mudas de *Eichhornia crassipes* expostas a diversas concentrações de petróleo, além de avaliar a capacidade das macrófitas de remoção destes poluentes. As mudas foram cultivadas por 79 dias em baldes contendo água e concentrações de óleo que variaram de 10 ppm a 30 ppm. Durante este período foram analisados diversos aspectos das mudas como a coloração das folhas, a mortalidade, brotamento de flores e remoção do óleo. A qualidade da água foi analisada através do acompanhamento do pH e da condutividade. Os resultados mostraram que as mudas resistiram bem às condições impostas e que assimilaram de forma eficiente os íons presentes na água, indicando uma excelente remoção de poluentes.

**Palavras-chave:** Macrófitas, Tratamento de Efluentes, Fitorremediação.

## INTRODUÇÃO

De acordo com Neves (apud CASTRO et al., 2011) "O aguapé (*Eichhornia crassipes*) é uma macrófita aquática pertencente à família Pontederiaceae. É nativa da Amazônia, porém encontra-se em todo o mundo, possuindo intensa capacidade de crescimento em diferentes regiões". Possui pequeno porte e é composta por inflorescências de

coloração lilás que acarretam à planta uma aplicação ornamental. Sua reprodução é dada pela propagação vegetativa com a formação de estalões na base do pecíolo foliares esponjosos que por sua vez são como bolsas de ar que mantêm a aguapé sobre a lâmina d'água enquanto suas raízes se encontram submersas, a caracterizando como uma macrófita flutuante.

O sistema radicular da aguapé atua como um filtro, absorvendo os nutrientes e outros elementos encontrados na água, mesmo que estes se encontrem em quantidades elevadas ou sejam considerados poluentes como por exemplo metais pesados e óleos. Segundo Tanner (apud SANTOS, 2012) este caráter biossorvente permite que as macrófitas sejam utilizadas no tratamento de águas residuárias, uma vez que apresenta vantagens como a remoção eficiente de diversos poluentes graças à sua alta capacidade de assimilação de nutrientes e grande tolerância às características físicas e químicas do efluente.

O objetivo deste presente trabalho foi estudar a resistência de mudas de *Eichhornia crassipes* expostas a diversas concentrações de óleo, além de avaliar a capacidade das macrófitas de remoção destes poluentes através de análises periódicas do pH e da condutividade elétrica da água em que se encontravam.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta e Cultivo das Macrófitas***

As mudas utilizadas nos experimentos foram coletadas em um açude localizado em Apipucos, bairro de Recife - PE. Foram selecionadas 30 mudas, as quais foram distribuídas em 30 baldes com capacidade de 12 litros cada. Os baldes foram separados em cinco séries e preenchidos até a marca de sete litros com os seguintes conteúdos: a) série A: cinco baldes contendo apenas água; b) série B: cinco baldes contendo água e 10 ppm de óleo lubrificante; c) série C: cinco baldes contendo água e 15 ppm de óleo lubrificante; d) série D: cinco baldes contendo água e 20 ppm de óleo lubrificante; e) série E: cinco baldes contendo água e 25 ppm de óleo lubrificante; f) série F: cinco baldes contendo água e 30 ppm de óleo lubrificante.

Após o preenchimento, as 30 macrófitas foram etiquetadas e ordenadas cada uma a seu balde correspondente. Os baldes (Figura 01) ficaram dispostos em uma área reservada e parcialmente coberta até o final dos experimentos.



**Figura 1.** Baldes contendo macrófitas.

### ***Acompanhamento dos experimentos***

O acompanhamento das mudas foi realizado semanalmente, onde foram observados alguns aspectos como a coloração das folhas, o surgimento de inflorescências, mortalidade e remoção do óleo. Mudas com folhas contendo mais de 50% de coloração amarelada foram consideradas aptas ao descarte. A coleta de amostras da água oleosa de cada balde para análise de pH e condutividade elétrica também foi realizada semanalmente, afim de se manter um acompanhamento das condições as quais as macrófitas estavam sendo submetidas e quais as alterações as plantas provocavam no meio.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o acompanhamento dos experimentos foi observado que as mudas se reproduziram nos baldes, devido ao surgimento de inflorescências e de brotos, indicando que a espécie se adaptou muito bem às condições impostas, conseguindo extrair nutrientes necessários para a sua sobrevivência da mistura água-óleo. Foi observada também uma redução da concentração do óleo através da aparência límpida da água ao longo do experimento, o que apontou uma remoção eficiente pelas macrófitas uma vez que estas apresentaram raízes com resíduos do poluente.

As macrófitas apresentaram um elevado grau de adaptação às condições impostas, uma vez que apesar de no fim do experimento cerca de 60% das mudas exibirem coloração amarelada em poucas folhas, nenhuma foi descartada durante os 79 dias de experimento. Foi observado o surgimento de inflorescências e de estalões, indicando que apesar das limitações as mudas conseguiram se adaptar bem as condições impostas.

As análises de pH nos mostraram grandes variações durante o período de experimento em todos os baldes (Tabela 1), que podem ser atribuídas à decomposição de folhas que se desprenderam das mudas e que permaneceram no balde, uma vez que há a liberação de CO<sub>2</sub> na decomposição da matéria orgânica e posterior formação de ácido carbônico alterando o pH do meio.

**Tabela 1.** Médias dos valores de pH nos 30 baldes contendo macrófitas e variadas concentrações de óleo.

Dias de experimento	pH					
	H <sub>2</sub> O	10ppm	15ppm	20ppm	25ppm	30ppm
0	7,38	7,4	7,3	7,32	8,3	7,74
7	5,95	6,71	6,56	6,61	6,73	6,72
14	6,95	7,05	6,85	6,96	6,87	6,96
22	7,02	6,84	6,81	6,87	6,91	6,96
28	6,68	6,75	6,76	6,79	6,76	6,68
36	7,47	7,49	7,54	7,73	7,64	7,99
46	6,92	6,78	6,77	6,72	7	7,43
51	7,98	7,44	7,56	7,48	6,9	6,99
58	6,97	7,06	7,19	6,79	8,2	7,69
67	5,68	5,89	5,59	5,15	5,59	5,07
72	7,78	7,18	6,83	6,71	6,54	6,43
79	5,31	5,49	5,72	5,93	6,05	5,99

As análises apresentaram uma grande diminuição da condutividade elétrica na segunda semana de experimento em todos os baldes, permanecendo constante nas semanas seguintes (Tabela 2). Esta redução brusca da condutividade elétrica em todos os baldes demonstra que houve uma assimilação eficiente de íons pelas macrófitas. A estabilidade desses valores baixos indica que além de assimilar bem, as macrófitas conseguiram reter os poluentes impedindo que estes retornassem à água ao longo de todo o experimento.

**Tabela 2.** Médias dos valores de condutividade elétrica nos 30 baldes contendo macrófitas e variadas concentrações de óleo.

Dias de experimento	Condutividade Elétrica (mS)					
	H <sub>2</sub> O	10 ppm	15 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm
0	5,42	5,38	6,08	5,6	2,15	1,92
7	0,108	0,118	0,161	0,16	0,174	0,233
14	0,058	0,083	0,114	0,112	0,12	0,189
22	0,036	0,036	0,04	0,059	0,044	0,086
28	0,062	0,03	0,03	0,04	0,03	0,06
36	0,01	0,06	0,03	0,08	0,03	0,04
46	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,05
51	0,02	0,02	0,01	0,02	0,03	0,03
58	0,03	0,04	0,02	0,02	0,03	0,03
67	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
72	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,05
79	0,07	0,04	0,04	0,03	0,02	0,05

## CONCLUSÃO

A espécie *Eichhornia crassipes* se adaptou e se desenvolveu muito bem a águas oleosas;

A *Eichhornia crassipes* apresentou excelentes resultados de remoção e retenção de resíduos oleosos, reforçando a viabilidade seu uso no tratamento de efluentes oleosos.

## REFERÊNCIAS

BULLER, Luz Selene. **Modelagem sistêmica do ciclo de vida do aguapé no pantanal e análise do uso desta biomassa para a produção de bio-óleo e bio-fertilizante**. 2012. 169 p. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

CASTRO, E.M.; OLIVEIRA C.; PASQUAL, M.; PEREIRA, F.J.; PIRES, M.F. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância à contaminação por arsênio. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, n.2, p. 259-267, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pd/v29n2/a03v29n2.pdf>>. Acesso em: 19 ago. 2013

SANTOS, Alexandre Augusto Oliveira. **Sustentabilidade ambiental da criação de camarões de água doce e uso de aguapé no tratamento dos efluentes**. 2012. 92 p. Tese para título de Doutor em Aquicultura. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2012.

SANTOS, Patrícia Vieira dos. Impactos ambientais causados pela perfuração de petróleo. Cadernos de Graduação - Ciências Exatas e Tecnológicas. Sergipe, v. 1, n. 15, p. 153-163, out. 2012. Disponível em: <<https://periodicos.set.edu.br/index.php/cadernoexatas/article/view/297>>. Acesso em: 08 set. 2013.

---

## AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DA ESPÉCIE *Miconia minutiflora* (MELASTOMATACEAE)

Borba, E.F.O.<sup>(1)</sup>; Nerys, L.L.A.<sup>(1)</sup>; Leite, T.C.C.<sup>(1)</sup>; Araújo, L.C.C.<sup>(1)</sup>; Carrazzoni, A.S.H.S.G.<sup>(1)</sup>; Barros, A.L.S.<sup>(1)</sup>; Silva, T.G.<sup>(1)</sup>  
elizabethfernanda\_7@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

### RESUMO

A família Melastomataceae, engloba mais de 4570 espécies, das quais ¼ pertence ao gênero *Miconia*. Espécies de *Miconia* possuem as atividades antimicrobiana, analgésica e antitumoral. Diante do potencial farmacológico do gênero *Miconia*, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda e a atividade anti-inflamatória, através do ensaio da peritonite induzida por carragenina, dos extratos hexânico, acetato de etila e metanólico de *Miconia minutiflora* em camundongos. A toxicidade foi realizada segundo a orientação da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE). Na peritonite, após os tratamentos e indução da inflamação na

cavidade peritoneal, o exsudato foi coletado para análise da migração leucocitária. Na toxicidade aguda, não houve diferença entre o peso dos animais, peso dos órgãos e consumo de água e ração, em relação ao grupo controle. Também não houve alterações nos parâmetros hematológicos analisados. No teste da peritonite, o extrato em acetato de etila reduziu a migração leucocitária, destacando-se a dose de 100 mg/kg (74% de inibição), em relação ao controle. Os resultados indicam que os extratos de *M. minutiflora* possuem baixa toxicidade e que o extrato acetato de etila apresentou atividade anti-inflamatória promissora. Estudos fitoquímicos e farmacológicos estão em andamento para caracterização química e farmacológica da espécie.

**Palavras-chave:** Melastomataceae, Toxicidade, Peritonite.

## INTRODUÇÃO

O processo inflamatório caracteriza-se como uma resposta tecidual às injúrias causadas por agentes químicos, físicos, biológicos ou substâncias irritantes. Dentre os eventos envolvidos na resposta inflamatória, a liberação de diversos mediadores característicos para cada etapa da inflamação promove as diversas alterações relacionadas ao processo como a migração leucocitária para o tecido inflamado (FRANCISCHETTI et. al., 2010).

A utilização dos anti-inflamatórios tradicionais disponíveis no mercado está associada a uma gama de efeitos colaterais tradicionais. Diante disto, a procura por plantas medicinais eficazes para o tratamento das doenças que acometem a população e com menos efeitos colaterais tem se intensificado. Com a descoberta dos princípios ativos naturais e os avanços da química farmacêutica, muitos dos medicamentos utilizados

pela população de diversos países são oriundos de plantas. Diante da pequena produção de medicamentos fitoterápicos no Brasil, a OMS (Organização Mundial da Saúde) recomenda a fitoterapia como auxílio primário no tratamento de doenças (ABIFITO, 2001).

A família Melastomataceae está entre o grupo de famílias mais abundantes encontradas nas Angiospermas, sendo representadas por mais de 160 gêneros e 4.570 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América (RENNER et.al., 1993). Dentre as espécies presentes nesta família, o gênero *Miconia* destaca-se pela sua diversidade do número de espécies arbóreas, arbustivas ou de árvores de pequeno a médio porte, com mais de 1.056 espécies encontradas em toda América Latina, representando  $\frac{1}{4}$  das espécies conhecidas entre as Melastomataceae. No Brasil, encontra-se cerca 206 espécies, sendo 122 consideradas endêmicas abrangendo todo o sudeste brasileiro (GOLDENBERG, 2012).

Estudos realizados com os extratos brutos e compostos isolados de algumas espécies de *Miconia* demonstram-se satisfatórios, apresentando atividades antimicrobiana, analgésica, anti-oxidantes e antitumoral, ressaltando a importância da utilização de plantas para estudos farmacológicos (QUEIROZ et. al., 2011; PIERONI et. al., 2011).

Diante do que foi exposto, este trabalho visa contribuir para a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos de origem natural através da

avaliação da toxicidade aguda dos extratos de *Miconia minutiflora* e investigação das suas propriedades anti-inflamatórias.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção do Material vegetal***

O material botânico foi identificado pelo botânico MSc. Earl Celestino de Oliveira Chagas e depositado no herbário do Instituto de Meio Ambiente do estado de Alagoas (IMA-MAC).

### ***Métodos para a obtenção dos extratos***

As partes aéreas da espécie coletada foram colocadas em uma estufa com temperatura controlada e constante renovação de ar por um período de quatro dias. Posteriormente, a mesma foi moída em moinho de facas. Para a obtenção do extrato bruto, utilizou-se 300 gramas da planta moída, estas foram maceradas, protegidas da incidência da luz durante sete dias e mantidas em temperatura ambiente.

Os solventes utilizados para a extração foram hexano (hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH). Os extratos produzidos foram o

hexânico (2 g, com rendimento de 0,7%), acetato de etila (3 g e rendimento de 1%) e metanólico (10 g e rendimento de 3%).

### ***Animais experimentais e procedimentos éticos***

Foram utilizados camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) pesando entre 20 e 25 gramas, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno com grades de aço inoxidável e forradas com maravalha e mantidos em temperatura de 22±1°C e luminosidade controlada com ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à água e ração balanceada.

Todos os experimentos realizados estavam de acordo com as normas estabelecidas pelo Comitê Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), sob o protocolo de número 23076.037561/2010-66.

### ***Toxicidade Aguda***

Para a avaliação da Toxicidade aguda dos extratos brutos de *Miconia minutiflora* utilizou-se a metodologia recomenda pela *Organization for Economic Cooperation and Development -OECD 423* (OECD, 2001).

A avaliação da Toxicidade aguda foi realizada através da administração por via oral dos extratos hexânico, acetato de etila e metanólico de

*Miconia minutiflora* na dose de 2.000 mg/kg. Foram utilizados 4 grupos, incluindo o controle, cada um contendo 3 animais fêmeas totalizando 12 animais para o experimento. Os extratos que não promoveram óbito foram considerados não tóxicos. Os extratos hexânico e acetato de etila foram solubilizados com solução salina e *tween* 80 5 %. O extrato metanólico foi solubilizado apenas em solução salina (NaCl 0,9 %). O grupo controle recebeu solução salina. Após os tratamentos, os animais foram monitorados durante duas horas e depois observados a cada 24 horas, diariamente durante 14 dias, para verificar possíveis alterações comportamentais, bem como o consumo de água e ração.

O método de avaliação foi o *screening* hipocrático de Malone e Robichaud (1962) que verifica os parâmetros comportamentais do animal tais como estado de consciência, disposição e atividade do animal. No décimo quarto dia, os animais foram submetidos à anestesia terminal com xilazina/cetamina e as amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca. Em seguida, foram coletados e pesados fígado, rins e baço. A análise hematológica foi realizada no equipamento ABX micro 60.

### ***Atividade anti-inflamatória***

Para verificação da atividade anti-inflamatória dos extratos orgânicos de *Miconia minutiflora* realizou-se o ensaio de Peritonite induzida por carragenina. O parâmetro considerado válido foi a migração celular

leucocitária. Os animais receberam os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico de *Miconia minutiflora*, por via oral, em doses que variaram de 10 - 400 mg/kg. O fármaco padrão, a indometacina, foi administrado por via oral, na dose de 10 mg/kg. O grupo controle recebeu solução salina a 0,9%.

Após uma hora a inflamação foi induzida, em todos os grupos tratados, com a aplicação intraperitoneal de 1 mL da carragenina (1% em salina). Quatro horas após a indução da inflamação, os animais foram eutanasiados em câmara de CO<sub>2</sub>. Em seguida a cavidade peritoneal foi lavada com 2 mL de PBS contendo EDTA para a coleta do exsudato. A contagem do número de leucócitos polimorfonucleares foi realizada em contador automático de células.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na avaliação da toxicidade aguda não foi observado óbito de nenhum dos animais tratados com os extratos de *Miconia minutiflora*, também não houve alterações comportamentais nem variações no peso dos animais, consumo de água e ração dos grupos tratados quando comparados com o grupo controle. Não houve diferença significativa no peso dos órgãos dos animais tratados, conforme mostra a tabela 1.

Os animais tratados com os extratos de *M. minutiflora* também não apresentaram diferença entre os resultados quando comparados ao grupo controle em nenhum dos parâmetros observados (Tabela 2).

Os resultados obtidos na peritonite induzida por carragenina mostram que o extrato em acetato de etila reduziu a migração leucocitária em todas as doses testadas, destacando-se a dose de 100 mg/kg que apresentou 74,9 % de inibição em relação ao grupo controle. Os extratos hexânico e metanólico não apresentaram atividade anti-inflamatória promissora (Tabela 3).

**Tabela 1.** Evolução do peso corporal, consumo de ração e índice dos órgãos (média  $\pm$  desvio padrão), dos animais tratados com os extratos orgânicos da espécie *Miconia minutiflora* em relação ao grupo controle.

Grupos	Dose (mg/kg)	Consumo de ração (g)	Peso dos animais Inicial/Final (g)	Índice dos órgãos		
				Baço	Fígado	Rim
Controle	-	13,4 $\pm$ 4,9	34,8 – 36,7	0,22	1,65	0,17
AcOET-MN	2.000	17,3 $\pm$ 4,6	33,0 – 34,1	0,24	1,71	0,15
MeOH-MN	2.000	14,7 $\pm$ 3,7	30,9 – 25,8	0,20	2,09	0,14
Hex-MN	2.000	16,3 $\pm$ 4,2	32,9 – 34,3	0,17	1,95	0,12

AcOET-MN = extrato acetato de *M. minutiflora*; MeOH-MN = extrato metanólico de *M. minutiflora*;  
Hex-MN = extrato hexânico de *M. minutiflora*.

**Tabela 2.** Parâmetros hematológicos observados (média  $\pm$  desvio padrão), dos animais tratados com os extratos orgânicos da espécie *Miconia minutiflora* em relação ao grupo controle.

Parâmetros	AcOET-MN	MeOH-MN	Hex-MN	Controle
Hemácias ( $10^6/\text{mm}^3$ )	9,6 ± 0,8	9,7 ± 0,2	10,6 ± 0,29	9,8 ± 0,37
Leucócitos ( $10^3/\text{mm}^3$ )	6,6 ± 1,4	13,3 ± 9,3	7,4 ± 0,4	9,9 ± 1,4
Hemoglobina (g/dL)	14,7 ± 1,4	13,6 ± 0,6	15,1 ± 0,5	15,6 ± 1,1
Hematócrito (%)	47,5 ± 5,2	44,8 ± 2,2	51,1 ± 1,6	48,5 ± 3,2
VCM ( $\mu\text{g}$ )	49,3 ± 2,0	45,6 ± 1,1	48,3 ± 2,8	49,3 ± 3,0
HCM (pg)	15,2 ± 0,4	13,9 ± 0,4	14,4 ± 0,9	21,6 ± 9,0

AcOET-MN = extrato acetato de *M. minutiflora*; MeOH-MN = extrato metanólico de *M. minutiflora*;  
Hex-MN = extrato hexânico de *M. minutiflora*.

**Tabela 3.** Total de Leucócitos polimorfonucleares - PMNL (média ± desvio padrão) e percentual de inibição da migração celular dos grupos controle e tratados com os extratos de acetato de etila, metanólico e hexânico de *M. minutiflora* no teste de peritonite induzida por carragenina.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Nº de PMNL/mL ( $\times 10^6$ )	Inibição %
Controle	-	11,2 ± 0,7	-
Indometacina	10	4,6 ± 0,3	58,8
AcOET-MN	10	7,9 ± 1,4	28,9
	100	2,8 ± 0,9*	74,8
	200	7,0 ± 1,1*	37,1
MeOH-MN	100	8,9 ± 0,9	20,1
	200	13,3 ± 2,0	0
	400	17,8 ± 1,7	0
Hex-MN	100	9,7 ± 1,7	12,7
	200	9,7 ± 3,8	12,7
	500	7,1 ± 0,9*	36,0
Indometacina	10	4,6 ± 0,3	58,8
Controle	-	11,2 ± 0,7	-

\* $p < 0.05$  em relação ao controle pelo ANOVA seguido pelo teste de Newman-Keuls. AcOET-MN = extrato acetato de *M. minutiflora*; MeOH-MN = extrato metanólico de *M. minutiflora*; Hex-MN = extrato hexânico de *M. minutiflora*.

Os dados obtidos no ensaio de inflamação indicam que dentre os extratos testados, o extrato acetato de etila apresentou atividade anti-inflamatória promissora, podendo ser utilizado como potencial ferramenta farmacológica. Além disso, de acordo com o teste de toxicidade aguda pode ser considerado de baixa toxicidade.

De acordo com a literatura, o ácido oleanólico isolado de *Miconia albicans* também apresentou efeito anti-inflamatório, reforçando a importância do gênero para a obtenção de novos fármacos (VASCONCELOS et. al., 2006). Além da atividade anti-inflamatória também há relatos que indicam a atividade analgésica dos extratos hexânico, diclometano e etanólico de *Miconia rubiginosa* nos ensaios de contorções abdominais induzidas por ácido acético e placa quente. Estes dados reforçam a importância farmacológica deste gênero (SPESSOTO et. al., 2003).

No entanto, não existem até o presente momento na literatura, dados acerca da toxicidade aguda e atividade anti-inflamatória dos extratos brutos de *Miconia minutiflora*, sendo este trabalho pioneiro na investigação da toxicidade aguda e atividade anti-inflamatória desta espécie.

## CONCLUSÃO

Os resultados indicam que os extratos de *Miconia minutiflora* possuem baixa toxicidade e que o extrato acetato de etila nas doses de 100 e 200 mg/kg apresentou atividade anti-inflamatória promissora. Entretanto, estudos fitoquímicos e farmacológicos estão em andamento para melhor caracterização química e farmacológica da espécie.

## REFERÊNCIAS

ABIFITO- Associação Brasileira de Indústrias de Fitoterápicos. Perspectivas do setor fitoterápico. In: IBAMA/ CENARGEN. Reunião Técnica sobre recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas. Estratégias para conservação e manejo sustentável, Brasília, 2001.

FRANCISCHETTI, I.; MORENO, J. B.; SCHOLZ, M.; YOSHIDA, S. M. Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**. v. 25, n. 4, p. 575-584. 2010.

GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, J. F. A.; Souza, M. L. D. R. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. **Rodriguésia**. v. 63, p. 145-161, 2012.

Malone, M.H.; Robichaud, R.C. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**. v. 25, p. 320-332, 1962.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT, OECD/OCDE. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. Guideline For The Testing Of Chemicals, p. 1-14, dezembro, 2001.

PIERONI, L. G.; REZENDE, F. M.; XIMENES, V. F.; DOKKEDAL, A. L. Antioxidant Activity and Total Phenols from the Methanolic Extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana Leaves. **Molecules**. v. 16, p. 9439-9450, 2011.

QUEIROZ, G. M.; SOUZA, M. G. M.; CARVALHO, T. C.; CASEMIRO, L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H.G. Absence of the antibacterial activity of the crude extracts and compounds isolated from *M. rubiginosa* against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing enterobacteria. **Journal Pharmaceutical Research**, v. 2, 2011.

RENNER, S. S.; TRIEBEL, D.; ALMEDA, F.; STONE, D.; ULLOA, C.U.; MICHELANGELI, F.A.; GOLDENBERG, R.; CIFUENTES, H. M. Melastomataceae, **Nordic Journal of Botany**, v. 13, n. 5, p. 519–540, 1993.

SPESSOTO, M. A., FERREIRA, A. E. M., CROTTI, M. L. A., SILVA., CUNHA, W. R. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae), **Phytomedicine**. v. 10, p. 606–609, 2003.

VASCONCELOS, M. A. L., ROYO, V. A., FERREIRA, D. S., CRITTI, A. E. M., SILVA, M. L. A., CARVALHO, J. C., BASTOS, J. K., CUNHA, W. R. *In vivo* Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Ursolic Acid and Oleoic Acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae), **Zeitschrift für Naturforschung B**. v. 61, p. 477-482, 2006.

---

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO (ANALGESIA) DE *Indigofera suffruticosa*

Campos, J.K.L.<sup>(1)</sup>; Brito, T.G.S.<sup>(1)</sup>; Santos, B.S. dos.<sup>(1)</sup>; Araújo, T.F.S.<sup>(1)</sup>; Rocha, A.A.<sup>(1)</sup>; Gomes de Sá, F.I.<sup>(1)</sup>; Lima, V.L.M.<sup>(1)</sup> janinhaklc@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, CNPq, FACEPE, CAPES.

### RESUMO

*Indigofera suffruticosa* é uma planta que tem sido amplamente estudada no campo científico por apresentar efeitos biológicos de interesse medicinal. Uma abordagem científica sobre a família da *I. suffruticosa*, Fabaceae, relata propriedades analgésicas, sugerindo que pesquisas com esta espécie sejam realizadas para evidenciar sua possível aplicabilidade terapêutica. Deste modo, com base em dados populares, o presente estudo avaliou os possíveis efeitos

antinociceptivos dos extratos orgânicos obtidos a partir de sementes secas de *Indigofera suffruticosa* em modelos de nocicepção em camundongos. A atividade antinociceptiva foi avaliada com extratos orgânicos (Etérico, Clorofórmico, Acetônico e Metanólico) pelo método de contorção abdominal e placa quente em camundongos. Uma potente analgesia foi provocada com uso de todos os extratos orgânicos de *I. suffruticosa* utilizados, com um percentual de inibição variando de 85,3 a 100%. Assim, esses resultados sugerem que alguns extratos de *I. suffruticosa* possuem efeitos analgésicos, indicando que compostos presentes nesta planta podem ser utilizados como uma potencial fonte de substâncias promissoras para obtenção de novas drogas.

**Palavras-chave:** Ácido Acético, Nocicepção, Placa Quente.

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais representam um fator de grande importância para a manutenção da saúde das pessoas. O uso destas plantas faz parte da rotina no tratamento de doenças de diversas populações, das mais antigas ao homem atual, o qual tem acesso aos grandes avanços tecnológicos (TOMAZZONI et al, 2006). O gênero *Indigofera* compreende a planta silvestre conhecida como “anileira” ou “anil”. A espécie *Indigofera suffruticosa* Mill, da família Fabaceae, cresce em solos de baixa fertilidade da região semi-árida do Nordeste brasileiro e vem sendo usada na medicina popular no tratamento de infecções, espasmos, inflamações e outras doenças (LEITE et al., 2003, LEITE et al., 2006).

Porém, poucas pesquisas têm sido realizadas para investigar as ações biológicas da espécie *I. suffruticosa*. Deste modo, o presente estudo

teve como objetivo estabelecer o potencial “*in vivo*” antinociceptivo dos extratos orgânicos de sementes secas de *I. suffruticosa*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *I. suffruticosa* foram coletadas no município de São Caetano, região do Agreste do estado de Pernambuco, secas em estufa a 38° C, trituradas até a obtenção de um material finamente pulverizado. Os extratos foram preparados na concentração de 400 mg/kg com solventes de polaridade crescente (Éter, Clorofórmio, Acetona e Metanol); homogeneizados em agitação constante durante 2 horas, armazenados sob refrigeração (4 ° C – 10° C) durante uma noite; filtrados em papel de filtro e algodão; e rotaevaporados para remoção completa dos solventes. Camundongos *swiss* albino foram mantidos em ciclo claro/ escuro (12/12h) com livre acesso de comida e água. Os animais foram divididos nos seguintes grupos (n=6, cada): controle negativo (solução salina a 0,9%); Controle positivo (100 mg/ kg de Ácido Acetilsalicílico-AAS); e os diferentes extratos de *I. suffruticosa* (400 mg/kg). O efeito antinociceptivo dos extratos orgânicos de *I. suffruticosa* foram avaliados pelas metodologias de contorção abdominal e placa quente. A contorção abdominal foi induzida a partir de uma injeção intraperitoneal de Ácido Acético a 0,8% nos animais uma hora depois da administração dos extratos orgânicos de *I. suffruticosa*. A contagem inicial das contorções foram iniciadas após 5

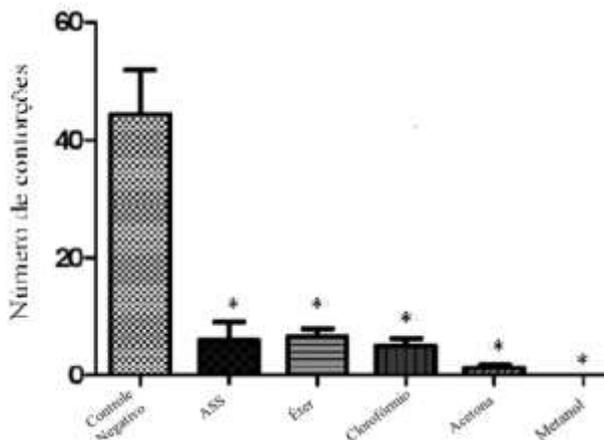
minutos da aplicação do ácido acético e finalizadas após 20 minutos. Para o método de placa quente, os animais foram submetidos a uma placa aquecida a  $55\pm 1^\circ\text{C}$ , uma hora após o tratamento com os extratos. O tempo (segundos) de latência dos animais foi marcado nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos. Para não provocar danos teciduais, os animais foram expostos ao aquecimento até 60 segundos. Os resultados das atividades foram apresentados em média  $\pm$  desvio padrão, comparados com o grupo controle positivo (AAS). A significância ( $p < 0,05$ ) dos dados foi investigada através de análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Bonferroni.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de contorção, a injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,8%, evidentemente, resultou em contorções nos animais do grupo controle.

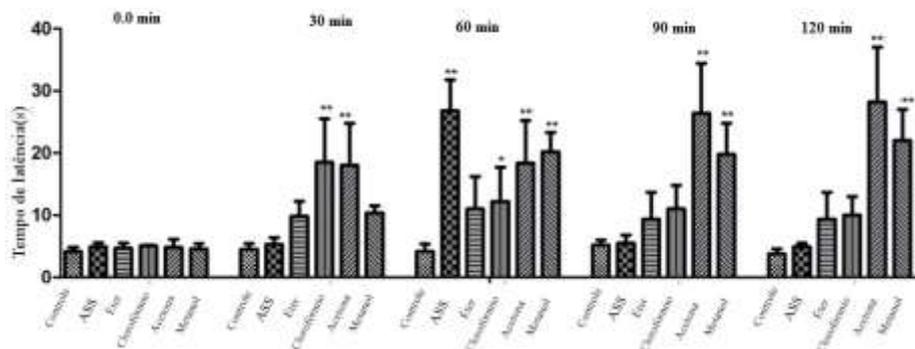
A Figura 1 apresenta o efeito antinociceptivo dos diferentes extratos de *I. suffruticosa* (400 mg/Kg) avaliada pelo modelo de contorção abdominal de ácido acético 0,8%. Os resultados mostraram que todos os extratos de *I. suffruticosa* (éter, clorofórmio, acetona e metanol) reduziram significativamente os números de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. O extrato Etérico de *I. suffruticosa* (400 mg/ Kg) provocou um potencial de inibição de 85,3% nas contorções abdominais, o extrato clorofórmico de 88,7%, extrato acetônico 97% e o extrato metanólico causou a inibição de 100%. Assim, os extratos

orgânicos de *I. suffruticosa* apresentaram um inibitório da nocicepção, quando comparado com o controle negativo. O percentual de inibição apresentado pelo controle positivo (AAS, 100mg/kg) foi de 86,5 %.



**Figura 1.** Efeito dos diferentes extratos de *I. suffruticosa* na concentração de (400mg/kg) no modelo de nocicepção induzida com ácido acético a 0,8%. A nocicepção foi registrada pelo número de contorções abdominais, que cada animal apresentou num período de 20 minutos após a injeção do ácido acético. Cada coluna representa média  $\pm$  Desvio padrão.\* significância,  $p < 0,001$  em relação ao grupo controle negativo. ANOVA seguido de Teste de Bonferroni.

A Figura 2 demonstra a avaliação do potencial antinociceptivo de *I. suffruticosa* (400 mg/Kg) utilizando-se o teste da placa quente. Todos os extratos de *I. suffruticosa* (400 mg/Kg), aumentaram significativamente a média do tempo de latência para a reação de desconforto quando comparado com o controle positivo (AAS, com 100 mg/Kg).



**Figura 2.** Efeito analgésico de diferentes extratos de *I. suffruticosa* na concentração de (400mg/kg) e AAS no teste de placa quente em camudongos. Cada coluna representa média  $\pm$  Desvio padrão. \*significância estatística,  $p < 0,05$ , e \*\*  $p < 0,0001$  em relação ao grupo controle. ANOVA, seguido de Teste de Bonferroni.

Além disso, foi possível observar que o extrato metanólico mostrou-se mais potente na inibição (100 %) da resposta nociceptiva induzida por ácido acético. A indução de contorção por ácido acético tem sido utilizada para confirmar a atividade antinociceptiva periférica (CHAN et al., 1995). O método envolve a liberação de mediadores, como histamina, serotonina, citocinas e eicosanóides, com um aumento no fluido peritoneal, que estimulam os neurônios nociceptivos (ZHANG et al., 2005). Este efeito analgésico de *I. suffruticosa* pode ser atribuído, pelo menos em parte, ao seu efeito anti-inflamatório em que, no modelo de dor, pode estar envolvido na inibição da ciclooxigenase e da prostaglandina. Santos et al. (2013) também verificaram resultados semelhantes com a inibição da nocicepção de 82,3 % com a dose de 400 mg/kg de extrato aquoso de *Anadenanthera colubrina* (Fabaceae).

O teste da placa quente é considerado um modelo de dor central supra-espinal (ANKIER, 1974), que particularmente envolve uma forte sensibilidade à dor e dano tecidual limitada (DERAEDT et al., 1980). O método induz um efeito nos termorreceptores presentes na pele que estimula as fibras C não mielinizadas de condução lenta (HENDRY et al., 1999). Todos os extratos de *I. suffruticosa* foram capazes de aumentar a resposta ao tempo de latência, e atividade de analgesia supra-espinal pode ser associado. Este efeito antinociceptivo foi observado em outro estudo com a *Sutherlandia frutescens*, também pertencente a mesma família, Fabaceae, utilizando-se extratos aquosos com doses de 5 mg/Kg a 800 mg/kg em camundongos (OJEWOLE , 2004). A partir dos métodos de nocicepção analisados nesta pesquisa, o efeito antinociceptivo central de todos os extratos de *I. suffruticosa* pode ser atribuída à presença de moléculas opióides que pode estar atuando como um antagonista que se liga aos receptores no cérebro , medula espinal e outros tecidos , proporcionando o alívio da dor (JACOB; RAMABADRAN, 1978; FARMER et al., 1986) .

## CONCLUSÃO

Os resultados prévios deste estudo demonstraram que os extratos orgânicos de *I. suffruticosa* são capazes de causar analgesia periférica e central em camundongos.

A propriedade relatada por esta espécie nessa pesquisa faz dela um alvo potencial para desenvolvimento de novos compostos que podem ser utilizados como alternativa às drogas que já estão em uso.

## REFERÊNCIAS

ANKIER, S.I. New hot plate test to quantify antinociceptive and narcotic antagonist activities. **Europe Journal Pharmacology**. v. 27, p. 1-4, 1974.

BENTLEY, G. A.; NEWTON, S. H.; STARR, J.. Studies on the antinociceptive action of  $\alpha$ -agonist drugs and their interactions with opioid mechanisms. **British Journal of Pharmacology**. v. 79, p. 125-134, 1983.

CHAN, Y. F.; TSAI, H. Y., WU, T. S.; Anti-inflammatory and analgesic activities from the roots of *Angelica pubescens*. **Planta Médica**. v. 61, p. 2-8, 1995.

DERAEDT, R.; JOUGNEY, S.; DELEVALCEE, F.; FALHOUT, M. Release of prostaglandin E and F in an allogenetic reaction and its inhibition. **European Journal of Pharmacology**. v. 51, p. 17-24, 1980.

FARMER, O.B.; BERGE, O. G.; TVEITEN, L.; HOLE, K. Changes in nociception after hydroxydopamine lesion of descending catecholaminergic pathways in mice. **Pharmacology Biochemical Behavior**. v. 24, n. 5, p. 1441-1444, 1986.

HENDRY, S. H.C.; HSIAO, S. S.; BUSHNELL, M. C., Somatic sensation. In: ZIGMOND M.J., BLOOM, F. E., ROBERTS, J. L., SQUIRE, L. R. Fundamental Neuroscience. **Academic Press**. p. 768-769, 1999.

JACOB, J.J.C.; RAMABADRAN, K. Enhancement of a nociceptive reaction by opioid antagonists in mice. **Brazilian Journal Pharmacology**. v. 64, p. 91-98, 1978.

LEITE, S. P.; SILVA, L. L. S.; CATANHO, M. T. J. A.; LIMA, E. O.; LIMA, V. L. M. Atividade antiinflamatória do extrato de *Indigofera suffruticosa*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v. 7, p. 47-52, 2003.

LEITE, S. P.; VIEIRA, J. R. C.; MEDEIROS, P. L.; LEITE, R. M. P.; LIMA, V. L. M. Xavier, H. S., Lima, E. O. Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa*.

**Evidence based complementary and alternative Medicina.** v. 3, n. 2, p. 261-265, 2006.

OJEWOLE, J. A. Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycemic effects of *Sutherlandia frutescens* R. BR. (variety Incana E. MEY.) [Fabaceae] shoot aqueous extract. **Methods & Findings in Experimental & Clinical Pharmacology.** v. 26, n. 6, p. 409, 2004.

SANTOS, J. S.; MARINHO, R. R.; EKUNDI-VALENTIM, E.; RODRIGUES, L.; YAMAMOTO, M. H.; TEIXEIRA, S. A.; MUSCARA, M. N.; COSTA, S. K.; THOMAZZI, S. M. Beneficial effects of *Anadenanthera Colubrina* (Vell.) Brenam extract of the inflammatory and nociceptive responses in rodent models. **Journal of ethnopharmacologic.** v. 148, p. 218-222, 2013.

TOMAZZONI, N.C. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem, Florianópolis.** v. 15, n. 1, p. 115-21, 2006.

---

## AVALIAÇÃO DO PROPIONIBACTERIUM ACNES NA MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR METOTREXATO

Leite, T.C.C.<sup>(1,2)</sup>; Silva, S.C.<sup>(2)</sup>; Santana, T.I.<sup>(2)</sup>; Aguiar, J.S.<sup>(2)</sup>; Lima, S.M.A.<sup>(2)</sup>; Garrazzoni, A.S.H.S.G.G.<sup>(2)</sup>; Silva, T.G.<sup>(2)</sup> toycly@gmail.com

<sup>(1)</sup> Instituto Federal de Alagoas - IFAL, Maceió - AL, Brasil;

<sup>(2)</sup> Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

### RESUMO

A mucosite é um termo genericamente usado para a ocorrência de alterações em todos os tipos de mucosas atingidas pela citotoxicidade dos quimioterápicos. A bactéria *Propionibacterium acnes*, além de atuar como adjuvante para anticorpos no sistema fagocitário mononuclear e aumentar a resistência a infecções, também estimula a produção de citocinas. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi determinar o potencial de *P. acnes*, em impedir ou atenuar o desenvolvimento da mucosite intestinal induzida por

metotrexato. A suspensão de *P. acnes* foi produzida no Depto de Antibióticos da UFPE. Foi utilizado um modelo experimental de mucosite intestinal descrito na literatura com camundongos, no qual foram empregados 3 grupos de animais (n=6), sendo um grupo tratado com metotrexato (controle), um grupo tratado com salina (sham) e um grupo tratado com metotrexato + *P. acnes* (tratamento profilático). A dosagem das citocinas, como TNF- $\alpha$ , foram avaliadas assim como a quantificação de óxido nítrico (NO). Os animais submetidos ao tratamento profilático apresentaram uma diminuição significativa nas dosagens de TNF- $\alpha$  e na quantificação de NO, quando comparados ao grupo controle. Concluímos que o *P. acnes* foi capaz de amenizar os danos da droga antineoplásica nos animais pré-tratados com esta bactéria inativada.

**Palavras-chave:** Imunomodulador, Inflamação, Quimioterápicos.

## INTRODUÇÃO

O *Propionibacterium acnes* é um bacilo Gram-positivo, pleomórfico, imóvel, pertencente à microflora cutânea humana, tendo como habitat natural o folículo sebáceo. É devido aos efeitos imunomoduladores que o *P. acnes* tem sido aplicado como ferramenta de estudo da resposta imune celular em modelos experimentais, mostrando-se um potente adjuvante (PERRY; LAMBERT, 2006). Segundo alguns autores, o fator ativador da atividade imunoestimulante está localizado na parede celular do micro-organismo (KOUZNETZOVA et al., 1974).

A mucosite é uma síndrome caracterizada por ulcerações da mucosa oral e intestinal, sendo um dos efeitos colaterais mais debilitantes decorrentes do tratamento de radio e quimioterapia. Cerca de 40% dos

pacientes que recebem doses padrão e 100% daqueles que recebem altas doses de quimioterápicos desenvolvem sintomas como: dor, ulceração, inchaço, diarreia e vômito associados à mucosite (STRINGER et al., 2009). Além disso, ela é frequentemente responsável pela interrupção do tratamento de pacientes com câncer, aumentando ainda mais a mortalidade dos indivíduos portadores dessa doença (VAN VLIET et al., 2010).

Os agentes quimioterápicos destroem células em divisão celular, o problema é que além das células malignas, células de tecidos normais também são afetadas, tais como o do trato gastrointestinal (LIMA, 2004). Esses medicamentos diminuem fortemente o número de bactérias anaeróbicas da microbiota intestinal, através da emissão de metabólitos tóxicos. Embora o papel protetor das bactérias comensais do intestino humano seja bastante evidenciado, pesquisas sobre essa microbiota e a mucosite induzida por quimioterápicos ainda são escassas (VLIET et al., 2010).

Dessa forma, os objetivos do trabalho foram determinar o potencial do *P. acnes*, em impedir ou atenuar o desenvolvimento da mucosite intestinal induzida por MTX em roedores, através do seu efeito na liberação de TNF- $\alpha$  e NO.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção da preparação de *P. acnes* inativado***

Para a preparação da suspensão inativada de *P. acnes*, foi utilizado 2 mg/mL do micro-organismo acrescido a 0,5% de ácido fênico e solução salina 0,85%.

### ***Indução da mucosite intestinal pelo metrotrexato em roedores***

Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE, com 60 dias de nascido, pesando entre 25-30g. O modelo experimental de mucosite foi realizado segundo Vanderhoof et al. (1990) e este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPE sob processo de número 23076.015663/2011-10. Os animais dos grupos teste (n=6) estão descrito abaixo:

G1 (Mucosite): Os animais receberam 2,5 mg/kg via subcutânea de MTX durante três dias, para a indução da mucosite, sendo eutanasiados no quarto dia. Os animais foram tratados com salina (0,9%) por via oral durante os quatro dias de experimentação.

G2 (tratamento profilático com *P. acnes*): Os animais receberam por via intramuscular a preparação de *P. acnes* nos dias 2, 4, 6 e 8 antes da indução da mucosite. Dois dias após a última dose da preparação, a mucosite foi induzida através da aplicação de MTX via subcutânea uma vez ao dia durante 3 dias. No quarto dia os animais foram eutanasiados.

G3 (controle negativo-*sham*) – Os animais receberam solução salina (0,9%) por via subcutânea durante três dias consecutivos, sendo sacrificados no quarto dia após a primeira administração.

### ***Análise de TNF- $\alpha$ e NO***

Após a eutanásia dos animais, os tecidos do intestino foram dissecados, coletados em solução tampão fosfato contendo EDTA, triturados, centrifugados e o sobrenadante utilizado para determinação dos níveis de TNF- $\alpha$ , empregando anticorpos monoclonais, específicos para detecção da citocina. Os níveis de NO foram determinados pela reação de Griess que consiste em adicionar 100  $\mu$ L do sobrenadante com 100  $\mu$ L desse reagente e a absorbância desta mistura lida no comprimento de onda 540 nm.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

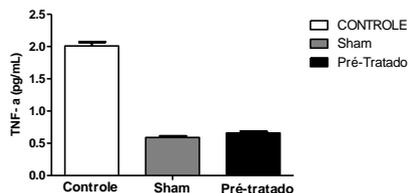
Os animais tratados com MTX (com mucosite e sem tratamento) tiveram um aumento na concentração de TNF- $\alpha$  no segmento duodenal quando comparados aos animais que receberam salina (*sham*) (Figura 1).

A literatura tem mostrado que outras fármacos as utilizados na quimioterapia do câncer podem levar à mucosite intestinal com a participação de citocinas. Melo (2008) demonstrou que o irinotecano, outro importante quimioterápico bastante utilizado na clínica, causa significativo dano à mucosa intestinal, induzindo um aumento significativo na concentração de TNF- $\alpha$ , IL-1 e KC no segmento duodenal de camundongos.

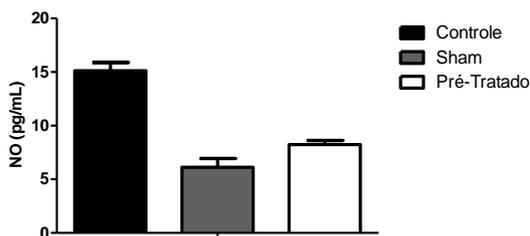
Nossos dados estão de acordo com a literatura, que demonstra que a injúria epitelial associada à utilização de quimioterápicos antineoplásicos, geralmente, ocorre com infiltração de neutrófilos para a mucosa intestinal, isso, configura a fase inflamatória da mucosite. Assim, a mucosite induzida por antineoplásico provoca a destruição de células epiteliais e subsequente indução de resposta inflamatória local (SONIS et al., 2004; RUBENSTEIN; PETERSON; SCHUBERT, 2004).

Uma alta liberação de NO foi observada nas células dos animais submetidos ao tratamento com MTX, indicando que este fármaco antineoplásico leva, provavelmente, à ativação da óxido sintase redutível (iNOs). Entretanto, nos animais pré-tratados com *P. acnes* houve uma diminuição na quantidade de NO presente nas células quando comparados ao grupo controle (Figura 2).

O radical NO é extremamente tóxico para as células tumorais (SCHREIBER, 2003) e parece afetar também o recrutamento de macrófagos e células NK, uma vez que essas células estão diminuídas no exsudato peritonial dos camudongos. Segundo Tozum et al. (2005), a inflamação e a sobrecarga oclusal levam ao aumento da concentração de nitrito nos tecidos peri-implantares com inflamação, atribuindo a esta molécula um papel na progressão do processo inflamatório.



**Figura 1.** Dosagem do TNF- $\alpha$  no segmento duodenal de camundongos tratados com MTX (controle), com salina (*sham*) e os tratados com *P. acnes* + MTX. Resultados expressos como média  $\pm$  DP.  $p < 0,05$  quando comparados com o controle (n=6) pelo teste de Bonferroni.



**Figura 2.** Efeito da preparação de *P. acnes* inativado na produção de NO no tecido duodenal de animais submetidos à mucosite induzida por MTX.

A concentração de nitrito na cavidade peritoneal foi avaliada após a indução da mucosite nos animais. Resultados expressos como média  $\pm$  S.E.M.  $p \leq 0,05$  quando comparados com o grupo sham (n=6) pelo teste de Bonferroni.  $p \leq 0,05$  quando comparados com o grupo controle (n=6).

## CONCLUSÃO

Observou-se, que o tratamento com MTX induziu um aumento significativo na concentração de TNF- $\alpha$  e NO no segmento duodenal dos camundongos do grupo controle, enquanto que a preparação de *P.*

*acnes* foi capaz de diminuir a concentração de TNF- $\alpha$  nos animais tratados, minimizando os danos causados pela mucosite induzida por quimioterápico.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS

KOUZNETZOVA, B.; BIZZINI, B.; CHERMANN J. C.; DEGRAND, F.; PREVOT, A. R.; RAYNAUD, M. Immunostimulating activity of whole cells, cell-walls and fractions of anaerobic corynebacteria. In G. Mathe and R. Weiner (ed.), **Recent results in cancer research: investigation and stimulation of immunity in cancer patients**. Springer-Verlag: New York, v. 65, p. 275-293, 1974.

LIMA, V. **Evidências da participação de TNF-alfa e COX-2 nas mucosites oral e intestinal induzidas por 5-Fluoracil e Metotrexato em animais**. Tese (Doutorado) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2004.

MELO, M.; BRITO, G.; SOARES, R. C.; CARVALHO, S. B.; SILVA, J. B.; SOARES, P. M.; VALE, M. L.; SOUZA, M. H.; CUNHA, F. Q.; RIBEIRO, R. A. Role of cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and KC) in pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide. **Cancer Chemotherapy Pharmacology**, v. 61, n. 5, p. 775-784, 2008.

PERRY, A. L.; LAMBERT, P. A. *Propionibacterium acnes*. **Letters Applied Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 185-188, 2006.

RUBENSTEIN, E. B.; PETERSON, D. E.; SCHUBERT, M. Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Cancer Therapy-Induced Oral and Gastrointestinal Mucositis. **Cancer**, v. 100, p. 2026-46; 2004.

SCHREIBER, H. **Tumor Immunology**. In Paul W (Ed.) *Fundamental Immunology*. 5th ed. Lippincott, Williams, and Wilkins, 2003.

STRINGER, R. A.; STRAIN-DAMERELL, C.; NICKLIN, P.; HOUSTON, J. B. *Evaluation of recombinant cytochrome P450 enzymes as an in vitro system for metabolic clearance predictions*. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 37, p. 1025–1034, 2009.

SONIS, S. T. Pathobiology of mucositis. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 20, n. 1, p.11-15; 2004.

TOZUM, T. F.; TURKYILMAZ, I.; YAMALIK, N.; TUMER, C.; KILINC, A.; KILINC, K.; KARABULUT, E. ; ERATALAY, K. Analysis of the possible impact of inflammation severity and early and delayed loading on nitric oxide metabolism around dental implants. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 20, n. 4, p. 547-556, 2005.

VANDERHOOF, J. A.; PARK, J. H.; MOHAMMADPOUR, H. et al. Effects of dietary lipids on recovery from mucosal injury. **Gastroenterology**, v. 98: 1226-1231, 1990.

VAN VLIET, M. J.; HARMSSEN, H. J. M.; DE BONT, E. S. J. M.; TISSING, W. J. E. The Role of Intestinal Microbiota in the Development and Severity of Chemotherapy-Induced Mucositis. **Plos Pathogens**, v. 6, v. 5, 2010.

---

## **AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS AMBIENTAIS NA MATA CILIAR DE UM TRECHO DO RIO PARATIBE, MUNICÍPIO DE PAULISTA – PE**

**Alves, E.S.** <sup>(1)</sup>; **Cunha, L. V. F. C.** <sup>(2)</sup> elizzama@bol.com.br

<sup>(1)</sup>Faculdade Frassinetti do Recife - FAFIRE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil.

### **RESUMO**

Após vários desastres ambientais devido as revoluções tecnológicas ocorridas no século XIX, a humanidade começa a se conscientizar da importância de um

mundo sustentável. Dentre os ambientes, na biosfera, que tem sofrido mais impactos é a mata ciliar, e o principal fator para este evento foi a urbanização. Desta forma, sabendo-se da importância das matas ciliares, esse trabalho teve como objetivo geral avaliar os impactos ambientais causados na mata ciliar em um trecho do rio Paratibe, Paulista, Pernambuco, sendo os específicos listar, descrever, qualificar, quantificar e investigar as consequências desses impactos para a população ribeirinha bem como propor medidas mitigadoras. A metodologia foi feita a partir de pesquisas bibliográficas e de campo, *check list* e matriz de Leopold (adaptada). A matriz revelou que quase a totalidade dos impactos foram de magnitude negativa e importância forte. Desta forma, conclui-se que o estudo traz resultados que podem despertar autoridades e a sociedade, além de enriquecer o conhecimento acadêmico a respeito da mata ciliar do rio Paratibe, município de Paulista, Pernambuco.

**Palavras-chave:** Gestão Ambiental, Urbanização, Matriz de Leopold.

## INTRODUÇÃO

Impacto ambiental vai além de maus tratos à natureza, diz, também, respeito a modificações na saúde, atividades sociais, econômicas da população entre outras modificações (BRASIL, 1986). Este conceito veio a ser introduzido, após as grandes transformações durante e depois da Revolução Industrial. Está trouxe consigo relevantes invenções que causaram um maior crescimento econômico, no entanto o desenvolvimento não aconteceu junto com este, pois desenvolver vai além de questões econômicas envolve bem estar social e ambiental, logo o progresso resultou em situações negativas para o ecossistema.

As alterações mais comuns de acordo com Sande et al. (2010), são: retirada da cobertura vegetal, alteração nas formas topográficas,

aumento de escoamento superficial, acúmulo de resíduos sólidos e poluição hídrica. No que diz respeito à vegetação, Ferreira e Dias (2004) enfatizam que a destruição da mesma apresentou várias consequências e acrescentam que as matas ciliares não foram poupadas, ao contrário, sofreram diversos tipos de degradação acarretando problemas como assoreamento dos rios, alteração climática, inundações, poluição do rio, entre outros.

Parfitt (2002) ressalta importância das matas ciliares para evitar a erosão do solo, proteger a área de enchentes, além de ser habitat de muitos animais. Pode-se acrescentar, ainda, o clima agradável proporcionado pelas matas, a sua contribuição para a manutenção de reservatórios subterrâneo e a esquivar de processos de desertificação.

O processo de urbanização foi um dos fatos que muito agrediu as matas, no Brasil a mesma teve seu auge nos anos de 1970 quando a população urbana se tornou maior que a rural, entre os fatores que contribuíram para este fenômeno foi a introdução de indústrias gerando o êxodo rural (PARFITT, 2002; BRITO, 2006). A cidade de Paulista – PE foi um território pensado para o desenvolvimento industrial de Pernambuco, neste município foi instalado duas grandes fábricas a Companhia de Tecidos Paulista e Fábrica Aurora, com a chegada dessas empresas muitas pessoas passaram a morar em Paulista, na época a população quadruplicou chegando perto de 300 mil habitantes no ano de 2000.

Com base nestes dados não é difícil de compreender o quando a mata ciliar do rio Paratibe foi degradada.

Sabendo da importância das mata ciliares é necessário se realizar uma avaliação dos impactos ambientais, listar e descrever e ainda investigar as consequências desses impactos para a população do entorno, bem como sugerir medidas mitigadoras

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Descrição da área de estudo***

A cidade de Paulista esta situada a 14 metros de altitude e possui as seguintes coordenadas geográficas -07°56'27" de latitude e 34°52'23" de longitude ficando ou norte do estado de Pernambuco, faz divisa com Abreu e Lima e Igarassu, ao norte, Olinda, Recife e Camaragibe, ao sul, ao oeste com Paudalho e ao leste é banhado pelo oceano Atlântico. O município se enquadra nas regiões de desenvolvimento de Pernambuco, o mesmo possui uma área territorial de 97,312 Km<sup>2</sup>, população é estimada em cerca de 300,466, tendo densidade demográfica de 3.086,01 hab/km<sup>2</sup> (IBGE, 2010; BDE, 2013).

O trecho da mata ciliar que foi estudado fica na parte que vai da Travessa Santa Tereza com a Avenida Palmares (Figura 1), o mesmo corresponde a cerca de 406,09 metros, ficando na divisa dos bairros de Paratibe com Arthur Lundgren I.



**Figura 1.** Trecho do Rio Paratibe estudado, no município de Paulista – Pernambuco. (FONTE: Google Earth)

### ***Método de impacto quantitativo***

Dentre os vários métodos apresentados foi utilizado a matriz de Leopold como principal ferramenta e o *check list* como método auxiliar. A decisão de se aplicar essas duas técnicas se deve ao fato da primeira apresenta respostas quantitativas e qualitativas e a segunda ser uma listagem previa dos impactos, o que veio a facilitar nossa pesquisa.

A fim de interpretar os impactos exposto na matriz adaptada de Leopold, nesta matriz de interação existe linhas e colunas onde na primeira temos dos componentes ambientais e na segunda os impactos encontrados, cruzam entre si e quando há interação são classificados quanto a sua magnitude e importância, numa escala que vai de 1 a 10. Onde: 1 a 3 = importância e magnitude fraca; 4 a 7 = importância e magnitude média e 8 a 10 = importância e magnitude forte. Os valores

da magnitude são indicados com os sinais de mais (+) ou menos (-) indicando se é positivo ou negativo.

### ***Método de impacto qualitativo***

A partir da listagem e descrição dos impactos, optou-se trabalhar com a matriz de Leopold adaptada para a realidade local. Na avaliação qualitativa, utilizou-se dos impactos da matriz e atribuiu-se atributos qualitativos.

Na classificação qualitativa os atributos foram: valor: positivo ou negativo (traz ordem: ou indireto; espaço: local, regional ou estratégico; tempo: curto, médio ou longo; dinâmica: temporário, cíclico ou permanente e plástica: reversível ou irreversível.

De acordo com Mota e Aquino (2002, p. 4), Sobral et al (2007, p. 104) os impactos podem ser classificados quantitativamente com os seguintes itens – categoria: negativo ou positivo; reversibilidade: reversível ou irreversível; abrangência: local, regional ou estratégico; magnitude: fraco, médio ou forte; duração: curta, média ou longa e importância: alta, média ou baixa.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os principais impactos observados foram: (a) construção de casas pela ocupação desordenada juntamente com a falta de conscientização da população e ação do poder público deixa a mata ciliar do rio Paratibe

cada vez mais degradada, em alguns pontos do trecho encontramos praticamente a ausência de vegetação. Este fator se deve a construção de casas em locais inapropriado. Apesar disso do ponto de vista antrópico este pode ser um impacto positivo, pois de alguma forma beneficia a população ribeirinha; (b) Perda da biodiversidade por causa da poluição, contaminação, mudanças climáticas, expansão da agricultura, homogeneização de espécies, urbanização e introdução de espécies exóticas (SCARIOT, 2010). Na área de mata ciliar estudada percebe-se que a perda da biodiversidade se dar essencialmente por causa dos dois últimos fatores; (c) Urbanização se tornou bastante intensa a partir dos anos de 1960, em busca de uma vida melhor as pessoas saíam da zona rural em busca de trabalho nas metrópoles, logo com mais pessoas é necessário mais moradias, porém as cidades metropolitanas não estavam preparadas para receber tantas pessoas num curto espaço de tempo, assim foram surgindo bairros sem nem um planejamento. Isso trouxe diversos problemas – aumento de resíduos sólidos, poluição dos rios e solo, falta de saneamento básico, desflorestamento e mudanças climáticas; (d) Introdução de espécies invasoras, aquelas que não são naturais de determinada região, mas espalham num novo habitat. Este tipo de interferência no meio pode dar-se de forma acidental ou intencional). No trecho da mata ciliar do rio Paratibe parecem ter sido introduzidas propositalmente, por se tratar de uma área que sofreu processo de urbanização desordenada. As principais dificuldades estimuladas pelas espécies invasoras são – perda

da biodiversidade, desequilíbrio ecológico, doenças, alteração nos ciclos, extinção e problemas econômicos (CORREIA, 2007; BARBIERI, 2010; SCARIOT, 2010; LEÃO et al, 2011); (e) Presença de resíduos sólidos como garrafas de vidro e pet, latinhas de alumínio, sacolas plásticas, pneus entre outros objetos. A população mais próxima de matas e rios e na sua maioria sem conhecimento sobre a importância desses ambientes, a mesma acaba dispondo o lixo em lugares inadequados, causando entupimentos no sistema de esgoto, assoreamento e poluição visual; (f) Erosão é um procedimento físico onde o solo é transportado através da ação de alguns fatores exógenos, como o vento e chuva. Este é um acontecimento natural de modificação do relevo, mas com a ação antrópica que vem destruindo a vegetação o processo se intensifica, pois o solo fica mais exposto a ação externa (SÁNCHEZ, 2006; FERNANDES e LIMA, 2007); (g) Assoreamento é um fenômeno natural, mas com a intervenção do homem este vem sendo acelerado, o rio Paratibe é um exemplo, neste local há assoreamento por causa da disposição inadequada dos resíduos sólidos o lixo cai na margem do rio e vai se acumulando o que causa a diminuição da profundidade do afluente; (h) Queimadas, do ponto de vista de Oliveira et al (2005, p. 90) os principais motivos para realização da queima é a agropecuária, regeneração do local destinado ao pasto, eliminação de resíduos acumulados e preparo do corte manual da cana-de-açúcar. Quando realizada num período de tempo muito curto o resultado é o empobrecimento do solo; (i) Poluição visual, diferente

dos outros tipos de poluição que causam prejuízos mais diretos a população, a poluição visual às vezes pode passar despercebida, mas segundo Silva e Dantas (2008, p. 153) ela pode causar distúrbios mentais, isso se deve ao fato do indivíduo ficar exposto a tantas informações e cores; (j) Presença de animais em locais onde deveria existir a mata ciliar pode trazer problemas como compactação do solo e aumento no processo erosão. Um dos problemas causados pela compactação do solo é a dificuldade que a água tem em impregnar-se no solo; (k) Provável poluição do solo, a falta de saneamento básico em algumas residências e a presença de chorume produzido por resíduos orgânicos evidenciam que o solo no trecho em estudo da mata ciliar do rio Paratibe em Paulista, está poluído.

A partir da listagem dos impactos ambientais observados, e combinação dos critérios adotados para a classificação dos impactos qualitativos e quantitativos, obteve-se as matrizes descritas nos Quadros 2 e 3, onde evidenciou-se que a maioria dos impactos são de valor e categoria negativos.

**Quadro 1.** Quadro dos impactos qualitativos encontrados no trecho da mata ciliar do rio Paratibe, Paulista, Pernambuco. Os impactos qualitativos são classificados em: valor (positivo – P ou negativo – N), ordem (direta – D ou indireta – In), espaço (local – L, regional – R ou estratégico – E), tempo (curto - C, médio – M ou longo – L) dinâmica (temporário – T, cíclico – C ou permanente – P) e plástica (reversível – R ou irreversível – Ir).

Impactos Ambientais	Valor		Ordem		Espaço		Tempo			Dinâmica			Plástica		
	P	N	D	In	L	R	E	C	M	L	T	C	P	R	Ir
Construção de casas	X	X				X		X					X	X	
Perda de biodiversidade	X	X			X			X					X	X	
Urbanização	X	X				X		X					X	X	
Presença de resíduos sólidos	X	X			X			X			X				X
Erosão	X	X			X					X			X	X	
Assoreamento	X	X			X					X			X	X	
Queimadas	X	X			X			X			X				X
Provável poluição do solo	X	X			X			X					X	X	

**Quadro 2.** Quadro dos impactos quantitativos encontrados no trecho da mata ciliar do rio Paratibe, Paulista, Pernambuco. Os impactos quantitativos são classificados em: categoria (positivo – Po ou negativo – N), reversibilidade (reversível – Re ou irreversível – Ir), abrangência (local – L ou regional – R), magnitude (fraco – Fr, médio - M ou forte – Fo), duração(temporário – T ou permanente – Pe) e importância (não significativa – 1,moderada – 2 ou significativa – 3).

Impactos Ambientais	Cate-goria		Reversi-bilidade		Abran-gência		Magni-tude			Dura-ção		Impor-tância			
	Po	N	R	Ir	L	R	Fr	M	Fo	T	Pe	1	2	3	
Construção de casas	X	X				X		X			X				X
Perda de biodiversidade	X	X			X			X		X					X
Urbanização	X	X				X				X		X			X
Presença de resíduos sólidos	X	X			X			X		X					X
Erosão	X			X	X			X				X			X
Assoreamento	X			X	X			X				X			X
Queimadas	X	X			X			X				X			X
Provável poluição do solo	X			X	X			X				X			X

Das 132 possíveis interações vistas na matriz foram apontadas 68 entre os componentes ambientais e os impactos.

Ao analisarmos as informações da matriz no Quadro 3 vemos que quase que sua totalidade foi de impactos negativos, sendo a importância e magnitude praticamente iguais no que diz respeito a predominância entre eles.

**Quadro 3.** Matriz de Leopold adaptada. Classificada em: 1 a 3 = importância e magnitude fraca; 4 a 7 = importância e magnitude média; 8 a 10 = importância e magnitude forte. Sinais indicativos: impacto positivo (+) e impacto negativo (-).

		Fontes impactantes										Total		
		Construção de casas	Perda de biodiversidade	Urbanização	Introdução de espécies exóticas	Presença de resíduos sólidos	Erosão	Assoreamento	Queimadas	Polluição visual	Presença de animais		Práticas poluidoras do solo	
Meio Físico	Qualidade do Solo	-8	-1	-8		-8	-4	-4	-1		-1	-8	-43	-99
	Qualidade do Ar	-8	4	-8		8	8	8	-1	8	4	8	-17	
	Qualidade das Águas Superficiais	-8		-8	-1	-8	-4	-1	8		-1	-8	-39	
		8	8	8	4	8	8	8		8	8	8	60	148
Meio Biológico	Fauna Terrestre	-4	-8	-8	-8	-8	4						-28	-172
	Fauna Aquática	-4	8	-8	-8	-8	4	-8	-4	-1			28	
	Flora Terrestre	-8	8	-8	-8	-8	4	8	8		-1	-8	-33	
	Biodiversidade	-8	8	-8	-8	-8	4	8	8		8	8	-44	
	Habitat	-8	8	-8	-8	-8	4	8	8		8	8	-45	
		8	8	8	8	8			-1	8		8	56	208
Meio Antrópico	Qualidade de Vida	+8		+8	+4	-8			-1	-8		-8	-5	
	Geração de Renda			+8	+8	8					+8	8	+24	
	Valorização Imobiliária	-8		+8	+8	-8				-8		8	-8	
	Lazer	-8		+8	8	-8			-1	-8		8	40	
		8		8	8	8			8	8		8	24	168
		8		8	8	8			8	8		8	40	
		8		8	8	8			8	8		8	-9	
		8		8	8	8			8	8		8	-48	

Em relação as medidas mitigadoras, pode-se prever a aplicação da educação ambiental, o reflorestamento da área, bem como o isolamento da área.

## **CONCLUSÃO**

Mostrou a importância da mata ciliar e os impactos que ela tem sofrido; Contribuiu para a sociedade acadêmica e civil bem com os representantes governamentais do município de Paulista, Pernambuco; Revelou que a educação ambiental é necessária.

## **REFERÊNCIAS**

BARBARIE, Edison. Biodiversidade: a variedade de vida no planeta. São Paulo: Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Sul (Cananéia), Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio do Pescado Marinho,

Instituto de Pesca, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 2010.

\_\_\_\_\_. BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução CONAMA Nº 001, de 23 de janeiro de 1986. Brasília, DF, 23 jan 1986.

BRITO, Fausto. O deslocamento da população brasileira para as metrópoles. Estudos Avançados, São Paulo, v.20, n.57, mai/ago, 2006.

CORREIA, Ana Margarida Araújo. Causas para a perda de Biodiversidade: uma análise ecológica Humana. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia - Departamento de Engenharia Florestal, 2007.

FERNANDES, Antonio Rodrigues e LIMA, Herdjanía Veras de. Erosão do solo. Belém – PA: Ministério da Educação e do Desporto, Universidade Federal Rural da Amazônia, Instituto de Ciências Agrárias – Disciplina de Manejo e conservação do solo e da água, 2007.

FERREIRA, Daniel Assumpção Costa e DIAS, Herly Carlos Teixeira. Situação atual da mata ciliar do ribeirão São Bartolomeu em Viçosa, MG. Revista *Árvore*, Viçosa-MG, v.28, n.4, p.617-623, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. 2010. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

LEÃO, Tarciso Cotrim Carneiro et al. Espécies Exóticas Invasoras no Nordeste do Brasil: Contextualização, Manejo e Políticas Públicas. Recife – PE: Centro de Pesquisas Ambientais do Nordeste (Cepan) e Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental, 2011.

LEOPOLD, Luna B. et al. A procedure for evaluating environmental impact. US Geological Circular 645 – N71 –36757; Washington: DC, US Dept. of the Interiore, 1971.

MOTA, Suetônio e AQUINO, Marisete Dantas de. Proposta de uma Matriz de Avaliação de Impactos Ambientais In IV Simpósio Ítalo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Vitória – ES, 2002. Anais. Vitória – ES: SIBESA, 2002. OLIVEIRA, Itamar Pereira de et al. Queimadas e suas consequências na região centro oeste. Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás, v.1, n.2, p. 88 -103, nov. 2005.

PARFITT, Claire Morrone. Impacto Urbano em área de interesse e proteção ambiental: produção do espaço em zonas de preservação ambiental da cidade de Pelotas na Lei 2565/80. Dissertação de Mestrado (Pós Graduação em Planejamento Urbano e Regional), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

SANDE, Denise et al. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., São Paulo, n 3 v. 47, p. 190-196, 2010.

SCARIOT, Aldicir. Panorama da biodiversidade brasileira. In: Conservação da Biodiversidade - Legislação e Políticas Públicas. GANEM, Roseli Senna (org.) Conservação da Biodiversidade - Legislação e Políticas Públicas. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, Série memória e análise de leis, n. 2, 2010.

SILVA, José Ednaldo Feitoza da e DANTAS, Ivan Coelho. Poluição visual: que mal isso faz? Revista de Biologia e Farmácia, Campina Grande – PB, v.2, n. 2, 2008.

## **AVALIAÇÃO SAZONAL DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO COCÓ-CE**

**Linhares, F. R. A.<sup>(1)</sup>; Oliveira, R. L. G.<sup>(1)</sup>; Oliveira, F. C. E.<sup>(1)</sup>; Leite, L. V.<sup>(1)</sup>;  
Leite, J. S.<sup>(1)</sup>; Oliveira, M. S.<sup>(1)</sup>; Pinheiro, J. P. S.<sup>(1)</sup>; Rocha, J. C.<sup>(2)</sup>**  
renan.aragao@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza - CE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Superintendência Estadual do Meio Ambiente – SEMACE, Fortaleza - CE, Brasil.

### **RESUMO**

A estrutura do ecossistema manguezal-estuário apresenta grande importância para a população de baixa renda que reside nas margens, recorrendo ao ambiente para retirar alimentos. O objetivo dessa pesquisa foi realizar uma descrição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da foz do rio Cocó durante o ano de 2012. No primeiro semestre do ano, os valores médios de pH foi de 7,25, temperatura de 28,7 °C, turbidez de 7 UNT, clorofila “a” de 0 µg/L, amônia de 3,61 mg/LN, fósforo total de 0,11 mg/L, nitrato de 0,45 mg/LN, nitrito de 0,05 mg/LN, OD de 3,49 mg/L O<sub>2</sub>, DBO de 7,21 mg/LO<sub>2</sub> e coliformes termotolerantes de 8000 NMP/100mL. No segundo semestre, os valores médios de pH foi de 6,65, temperatura de 24,25°C, turbidez de 3 UNT, clorofila “a” de 0,52 µg/L, amônia de 8,88 mg/LN, fósforo total de 0,08 mg/L, nitrato de 0 mg/LN, nitrito de 0,45 mg/LN, OD de 9,1 mg/LO<sub>2</sub>, DBO de 28,2 mg/LO<sub>2</sub> e coliformes termotolerantes de 190 NMP/100mL. Após uma comparação simples das médias entre os dois períodos, conclui-se que a

conservação da zona estuarina do rio Cocó encontra-se comprometida, tornado necessário uma reação enérgica para a fiscalização da região, visando o desenvolvimento socioeconômico sustentado desse ecossistema.

**Palavras-chave:** Estuário, Degradação, Qualidade de água.

## INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2000), Fortaleza, capital do estado do Ceará, possui 2,5 milhões de habitantes e segue como a quinta cidade mais populosa do Brasil. Esta população é responsável pela produção de milhões de litros de dejetos por dia, que, em geral, são lançados na precária rede de esgotos da cidade, nas fossas particulares, nos rios ou simplesmente nas ruas, como acontece na maioria das favelas das grandes cidades (VASCONCELOS, 1985).

Neste contexto o rio Cocó, inserido no centro urbano da capital cearense, vêm sofrendo alterações em consequência de fatores naturais e/ou atividades humanas. A bacia metropolitana tem suas nascentes na serra da Aratanha, e deságua no Atlântico nos limites das Praias do Futuro e Sabiaguaba, com foz em forma de estuário constituindo-se uma zona composta por extensos manguezais (SEMACE, 2010).

A estrutura do ecossistema manguezal-estuário apresenta grande importância para a população de baixa renda que reside nas margens, recorrendo ao ambiente para retirar alimentos para o consumo e comercialização. No entanto, a ocupação que vêm se intensificando nas

margens dos rios podem estar causando alterações nas áreas estuarinas e de manguezais, consideradas ecossistemas frágeis (VIANA, 2003).

Assim, o objetivo da pesquisa foi realizar uma descrição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da foz do rio Cocó durante o ano de 2012, visando à comparação dos parâmetros das estações chuvosa e seca para propor um diagnóstico de proteção e conservação dos recursos naturais existentes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a realização deste trabalho foram feitas quatro coletas na margem esquerda da foz do Rio Cocó na praia do Caça e Pesca de coordenadas (UTM) 562510/9582702, sendo duas no período chuvoso (janeiro e maio) e duas no período seco (setembro e dezembro). No Ceará, as chuvas mais significativas iniciam-se no final de dezembro de cada ano e podem estender-se até junho ou julho, dependendo das condições oceânicas e atmosféricas atuantes. Logo, os meses de agosto a dezembro são observados períodos de estiagem em todo o estado (FUNCEME).

As amostras foram coletadas cuidadosamente na superfície, evitando a entrada de detritos e a formação de bolhas. Após a coleta em frascos de âmbar estéreis, as amostras foram acondicionadas e transportadas ao laboratório de análises de água e efluentes da Superintendência Estadual do Meio Ambiente - SEMACE.

A temperatura da água foi obtida *in loco* por meio de um termômetro comum. A determinação do Potencial Hidrogeniônico foi obtida através de peagâmetro da marca HACH previamente calibrado com soluções tampão. A turbidez foi obtida por meio de um turbidímetro de bancada do tipo 2100Q HACH. A análise de fósforo total foi obtida a partir do método de digestão com Persulfato com concentrações obtidas por leitura em espectrofotômetro do tipo DR5000-UV/VIS HACH.

O índice de nitrato, nitrito e amônia foi determinado a partir de análise espectrofotométrica para a determinação dos teores desses compostos dissolvidos na água. Os métodos de análise já estabelecidos pelo equipamento DR-5000 UV/VIS HACH. Para nitrato, nitrito e amônia foram utilizados os reagentes Nitra ver, Nitri ver e Nessler respectivamente fornecidos pelo fabricante para amostras de 25 mL.

As amostras para determinação dos teores de clorofila “a” foram coletadas em frascos escuros tipo âmbar para impedir o contato com a luz solar. No laboratório, as amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro GF 50-A, 47 mm em bomba de vácuo em local protegido da luz. As membranas com o material resultante do processo de filtração das amostras, foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 min e maceradas até homogeneização com solução de acetona 90%. Em seguida, foi realizada a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 664 nm e 750 nm.

Os índices de oxigênio dissolvido (OD) e da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) foram obtidos segundo o método de Winkler. Foram coletados 300 mL de água em dois frascos de DBO. *In loco* foi realizada a fixação do oxigênio com solução de sulfato manganoso e o reagente de iodeto alcalino azida. No laboratório foram acrescentados ácido sulfúrico e a solução indicadora de amido para a titulação com solução padrão de tiosulfato de sódio 0,025 N.

Para a determinação da DBO, foi utilizada uma incubadora composta de geladeira comum durante cinco dias em 20°C. Após esse período o teor de oxigênio dissolvido foi determinado pelo mesmo método (OD5).

Para a determinação dos coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*) foram realizadas análises conforme a metodologia de Tubos Múltiplos. Efetuaram-se diluições da amostra no meio de cultura caldo lactosado, em duplicata, e incubou-se à temperatura de  $35 \pm 0,5$  °C por  $24 \pm 2$  horas (para leitura de coliformes totais). Efetuou-se a repicagem em meio de cultura Caldo EC, em duplicata, e incubou-se à temperatura de  $44,5 \pm 0,2$  °C por  $24 \pm 2$  horas (para leitura de coliformes termotolerantes). A leitura foi realizada após formação de gases nos tubos de Durhan. Obteve-se resultados em NMP (números mais prováveis).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente trabalho, as médias observadas do pH das águas da foz do rio Cocó no local da coleta foram 7,25 para os meses de janeiro e maio e 6,65 para os meses de setembro e dezembro (Tabela 1). Esta diminuição pode ser atribuída à transição do período chuvoso para o seco, pois a drenagem terrestre causada pela água das chuvas pode ter um provável efeito de diluição dos ácidos orgânicos liberados pelo trecho de solo alagadiço para dentro do rio (CARVALHO et al., 2000).

No que diz respeito à temperatura, verificou-se uma redução de 4,45 °C entre as médias dos dois semestres (Tabela 1). A redução da temperatura pode estar relacionada com o aumento da média de oxigênio dissolvido entre as estações de seca (3,49 mg/L O<sub>2</sub>) para chuvosa (9,1 mg/L O<sub>2</sub>), pois a solubilidade dos gases em água aumenta com a redução da temperatura.

Os valores médios de turbidez encontradas variaram de 7 UNT nos meses de janeiro e maio a 3 UNT nos meses de setembro e dezembro (Tab. 1). O valor elevado da turbidez no primeiro semestre pode ter sido influenciado pela maior ocorrência de plantas flutuantes e emersas durante o período chuvoso (CARVALHO et al., 2005). Porém, também pode estar relacionado ao acúmulo de material em suspensão proveniente das áreas adjacentes ou da sua montante.

Verificou-se que a média da clorofila “a” para os meses de janeiro e maio foi zero µg/L, porém a média para os meses de setembro e dezembro foi de 0,52 µg/L (Tab. 1). A clorofila “a” está relacionada à

produtividade fitoplanctônica. Esta depende da disponibilidade de radiação dentro do próprio corpo d'água e da concentração de nutrientes especialmente fosfato, amônia e nitrito (PESSOA, 2002). Possivelmente a concentração crescente de clorofila “a” pode ter acompanhado os aumentos dos valores de amônia e nitrito no segundo semestre em relação ao primeiro semestre do ano.

A resolução 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) admite valores de 0,40 mg/L N para teor de amônia como ideal para águas salobras classe 1. Dessa forma, verificou-se que os valores médios do teor de amônia durante os dois períodos (3,61 mg/L N e 8,88 mg/L N) apresentaram-se elevados no corpo hídrico (Tab. 1).

Em média, os teores de fósforo (0,11 mg/L e 0,08 mg/L) mantiveram-se acima do recomendado pela resolução 357/05 do CONAMA, que adota um limite de 0,062 mg/L como valor ideal de fósforo total para corpos hídricos de classe 1 (Tab. 1). Em sistemas naturais, sem pressão antrópica, a origem do fósforo é a intemperização das rochas fosfáticas presentes na bacia hidrográfica (REYNOLDS, 2006). No entanto, atividades como o despejo de esgotos urbanos irão alterar as concentrações naturais do fósforo em reservatórios, o que provavelmente vem acontecendo com o rio Cocó.

No mês de maio, observou-se um aumento do teor de nitrato (0,9 mg/L N) e nitrito (0,09 mg/L N) em relação ao mês de janeiro (0 mg/L N), que pode ser justificado pela redução da forma oxidada de nitrogênio

(Tab. 1). Nesse mesmo mês de maio, o teor de nitrato encontrado foi superior ao recomendado pela resolução 357/05 do CONAMA que é de 0,4 mg/L N.

Em dezembro, constatou-se teor elevado de amônia (9,5 mg/L N) e nitrito (0,9 mg/L N) em relação aos outros meses analisados, que pode ser consequência da oxidação da amônia, embora não tenha sido constatado nitrato (Tab. 1). Houve prevalência de amônia nas amostras analisadas, o que indica fortemente a presença de poluição das águas de superfície provocada pela ação antrópica (ESTEVES, 1988).

A concentração média observada para o oxigênio dissolvido (OD) foi de 3,49 mg/L O<sub>2</sub> para os meses de janeiro e maio e 9,1 mg/L O<sub>2</sub> para os meses de setembro e dezembro (Tabela 1). Neste aspecto, o alto valor médio de turbidez no primeiro semestre associado à ausência de valor médio de clorofila “a” pode ter influenciado a ação fotossintética, diminuindo as concentrações de oxigênio dissolvido na água. Por outro lado, o aumento de 5,61 mg/L O<sub>2</sub> de oxigênio dissolvido no segunda semestre pode ter sido influenciado pelo ponto de coleta, que apresenta margens livres de qualquer edificação e passível de uma maior reoxigenação atmosférica no período de estiagem, assim como, pelo constante despejo de matéria orgânica rica em compostos nitrogenados favorecendo uma maior produtividade primária neste trecho.

Constatou-se que a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) obteve valor médio de 7,21 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> nos meses de janeiro e maio e 28,2

mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> nos meses de setembro e dezembro (Tabela 1). Este aumento entre os semestres do ano pode ser efeitos do aumento da poluição e de fenômenos de erosão (PERES et al., 2008).

Para a análise microbiológica, o valor médio de coliformes termotolerantes foi de 8000 NMP/100 mL nos meses de janeiro e maio e 190 NMP/100 mL nos meses de setembro e dezembro (Tab. 1). Nas amostras referentes ao inverno, foi possível observar um aumento na concentração de coliformes termotolerantes, em relação àquelas analisadas durante o período seco, mesmo considerando o aumento no volume de precipitações pluviométricas durante os meses de inverno e diluição da carga microbiana.

**Tabela 1.** Análise de parâmetros limnológicos dos recursos hídricos da foz da bacia metropolitana do rio Cocó sob as coordenadas (UTM) 562510/9582702 durante os meses de janeiro, maio, setembro e dezembro do ano de 2012.

Parâmetros/Meses	Janeiro	Maior	Média 1*	Setembro	Dezembro	Média 2*
pH (0-14)	7,5	7	7,25	6,9	6,4	6,65
Temperatura (°C)	28,4	29	28,7	27	21,5	24,25
Turbidez (UNT)	2	12	7	1	5	3
Clorofila "a" (µg/L)	0	0	0	1,03	0	0,52
Amônia (mg/L N)	7	0,21	3,61	8,25	9,5	8,88
Fósforo total (mg/L)	0	0,22	0,11	0,05	0,1	0,08
Nitrato (mg/L N)	0	0,9	0,45	0	0	0
Nitrito (mg/L N)	0	0,09	0,05	0	0,9	0,45

OD (mg/L O <sub>2</sub> )	4,8	2,17	3,49	14,4	3,8	9,1
DBO (mg/L O <sub>2</sub> )	13,07	1,35	7,21	3,6	52,8	28,2
*C. termo. (NMP/100 mL)	0	16000	8000	80	300	190

Média 1 – obtida nos meses de janeiro e maio.; Média 2 – obtida nos meses de setembro e dezembro.; \*C. termo - Coliformes termotolerantes.

## CONCLUSÃO

A partir dos parâmetros de qualidade da água analisados, constatou-se que a foz do Rio Cocó apresenta sinais evidentes de degradação ambiental durante os dois semestres do ano de 2012. Nesse contexto, torna-se necessária uma reação enérgica dos órgãos competentes para a fiscalização das áreas de manguezais e cumprimento da legislação que regula o manejo adequado desse ecossistema, favorecendo o seu desenvolvimento socioeconômico sustentado.

Assim sugere-se a aplicação de um plano de recuperação para o rio Cocó entre outras, das seguintes providências: melhorar as condições de saneamento básico nas áreas críticas, uma vez que o lixo e esgotos são lançados para o estuário; proibir e fiscalizar o desmatamento da vegetação ribeirinha e de mangue para evitar os processos erosivos e o assoreamento do rio; evitar construções e abertura de vias de acesso nesta zona, para que não ocorram alterações da paisagem; proteger a fauna e a flora dos agentes degradadores desse ecossistema; conscientizar a população local no que se refere à preservação e

conservação do ambiente natural e seus respectivos ecossistemas, através de práticas de educação ambiental.

## REFERÊNCIAS

CARVALHO, A. R.; SCHLITTLER, F. H. M.; TORNISIELO, V. L. Relações da atividade agropecuária com parâmetros físicos químicos da água. **Química Nova**, v. 23, n. 5, 2000.

CARVALHO, F. T.; VELINI, E. D.; CAVENAGHI, A. L.; NEGRISOLI, E.; CASTRO, R. M. Influência da turbidez da água do Rio Tietê na ocorrência de plantas aquáticas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 359-362, 2005.

Conselho nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº357 de 17 de março de 2005**. CONAMA. 2006. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama>>. Acesso em: 25 Jan. 2013.

ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1988.

Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. FUNCEME. s.d. (sem data) Disponível em: <[http://www.funceme.br/produtos/script/chuvas/Grafico\\_chuvas\\_postos\\_pluviometricos/totalchuvas/](http://www.funceme.br/produtos/script/chuvas/Grafico_chuvas_postos_pluviometricos/totalchuvas/)>. Acesso em: 01 fev. 2013.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. IBGE. 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=230440&search=ceara/fortaleza>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

PERES, C. K.; PERES, C. K.; KRUIPEK, R. A.; BRANCO, C. C. Z. Diagnóstico da qualidade da água do rio Cascavel, município de Guarapuava, Estado do Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 4, n. 1, p. 25-35, Jan./Abr. 2008.

PESSOA, E. V. **Estudo do “standing-crop” da água do estuário do rio cocó (ceará-brasil), como indicador das modificações físico-químicas do meio**. 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado em desenvolvimento e meio ambiente) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002.

REYNOLDS, C. S. **The Ecology of Phytoplankton**. São Paulo: Cambridge University Press, 2006.

Superintendência Estadual do Meio Ambiente. **Parque Ecológico do Rio Cocó**. SEMACE. 2010. Disponível em: < <http://www.semace.ce.gov.br/2010/12/parque-ecologico-do-rio-coco/>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

VASCONCELOS, F.P. Aspectos da poluição nas praias dos municípios de Fortaleza. **Biol. Ciênc. Mar**, Fortaleza, v. 42, p. 1-9, 1985.

VIANA, M. C. Estudo da degradação no manguezal do rio cocó – Fortaleza/CE. **Revista da Casa da Geografia de Sobral**, Sobral, v. 4/5, p. 55-65, 2002/2003.

## BESOUROS AQUÁTICOS EM AMBIENTES ALAGADOS ASSOCIADOS A RIACHOS DE PERNAMBUCO

Cunha, J. C. S.<sup>(1)</sup>; Barros Filho, R. G.<sup>(1)</sup>; Silva, R. P.<sup>(1)</sup>; Rodrigues, G. G.<sup>(1)</sup>

janainacsc@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil.

### RESUMO

Os coleópteros aquáticos são encontrados em ambientes lênticos, como banhados com grande abundância de vegetação e poças temporárias com pouca água, e ambientes lóticos com grande volume de água e profundos. Por isso, este trabalho teve como objetivos inventariar a fauna de coleópteros aquáticos em ambientes alagados do bioma Mata Atlântica em Pernambuco e analisar a similaridade das unidades de conservação da região metropolitana e zona da mata de Pernambuco, quanto a riqueza e abundância da fauna de coleópteros aquáticos. Foram realizadas cinco coletas durante a estação chuvosa em Julho e Agosto de 2013 em cinco Unidades de Conservação. Para a amostragem, foram utilizadas peneiras e redes de mão que, posteriormente, foi passado em uma peneira com malha de 0,25 mm de abertura. Foram identificados 41 indivíduos pertencentes a quatro famílias: Chrysomelidae, Dytiscidae, Hydrophilidae e Noteridae. Dytiscidae representou 58% da abundância total, seguido de Hydrophilidae (20%), Noteridae (20%) e Chrysomelidae com 2%. Dytiscidae apresenta-se mais adaptado as diversas condições ambientais ocorrendo na maioria das UC's, mostrando ampla distribuição. Assim, por serem incipientes os estudos com besouros aquáticos na região Nordeste, este estudo contribuiu para o conhecimento da coleopterofauna aquática, que é considerada bioindicadora de ecossistemas conservados.

**Palavras-chave:** Mata Atlântica; Unidade de Conservação; Insetos Aquáticos.

## INTRODUÇÃO

A ordem Coleoptera é a mais representativa e diversificada da Classe Insecta, com cerca de 360.000 espécies descritas (BOUCHARD et al., 2009). Estudos apontam a existência de 180 famílias em todo planeta (BOUCHARD et al., 2011), sendo destacadas 43 famílias com representantes de besouros aquáticos ou semiaquáticos (JÄCH, 1998) com pelo menos 6.000 espécies conhecidas em meados do século passado (HUTCHINSON, 1957).

Segundo Jäch (1998) existe uma distinção das famílias de besouros aquáticos em seis grupos ecológicos: verdadeiramente aquáticos, falsos aquáticos, fitófilos, parasitas, facultativos e ripários. Sendo assim, os besouros aquáticos ocupam diversos níveis na cadeia trófica, podendo ser desde fitófagos até predadores, além de ampla valência ecológica (BENETTI; HAMADA, 2003), demonstrando a sua importância na composição da fauna aquática.

Para tal, são necessárias várias adaptações para sobreviver ao meio aquático, sendo as principais do tipo respiratórias ou para captura de alimento, como: corpo hidrodinâmico, patas em forma de remos, plastrão, câmara de ar nos adultos ou tráqueo-brânquias nas larvas (BENETTI; FIORENTIN, 2003). Assim, os coleópteros podem ocupar diversos ecossistemas aquáticos ou semiaquáticos como os ambientes lânticos feito os banhados com abundante vegetação e as poças

temporárias com pequeno volume de água (BENETTI; RÉGIL CUETO, 2004).

Devido à sua capacidade de voar, estes indivíduos podem colonizar e recolonizar habitats que se tornaram inadequados a sua sobrevivência pela ocorrência de poluição orgânica ou pelo caráter temporário do ambiente (BENETTI; RÉGIL CUETO, 2004). Por isso, estudos como este auxiliam no entendimento do funcionamento e dinâmica dos ecossistemas aquáticos, avaliando possíveis degradação dos ambientes estudados pelo potencial bioindicador do grupo. De forma que os objetivos deste estudo foram i) inventariar a coleopterofauna de ambientes alagados, como poças e banhados, e ii) analisar a similaridade das unidades de conservação da região metropolitana e zona da mata de Pernambuco, quanto a riqueza e abundância da fauna de coleópteros aquáticos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A Zona da Mata de Pernambuco, que compreende áreas de Floresta Ombrófila Densa – Mata Atlântica, apresenta estações de chuva e de estiagem. A estação chuvosa está compreendida entre os meses de maio a setembro. A pesquisa foi realizada durante a estação chuvosa nos meses de Julho e Agosto de 2013 em poças e banhados associados a cinco riachos pertencentes a cinco Unidades de Conservação (UC's) no

bioma Mata Atlântica, localizadas na região metropolitana e zona da mata de Pernambuco (Tabela 1).

**Tabela 1.** Localização e dados das Unidades de Conservação.

Unidades de Conservação	Municípios	Área (ha)	Coordenadas
Estação Ecológica de Caetés	Paulista	157,0	07°56'30"S/34°55'15"W
Refúgio de Vida Silvestre Mata da Usina São José	Igarassu	298,8	07°50'42"S/35°00'17"W
Parque Estadual Mata do Zumbi	Cabo de Santo Agostinho	292,4	08°19'38"S/34°59'01"W
RPPN* Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe	Ipojuca	76,2	08°31'63"S/35°01'25"W
RPPN Frei Caneca	Jaqueira	630,4	08°44'59"S/35°50'08"W

\*Reserva Particular do Patrimônio Natural.

As coletas foram realizadas em poças e banhados associados a riachos de forma a ser despendido um esforço amostral de aproximadamente duas poças ou banhados por área, sendo despendido 10 minutos por local amostrado. Para a realização da coleta foram utilizadas peneiras e redes de mão, com cerca de 15 passadas por local, no qual o material era colocado em bandeja e passado em uma peneira de 0,25mm no local de coleta. O material foi colocado em recipientes para o transporte ao laboratório, onde foram triados sob microscópio estereoscópico, identificados a partir de chaves dicotômicas e conservados em etanol a 70%. Os espécimes foram depositados na coleção do Laboratório de Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas Aquáticos (ARRE ÁGUA) do Departamento de Zoologia-UFPE.

Na análise de dados foi verificada a riqueza e abundância das famílias nas cinco áreas coletadas, que foram utilizadas como variáveis para a análise de agrupamento de casos (ligação completa) a partir da distância euclidiana. Os dados de abundância foram transformados por  $\log(x+1)$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados no total 41 indivíduos nas cinco UC's, pertencentes a quatro famílias de besouros aquáticos (Tabela 2), no qual a família Dystiscidae apresentou 58% da abundância total, seguida por Noteridae e Hydrophilidae, ambas com 20% e Chrysomelidae representando apenas 2% do total.

**Tabela 2.** Abundância das famílias da ordem Coleoptera coletados em cinco unidades de conservação – Pernambuco, Brasil, nos meses de Julho e Agosto de 2013. A = Estação Ecológica de Caetés, B = Refúgio de Vida Silvestre Mata da Usina São José, C = Parque Estadual Mata do Zumbi, D = Reserva Particular do Patrimônio Natural Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe, E = Reserva Particular do Patrimônio Natural Frei Caneca.

Famílias	Unidades de Conservação					Total
	A	B	C	D	E	
Chrysomelidae	0	0	0	1	0	1
Dytiscidae	11	4	3	6	0	24
Hydrophilidae	3	0	2	0	3	8
Noteridae	0	0	6	0	2	8
<b>Total</b>	14	4	11	7	5	41

A família mais abundante neste estudo, Dytiscidae, pertence a subordem Adephaga são conhecidos como besouros mergulhadores predadores por serem excelentes nadadores e, provavelmente, os mais adaptados a vida aquática devido à hidrodinâmica do seu corpo (MORONI; BACHMAN, 1977). Os ditiscídeos são encontrados em todos os continentes e é uma das maiores famílias dos verdadeiros besouros aquáticos (JÄCH, 1998), vivendo em uma grande variedade de ambiente como poças formadas pela chuva, alagados, lagos, córregos e rios (EPLER, 2010).

A família Hydrophilidae é uma das mais comuns entre os besouros aquáticos verdadeiros, conhecidos como limpadores de água e a maioria das suas espécies são predadoras e preferem ambientes com água parada. Noteridae é uma família estritamente aquática e também é encontrada em ambiente de água parada, onde, geralmente, está associado com algas e plantas (EPLER, 2010). Chrysomelidae é uma família com a maioria das espécies terrestres, mas algumas espécies são encontradas em vegetações ripárias ou aquáticas e sobre ou abaixo da

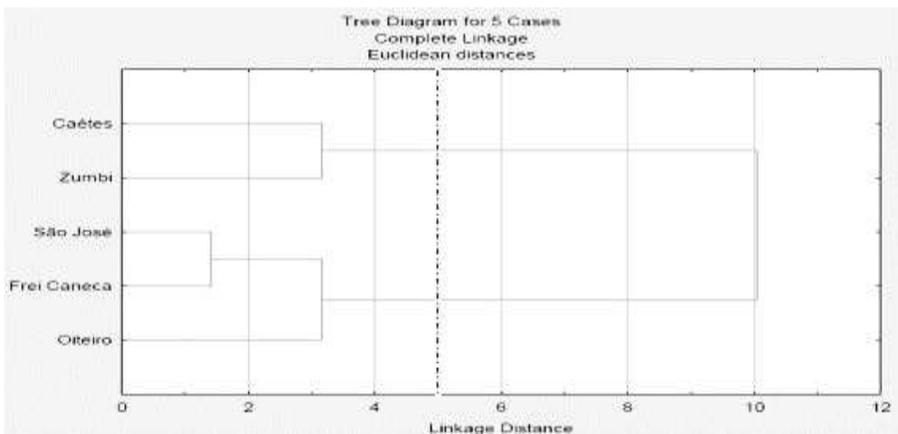
superfície da água, sendo considerados besouros aquáticos fitófilos (JÄCH, 1998).

O padrão de dominância no qual Dytiscidae se destaca como mais abundante e rica foi encontrado em outros estudos realizados em diversos tipos de habitats, incluindo poças e alagados (BENETTI et al., 1998; BENETTI et al., 2003). Esta dominância demonstra que os disticídeos são besouros bem adaptados para sobreviver em diferentes ambientes (lênticos e lóticos), que apresentam características ecológicas e condições diversas (BENETTI; RÉGIL CUETO, 2004). Em um estudo realizado em riachos de baixa ordem de UC's no Estado de São Paulo, as famílias Noteridae e Hydrophilidae estiveram pouco associadas a ambientes lóticos sendo encontradas, geralmente, em poças e apresentando baixa abundância, e a família Chrysomelidae foi representada apenas por um indivíduo (SEGURA et al., 2007). A baixa representatividade de Chrysomelidae pode ser explicada pelo fato de poucas espécies apresentarem o hábito aquático, portanto apresentam ocorrência efêmera ou ocasional nestes ambientes.

As poças e banhados (ambientes alagados) nas quais foram encontradas os besouros aquáticos apresentaram características semelhantes, como substrato argiloso e oferta de matéria orgânica (folhiço e raízes), demonstrando a preferência por estes tipos de ambiente. Em estudo realizado em sete tipos de ambientes no município de Gramado (Rio Grande do Sul) com coleopterofauna, incluindo poças e banhados, os

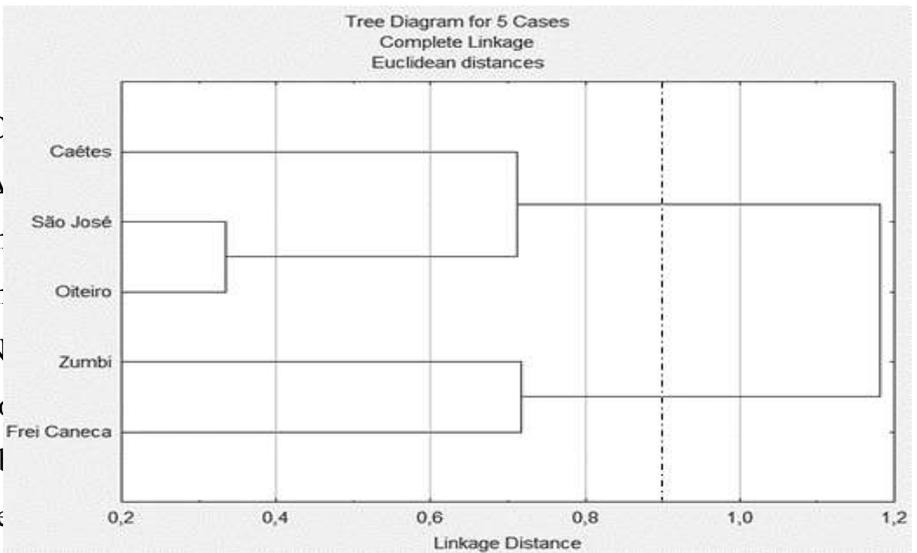
habitats de preferência apresentaram as mesmas características, substrato lamoso e abundância de vegetação (BENETTI; RÉGIL CUETO, 2004).

A análise de agrupamento de casos, usando como variáveis a riqueza e abundância de famílias de coleópteros, foi encontrado dois grupos separados a partir de um corte realizado na distância cinco (Figura 1). Quando utilizado os representantes das quatro famílias como variáveis, ocorreu a formação de dois grupos, realizando um corte na distância 0,9 (Figura 2). A diferença entre os dois agrupamentos ocorreu porque apenas as UC's PE Zumbi e RPPN Frei Caneca apresentam representantes da família Noteridae e as outras três UC's (ESEC Caetés, RVS São José e RPPN Oiteiro) foram as que tiveram mais representantes de Dytiscidae.



**Figura 1.** Dendrograma da análise de agrupamento realizada com duas variáveis riqueza e abundância de famílias dentro de cinco unidades de conservação – Pernambuco, Brasil.

C  
A  
n  
n  
N  
c  
al  
s



Este estudo contribuiu para o conhecimento da fauna de Coleoptera aquático que é considerada bioindicador para ecossistemas em bom

estado de conservação, podendo ser utilizado como ferramenta na gestão de Unidades de Conservação.

## REFERÊNCIAS

- BENETTI, C. J. et al. 1998. Coleopterofauna aquática na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS, Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**, **20** (1): 91-101.
- BENETTI, C. J.; FIORENTIN, G. L. 2003. Bionomia e ecologia de coleópteros aquáticos, com ênfase em Hydradephaga. **Acta Biologica**, **45** (2): 153-164.
- BENETTI, C. J.; HAMADA, N. 2003. Fauna de Coleópteros Aquáticos (Insecta: Coleoptera) na Amazônia Central, Brasil. **Acta Amazonica**, **33** (4): 701-709.
- BENETTI, C. J.; RÉGIL CUETO, J. A. 2004. Fauna composition of water beetles (Coleoptera: Adephegata) in seven water environments in the municipality of Gramado, RS, Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, **16** (1): 1-11.
- BENETTI, C. J.; RÉGIL CUETO, J. A.; GONZÁLEZ, J. G. 2003. Estudio faunístico de Hydradephaga (Coleoptera: Dytiscidae, Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae) en el municipio de Gramado, Sur de Brasil. **Bol. S.E.A.**, **32**: 37-44.
- BOUCHARD, P. et al. 2009. Biodiversity of Coleoptera. In: FOOTITT, R. G.; ADLER, P. H. (Eds.). **Insect biodiversity**. Science and society p. 265–301, 2009. Wiley-Blackwell, Chichester, UK.
- BOUCHARD, P. et al. 2011. Family-group names in Coleoptera (Insecta). **ZooKeys**, **88**: 1–972.
- EPLER, J. H. 2010. **The Water Beetles of Florida**. Florida, EUA. 414 p.
- HUTCHINSON, G.E. 1957. A treatise on Limnology. John Wiley & Sons, New York. 1115p.
- JÄCH, M. A. 1998. Annotated checklist of aquatic and riparian/littoral beetle families of the world (Coleoptera). **Water Beetles of China**, **2**: 25-42.

MORONI, J.; BACHMANN, A. O. 1977. Dytiscidae. In: HURLBERT, S.H. (ed.) **Biota Acúatica de Sudamérica Austral**. San Diego State University, San Diego. p. 217-225.

SEGURA, M.O.; FONSECA-GESSNER, A.A.; TANAKA, M.O. 2007. Composition and distribution of aquatic Coleoptera (Insecta) in low-order streams in the state of São Paulo, Brazil: influence of environmental factors. **Acta Limnol. Bras.**, **19** (3): 247-256.

---

## **BIODETERIORIZAÇÃO EM ROCHAS CARBONÁTICAS – CASO DO CENTRO DE CONVENÇÕES DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**PARAISO, S.<sup>(1)</sup>; MARSDEN, A.<sup>(2)</sup>; OLIVEIRA, F.<sup>(1)</sup>; CORREIA, K.<sup>(1)</sup>; SOUZA-MOTTA, C.<sup>(2)</sup>; CRUZ, R.<sup>(2)</sup>; MORAES, R.<sup>(2)</sup>** cristina.motta@ufpe.br

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mineral – PPGEMinas/UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Laboratório de Micologia Médica e Micoteca do CCB – UFPE, Recife – PE, Brasil.

### **RESUMO**

A proliferação de fungos em ambientes externos é uma preocupação dos proprietários dos imóveis e das pessoas que circulam e trabalham nesses ambientes. Patologias associadas ao uso da rocha, nos monumentos históricos e nas várias edificações, apresentam-se, sob vários aspectos, mas ocorrem em função dos agentes de biodegradação dos materiais pétreos. Segundo Dionísio et al. 1993, os agentes biológicos são relevantes nos processos de decaimento dos materiais pétreos, especialmente em ambientes úmidos, em áreas onde se verifica elevada precipitação atmosférica. As rochas calcárias são atacadas

principalmente por bactérias surfactantes e nitrificantes como também por outros microorganismos. O presente trabalho tem como objetivo determinar a ocorrência dos principais fungos existentes no revestimento pétreo (Mármore Travertino/Bege Bahia) externo das paredes do Centro de Convenções da Universidade Federal de Pernambuco. Foram coletados de duas formas: Raspagem com SWABS e com fita adesiva, em seguida foram inoculadas em meio de Ágar Sabouraud para o crescimento. Isolou-se 28 colônias de fungos. Os gêneros mais prevalentes foram, *Trichoderma sp.*(07), *Fusarium sp.* (07), *Cladosporium sp.*(03), *Aspergillus sp.*(02) *Penicillium sp.*(02), *Colletotrichum sp.* (01) *Verticillium sp.*(01), *Curvularia sp.*(04) *Candida sp.*(01) Esses fungos podem causar doenças em seres humanos e animais.

**Palavras-chave:** Biodegradação Microbiológica, Biodegradação Fúngica, Síndrome dos Edifícios Doentes.

## INTRODUÇÃO

As patologias associadas ao uso da rocha, nos monumentos históricos e nas várias edificações apresentam-se, sob vários aspectos, mas ocorrem em função dos agentes degradadores dos materiais pétreos. Segundo Dionísio et al. 1993, os agentes biológicos são também relevantes nos processos de decaimento dos materiais pétreos, especialmente em ambientes úmidos, em áreas onde se verifica elevada precipitação atmosférica. As rochas calcárias são atacadas principalmente por bactérias surfactantes e nitrificantes. Outro fator de influência, que acelera a degradação das rochas é a presença de microorganismos (processos biológicos – ácidos/ biodeterioração), atrelados à temperatura (acelera a reação química) e umidade, ambas elevadas. E, ainda, os tipos de rochas e seus minerais constituintes, classificadas de acordo com a composição mineralógica, outro importante fator no

processo de degradação de materiais pétreos (fatores endógenos). (RIECK, 2007). Nestas condições é facilitado o desenvolvimento de microorganismos e/ou organismos pertencentes a vários grupos sistemáticos como plantas, fungos algas, bactérias e líquenes. No Estado de Pernambuco, de clima quente e úmido, o processo de degradação das rochas sedimentares – arenitos e calcários - aplicadas nos monumentos é mais intenso, a partir dos fatores que influenciam no intemperismo (fator exógeno). Em função do clima local, os processos de alterações das rochas ocorrem, predominantemente, por um dos agentes do intemperismo: o químico. Estresses internos e externos incidem nas rochas empregadas no patrimônio construído. O desenvolvimento de micro-organismos pressupõe a existência de produtos de metabolismo que atuam sobre as rochas atacando seus minerais e decompondo-os e também que, para o desenvolvimento desses fungos há a necessidade de substrato que sirvam para o seu desenvolvimento. A quantidade de chuvas aumenta em determinada época do ano, aumentando assim a umidade relativa do ar em algumas áreas da cidade. Esse fator é primordial para o desenvolvimento de micro-organismos, principalmente os fungos. No caso dos monumentos históricos pernambucanos, objetos de estudo, considerando os fatores responsáveis pela degradação das rochas – endógenos e exógenos – as patologias encontradas são: crostas negras, eflorescências salinas, e acumulações biológicas (microorganismos), todas provocadas por agentes químicos; esfoliações, fissuras, pitting, presença de vegetação,

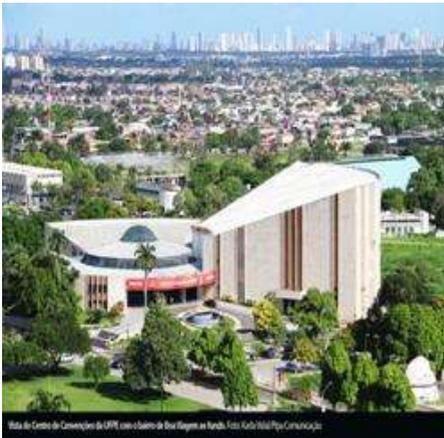
alveolização e perdas/lacunas, causadas pelos agentes físicos. Outro fator de influência, que acelera a degradação das rochas é a presença de microorganismos (processos biológicos – ácidos/ biodeterioração), atrelados à temperatura (acelera a reação química) e umidade, ambas elevadas. E, ainda, os tipos de rochas e seus minerais constituintes, classificadas de acordo com a composição mineralógica, outro importante fator no processo de degradação de materiais pétreos (fatores endógenos). (RIECK, 2007)

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho tem como objetivo determinar a ocorrência dos principais fungos existentes no revestimento pétreo externo das paredes (Mármore Travertino/Bege Bahia) do Centro de Convenções (Cecon) da Universidade Federal de Pernambuco. Este litotipo é na realidade, uma rocha sedimentar do tipo calcário algálico (ou travertino), micrítico a micro-esparítico, com nucleações constituídas de glomérulos oriundos da fragmentação e retrabalhamento hidrodinâmico de lâminas algálicas com focos irregulares de recristalização, disseminação difusa ou pontual de óxidos de Fe e, frequentemente, cavidades cársticas. Sua composição mineralógica é calcita ( $\text{CaCO}_3$ ), (97%) e 3% minerais acessórios.

Foram examinados vários ambientes (paredes) externos do Cecon/UFPE. Nos locais onde havia sinais de biodeteriorização (Figura

1), nas paredes laterais, foram coletados as amostras de duas formas: Raspagem com SWABS e com fita adesiva (Figura 2). Após a coleta, as amostras foram examinadas e inoculadas em meio de Ágar Sabouraud com antibiótico para o isolamento primário (Figura 3). Em seguida, as colônias desenvolvidas foram isoladas, purificadas e preparadas para a identificação final através do estudo da macro e micromorfologia (Figura 4). Após a identificação dos fungos, foram relacionados os principais gêneros envolvido na degradação desse material.



**Figura 1.** Foto do Cecon/UFPE.



**Figura 2.** Swabs e Lâminas com Durex.



**Figura 3.** Placas com os fungos isolados. **Figura 4.** Colônias de fungos purificados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Centro de Convenções da Universidade Federal de Pernambuco é localizado na zona oeste da cidade do Recife. Após pesquisas nas áreas afetadas pela biodegradação em vários pontos dessa edificação foram isolados vários fungos num total de 28 colônias. Sendo assim relacionados, *Trichoderma sp.*(07), *Fusarium sp.* (07), *Cladosporium sp.*(03), *Aspergillus sp.*(02) *Penicillium sp.*(02), *Colletotrichum sp.* (01) *Verticillium sp.*(01), *Curvularia sp.*(04) *Candida sp.*(01) Alguns desses fungos isolados podem causar doenças em humanos por exemplo, a Aspergilose pulmonar, Candidíase sistêmica, zigomicoses, Fusariose (Ceratite micótica) entre outras. A proliferação de fungos em ambientes externos é uma constante preocupação não só dos proprietários dos imóveis devido a deteriorização causadas pela intemperismo e ação antrópica bem com seus efeitos nas pessoas que circulam e trabalham perto desses ambientes. Alguns desses fungos isolados podem causar vários tipos de micoses em seres humanos e animais.

Segundo Dionísio et al. (1993), alguns dos seus efeitos dos micro-organismos sobre as superfícies pétreas são: fraturação mecânica devida à pressão que as raízes de certas plantas superiores exercem ao crescerem nas fendas das rochas; decomposição de alguns dos minerais

que compõem as rochas por algumas plantas superiores, dado existirem entre ambas reações de permuta iônica; aumento da superfície da rocha exposta ao ataque através da penetração das hifas dos líquens nas microdescontinuidades dos cristais, conduzindo a fenômenos de desagregação mecânica; criação de uma barreira retentora de umidade, acentuando a decomposição da rocha e a alteração da permeabilidade a gases e a líquidos. Acresce-se que estes microorganismos têm ainda a possibilidade de conduzir a formação de capas de alteração bem como a formação de um solo incipiente, onde se pode desenvolver flora contendo musgos e plantas superiores, resultantes da dissolução de minerais pelos líquens e da agregação da matéria orgânica. Os fungos e outros microorganismos e mesmo macroorganismos através de suas funções metabólicas atuam diretamente sobre as rochas através de reações químicas que decompõem o material pétreo. O mármore travertino é constituído basicamente de calcita (carbonato de cálcio). O cálcio é um dos macronutrientes secundários necessários ao desenvolvimento da flora. Portanto o Bege Bahia passa a fornecer o substrato necessário para o desenvolvimento de formas de microorganismos que podem funcionar também como catalizadores de reações como a carbonatação.

É imprescindível a utilização de materiais resistentes tanto aos efeitos climáticos naturais quanto aos químicos e biológicos. Urge novas pesquisas em relação a produção e caracterização de materiais pétreos

mais resistente utilizados na construção civil de modo geral, bem como nas ações de conservação e restauração permanente dessas edificações.

## CONCLUSÃO

As condições climáticas de Recife favorecem a ocorrência e alternância natural de ciclos úmidos e secos. Consideradas, ainda, as oscilações diárias da umidade relativa, com valores maiores e menores do que 75%, que favorecem a cristalização ou a dissolução dos minerais, tem-se reunidas as condições ideais para desencadear processos de alteração nos revestimentos. Tais circunstâncias e suas consequências são facilmente observadas nas rochas de revestimento encontradas no revestimento externo do Centro de Convenções da UFPE, materializando-se como destacamentos líticos, eflorescências, desagregações e manchamentos. O desenvolvimento de microrganismos nestas condições é inexorável. Eles atuam sobre o material pétreo seja pelo ataque químico decorrente da biocorrosão, seja pela ação física decorrente da bioabrasão.

A umidade, chuva temperaturas médias elevadas e também a poluição atmosférica propiciam o desenvolvimento de fungos sobre as rochas, notadamente aquelas carbonáticas porque elas fornecem substrato para o desenvolvimento de microrganismos.

Os materiais de constituição carbonática sofrem graves problemas de alterabilidade e devem ser aplicados, prioritariamente, em uso interno.

O caso do Centro de Convenções da UFPE é típico do que ocorre quando materiais carbonáticos, notadamente o litotipo conhecido comercialmente como Mármore Travertino ou Bege Bahia é usado como revestimento externo.

## **REFERÊNCIAS**

DIONISIO, A.; Aires-BARROS, L.; BASTO, M. J.. A degradação das rochas do patrimônio cultural construído: o caso das rochas carbonatadas. Boletim da Soc. Portuguesa de Química, 1993. Lisboa. P 61-68;

RIECK, F. E.; SOUZA, J. C.. Condições de Conservação e Patologias dos Bens Pétreos de Monumentos Históricos da Zona da Mata Pernambucana. Anais do III Congresso Brasileiro de Rochas Ornamentais, Natal, RN, 2007. CETEM, p. 108-118.

---

## **CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DE SEDIMENTOS DO RIO BALSAS-MA**

**Silva, M.R.C.<sup>(1)</sup>; Rocha, J.R.<sup>(1)</sup>; Santos, D.O<sup>(1)</sup>; Freato, L.<sup>(1)</sup>** marirah@gmail.com

## RESUMO

Este trabalho buscou avaliar as características físicas e químicas do sedimento do rio Balsas, que está localizado no sul do Estado do Maranhão, é um município extenso ocupando uma área de 12.618 km<sup>2</sup>. O presente estudo teve como objetivo determinar as características físicas e químicas do sedimento do rio Balsas-MA, em períodos sazonais distintos (chuvoso e seco), com vistas à obtenção de dados sobre sua qualidade e informações básicas que permitam subsidiar futuros programas de conservação da Bacia do Balsas e utilização sustentável desses ecossistemas. Foram coletadas quatro pontos de amostras de sedimentos na proximidade do rio a montante e a jusante. Nas amostras de sedimento analisou-se a concentração de fósforo total, e matéria orgânica e inorgânica e granulométrica, e pH do sedimento e Argiminerais. Utilizando-se técnicas analíticas de espectrofotômetro Uv - vis modelo -1601pc, com métodos analíticos da Difração de Raios -X Os resultados obtidos foram satisfatórios, e indicam baixa concentração de fósforo por ser região de área agrícola. Porém podem influenciar no ambiente aquático.

**Palavras-chave:** Sedimento, Rio Balsas, Granulométrica.

## INTRODUÇÃO

O município de Balsas está localizado no sul do Estado do Maranhão, limitando-se ao norte com os municípios de Novas Colinas, Fortaleza dos Nogueiras e São Raimundo das Mangabeiras; ao sul, com Alto Parnaíba; a leste, com os municípios de Sambaíba e Tasso Fragoso e a oeste com Riachão e o Estado de Tocantins.

A rede hidrográfica é constituída pelos rios Balsas, Balsinhas, Cocal, Macapá e Maravilha, todos afluentes do rio Balsas que deságua no rio Parnaíba, sendo os dois primeiros da margem direita e os três últimos da margem esquerda e o rio Sereno, que banha a região oeste do

município de Balsas, e é afluente do rio Manuel Alves Grande, pela margem direita, aumento da urbanização e exploração nativa, cujos efeitos ainda não foram inteiramente dimensionados ( ATLAS 2005).

O clima regional é do tipo tropical quente e úmido. O regime de chuvas se estende de setembro a abril, com maior intensidade nos meses de novembro e dezembro, Com a decadência da pecuária e, mais tarde, a ascensão da agricultura caracterizada pela produção de grãos, destacando-se a soja, a economia de Balsas obteve muitos lucros, a ponto de chamar a atenção de outros empresários interessados na monocultura da soja. A “capital da soja”, como ficou conhecida a cidade de Balsas, registrou crescimento e desenvolvimento econômico significativo, adquirindo projeção nacional, em face da produtividade e da qualidade da soja produzida na região. A nova condição conferiu progresso e dinamismo à economia de Balsas (MA), mas vem causando sérios problemas ambientais (SIVA, 2002).

O homem para satisfazer suas necessidades e desenvolver suas atividades necessita fazer uso dos recursos naturais. Tais ações acabam produzindo impactos com maior ou menor intensidade, na Bacia do rio Balsas, tem como consequência, a área está sujeita a sérios processos de erosão das margens do rio e seus tributários, atividades extrativistas para geração de matéria prima usada em construção, assim como vários tipos de poluição e degradação ambiental.

O presente estudo teve como objetivo determinar as características físicas e químicas do sedimento do rio Balsas-MA, em períodos sazonais distintos (chuvoso e seco), com vistas à obtenção de dados sobre sua qualidade e informações básicas que permitam subsidiar futuros programas de conservação da Bacia do Balsas e utilização sustentável desses ecossistemas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A coleta dos sedimentos para a análise foi efetuada utilizando-se coletores do tipo “core” e “draga” de Eckmann (MUDROCH, 1991) e foram coletados em áreas de remanso, em locais com maior acúmulo de material, Foram feitas quatro coletas de sedimento em cada margem do rio recompostas em uma única.

As amostras de sedimento foram utilizadas para a determinação das porcentagens das matérias orgânica e inorgânica seguindo o procedimento padrão de incineração (ALLISON, 2002), granulométrica pelo método peneiramento ou combinação de peneiramentos, seguindo as normas da ABNT - NBR 7181-84. Para determinar os argiminerais foi pelo método técnica de difratometria por raios-X (DRX) As técnicas e os princípios aplicados na análise de difratogramas são abordados por CULLITY (1978 apud SILVA, 2006) e fósforo total foi determinado pelo método de Especificação do Fosforo (Cavalcante, P, 1995 modificado de Williams et al, 1976) analisado em Espectrofotômetro APHA, 1995).

Estão apresentados na Figura 1, os pontos de amostragem do rio Balsas-MA, Rio Maravilha, (P1), que faz parte do afluente do rio Balsas; Grado bravo, (P2) e Rio Balsa, Área Urbana, (P3) e Rio Balsas, Comunidade Santa Luzia, (P4).



**Figura 1.** Localização hidrográfica do Rio Balsas-MA com os pontos de coletas. Fonte: SILVA, 2002.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados amostras de sedimentos nos 4 pontos de coleta da Bacia do rio Balsas a montante e a jusante. Foram determinadas as porcentagens de matéria orgânica e inorgânica, pH, concentrações de fósforo total e estão mostradas nas Tabelas 1 e na Tabelas 2 as análises granulométrica analisados no laboratório de geoquímica da UFMA e os tipos de argilas determinada no laboratório de cristalografia da IQSC –

USP. Os valores de matéria orgânica podem representar um potencial de adsorção de poluentes, bastante favorecida pela afinidade entre estes e os sítios de ligação existente na matéria orgânica para o solo e em relação ao sedimento a porcentagens foram menor que 10% considerando de natureza inorgânica e quanto aos valores de pH, variando entre 4,70 e 7,02, no entanto, pode-se encontrar ambientes mais ácidos ou mais alcalinos na área de coleta do P3 é considerado mais ácido devido aos dejetos domésticos isso é um fator que interfere para ser caracterizado ácido mais que os pontos 1 e 4 já o P2 o sedimento é mais alcalina típico do ponto com área de dejetos de produtos agrícola,esses valores de pH influi na distribuição das formas livre e ionizada de diversos compostos químicos e as concentrações dos fósforos totais são considerada oligotrófica, ou seja pobre de nutriente, situação típica de ecossistemas aquáticos com baixo grau de intervenção antrópica. Por ser uma área agrícola e urbana de cerrado e de plantio de soja, demonstram influência ao meio ambiente no sistema aquático.

**Tabela 1.** Determinações de análise matéria orgânica, Inorgânica, (%) pH e Fósforo total ( $\mu\text{g/L}$ ) do sedimento da região de Balsas – MA, nos pontos de coleta (Jan/08).

Pontos	Matéria Orgânica	Matéria Inorgânica	pH	Fósforo
P1	1,9	98,1	6,57	1,0
P2	3,7	96,3	7,02	2,0
P3	2,8	97,2	4,70	1,5
P4	1,7	98,3	6,47	1,0

Na Tabela 2 os resultados demonstraram uma variação granulométrica espacial e temporal na composição do sedimento foi observada uma maior participação classificação do sedimento como Areia fina à média siltosa à argilosa sendo que a porcentagens foram de 1,3 a 3,4 % argila e silte foram de 10,6 a 13,3 % e para areia são maiores porcentagens de 62,8% devido área é mais arenosa para o sedimento. Pode se observar que todos os pontos têm a mesma característica da mineralogia da fração da argila típica do solo da região que é Latossalo vermelho – marrom somente avaliação qualitativa dos minerais, K: caulinita; (Gb): gibsitita; Q: quartzo; e (H): hematita . Segundo a literatura Oliveira (2003) e Silva (2006) o solo ao de mesma característica mineralógica e físico - química determinada também por Raios- X, esta amostra foi dividida nas frações matriz (solo) de cor vermelha escura, amostra L-M e fração nodular de cor amarela que encontra-se dispersa na matriz, amostra. Minerais presentes na amostra L-M: caulinita, gibsitita, quartzo, goetita e hematita.

**Tabela 2.** Determinação de análise granulométrica e os tipos de argilas, para o Sedimento do rio Balsas - MA, nos pontos de coleta (jan/08).

Pontos	Argila	Silte	Areia fina	Areia média	**Tipo de Argila
P <sub>1</sub>	1,3	10,6	62,8	25,3	K,Gb ,Q, H
P <sub>2</sub>	2,5	12,2	60,2	25,1	K,Gb ,Q, H
P <sub>3</sub>	3,4	13,3	62,1	21,2	K,Gb ,Q, H

P<sub>4</sub>          2,6          11,5          58,8          27,1          K,Gb ,Q, H

---

\*Areia fina à média siltosa à argilosa (%) - Classificação, \* \* (K):caulinita; (Gb): gibsita; Q: quartzo; e (H): hematita.

## CONCLUSÃO

Neste estudo, as características físicas e químicas, foram importantes na dinâmica do ecossistema aquático e os valores observados nos quatro pontos de coletas do rio Balsas-MA, foram consideradas adequadas para manutenção da vida aquática.

Os resultados obtidos foram satisfatórios, e indicam baixa concentração de fósforo por ser a região de área agrícola. Porém, o fósforo pode influenciar no ambiente aquático.

A retirada da vegetação natural (principalmente cerrado) e de modo geral, a ausência de mata ciliar deixam tanto o solo quanto a água e o sedimento desprotegidos.

## REFERÊNCIAS

ATLAS DO MARANHÃO. Gerência de Planejamento e Desenvolvimento econômico, Laboratório de Geoprocessamento - UEMA. São Luís, 2002.

ALLISON, M. A. 2002. The effects of shrimp trawling on sediment oxygen demand and the release of trace metals and nutrients from estuarine sediments. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v.57, p.25-42.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1995. *Standard Methods for the examination of water and waste-water*. 25. ed. New York: McGraw-Hill, 720 p.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - Resoluções **CONAMA**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/CONAMA/res357/mar/2005.html>>. Acesso em: 11 de março de 2012.

CULLITY, B. D. 1978. Elements of X-Ray diffraction. Addison-Weslwy. 555p.

SILVA, C. M. R. Estudo de Sedimento da Bacia Hidrográfica do Mogi- Guaçu, com ênfase na Determinação de Metais Pesados. 2002. 98f. Dissertação (Mestrado) Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2002.

SILVA, C. M. R. Utilização de metodologia eletroanalítica para estudos de adsorção de pesticidas triazínicos em amostras de sedimentos do rio Mogi-Guaçu-SP 2006. 86f. Dissertação (Doutorado) Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

MACKERETH, S. J. H.; HERON, J.; TALLING, J. S., 1978. Water analysis: some resed methods for limnologists (Freshwater Biological Association Scientific Publication, 36) Kendal: Titus Wilson & Sons Ltda., 117p.

MUDROCH, A.; MacKNIGHT, S.D.1991. CRC Handbok of. techniques for aquatic sediments sampling. Boca Raton: CRC,. 255p.

OLIVEIRA, L. A. 2003. Caracterização dos latossolos da chapada De araguari: minerais argilosos, Granulometria e evolução. caminhos de geografia - revista on line 3 (7)20-37p.

---

## **CARACTERIZAÇÃO DA ALFA-AMILASE EXTRAÍDA DOS CECOS PILÓRICOS DO *Colossoma macropomum***

**Ferreira, A.C.M<sup>(1)</sup>; Bezerra, R.S<sup>(1)</sup>** amaliamedeiros@gmail.com

<sup>(1)</sup> Laboratório de Enzimologia, departamento de bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil.

### **RESUMO**

O *Colossoma macropomum* é um peixe tropical de piracema, nativo dos rios Amazonas e Orinoco, é a terceira espécie mais cultivada no Brasil,

apresentando alta importância econômica. Além de servir para alimentação humana e animal, esta espécie pode ser utilizada como fonte de biomoléculas com aplicações industriais, como por exemplo, a alfa-amilase que está presente no trato digestivo do animal. Este trabalho teve como objetivo extrair e caracterizar alfa-amilases dos cecos pilóricos do tambaqui. A alfa-amilase apresentou temperatura ótima de 45°C, mantendo sua temperatura estável entre 25 e 40°C. A enzima apresentou estabilidade em meio alcalino, exibindo-se ativa nas faixas entre 7 e 9,5, o pH ótimo foi encontrado na faixa de 8,5. Estes resultados propõem uma possível utilização dessas enzimas em diversas áreas industriais, devido às características físico-químicas por elas apresentadas.

**Palavras-chave:** Tambaqui, Enzimas, Características Físico-químicas.

## INTRODUÇÃO

O tambaqui, *Colossoma macropomum*, é uma espécie tropical originária da América do Sul das bacias dos rios Amazonas e Orinoco. Pertencente à família Characidae e a subfamília Serrasalminae é a terceira espécie mais cultivada no país, exibindo alta importância econômica no Brasil. As espécies de peixe diferem muito quanto a sua habilidade de digerir carboidratos. Esta variabilidade reflete diferenças anatômicas e funcionais da região gastrointestinal e órgãos associados à digestão. Sistemas capazes de digerir uma variedade maior de carboidratos se desenvolveram nos peixes herbívoros e onívoros, como o tambaqui (KROGDAHL et al., 2005). A característica mais relevante das espécies do gênero *Colossoma* é a presença de um grande número de cecos pilóricos, que variam de 30 a 40, mas podendo chegar até a 75. Este órgão tem função similar ao pâncreas de outros vertebrados, sendo

responsáveis pela produção de enzimas alcalinas (MACHADO-ALLISON, 1982). Dentre as enzimas alcalinas produzidas pelos cecos pilóricos, destacam-se as proteases, lipases e amilases.

Enzimas digestivas de peixes, principalmente as proteases, vêm sendo purificadas, semi-purificadas e caracterizadas a partir de vísceras, e reportadas na literatura como biomoléculas de grande potencial para diversas aplicações tecnológicas, principalmente na indústria alimentícia e de detergentes (ESPÓSITO et al., 2009; KISHIMURA et al., 2006). O que torna as enzimas digestivas desses organismos tão interessantes a estas aplicações é o fato de que a maioria dessas proteínas apresenta atividade biológica em condições adversas de pH e temperatura (KLOMKLAO, 2008).

A  $\alpha$ -amilase [EC 3.2.1.1] é uma endocarboidrase encontrada na saliva e no trato digestivo de animais, ela é responsável pela hidrólise de ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$  presentes no amido e glicogênio. Estas enzimas possuem extensas aplicações biotecnológicas, detendo cerca de 25% do mercado de enzimas industriais (BURHAN et al., 2003). Amilases termoestáveis têm extensas aplicações comerciais no processamento do amido, na produção de açúcar e cerveja (LEVEQUE et al., 2000), nas indústrias têxteis (HENDRIKSEN et al., 1999) e na fabricação de detergente (LIN et al., 1998). Com isso, este trabalho tem como objetivo extrair  $\alpha$ -amilases dos cecos pilóricos do *Colossoma macropomum* e caracterizá-la quanto à temperatura e pH.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção das Amostras***

As espécies foram sacrificadas em gelo, suas vísceras foram removidas e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para obtenção do extrato enzimático. Os cecos pilóricos, órgão escolhido para extração da alfa-amilase, foram macerados e homogeneizados com tampão fosfato pH 7,5 10mM, em seguida o homogenato foi centrifugado por 25 minutos a  $10.000\times g$  a temperatura constante de  $4^{\circ}\text{C}$  para remoção de resquícios de gorduras e células. O sobrenadante foi coletado para as análises enzimáticas.

### ***Atividade Amilolítica***

A atividade da alfa-amilase foi mensurada de acordo com a metodologia de Bernfeld (1955), usando amido 2% como substrato. Em resumo, uma alíquota de  $20\mu\text{L}$  de amostra é misturada a  $125\mu\text{L}$  de solução de amido a 2% e  $125\mu\text{L}$  de tampão fosfato 10mM, pH 7,5. Após um período de incubação de 10 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$ , adiciona-se o reagente DNSA (ácido 3,5 dinitrosalicílico) e a mistura será aquecida a  $100^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. A leitura é realizada em espectrofotômetro, em comprimento de onda de 570nm. Um branco sem substrato e um controle sem extrato também foram avaliados. O ensaio foi realizado em quadruplicata. Uma unidade de atividade enzimática será expressa

como a quantidade de enzima capaz de produzir 1  $\mu\text{g}$  de maltose por minuto.

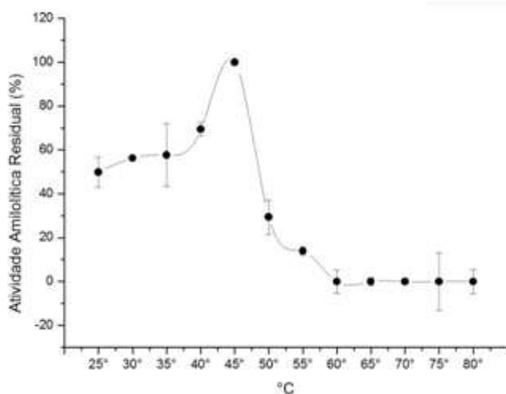
### ***Temperatura Ótima e pH***

Os efeitos do pH e da temperatura sobre a atividade da  $\alpha$ -amilase foram analisados. Os ensaios foram realizados com a mesma metodologia acima descrita, entretanto, para o pH ótimo foram utilizados os tampões Citrato-HCl (pH 2,5 a 4,5), Citrato-fosfato (pH 4,0 a 7,5), Tris-HCl (pH 7,2 a 9,0) e NaOH-Glicina (pH 8,7 a 11,5). Para a temperatura ótima, a incubação da mistura será realizada em faixas variando de 25 a 80°C, em intervalos de 5°C.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Temperatura Ótima***

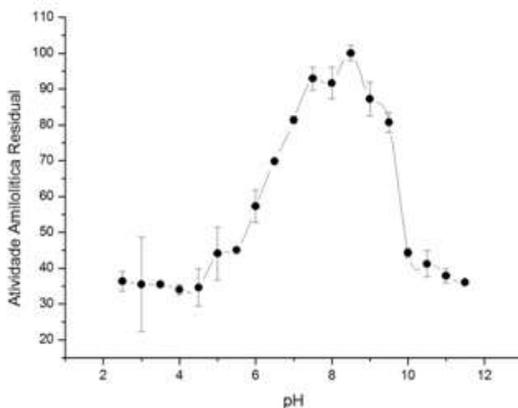
A alfa-amilase manteve-se estável com cerca de 50 a 70% de atividade residual na faixa de temperatura entre 25 e 40°C. Ao atingir 45°C a enzima teve seu pico de atividade, alcançando 100% de atividade residual. Com o aumento da temperatura, houve a perda gradativa da atividade amilolítica (Figura 1).



**Figura 1.** Temperatura ótima da Alfa-amilase pilórica.

### *pH Ótimo*

A alfa-amilase apresentou estabilidade nas faixas de pH neutro e alcalino, sendo inativada em meio ácido. A enzima manteve, em média, mais de 80% de sua atividade na faixa de pH entre 7,0 e 9,5, mostrando sua atividade ótima no pH 8,5 (Figura 2).



**Figura 2.** pH ótimo da Alfa-amilase pilórica.

## CONCLUSÃO

Os cecos pilóricos mostraram alta expressão de alfa-amilases, que apresentam temperatura elevada e ação em meio alcalino. A temperatura e pH ótimo da enzima foram de, respectivamente, 45°C e 8,5. Os resultados encontrados sugerem que esta enzima possui alto potencial biotecnológico, por apresentar características essenciais requeridas na aplicação industrial de enzimas.

## REFERÊNCIAS

BURHAN, A.; NISA, U.; GOKHAN, C.; OMER, C.; ASHABIL, A.; OSMAN, G. Enzymatic properties of a novel thermophilic, alkaline and chelator resistant amylase from an alkalophilic *Bacillus* sp. isolate ANT-6. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 1397–1403, 2003.

ESPÓSITO, T. S., AMARAL, I. P. G., BUARQUE, D. S., OLIVEIRA, G. B., CARVALHO JR., L. B., & BEZERRA, R. S. Fish processing waste as a source of alkaline proteases for laundry detergent. **Food Chemistry**, 112, 125–130, 2009.

HENDRIKSEN, H. V.; PEDERSEN, S.; BISGARD-FRANTZEN, H. A process for textile warp sizing using enzymatically modified starches. **Patent Application WO 99/35325**, 1999.

KISHIMURA, H., HAYASHI, K., MIYASHITA, Y., NONAMI, Y. Characteristics of trypsin from the viscera of true sardine (*Sardinops melanostictus*) and the pyloric ceca of arabesque greenling (*Pleuroprammus azonus*). **Food Chemistry**, 97, 65–70, 2006.

KLOMKLAO, S. Digestive proteinases from marine organisms and their applications. **Songklanakar Journal of Science and Technology**, v. 30(1), p. 37-46, 2008.

KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T.P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, v. 11; p. 103–122, 2005.

LEVEQUE, E.; JANECEK, S.; HAYE, B.; BELARBI, A. Thermophilic archaeal amylolytic enzymes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 26, p. 3–14, 2000.

LIN, L. L.; CHYAU, C. C.; HSU, W. H. Production and properties of a raw-starch-degrading amylase from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus* sp. TS-23. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 28, p. 61–68, 1998.

MACHADO-ALLISON, A. Estudios sobre la subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estudio comparado de los juvenis de las “Cachamas” de Venezuela (Gêneros *Colossoma* y *Piaractus*). **Acta Biológica Venezuéllica**, v. 11, n. 3, p.1-101, 1982.

---

## CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE ZOOPLANCTÔNICA LITORÂNEA DE LAGOS TROPICAIS: UM ESTUDO COMPARATIVO

Lopes, J.H.A<sup>(1)</sup>; Lucas, C.C.T.<sup>(1)</sup>; Menendez, R.M<sup>(1)</sup>; Maia-Barbosa, P.M.<sup>(1)</sup>  
janainahorta@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup> Laboratório de ecologia do zooplâncton, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte - MG, Brasil, FAPEMIG.

## RESUMO

O trabalho descreve a estrutura da comunidade zooplanctônica da região litorânea, com e sem macrófitas, nas lagoas Carioca e Gambazinho no Parque Estadual do Rio Doce (PERD, MG). De junho de 2011 a agosto de 2012, foram realizadas coletas bimensais do zooplâncton em 4 pontos em cada lagoa, dois em banco de macrófitas e os outros em margem nua. Os valores dos índices de Shannon(H) e Equitabilidade (J) calculados foram: H=1.64, J=0.46 em borda de mata e H=1.7, J= 0.47 em banco de macrófitas (lagoa Gambazinho); H= 1.97, J=0.45 em borda de mata, H=1.61, J=0.47 em banco de macrófitas (lagoa Carioca), e também para o compartimento litorâneo das lagoas sem distinção dos tipos de margem: H=1.68(Gambazinho) e H=1.53(Carioca). Foram também realizados os testes T e Wilcoxon para avaliação individual de riqueza e abundância: riq. Carioca: T=2.02, p valor= 0.03; riq. Gambazinho=0.66, p valor=0.26; abund. Carioca T=0.06, p valor=0.52; abund. Gambazinho: W=34, p valor=0.13 a 5% de significância. Apesar de no banco de macrófitas da lagoa Carioca ser encontrado maior valor de riqueza de espécies, tanto para as lagoas como para os tipos de margem, conclui-se que as comunidades zooplanctônicas são semelhantes.

**Palavras-chave:** Biodiversidade, Zooplâncton, Macrófitas.

## INTRODUÇÃO

A margem dos lagos é o ecótono entre o corpo d'água e o ambiente terrestre adjacente. Quando recoberta por macrófitas, esta região abriga elevada riqueza de espécies, pela diversidade de habitats, abrigos e recursos alimentares disponíveis. No Brasil, poucos estudos enfocam as comunidades bióticas litorâneas, desconsiderando a contribuição destas

para a biodiversidade, sua participação na cadeia trófica e ciclagem de nutrientes nos lagos. (Moretto, 2001).

Este trabalho teve como objetivos conhecer a estrutura das comunidades zooplanctônicas litorâneas em duas lagoas no PERD, Carioca e Gambazinho, caracterizando tais comunidades quanto à riqueza e abundância de espécies e comparar as regiões de margem nua (borda de mata) com aquelas recobertas por macrófitas. Esperou-se encontrar elevados valores de riqueza de espécies e abundância de organismos no compartimento litorâneo das lagoas, sendo riqueza e abundância nos bancos de macrófitas maiores que em borda de mata, devido à maior disponibilidade de alimento dentre a vegetação aquática.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O Parque Estadual do Rio Doce (19° 29'24'' – 19° 48' 18'' S; 42° 28'18'' – 42° 38'30'' W), maior reserva de Mata Atlântica do Estado de Minas Gerais, abriga um dos três sistemas lacustres mais importantes do Brasil. O clima da área é quente, com temperaturas médias anuais oscilando entre 20 e 22° C. As chuvas concentram-se nos meses de verão e atingem, em média, 1.250 mm (Barbosa, 1979).

As lagoas Carioca (mesotrófica) e Gambazinho (oligotrófica) são pequenas e pouco profundas, sendo que a primeira tem 13,2 ha de área e profundidade máxima de 12,0m e a segunda com 10,43 há de área e profundidade máxima de 10,3m. (Latini e colaboradores, 2004).

Coletas bimensais de zooplâncton foram realizadas de junho/2011 a agosto/2012. Para cada lagoa foram estabelecidas 4 pontos de amostragem, 2 em bancos de macrófitas e 2 sem macrófitas. As amostras foram obtidas filtrando-se 100L de água, com uso de um balde, em rede de plâncton (45 $\mu$ c de abertura de malha). O material foi fixado com formalina (4%) neutralizada e corado com rosa de bengala. Em laboratório, os organismos foram identificados sob microscópio ótico e contados em câmara Sedgewick-Rafter até que um total de 200 indivíduos da espécie mais abundante fosse atingido. Amostras com baixa densidade foram contadas na sua totalidade. A identificação das espécies foi realizada com auxílio de bibliografia especializada.

A normalidade dos dados obtidos foi avaliada pelo teste Shapiro Wilk e a homogeneidade dos mesmos por Levene. A diferença na riqueza e abundância de espécies entre as regiões litorâneas com e sem macrófitas, assim como a diferença entre as lagoas Gambazinho e Carioca foram avaliadas pelo Teste-T, caso a distribuição normal dos dados não fosse rejeitada, ou Wilcoxon, caso contrário. As análises foram realizadas no software R<sub>x</sub>64 3.0.1. Foram também calculados os índices de Shannon e Equitabilidade para os dois lagos e para as estações de amostragem pelo programa Estatística.6.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um total de 105 espécies foram registradas na Lagoa Carioca, sendo 42 de Amebas Testáceas (4 exclusivas), 43 de Rotífera (8 exclusivas), 14 de Cladóceras (3 exclusivas), 4 de Copépoda e 2 de Ciliados. Na lagoa Gambazinho, 122 táxons foram registrados, 48 de Amebas Testáceas (8 exclusivos), 51 de Rotífera (15 exclusivos), 15 de Cladóceras (5 exclusivos), 6 de Copépoda (2 exclusivos) e 2 de Ciliados. Foram também encontradas nas lagoas Carioca e Gambazinho larvas do gênero *Chaoborus sp.*, com os seguintes valores de abundância: 847org/m<sup>3</sup> e 897 org/m<sup>3</sup> para banco de macrófitas e borda de mata na lagoa Carioca; 413 org/m<sup>3</sup> e 410 org/m<sup>3</sup> para as respectivas regiões litorâneas na lagoa Gambazinho. A riqueza de espécies e abundância dos grupos registradas nos bancos de macrófitas e borda de mata em cada lagoa estão sumarizadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Riqueza de espécies e abundância dos grupos (org/m<sup>3</sup>) nas Lagoas Carioca e Gambazinho (Parque Estadual do Rio Doce, MG) em áreas com macrófitas (mac) e sem(mat).

	Riqueza de espécies e abundância(org/m <sup>3</sup> )							
	Lagoa Carioca				Lagoa Gambazinho			
	Car mac		Car mata		Gam mac		Gam mata	
<b>Tecamebas</b>	40	4.331	33	6.302	43	8.406	43	1.865
<b>Rotifera</b>	41	161.181	32	171.553	45	54.116	43	42.107
<b>Cladocera</b>	12	3.660	9	6.389	14	13.741	10	12.946
<b>Copepoda</b>	4	126.742	4	128.102	6	35.819.342	5	157.113
<b>Ciliado</b>	2	6.044	2	580	2	5.658	2	2.802
<b>total</b>	99	301.958	80	312.926	110	35.901.263	103	216.833

As densidades totais dos grupos variaram muito dentre os pontos amostrados. Os altos valores registrados foram determinados principalmente pelas densidades elevadas dos estágios jovens de copépodes, particularmente náuplios de Cyclopoida (90.950 org/m<sup>3</sup> (bancos de macrófitas em Carioca) e 35.718.441 org/m<sup>3</sup> (bancos de macrófitas em Gambazinho); 94.139 org/m<sup>3</sup> (borda de mata e em Carioca) 79.224 org/m<sup>3</sup> (borda de mata em Gambazinho). A contribuição das espécies mais abundantes para as densidades totais registradas está na Tabela 2.

Foi calculado o índice de diversidade de Shannon para borda de mata e bancos de macrófitas das lagoas Carioca e Gambazinho e também para o compartimento litorâneo das mesmas sem distinção dos tipos de margem. São os valores encontrados: 1.68 (Gambazinho) e 1.53 (Carioca), 1.7 (bancos de macrófitas na lagoa Gambazinho) e 1.61(bancos de macrófitas na lagoa Carioca), 1.64(borda de mata na lagoa Gambazinho) e 1.97(borda de mata na lagoa Carioca). A equitabilidade nos pontos amostrados foi baixa, revelando a dominância de poucas espécies. São os valores encontrados para bancos de macrófitas (Carioca e Gambazinho) e borda de mata nas lagoas (Carioca e Gambazinho), respectivamente, 0.47, 0.47, 0.45 e 0.46.

**Tabela 2.** densidade em org/m<sup>3</sup> das espécies mais abundantes na região litorânea das lagoas Carioca e Gambazinho (Parque Estadual do Rio Doce, MG).

densidade(org/m <sup>3</sup> ) das espécies mais abundantes no litoral das lagoas					
lagoas	Carioca		Gambazinho		
grupos	espécies	mat	mac	mat	mac
<b>tecamebas</b>	<i>Arcella sp.</i>		676		
	<i>Arcella costata</i>	306	445		
	<i>Arcella costata angulosa</i>		559		
	<i>Arcella discoides</i>	195		167	1.027
	<i>Arcella vulgaris</i>			112	
	<i>Arcella vulgaris crenulata</i>	3.936	599		
	<i>Centropyxis aculeata</i>	839		203	1.361
	<i>C. aculeata oblonga</i>			364	1.909
	<i>Centropyxis gibba</i>				783
<b>rotifera</b>	<i>Ascomorpha sp</i>			4.553	4.815
	<i>Brachionus mirus</i>	90.639	71.706	18.847	27.307
	<i>Conochilus dossuarius</i>	12.831	25.162		
	<i>Hexarthra intermedia</i>	18.083	16.921	3.737	2.452
	<i>Trichocerca pussila</i>		8.419		
	<i>Trichocerca similis</i>			1.135	1.669
	<i>Polyarthra dolycoptera</i>	12.938	7.022		
	<i>Ptygora libera</i>	19.434		10.331	8.397
<b>cladocera</b>	<i>Bosmina tubicen</i>	2.942	1.181		
	<i>Bosmina hagmanni</i>	2.817	809		
	<i>Corotatela poppei</i>			1.727	5.399
	<i>Diaphanosoma birgei</i>			10.924	4.314
<b>copepoda</b>	<i>Microcyclops finitimus</i>	949	1.187		
	<i>Notodiaptomus isabelae</i>			1.427	2.353
	<i>Thermocyclops minutus</i>	6019	7.720		
	<i>Tropocyclops prasinus</i>			6.951	12.617

Os resultados dos testes T para riqueza nas lagoas Carioca e Gambazinho e abundância de organismos na primeira revelam que apenas na lagoa Carioca as comunidades habitantes de bancos de macrófitas se distinguem daquelas habitantes de borda de mata quanto à

riqueza de espécies (riq. Car.: $T=2.02$ , p valor= $0.03$ , riq. Gam:  $T=0.66$ , p valor= $0.26$ , abun.Car.: $T=0.06$ , p valor= $0.52$ ). O resultado do teste de Wilcoxon para abundância na lagoa Gambazinho ( $W=34$ , p valor= $0.13$ ) revelou que as comunidades de bancos de macrófitas e borda de mata, nesta lagoa, são semelhantes.

A elevada riqueza de espécies e abundância de organismos na região litorânea é associada à maior disponibilidade de alimento encontrada na margem dos lagos, especialmente quando recoberta por macrófitas (Margalef, 1983), podendo ser esta uma das causas do elevado número de espécies e densidade de organismos no compartimento litorâneo das lagoas Carioca e Gambazinho.

A menor ocorrência de espécies na Lagoa Carioca que na Lagoa Gambazinho pode estar relacionada às maiores pressões de predação e competição exercidas por *T. minutus*. Moretto (2001), trabalhando em 5 lagoas no PERD, apontou a pressão de predação e competição exercidas por *T. minutus* como causa da menor riqueza de espécies na lagoa Carioca, além do maior grau de trofia desta lagoa, que inviabilizaria a presença de muitas espécies zooplanctônicas herbívoras. Outro predador com potencial para diminuir a riqueza de espécies da lagoa Carioca seria a larva de *Chaoborus sp.*. Segundo Bezerra- Neto (2007), estas larvas podem formar populações numerosas e são predadoras vorazes do zooplâncton, sendo que os primeiros ínstares se

alimentam predominantemente de rotíferos, náuplios e copepodidos e os últimos predam principalmente cladóceros e copépodes.

*T. prasinus*, embora de hábito onívoro, apresenta preferência por algas (Adrian e Frost, 1992). A elevada produtividade do fitoplâncton associado às macrófitas e ao sedimento no litoral da lagoa Gambazinho pode ser o fator que explique a predominância desta espécie. Na lagoa Gambazinho outro copépode predominante foi o Calanoida *N. isabellae*. Autores como Gannon e Stemberger (1978) associam a maior diversidade de Cyclopoida em relação à Calanoida ao grau de trofia do meio. Neste trabalho a presença de *N. isabellae* na lagoa Gambazinho (oligotrófica) e sua ausência na lagoa Carioca (mesotrófica), além da elevada abundância de náuplios Cyclopoida em relação aos náuplios Calanoida, são fatos que corroboram a literatura.

Rocha *et al* (1995), trabalhando com composição e estrutura da comunidade zooplanctônica em diversos estados brasileiros, verificaram o predomínio de espécies de Rotifera. Corroborando a literatura, a maioria dos táxons registrados na lagoa Carioca (mesotrófica) são de rotíferos. Estes animais são encontrados em maior abundância nos ambientes eutróficos, devido à dominância de espécies detritívoras e bacteriófagas (Orcutt e Pace, 1984). Ao contrário destes autores, Nogueira (1996) encontrou maiores riqueza e densidade de rotíferos em ambientes oligotróficos, assim como na lagoa Gambazinho (oligotrófica) os rotíferos também foram predominantes. Aspectos

morfométricos, origem geológica e interações biológicas, além do grau de trofia da lagoa são também determinantes da predominância deste grupo (Matsumura- Tundisi *et al*, 1990).

O gênero *Trichocerca* ocorre com frequência na comunidade perifítica (Pejler e Berzins, 1993). Neste trabalho, maiores densidades de *T. pusila* e *T. similis* ocorreram em bancos de macrófitas, onde a produtividade algal é elevada. *Ptygura libera* foi predominante nas regiões de borda de mata em ambos os lagos, e também a segunda espécie quantitativamente mais importante nos bancos de macrófitas na lagoa Gambazinho (oligotrófica). Segundo Oliveira-Neto (1993), esta espécie é comum em meios oligotróficos.

El Moor Loureiro (1997) afirma que a maioria dos táxons de cladóceros pode ser encontrada no compartimento litorâneo, em especial os das famílias Macrothricidae e Chydoridae. Contrariando Hutchinson (1967), que afirma serem Sididae e Bosminidae, famílias ineficientes na exploração da região marginal lacustre por serem filtradoras e herbívoras, nas lagoas Carioca e Gambazinho, os cladóceros mais abundantes pertencem às famílias Bosminidae (*B. tubicen*, *B. hagmanni*), Sididae (*D. birgei*) e Chydoridae (*C. poppei*).

## CONCLUSÃO

As regiões marginais das lagoas Gambazinho e Carioca são locais de elevadas riqueza e abundância de espécies, portanto, importantes para a preservação da biodiversidade e manutenção da cadeia trófica no ecossistema lacustre. Os recursos alimentares, quali e quantitativamente são fatores determinantes das espécies zooplanctônicas existentes no compartimento litorâneo e abundância das mesmas. Outro fator que possivelmente determina a estrutura destas comunidades é a presença da larva predadora *Chaoborus sp.*

Apesar de que a riqueza de espécies nos bancos de macrófitas na Carioca ser maior que nas regiões de borda de mata, observando o índice de Shannon e equitabilidade para bancos de macrófitas e borda de mata nesta lagoa, conclui-se que a região coberta por vegetação marginal não tem maior biodiversidade que em borda de mata. Vendo os resultados dos testes T para riqueza em Gambazinho e Wilcoxon para abundância de organismos, assim como os índices de Shannon e equitabilidade para esta lagoa, conclui-se que em termos de biodiversidade zooplanctônica, estes tipos de margem são semelhantes. Ao ver os valores dos índices de Shannon para o compartimento litorâneo (sem distinção dos tipos de margem) para as lagoas Carioca e Gambazinho conclui-se também que as comunidades não se distinguem.

## REFERÊNCIAS

ADRIAN, R.; FROST, T.M. Comparative feeding ecology of *Tropocyclops prasinus mexicanus* (Copepoda, Cyclopoida). *Journal of plankton Research*. Vol. 14. N 10, p. 1369-1382. 1992.

BARBOSA, F.A.R. Produção primária e fatores ambientais na Lagoa Carioca, Parque Florestal do Rio Doce – MG. 1979. 195 p. Dissertação. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 1979.

BEZERRA-NETO, J.F.. Migração vertical Diária e Cascata Trófica em Corpos Aquáticos Tropicais: Influência da Larva do Díptera *Chaoborus*. 2007. 153 p. Tese. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2007.

EL MOOR- LOULEIRO, L.M.A. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Brasília, Editora Universal, Universidade Católica de Brasília, 1997.

GANNON, J.E.; STEMBERGER, R.S.. Zooplankton (specially microcrustaceans and rotifers as indicators of water quality). *Trans. Am. Micros. Soc.* Vol. 97, n 1, p. 16-35. 1978.

HUTCHINSON, I. A Treatise on Limnology. Volume II. Introduction to lake biology and the limnoplankton. New York, John Wiley e Sons, 1967.

LATINI, A.O. & PETRERE, M., Reduction of a native fish fauna by alien species: an example from Brazilian freshwater tropical lakes. *Fisheries Management and Ecology* 11, p. 71-79, 2004.

MARGALEF, R. Limnologia. Barcelona, Ediciones Omega, 1983.

MATSUMURA-TUNDISI, T.; LEITÃO, S.N.; AGUENA, L.S.; MIYAHARA, J. Eutrofização da Represa de Barra Bonita: estrutura e organização da comunidade de Rotífera. *Ver. Brasil. Biol.* Vol. 50, n.4, P. 923-935. 1990.

MORETTO, E.M. ; Diversidade zooplancônica e variáveis limnológicas das regiões limnética e litorânea de cinco lagoas do Rio Doce e sua relação com o entorno. 2001. 270p. Dissertação, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2001.

NOGUEIRA, M.G. Composição, abundância e distribuição espaço temporal das populações planctônicas e das variáveis físico-químicas na Represa de Jurumirim, Rio Paranapanema, SP. Tese. Escola de engenharia de São Carlos. 1996.

OLIVEIRA-NETO, A., Estudo da Variação da comunidade zooplancônica, com ênfase na comunidade de rotíferos, em curtos intervalos de tempo ( variações diárias e

nictemerais) na Represa do Lobo ( Broa)- Itirapina, SP. Dissertação. Escola de Engenharia de São Carlos, USP. São Carlos. 1993.

ORCUTT, J. D.; PACE, M.L. Seasonal dynamics of rotifer and crustacean zooplankton populations in a eutrophic, monomict lake with a note on rotifer sampling techniques. *Hydrobiologia*, vol. 119, pag73-80.1984.

PEJLER, B. ; BERZINS, B. On the ecology of Trichocercidae ( Rotifera). *Hydrobiologia*, v. 263, p. 55-59.1993

ROCHA, O.; SENDACS, S.; MATSUMURA-TUNDISI, T., Composition, Biomass and Productivity of Zooplankton in Natural Lakes and Reservoirs of Brazil. In: TUNDISI, J.G.; BICUDO, C.E.M.; MATSUMURA-TUNDISI, T.eds:Limnology in Brazil. Rio de Janeiro, ABC, *JBL*,1995.

---

## **CARACTERIZAÇÃO DE BIOSURFACTANTE DE BAIXO CUSTO E APLICAÇÃO EM SOLO IMPACTADO POR DERIVADOS DE PETRÓLEO**

**Silva, E.J.<sup>(1)</sup>; Silva, N.M.P.R.<sup>(1)</sup>; Rufino, R.D.<sup>(1)</sup>; Luna, J.M.<sup>(1)</sup>; Silva, R.O.<sup>(2)</sup>;  
Sarubbo, L.A.<sup>(1)</sup> eliasjose23@hotmail.com**

<sup>(1)</sup> Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil, CAPES-FACEPE, UNICAP, TERMOPE, CNPq, ANEEL;

<sup>(2)</sup> Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco – UNICAP, Recife - PE, Brasil.

### **RESUMO**

Neste trabalho, buscou-se a identificação de alguns grupos funcionais existentes na estrutura de um biossurfactante produzido a partir 2% de milhocina e 2% de óleo de fritura, pela bactéria *Pseudomonas cepacia*. Após o isolamento do biossurfactante, identificou-se a presença de 72% de lipídeos, 13% de proteínas e 15% de carboidratos. O biossurfactante foi caracterizado usando espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e de

$^{13}\text{C}$ , sendo identificados, nos espectros de RMN, a presença de grupos carbonílicos, carbinólicos e alifáticos. A aplicação do biossurfactante em solo impactado por derivados de petróleo foi realizada em combinação com um consórcio microbiano em três condições, sendo na presença da bactéria *P. Cepacia*, na presença do biossurfactante de *P. Cepacia* e na presença de ambos biossurfactante e bactéria produtora, usando-se a espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$  para investigar a degradação dos hidrocarbonetos alifáticos, olefínicos e carbinólicos na amostra. Observou-se que, após dez dias de tratamento do solo impactado, o experimento formulado na presença de biossurfactante e do micro-organismo produtor permitiu a degradação de 80% dos compostos alifáticos presentes no derivado de petróleo. Esses resultados indicam o potencial do biossurfactante de *P. cepacia* como coadjuvante do processo de remediação de solos impactados com contaminantes hidrofóbicos.

**Palavras - chave:** Biossurfactantes, Ressonância Magnética Nuclear, Solo Impactado.

## INTRODUÇÃO

A contaminação por petróleo e derivados normalmente é tratada através de metodologias físicas, químicas ou biológicas. Entretanto, as novas diretrizes de recuperação de águas e solos têm restringido o uso de produtos químicos (MUTHUSAMY et al., 2008; SINGH et al., 2007). Dentre as técnicas de remediação disponíveis, a biorremediação tem se destacado, embora a solubilidade reduzida dos hidrocarbonetos dificulte o acesso dos micro-organismos e a consequente biodegradação do poluente. (CALVO et al., 2009).

Embora a biorremediação seja um método efetivo e ambientalmente compatível, o tempo e os custos necessários para tratamento nesse processo não são viáveis para o tratamento de uma grande quantidade de resíduos. Contudo, alguns métodos tais como a lavagem de solos,

utilizados para separação dos contaminantes sem provocar danos químicos ao solo, podem aumentar acentuadamente a velocidade da taxa de biodegradação (FRACCHIA et al., 2012; BANAT, 2010). A biorremediação de solos e águas também encontra outros obstáculos associados à biodegradação dos hidrocarbonetos do petróleo, uma vez que esses compostos hidrofóbicos se ligam às partículas do solo e apresentam pouca solubilidade em água, o que reduz biodisponibilidade para os microrganismos e limita, conseqüentemente, a transferência de massa para a biodegradação. Segundo Kuyukina et al., (2005), a penetração do óleo através do solo é um processo extremamente complexo incluindo fatores físicos, químicos e biológicos.

A chave do processo para o aumento da biodisponibilidade dos óleos contaminantes é o transporte da carga poluente para a fase aquosa. Nesse contexto, a utilização de compostos surfactantes surge como alternativa para o aumento da solubilidade dos óleos, permitindo a dessorção e conseqüente solubilização dos hidrocarbonetos, facilitando, assim, a assimilação desses compostos pelas células microbianas (BURGHOFF, 2012). Os biossurfactantes incluem uma grande variedade de estruturas químicas tais como glicolipídeos, lipopeptídeos, complexos proteínas-polissacarídeos, fosfolipídeos, ácidos graxos e lipídeos neutros produzidos por micro-organismos quando cultivados em substratos insolúveis (óleos, resíduos e hidrocarbonetos) e solúveis (carboidratos) (GAUTAM; TYAGI, 2006).

Nos últimos anos os biossurfactantes têm sido investigados como possíveis substitutos para os surfactantes sintéticos, especialmente por possuírem aplicações industriais e ambientais (BANAT, 2010).

Extensas pesquisas para elucidar as estruturas químicas dessas biomoléculas têm sido realizadas especialmente para glicolípideos. O estudo desses glicolípideos é extremamente importante do ponto de vista científico e comercial. As informações obtidas das análises estruturais fornecem dicas para a otimização dos rendimentos de produção e para a “montagem” de glicolípideos com características estruturais diferentes. As técnicas experimentais utilizadas para isolar e purificar biossurfactantes são extremamente variadas, envolvendo desde ensaios colorimétricos que dão indicação aproximada do rendimento da produção, a complexas técnicas espectrais de massa (SMYTH et al., 2010). Para alcançar uma determinação estrutural completa, a RMN é o método mais potente, capaz de identificar os grupos funcionais, bem como a posição das ligações dentro do hidrato de carbono e moléculas lipídicas. Utilizando uma série de experimentos de RMN, a localização exata de cada grupo funcional pode ser obtida. Informações sobre os isômeros estruturais também podem ser fixadas. Os biossurfactantes devem ser dissolvidos em solvente deuterado e uma série de experimentos 1D ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e 2D (tais como COSY, HMQC e HMBC) devem ser realizados por RMN (SMYTH et al., 2010).

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar um biossurfactante de baixo custo produzido pela bactéria *Pseudomonas cepacia*, cultivada em resíduos industriais e avaliar o potencial de aplicação da biomolécula em um solo impactado por derivados de petróleo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Solo***

Amostras de solo contaminado com derivados de petróleo obtido do subsolo dos antigos reservatórios de óleo localizados no Bairro do Recife Antigo, Recife-PE serão utilizados nos ensaios de biodegradação.

### ***Micro-organismo***

A bactéria *Pseudomonas cepacia* CCT6659, depositada na Fundação André Tosello de Pesquisa e Tecnologia, Campinas, São Paulo, foi utilizada como micro-organismo produtor do biossurfactante. A cultura foi mantida em tubos de ensaio inclinados sob refrigeração a 5 °C, sendo repicada a cada 30 dias.

### ***Meios e condições de cultivo***

Para a manutenção da bactéria foi utilizado o meio Ágar Nutriente. Os constituintes foram solubilizados e esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos. Para crescimento do inóculo das bactérias foi utilizado o meio Caldo Nutritivo. O meio de produção do biossurfactante de *Pseudomonas cepacia* foi formulado como descrito por Dubey e Juwarkar (2001), composto por 2 g/L de NaNO<sub>3</sub>, 0,5 g/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,5 g/L de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,1 g/L de KCl e 0,01 g/L de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O contendo 2% de óleo de fritura (residual) e 2% de milho-cina como substratos (SILVA et al., 2010).

### ***Produção do biossurfactante***

As fermentações para a produção do biossurfactante foram realizadas em frascos Erlenmeyer contendo o respectivo meio de produção. Os frascos foram incubados com a suspensão celular e mantidos sob agitação orbital à temperatura de 28°C, de acordo com condições previamente estabelecidas (VECCHIONE et al., 2011; SILVA et al., 2010).

### ***Isolamento do biossurfactante***

O biossurfactante produzido pela bactéria *Pseudomonas cepacia* foi isolado de acordo com a seguinte metodologia: inicialmente, o pH do líquido metabólico livre de células foi inicialmente ajustado para 2 com uma solução 6 M de HCl. Em seguida, o mesmo volume de clorofórmio/metanol (2:1) foi adicionado ao líquido metabólico, sendo a mistura vigorosamente agitada por 15 minutos e deixada em repouso

para separação das fases. A fase orgânica foi removida e a operação repetida por mais duas vezes. O produto obtido foi concentrado a partir das fases orgânicas coletadas usando rota- evaporador. O produto obtido foi dissolvido em metanol e novamente concentrado por evaporação do solvente a 45°C, sendo posteriormente pesado (COSTA et al., 2005).

### *Caracterização do biossurfactante por RMN*

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de cada fração obtida a partir do passo de fracionamento foram obtidos usando um espectrômetro VARIAN VNMRS400, operando a 400 MHz para o núcleo de  $^1\text{H}$  e 100 MHz para o núcleo de  $^{13}\text{C}$ , usando sonda PFG 5 mm multinuclear. As amostras foram dissolvidas em metanol deuterado.

### *Aplicação do biossurfactante na remediação do solo impactado por derivados do petróleo.*

Amostras de 10 g de solo contaminado com derivados de petróleo obtido do subsolo dos antigos reservatórios de óleo localizados no Bairro do Recife Antigo, Recife-PE, foram adicionados a 100 mL de água potável e a mistura foi enriquecida com 1 mL de melão de cana-de-açúcar cedido de uma Usina local. Em seguida, 2% do biossurfactante isolado e 1% da sua espécie microbiana produtora, previamente cultivada, foi adicionadas e os meios incubados a 28 °C a 150 rpm, de acordo com a Tabela 1.

**Tabela 1.** Misturas formuladas para os experimentos de biodegradação em solo impactado com derivados de petróleo.

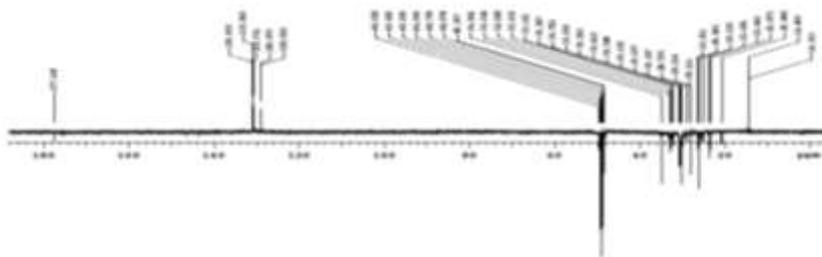
Experimetos	Composição
Controle	Consórcio autóctone
Condição 1	Consórcio autóctone + <i>P. cepacia</i>
Condição 2	Consórcio autóctone + biossurfactante de <i>P. cepacia</i>
Condição 3	Consórcio autóctone + biossurfactante de <i>P. cepacia</i> + <i>P. cepacia</i>

Amostras de 5 mL foram retiradas para determinação da análise dos derivados de petróleo durante 10, 20, 30 e 40 dias de cultivo. Após os tratamentos, as amostras foram analisadas por RMN de  $^1\text{H}$  para investigar a degradação dos derivados de petróleo. Para isso, um volume de 3,0 mL da amostra bruta foi usado para a extração com 700  $\mu\text{L}$  clorofórmio deuterado, enquanto 1,0  $\mu\text{L}$  de benzeno foi utilizado como padrão interno para quantificação, sendo o sinal residual de  $\text{CHCl}_3$  utilizado como referência de deslocamento químico ( $\delta$  7,26).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

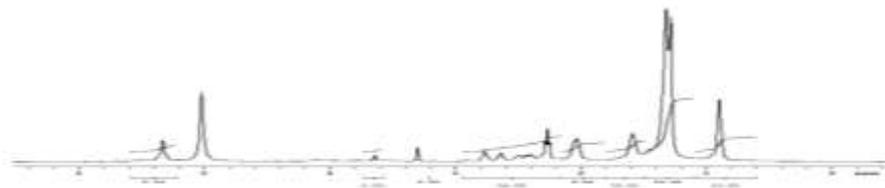
Inicialmente, o biossurfactante de *Pseudomonas cepacia* foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . A Figura 1 apresenta o espectro de RMN APT da amostra. Neste espectro, grupos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}$  foram apresentados com fase positiva, enquanto grupos  $\text{CH}_2$  e  $\text{C}$  não-hidrogenados foram apresentados com fase negativa. Os grupos carboxílicos e seus derivados apresentam-se no espectro na faixa entre  $\delta_{\text{C}}$  150 a 185 ppm. Observou-se um único sinal em  $\delta_{\text{C}}$  177.5 ppm, característico desse grupo funcional. Os átomos de carbono com hibridação  $sp^2$  de alquenos apresentam-se na faixa entre  $\delta_{\text{C}}$  110-150

ppm. Foram observados cinco sinais compreendidos nessa faixa. O conjunto de sinais entre  $\delta_C$  48 e 50 ppm provém do solvente deuterado. A região entre  $\delta_C$  20-35 ppm corresponde aos grupos  $CH_2$  alifáticos e em 14,4 ppm tem-se um único grupo metila.



**Figura 1.** Espectro de RMN de  $^{13}C$  (APT,  $CD_3OD$ , 100 MHz) do biossurfactante produzido por *Pseudomonas cepacia* cultivada em meio mineral suplementado com 2% de óleo de fritura residual e 2% de milhocina.

A Figura 2 apresenta o espectro de RMN de  $^1H$  da amostra do biossurfactante. O sinal em  $\delta$  0,9 corresponde ao grupo  $CH_3$  de compostos alifáticos e o sinal de maior intensidade em torno de  $\delta$  1,2 ppm é atribuído a grupos metilenos ( $CH_2$ ). Na região entre  $\delta$  2,0 e 3,5 ppm encontram-se os sinais dos grupos metilênicos  $-CH_2-CH=CH-$ ,  $-CH_2-C(O)O-$  e  $-CH_2-OC(O)-$ . Os sinais não integrados em  $\delta$  3,3 e 5,0 ppm são atribuídos aos sinais residuais do solvente (metanol), enquanto o sinal em  $\delta$  5,4 ppm é atribuído aos prótons olefínicos,  $CH=CH$ .



**Figura 2.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz) do biossurfactante produzido por *Pseudomonas cepacia* cultivada em meio mineral suplementado com 2% de óleo de fritura residual e 2% de milhocina.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  são compatíveis para uma amostra composta majoritariamente por lipídeos.

A Figura 3 apresenta o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de uma amostra utilizada na avaliação do tratamento do solo impactado por derivado de petróleo.



**Figura 3.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do extrato obtido após 10 dias de tratamento a partir do solo impactado tratado pelo consórcio autóctone (Controle) (A) e pelo consórcio autóctone + biossurfactante de *P. cepacia* + *P. cepacia* (B).

Observou-se a degradação de 80% dos compostos alifáticos na região entre  $\delta$  2,8 a 0,0 ppm no espectro inferior (B) com relação ao controle (consórcio autóctone).

A Figura 4 apresenta os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do extrato do material obtido a partir do solo impactado, onde o tratamento foi realizado em 10, 20 e 40 dias, respectivamente, na condição 2. O sinal em  $\delta$  7,4 é atribuído ao benzeno.

Nota-se um sinal em torno de  $\delta$  5,0 ppm de forma gradativa com o decorrer dos dias, o que pode ser um indício da formação de emulsão.



**Figura 4.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do extrato obtido a partir do solo impactado tratado pelo consórcio autóctone na presença do biossurfactante de *Pseudomonas cepacia* após 10 (A), 20 (B) e 40 (C) dias.

## CONCLUSÃO

O biossurfactante produzido pela *Pseudomonas Cepacia* apresentou estrutura típica da classe dos ácidos graxos

O biossurfactante demonstrou potencial para auxiliar a degradação de compostos alifáticos em solo impactado por derivados do petróleo.

## REFERÊNCIAS

BANAT, I. M. Microbial biosurfactants production, applications. **Applied Microbiology and Biotechnology** v. 87, pp.427-444, 2010.

BURGHOFF, B. Foam fractionation applications. **Journal of Biotechnology**, v. 161, pp. 126-137, 2012.

CALVO, C.; MANZANERA, M.; SILVA-CASTRO, G.A.; UAD, I.; GONZÁLEZ-LOPÉZ, J. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 3634-3640, 2009.

DUBEY, K., JUWARKAR, A. Determination of genetic basis for biosurfactant production in distillery and curd whey wastes utilizing *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2. **Indian Journal of Biotechnology**. v. 3, p. 74-81, 2004.

FRACCHIA, L.; CAVALLO, M.; GIOVANNA MARTINOTTI, M., BANAT, I.M. **Biosurfactants and bioemulsifiers biomedical and related applications – Present Status and Future Potentials**, Biomedical Science, Engineering and Technology, Dhanjoo N. Ghista (Ed.), pp. 325-370, 2012.

GAUTAM, K. K.; TYAGI, V. K. Microbial Surfactants: a review. **Journal of Oleo Science**, v. 55, p. 155-166, 2006.

KUYUKINA, M.S.; IVSHINA, I.B.; GARVIN, A.Y.; PODOROZHKO, E.A.; LOZINSK, V.I.; JEFREE, C.E.; PHILIP, J.C. Effect of biosurfactants on crude oil desorption and mobilization in a soil system. **Environment International**, v. 31, pp. 155-161, 2005.

MUTHUSAMY, K.; GOPALAKRISHNAN, S.; RAVI, T.K.; SIVACHIDAMBARAM, P. Biosurfactants: properties, commercial production and application. **Current Science**, v. 94, p. 736-747, 2008.

SILVA, S. N. R. L. et al. **Glycerol as substrate for the production of biosurfactant by *pseudomonas aeruginosa* ucp 0992**. Collids and Surfaces: Biointerfaces, Article in press, p. 1-11, 2010.

SINGH, A.; VAN HAMME, J. D.; WARD, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. **Biotechnology Advances**, v.25, p.99-121, 2007.

SMYTH, T. J.; PERFUMO, P. A.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. Isolation and analysis of low molecular weight microbial glycolipids. In: TIMMIS, K. N. (ed.), **Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, p. 3705-3723. 2010.

VECCHIONE, G.F.; LUNA, J.M.; RUFINO, R.D.; SARUBBO, L.A. Produção de biossurfactante para aplicação na remediação de águas contaminadas. **Livro do II Encontro Internacional das Águas**, Universidade Católica de Pernambuco, 2011.

---

## CARACTERIZAÇÃO ECOLÓGICA DA ESPÉCIE *ANADENANTHERA PEREGRINA* (L.) SPEG

Galvão, F. G. <sup>(1)</sup>; Aparício, W. C. S. <sup>(1)</sup>; Estigarríbia, F. <sup>(1)</sup>; Gama, R. C. <sup>(1)</sup>; Lobato, C. M. <sup>(1)</sup> fernandagalvao95@gmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

### RESUMO

A família Fabaceae é a terceira maior família botânica existente com cerca de 19.325 espécies. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 1.500 espécies. A espécie *Anadenanthera peregrina* (L.) Spieg. conhecida popularmente como fava angico, angico vermelho, pertence a família Fabaceae e subfamília Mimosoideae. A espécie apresenta o fruto tipo folículo (vagem com uma única fenda longitudinal) achatado e deiscente, contendo sementes circulares, achatadas sem asas, brilhantes e de coloração escura. O objetivo do trabalho é caracterizar a dispersão, grupo ecológico e distribuição espacial da espécie *Anadenanthera peregrina* (L.) Spieg. O estudo foi desenvolvido em uma área com quatro fragmentos florestais no qual juntos possuem em torno de 9,8 ha, pertencente à área da Universidade Federal do Amapá, próximo à rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, na cidade de Macapá. De posse dos dados

dendrométricos a espécie foi caracterizada quanto sua distribuição espacial, grupo ecológico, dispersão. No levantamento foram encontrados 98 indivíduos de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. Foi observado em campo que a espécie apresentou um comportamento secundário inicial. Sua dispersão é barocórica e índice de distribuição agregado.

**Palavras-chave:** Angico-vermelho, Fragmentos Florestais, Ecologia.

## INTRODUÇÃO

A família Fabaceae é a terceira maior família botânica existente com cerca de 19.325 espécies. No Brasil ocorrem cerca de 200 gêneros e 1.500 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). Está dividida em três subfamílias de acordo com suas características, que são: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae. Esta família engloba espécies de habitats variados com importância econômica na alimentação, ornamentação, extração industrial de compostos químicos e na indústria madeireira (LORENZI, 1992), também possui importância ecológica sendo recomendada para a recuperação de áreas degradadas (DURIGAN et al., 1997; LORENZI, 2002a; CARVALHO, 2003).

A espécie *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. conhecida popularmente como fava angico, angico vermelho, pertence a família Fabaceae e subfamília Mimosoideae. A espécie apresenta o fruto tipo folículo (vagem com uma única fenda longitudinal) achatado e deiscente, contendo sementes circulares, achatadas sem asas, brilhantes e de

coloração escura como caracterizaram Lorenzi (2002<sup>a</sup>), (2002b) e Carvalho, (2003).

Por apresentar casca grossa, profundamente gretada e fissurada, é conhecida também por angico-escuro (CARVALHO, 2003). A espécie *Anadenanthera peregrina* ocorre desde o Estado do Paraná até o Maranhão e o nordeste do país e também nos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás, principalmente em áreas de cerrado por isso é conhecida também como angico do cerrado (DURIGAN et al., 1997; LORENZI, 2002a; CARVALHO, 2003).

A espécie também ocorre em outros tipos de vegetação, no cerrado é uma árvore de menor porte (até 16, de altura), mas na floresta estacional semi-decidual do Paraná pode atingir até 25 m de altura (DURIGAN et al., 1997; LORENZI, 2002a; CARVALHO, 2003). A *Anadenanthera peregrina* por vezes é confundida ora com a *Parapiptadenia rígida* (angico-guracaia), ora com *A. colubrina* Var. cebil, das quais pode ser separada facilmente pela casca externa (CARVALHO, 2003).

Contudo o objetivo do trabalho é caracterizar a dispersão, grupo ecológico e distribuição espacial da espécie *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi desenvolvido em uma área com quatro fragmentos florestais no qual juntos possuem em torno de 9,8 ha, pertencente à área

da Universidade Federal do Amapá, próximo à rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, na cidade de Macapá. Possui um clima equatorial super-úmido (Am) segundo Köppen; Geiger (1928), com poucas variações de temperatura, precipitação média anual de 2.500 mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004). Os fragmentos estão situados em uma área de transição Cerrado-Floresta. Para o estudo foram lançadas 47 parcelas permanentes de forma sistemáticas, medindo 10 x 25 m, equidistante em 25 m uma da outra. O fragmento um possui uma área de 5, 81 ha e foram lançadas 27 parcelas. No fragmento dois com área de 1,02 ha foram lançadas 5 parcelas. No terceiro fragmento com área de 1,65 foram lançadas 7 parcelas e no fragmento quatro com áreas de 1,38 foram lançadas 8 parcelas. Das árvores inventariadas foram coletadas as seguintes variáveis: nome vulgar, CAP (circunferência a Altura do Peito, medida a 1,30 m do solo) e altura. A espécie foi identificada no Herbário da Universidade Federal do Amapá- HUFAP e o material seguiu o sistema de classificação APG III (2009). De posse dos dados dendrométricos da espécie, foram caracterizados os seguintes aspectos: quanto ao grupo ecológico, que de acordo com o comportamento fisiológico das sementes florestais na germinação e no armazenamento está relacionado ao grupo ecológico ao qual ela pertence. As espécies vegetais foram classificadas por Budowski (1965) em grupos ecológicos de acordo com a sucessão vegetal: pioneiras; secundárias iniciais; secundárias tardias; clímax. O mecanismo de disseminação das sementes de

espécies pioneiras e secundárias iniciais é muito eficiente, sendo realizado por pássaros, morcegos e vento. As secundárias tardias são tolerantes à sombra na fase jovem e tornam-se intolerantes à medida que crescem. Nos estádios de sucessão mais avançados formam-se as espécies clímax, que são tolerantes à sombra na fase adulta, apresentam abundância de regeneração e a disseminação das sementes é feita por gravidade, mamíferos e roedores (BUDOWSKI, 1965). E quanto ao tipo de dispersão segundo Howe e Smallwood (1982) o conjunto de características dos frutos como a morfologia, cor, época de maturação determinam o seu tipo de dispersão. Os frutos são classificados em três grandes grupos quanto ao seu modo de dispersão: anemocórico, quando os diásporos são adaptados à dispersão pelo vento; zoocóricos, em que os diásporos são adaptados a dispersão por animais e autocóricos ou barocórica em que os diásporos são dispersos por gravidade ou deiscência explosiva (VAN DER PIJL, 1972). Ainda foi observado o padrão de distribuição espacial estimado com base no Índice de Morisita ( $I_m$ ) conforme (ZAR, 1999).

$$I_d = \frac{n \left( \sum_{i=1}^S X^2 - N \right)}{N \cdot (N - 1)}$$

$I_d$ : índice de Morisita;  $n$ : número total de parcelas amostradas;  $N$ : número total de indivíduos por espécies, contidos em  $n$  parcelas;  $X^2$ :

quadrado do número dos indivíduos por parcela; s: número de espécies amostradas.

No método, valores menores que 1,0 indicam uma distribuição uniforme, valores iguais a 1,0 indicam distribuição aleatória e valores maiores que 1,0 indicam distribuição agregada. A significância estatística foi verificada através do valor de  $X^2$  (qui-quadrado), com significância de 5%.

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^s X_i^2}{N} - N$$

N,  $X^2$  e n: já definidos;

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento foram encontrados 98 indivíduos de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg.

Foi observado em campo que a espécie apresentou um comportamento secundário inicial. As espécies arbóreas do gênero *Anadenanthera* pertencem ao grupo ecológico das secundárias ou oportunistas, cuja semente geralmente é de curta longevidade (KAGEYAMA; VIANA, 1991; PIÑA-RODRIGUES; FIGLIOLIA 1991), o mesmo padrão foi descrito por Ferretti et al. (1995) onde ele caracterizou o gênero no grupo ecológico das espécies secundárias (transição de secundária inicial para tardia). Contudo Lorenzi (1998) caracterizou a espécie como pioneira, que ocorre especialmente, em formações primárias e

secundárias, tanto em solos pedregosos e arenosos como em argilosos, desde que sejam bem drenados.

Com relação ao processo de dispersão A espécie apresenta frutos secos, deiscentes, sem atrativos para os animais. São legumes achatados que se abrem apenas de um lado, expondo suas sementes, que caem imediatamente após a deiscência dos frutos. Tais fatores denotam que sua dispersão é barocórica. Pois foram encontrados em campo muitos frutos abertos presos aos galhos e sem sementes. Segundo (COSTA et al., 2003), as sementes são leves, achatadas, escuras, discoides, de formato orbicular. A sua morfologia permite que sejam dispersas pelo vento forte a curtas distâncias, porém, com maior frequência, estabelecendo-se junto da árvore-matriz, o que deixa caracterizada para essa espécie a síndrome barocórica que tem como característica a disseminação da semente pelo peso do fruto.

Para a distribuição espacial o índice de Morisita foi de 4,13 e o Qui-quadrado calculado foi 349,9 com isso a espécie se apresenta de forma agregada na área. De acordo com Pielou (1977), Odum (1986), e Krebs (1999), o tipo aglutinado é o padrão mais frequentemente observado. As principais razões que podem levar a um padrão agregado em uma população são as características das espécies, a relação entre eles, e com as variações do ambiente (KERSHAW, 1973; MATTEUCCI; COLMA, 1982; MEIRELLES e LUIZ BARRETO, 1995; SOVIANO, 1997). Meirelles e Luiz Barreto (1995), trabalhando com 18 espécies de

árvores no cerrado (savana como vegetação) da Fazenda Ecológica Experimental da Universidade de Brasília, obtiveram 16 espécies com um padrão agregado e apenas duas populações com um padrão aleatório. Com isso se observa que o padrão agregado é o mais frequente entre as espécies arbóreas. No entanto nos trabalhos de Rossi; Higuchi (1998) não foi observado os mesmos resultados, esses autores observaram que, dentro de um total de oito espécies estudadas na Floresta Amazônica, duas espécies apresentaram um padrão agregado, enquanto que as demais apresentaram um padrão predominantemente aleatório.

## CONCLUSÃO

A espécie apresentou uma característica de uma espécie secundária oportunista que necessita de luz em sua fase inicial de desenvolvimento.

A espécie possui frutos em forma de legume que são dispersos no ambiente de forma barocórica, resultados estes que corroboram com a análise de índice de distribuição agregado.

## REFERÊNCIAS

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.

BUDOWSKI, G. Distribution of tropical American rain forest species, in the light of successional processes. **Turrialba**, México, v. 15, n.1, p.40 - 42, 1965.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileira**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. v. 1, 1039p.

COSTA, R. B.; CONTINI, A. Z.; MELO, E. S. P. Sistema reprodutivo de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speng e *Vochysia haenkiana* (Spreng.) Mart. em fragmento de cerrado na Chapada dos Guimarães – MT. **Ciência Rural**, v.33, n.2, p.305-310, 2003.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, A.; GARRIDO, M. A. O.; BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais**. São Paulo: Instituto Florestal, 1997. 65p.

DRUMMOND, J.A. **Atlas das Unidades de Conservação do Estado do Amapá**. IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004.

FERRETTI, A. R.; KAGEYAMA, P. Y.; ÁRBOCZ, G. F.; SANTOS, J. D.; BARROS, M. I. A.; LORZA, R.; OLIVEIRA, C. Classificação das espécies arbóreas em grupos ecológicos para revegetação com nativas no Estado de São Paulo. **Florestar Estatístico**, São Paulo, v.3, n.7, p. 73-77, 1995.

HOWE, H. F.; SMALLWOOD, J. Ecology of seed dispersal. **Annual Review Ecology and Systematics**, v. 13, p. 201-228, 1982.

KAGEYAMA, P.Y.; VIANA, V. M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 197-215.

KREBS, CJ 1999, *metodologia ecológica* . 2o. ed., A. Wesley Longman, NY, EUA.

KERSHAW, KA, 1973, *quantitativa e dinâmica ecologia vegetal* . Edward Arnold, Londres, Reino Unido.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. São Paulo, v.1, 1992. 368p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2002<sup>a</sup> . v.1, 4. ed., 384p.

MATTEUCCI, SD & Colma, A., 1982, *Metodología para el estudio de la vegetación* . OEA, DC.

MEIRELLES, ML & LUIZ BARRETO, AF, 1995. Padrões Espaciais de Árvores de hum cerrado em Brasília, DF. *Revista Brasileira de Botânica*, 18 :. 185-189.

MÜLLER-SCHNEIDER, P. 1977. Verbreitungsbiologie (Diasporologie) der Blütenpflanzen. *Veröffentlichungen des Geobotanischen Instituts ETH - Stiftung Rübél*, 61: 226.

SOUZA, V.C., LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 1.ed, Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2005. 640p.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. Grupos ecológicos e sugestões de prioridade de pesquisa em tecnologia de sementes florestais. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n.2. p. 71-72, 1991.

ODUM, EP de 1986. *Ecologia*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

PIELOU, CE, 1977, *ecologia Matemática*. 2o. Wiley, NY.

ROSSI, LMB & HIGUCHI, N., 1998, Aplicação de Métodos de Análise do Padrão espacial los Oito Espécies arbóreas da floresta tropical Umida. *In: Floresta Amazônica: Dinâmica, Regeneração e Manejo*. C. Gascon & P. Moutinho (eds.), CNPq / INPA, Manaus, AM, Brasil, pp 41-60.

SOVIANO, AJS, 1997, *Distribuição espacial e temporal, de invertebrados bentônicos da Represa de Barra Bonita-SP*. MSc. Dissertação, USP, São Carlos, SP, Brasil.

VAN DER PIJL, L. **Principles of dispersal in higher plants**. 2 ed. Berlin: Springer-Verlag, 1972. 161p.

ZAR, J. H. 1999. *Bioestatistical analysis*. 4th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, 663 p.

---

## CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DE TRIPSINA DE CICHLA OCELLARIS POR ÍONS METÁLICOS

Oliveira, V.M.<sup>(1)</sup>; Bezerra, R.S.<sup>(1)</sup>; Porto, A.L.F.<sup>(2)</sup> vagne\_melo@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Laboratório de Enzimologia - LABENZ, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife – PE, Brasil.

<sup>(2)</sup>Laboratório de Tecnologia de Bioativos, Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife – PE, Brasil.

## RESUMO

*Cichla ocellaris*, popularmente conhecido como tucunaré, é um peixe teleósteo, nativo da Amazônia e introduzido na bacia do Rio São Francisco. Este trabalho objetivou extrair e avaliar sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* através da exposição a diferentes íons metálicos:  $MnCl_2$ ,  $KCl$ ,  $ZnCl_2$ ,  $FeCl_3$  e  $CuCl_2$  em cinco diferentes molaridades (0,001, 0,01, 0,1, 1 e 10 mM). Para tanto, foram utilizados 500 g de vísceras intestinais de espécimes capturadas no Rio São Francisco/Alagoas. A etapa de extração foi realizada através de processo de maceração e homogeneização. A etapa de sensibilidade foi realizada de acordo com protocolo específico descrito. Os dados indicaram diferentes graus de inibição em suas molaridades para os íons:  $MnCl_2$  e  $CuCl_2$  em relação ao controle (100%). Os resultados obtidos indicaram a inibição tripsina de tucunaré pela maioria dos íons testados, o que pode evidenciar uma possível alteração do metabolismo bioquímico quando ocorrida por um período prolongado, chegando a influenciar nas características do peixe, podendo ser empregado como ferramenta biotecnologia de monitoramento ambiental da bacia do Rio São Francisco.

**Palavras-chave:** Tucunaré, Enzima, Digestiva.

## INTRODUÇÃO

*Cichla ocellaris*, popularmente conhecido como tucunaré, é um peixe teleósteo, nativo da Amazônia e introduzido na bacia do Rio São Francisco (MAGALHÃES *et al.*, 1996). As proteases são enzimas que quebram ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, cujo mecanismo é denominado de clivagem protéica, catalisando a hidrólise

total das proteínas, comum em processos de ativação ou inativação de enzimas, envolvido principalmente na digestão (RAO et al., 1998).

Os metais pesados são alvos de avaliações como potenciais inibidores enzimáticos através das ligações com grupamentos tióis protéicos (MARQUES e YAMANAKA, 2008). O conceito biológico de inibidor enzimático diz respeito à substância que é capaz de interferir, de maneira específica, na taxa de uma reação de catálise enzimática (KOOLMAN, 2005). Assim, objetivou-se com o presente estudo determinar a atividade da tripsina extraída de vísceras intestinais de Tucunaré *Cichla ocellaris* a fim de averiguar sua sensibilidade a presença de íons metálicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para este ensaio, foram utilizados vísceras de *Cichla ocellaris* (tucunaré) (Figura 1) oriundas do Rio São Francisco, Alagoas. Após a evisceração realizada pelos pescadores, 500 g de vísceras intestinais foram imediatamente congeladas e conduzidas ao Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CCB/UFPE), onde foram armazenadas para posterior processamento.



**Figura 1.** Espécie de Tucunaré.

### ***Etapa de extração***

Para a extração da tripsina, as vísceras intestinais foram maceradas e homogeneizadas (18 rpm durante 5 minutos, com intervalos de 30 segundos) em tampão Tris-HCl 0,05 M pH 7,4 com 0,9% de NaCl (p/v), obtendo-se o extrato bruto enzimático (E.B.E.), utilizado nas análises (BEZERRA *et al.*, 2005).

### ***Etapa de atividade enzimática***

A atividade da tripsina foi determinada utilizando-se 170  $\mu$ L de tampão Tris-HCl 0,05 M pH 7,4, 30  $\mu$ L de extrato enzimático (E.B.E.) e 30  $\mu$ L de BApNA (N- $\alpha$ -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida) como substrato específico. Após o período de incubação de 15 min., as amostras foram lidas no leitor de microplaca com comprimento de onda de 405 nm de absorbância. As análises foram realizadas em triplicatas análises (BEZERRA *et al.*, 2005).

### ***Etapa de sensibilidade enzimática***

Para o ensaio de sensibilidade foram utilizados 6 íons, a saber: cloreto de manganês ( $\text{MnCl}_2$ ), cloreto de potássio ( $\text{KCl}$ ), cloreto de zinco ( $\text{ZnCl}_2$ ), cloreto férrico, ( $\text{FeCl}_3$ ) e cloreto de cobre ( $\text{CuCl}_2$ ) em cinco diferentes concentrações (0,001, 0,01, 0,1, 1 e 10 mM). O teste de sensibilidade foi determinado incubando-se 30  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático (E.B.E.) com 30  $\mu\text{L}$  do íons metálico em suas diferentes molaridades durante 30 minutos e, em seguida, acresceu-se a reação com 110  $\mu\text{L}$  de tampão Tris-HCl 0,05 M pH 7,4 e 30  $\mu\text{L}$  de BApNA. Após o período de incubação de 15 min., as amostras foram lidas no leitor de microplaca com comprimento de onda de 405 nm de absorbância. A atividade da enzima na ausência de quaisquer aditivos (íons) foi tomada como 100%. As análises foram realizadas em triplicatas análises (BEZERRA *et al.*, 2005).

### ***Análise estatística***

Os valores médios para os diferentes tratamentos foram comparados utilizando análise de variância com um fator (One-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 95% ( $p < 0,05$ ), usando o software de modelagem MicroCal Origin Versão 8.0 (Microcal, Northampton, MA, EUA).

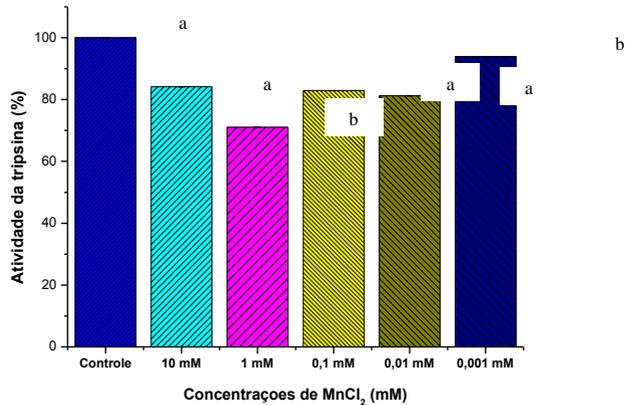
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os metais pesados são substâncias quimicamente reativas e bioacumuláveis, ou seja, os organismos não são capazes de eliminá-las;

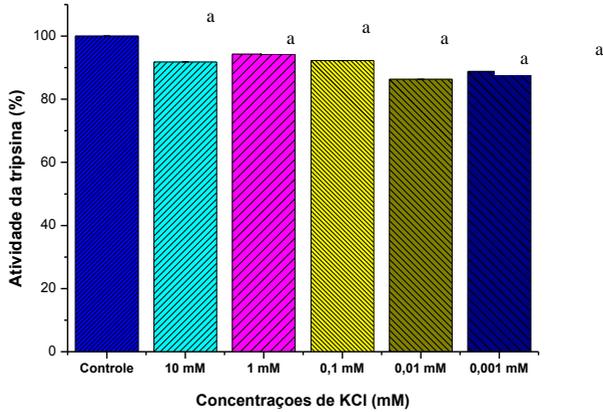
que possuem número atômico superior a 22, situados entre o cobre (Cu) e o chumbo (Pb) na tabela periódica, tendo peso atômico entre 63,546 e 200,590 e densidade superior a 4,0 g/cm<sup>3</sup> (BAIRD et al., 2002). Esses elementos ocorrem naturalmente em pequenas concentrações, na ordem de partes por bilhão (ppb) a partes por trilhão (ppt), no meio ambiente e na matéria viva (FARIAS et al., 2007). Alguns metais tomam parte do metabolismo fisiológico, sendo considerados essenciais por atuarem como componentes funcionais, estruturas, e regulatório de numerosas biomoléculas no metabolismo, podendo ser classificados como potencialmente tóxicos (p. ex.: arsênio, cádmio, mercúrio, chumbo), provavelmente essenciais (p. ex.: níquel, vanádio, cobalto) e essenciais (p. ex.: cobre, zinco, ferro, manganês). Estes elementos tóxicos podem ser muito prejudiciais, mesmo em baixas concentrações, quando ingeridos durante um longo período de tempo (TUZEN et al., 2003; ULUOZLU et al. 2007).

Os resultados encontrados para o cloreto de manganês e para o cloreto de potássio estão ilustrados nas Figuras 2 e 3, respectivamente. De acordo com os dados obtidos, em relação ao grupo controle (100%), houve uma diminuição da atividade enzimática de  $93.88 \pm 0.06$ ,  $81.22 \pm 0.04$ ,  $82.91 \pm 0.05$ ,  $71.05 \pm 0.10$  e  $84.13 \pm 0.04$  para as concentrações 0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10 mM de MnCl<sub>2</sub>, respectivamente, como observado na Figura 2. Na análise estatística, foi detectada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de 1 mM e a de 0,001 em relação ao controle 100%.

Concomitantemente a redução do  $MnCl_2$ , também foi observado diminuição de atividade quando expostos as diferentes concentrações do cloreto de potássio, obtendo-se  $88.80 \pm 0.02$ ,  $86.31 \pm 0.04$ ,  $92.24 \pm 0.01$ ,  $94.03 \pm 0.03$  e de  $91.82 \pm 0.01$  para as concentrações de 0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10 mM, respectivamente, como visualizado na Figura 3, entretanto, não foi verificada diferença significativa entre as concentrações e o grupo controle (100%).

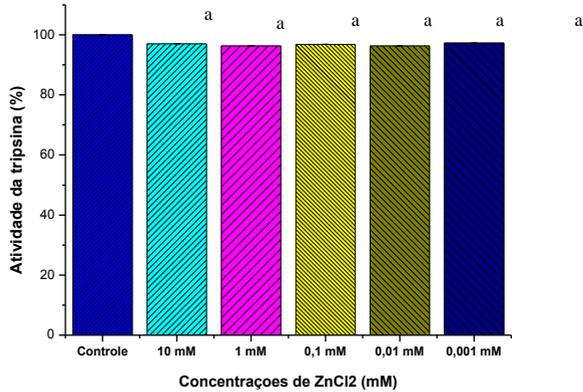


**Figura 2.** Sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* a diferentes concentrações de  $MnCl_2$ .



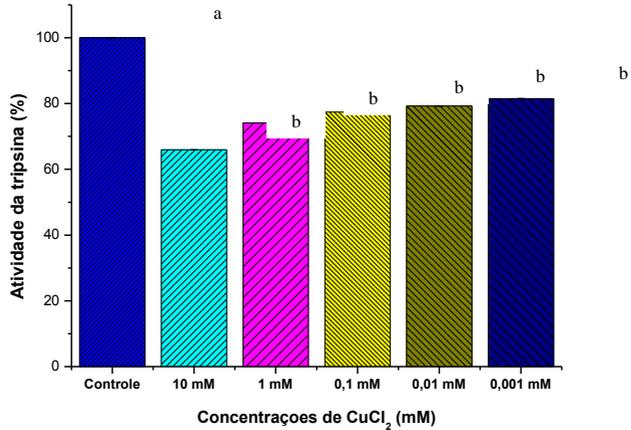
**Figura 3.** Sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* a diferentes concentrações de KCl.

Nos testes com os íons de  $Zn^{2+}$ , como ilustrado na Figura 4, foi observado redução de atividade enzimática, embora não tenha sido detectada diferença significativa. Os dados foram de  $97.25 \pm 0.04$ ,  $96.29 \pm 0.007$ ,  $96.83 \pm 0.03$ ,  $96.29 \pm 0.04$  e de  $97.02 \pm 0.03$  nas concentrações de 0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10 mM, respectivamente.



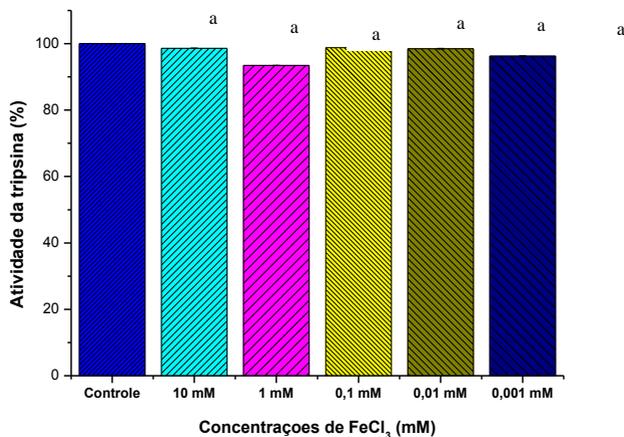
**Figura 4.** Sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* a diferentes concentrações de ZnCl<sub>2</sub>.

A exposição ao CuCl<sub>2</sub> acarretou em redução da atividade enzimática, na proporção de  $81.49 \pm 0.03$ ,  $79.27 \pm 0.07$ ,  $77.40 \pm 0.05$ ,  $74.11 \pm 0.03$  e de  $65.93 \pm 0.01$  nas concentrações de 0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10 mM, respectivamente, como visualizado na Figura 5. Foi detectado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre todas as concentrações e o grupo 100%.



**Figura 5.** Sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* a diferentes concentrações de CuCl<sub>2</sub>.

Na exposição ao FeCl<sub>3</sub> os resultados obtidos foram  $96.25 \pm 0.06$ ,  $98.51 \pm 0.10$ ,  $98.81 \pm 0.04$ ,  $93.46 \pm 0.004$  e de  $98.62 \pm 0.04$  nas concentrações de 0.001, 0.01, 0.1, 1 e 10 mM, respectivamente, como visualizado na Figura 6, entretanto, não foi detectado diferença significativa.



**Figura 6.** Sensibilidade da tripsina de *Cichla ocellaris* a diferentes concentrações de FeCl<sub>3</sub>.

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos indicaram redução da atividade da tripsina de tucunaré pela maioria dos íons testados, o que pode evidenciar uma possível alteração do metabolismo bioquímico quando ocorrida por um período prolongado, chegando a influenciar nas características do peixe, podendo ser empregado como ferramenta biotecnologia de monitoramento ambiental da bacia do Rio São Francisco.

## REFERÊNCIAS

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 622 p., 2002.

BEZERRA, R.S.; LINS, E.J.F.; ALENCAR, R.B.; PAIVA, P.M.G.; CHAVES, M.E.C.; COELHO, L.C.B.B.; CARVALHO JR, L.B. Alkaline proteases from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Process Biochemistry**, v.40, n.5, p.1829–1834, 2005.

FARIAS, M. S. S.; LIMA, V. L. A.; DANTAS NETO, J.; LEITE, E. P.F; LIRA, V. M.; FRANCO, E. S. Avaliação dos níveis de boro e chumbo na água do rio cabelo – João Pessoa, Paraíba. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 4, n. 1, p. 024–031, 2007.

KOOLMAN, J.; ROHEM, K.H. **Bioquímica**: texto e atlas. 3 ed. Porto Alegre. 478 p., 2005.

MAGALHÃES, A.L.B.; SATO, Y.; RIZZO, E.; FERREIRA, R.M.A.; BAZOLI, N. Ciclo reprodutivo do tucunaré *Cichla ocellaris* (Schneider, 1801) na represa de Três Marias, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.48, p. 85-92, 1996.

MARQUES, P.R.B.O.; YAMANAKA, H. Biossensores baseados no processo de inibição enzimática. **Química Nova**, v. 31, p. 1791-1799, 2008.

RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, p. 597–635, 1998.

TUZEN, M. Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 80, p.119–123, 2003.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, 835–840, 2007.

---

## CHAETOGNATHA EM ARQUIPÉLAGOS DO NORDESTE DO BRASIL

Melo, D. C. M.<sup>(1)</sup>; Melo, P. A. M. C.<sup>(1)</sup>; Santana, J. R.<sup>(1)</sup>; Cunha, A. G.<sup>(2)</sup>;  
Neumann-Leitão, S.<sup>(1)</sup> melo.danielle@yahoo.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil, CNPq;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal do Pará – UFPA, CAPES.

## RESUMO

Chaetognatha constitui um dos filos mais representativos do zooplâncton, reunindo organismos estabelecidos em todos os mares e oceanos do mundo. Este estudo analisou padrões de densidade deste filo nos Arquipélagos de Fernando de Noronha (FN) e de São Pedro e São Paulo (ASPSP), em períodos diurnos e noturnos, entre julho e agosto de 2010. As amostras foram obtidas em dois transectos em cada arquipélago, com três estações cada. Foram também realizadas coletas nictemerais em apenas uma estação por arquipélago. A obtenção das amostras ocorreu por meio de arrastos oblíquos, com rede bongô (500 µm), na camada fótica. No transecto Leste do ASPSP, não se registrou um padrão na densidade, diferente do transecto Oeste, onde houve um aumento nas estações mais próximas. No transecto Nordeste de FN, as estações mais afastadas apresentaram valores mais elevados, enquanto que no transecto Sudoeste nenhum padrão foi observado. A variação nictemeral no ASPSP revelou valores mais altos nas coletas noturnas, enquanto que em FN, maiores densidades ocorreram no período diurno. Os dados obtidos por esta pesquisa mostraram o “efeito ilha” na distribuição dos Chaetognatha para o ASPSP, não sendo observado o mesmo para FN.

**Palavras-chave:** Densidade, Variação Espacial, Variação Nictemeral.

## INTRODUÇÃO

Dentre os táxons que compõem a comunidade zooplancônica, Chaetognatha constitui um filo bastante representativo, podendo

compor até 10% de sua biomassa total (BALL, MILLER, 2006). Este grupo ocorre em todos os oceanos do mundo, com maior frequência entre 100 e 200 m de profundidade (VEJA-PÉREZ, SCHINKE, 2011). Apesar de possuir um tamanho relativamente pequeno (1-120 mm), são carnívoros eficientes e podem se alimentar em vários níveis tróficos, exercendo função fundamental nas cadeias alimentares marinhas (BOLTOVSKOY, 1981). São bons indicadores pesqueiros (BOLTOVSKOY, 1981), de massas d'água (BOLTOVSKOY, 1981; VEJA-PÉREZ, SCHINKE, 2011) e realizam migrações verticais reguladas por fatores físicos ambientais (intensidade luminosa, temperatura, etc.) e disponibilidade de alimento (PRADO, 1968; ZARET, STUFFERN, 1976; LIANG, VEJA-PÉREZ, 2001), influenciando os níveis tróficos mais elevados (MELO *et al.*, 2012).

Uma vez que o “efeito-ilha” influencia de maneira mais intensa a densidade do zooplâncton no entorno de ilhas oceânicas, propõe-se que Chaetognatha seja mais abundante nesses locais (sendo observados valores mais elevados), e que sua densidade diminua, à medida que a distância destas formações aumenta. Adicionalmente, espera-se que Chaetognatha seja mais abundante no período noturno, visto que este é o momento em que organismos zooplanctônicos, de maneira geral, são encontrados mais frequentemente na superfície da coluna d'água.

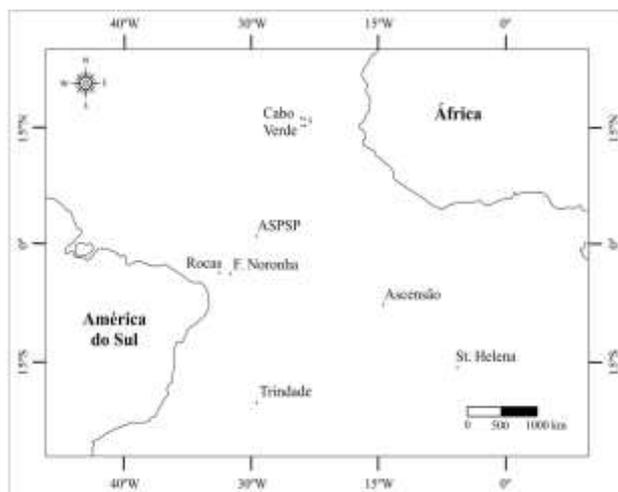
Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar os padrões de densidade de Chaetognatha no entorno dos Arquipélagos de Fernando

de Noronha (PE) e de São Pedro e São Paulo, em períodos diurnos e noturnos, e sua variação espacial em função da proximidade destes relevos, como forma de compreender a estrutura deste filo em ambientes insulares.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) (Fig. 01) é formado por um conjunto de ilhas rochosas localizadas ao norte do Equador ( $0^{\circ}55'06''\text{N}$  e  $29^{\circ}20'48''\text{W}$ ), distando aproximadamente 960 km<sup>2</sup> da costa nordeste do Brasil (EDWARDS, LUBBOCK, 1983). As três ilhas maiores (Belmonte, São Pedro e São Paulo) formam uma enseada em forma de ferradura, com profundidade média de 8 m. Essas ilhas também estão separadas por canais estreitos onde há fluxo de água.

Já o Arquipélago de Fernando de Noronha (FN) (Figura 1) é composto pela Ilha de Fernando de Noronha juntamente com outras 20 ilhas, ilhotas e rochedos, possuindo uma área total de aproximadamente 26 km<sup>2</sup>. Está localizado no Oceano Atlântico Tropical, estando 3° ao sul da linha do Equador e 345 km<sup>2</sup> a Nordeste do Cabo de São Roque, Brasil (SAZIMA, HAEMIG, 2012).



**Figura 1.** Localização do Arquipélago de Fernando de Noronha e do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) em relação às demais ilhas oceânicas e a costa da América do Sul e da África.

A corrente marinha de maior influência no ASPSP é a Corrente Sul Equatorial (cSEC), e a principal corrente em FN é a Corrente Norte do Brasil (cNB). Na realização das coletas, foi verificado este fato com uma ADCP, comprovando-se a atuação predominante destas correntes para as respectivas áreas amostrais.

As amostras deste estudo foram obtidas pela embarcação NHO Cruzeiro do Sul (Marinha do Brasil), entre julho e agosto de 2010, meses inseridos no período chuvoso dos arquipélagos.

Após identificada a corrente marinha predominante no momento das coletas, dois transectos foram estabelecidos: um no sentido Leste–Oeste

no ASPSP, e outro no sentido Nordeste - Sudoeste em FN. No ASPSP, os transectos foram denominados 1 (Leste) e 2 (Oeste), enquanto que em FN, o transecto 1 foi identificado como Nordeste e o 2, como Sudoeste. Cada transecto possuiu três estações de coleta, distando cerca de 2-3 km entre as mesmas, totalizando seis estações por arquipélago, com amostragens diurnas e noturnas. Estas estações foram nomeadas como A (mais próxima da ilha), C e E. Dessa forma, os códigos dos pontos de amostragem foram nomeados conforme o transecto (1 ou 2) e distância da ilha (A, C ou E). Adicionalmente, foram realizadas coletas nictemerais (24h) em intervalos de 4 h, totalizando seis coletas em cada ponto. As estações para a amostragem nictemeral foram 1E (ASPSP) e 1C (FN).

As coletas foram realizadas por meio de redes de plâncton do tipo bongô, com 500 µm de abertura de malha e 0,60 m de diâmetro de boca, com fluxômetro acoplado, através de arrastos oblíquos com duração de 10 minutos, em profundidade máxima de 150 m. Posteriormente, as amostras foram fixadas com formol a 4%, neutralizado com bórax (5 g.L<sup>-1</sup>) (NEWELL, NEWELL, 1963).

O procedimento laboratorial consistiu no fracionamento das amostras em subamostras que reunissem um mínimo de 100 indivíduos. Amostras que apresentaram uma menor quantidade de organismos foram analisadas em sua totalidade.

Com relação à estatística, a normalidade dos dados foi verificada através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparar os períodos de amostragem (diurno e noturno), foi utilizado o Teste-t (dados normais) ou o teste de Mann-Whitney (dados não-normais). A comparação de dados entre as estações (A, C e E) foi realizada através de ANOVA (dados normais) ou do teste de Kruskal-Wallis (dados não-normais).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No ASPSP, a densidade dos Chaetognatha não apresentou um padrão claro no transecto Leste (1A, 1C e 1E), enquanto que no transecto Oeste (2A, 2C e 2E) ocorreu uma redução dos valores, com o aumento da distância do ASPSP (Fig. 02). Souza (2010) observou um aumento na densidade de Chaetognatha próximo ao arquipélago, durante um evento de ressurgência subsuperficial, relacionando este efeito à proximidade do ASPSP, devido ao perfil topográfico da região.

Eventos de ressurgência topográfica no ASPSP, bem como pulsos de ressurgência estão associados à influência da Corrente Sul Equatorial (ARAÚJO, CINTRA, 2009), os quais podem contribuir diretamente para a ocorrência do "efeito-ilha" na comunidade zooplancônica (MELO, 2009).

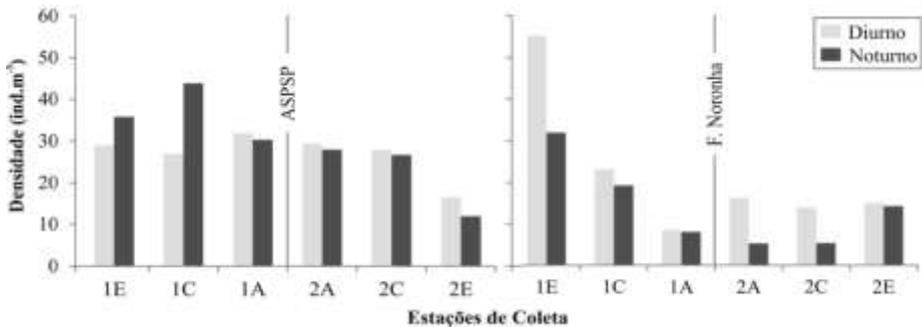
Apesar de não serem observadas diferenças significativas entre os períodos de coleta (Teste-t;  $p=0,619$ ), os valores mais elevados ocorreram no período noturno, nas estações 1E ( $35,9 \text{ ind.m}^{-3}$ ) e 1C

(43,9 ind.m<sup>-3</sup>), enquanto que os valores do período diurno foram superiores em todas as outras estações (Figura 2).

Igualmente, não foram encontradas diferenças significativas entre as estações de ambos os transectos (Kruskal-Wallis;  $p=0,272$ ), e entre as estações do transecto Leste (Kruskal-Wallis;  $p=1,000$ ) e transecto Oeste (Kruskal-Wallis;  $p=0,067$ ) separadamente.

Em Fernando de Noronha, o transecto Nordeste (1A, 1C e 1E) apresentou um nítido padrão de aumentar a densidade à medida que se afastava do arquipélago, sendo este fato evidenciado tanto para o período diurno quanto o noturno (Fig. 02). O transecto Sudoeste (2A, 2C e 2E) não apresentou padrão claro de variação.

As densidades do transecto Nordeste divergiram do aguardado, não tendo sido observado o "efeito-ilha" sobre a abundância dos organismos. Tal efeito esperado caracteriza-se por uma alteração do fluxo oceânico causado por ilhas, ocasionando a elevação de águas mais profundas (CALDEIRA *et al.*, 2002), o que acarreta um incremento da produtividade primária, da biomassa planctônica e do potencial pesqueiro no entorno destas formações oceânicas (HERNANDÉZ-LEÓN *et al.*, 2001; MACEDO-SOARES *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Variação Diária e Espacial de Chaetognatha no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) e em Fernando de Noronha (FN).

O padrão de abundância pode ser influenciado pelo comportamento próprio dos organismos ou por mecanismos que geram agregação dos mesmos, como topografias abruptas (CALDEIRA *et al.*, 2002). A associação de tais fatores pode eventualmente, ser responsável pela ocorrência de padrões diferenciados de densidade, como observado para o transecto Nordeste do arquipélago.

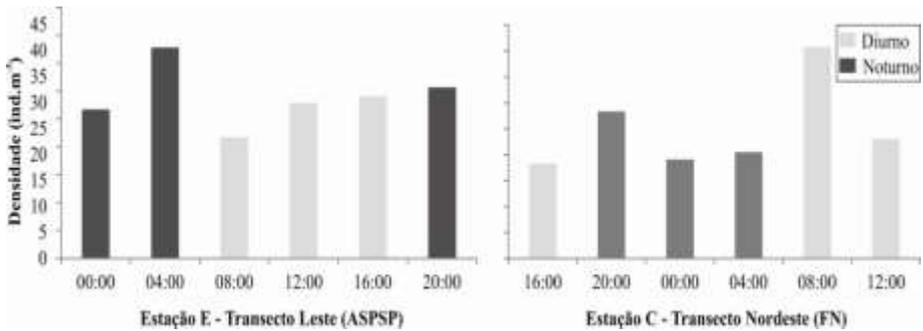
Embora valores mais elevados de densidade ocorram no período diurno para todas as estações de FN (média  $21,88 \pm 16,81$  ind. m<sup>-3</sup>), não houve diferença significativa entre os dados obtidos para os dois períodos de amostragem (Mann-Whitney;  $p=0,310$ ).

Igualmente ao ASPSP, não foram encontradas diferenças significativas entre as estações de ambos os transectos (ANOVA;  $p=0,122$ ), nem entre as estações do transecto Nordeste (Kruskal-Wallis;  $p=0,067$ ) e transecto Sudoeste (Kruskal-Wallis;  $p=0,067$ ) separadamente.

A falta de diferenças significativas entre as estações, tanto para FN quanto para o ASPSP, sugere que outros fatores, como forçantes físicas, possam estar atuando sobre padrões de distribuição vertical de Chaetognatha, como sugerido por Melo (2009) para a comunidade zooplanctônica.

Quanto à variação nictemeral, os valores mais elevados de densidade foram obtidos em coletas noturnas para o ASPSP (média  $31,72 \pm 5,61$  ind.  $m^{-3}$ ), indicando uma tendência de maior ocorrência de Chaetognatha em águas superficiais, principalmente à noite (Fig.03). Este comportamento é resultante da migração vertical diária de organismos zooplanctônicos, que se alimentam na superfície no período noturno e retornam para águas mais profundas durante o nascer do sol (PEARRE, 2003), como forma de evitar predadores (HAYS, 2003) e obter vantagens metabólicas (PREVIATTELLI *et al.*, 2005). Tal padrão também foi observado por Melo (2009) no ASPSP, ao avaliar a variação nictemeral do mesozoplâncton.

Em Fernando de Noronha, os dados nictemerai não indicaram um padrão claro de distribuição de indivíduos (Figura 3), contudo, a maior densidade de Chaetognatha foi observada no período diurno de amostragem (média  $27,38 \pm 11,88$  ind.  $m^{-3}$ ).



**Figura 3.** Variação Nictemeral de Chaetognatha no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP) e em Fernando de Noronha (FN).

Alvariño (1967), também registrou uma maior densidade de Chaetognatha no período diurno, em estudos desenvolvidos em San Diego (Califórnia-EUA). Resultados semelhantes foram relatados para o banco submerso Condor (Açores), com valores mais elevados na abundância deste filo em março, agosto e setembro (SANTOS, 2011).

Organismos zooplancctônicos que possuem comportamento migratório diferenciado do esperado, provavelmente estão sob influência de fatores ambientais distintos, como distribuição de alimento, estratificação térmica e disponibilidade de oxigênio (PREVIATTELLI *et al.*, 2005). De acordo com Pearre (2003), a abundância de Chaetognatha em um determinado ambiente é sobretudo controlada pela temperatura e disponibilidade de alimento, especialmente Copepoda, seu principal item alimentar.

## CONCLUSÃO

O “efeito-ilha” foi válido apenas para o Arquipélago de São Pedro e São Paulo (transecto Oeste), enquanto que Fernando de Noronha apresentou um padrão inverso na densidade de Chaetognatha (transecto Nordeste), sugerindo que o fenômeno não esteja influenciando neste período, sua distribuição espacial.

Na variação nictemeral, o padrão de migração vertical foi observado somente para o Arquipélago de São Pedro e São Paulo, quando Chaetognatha predominou no período noturno. Em Fernando de Noronha, apesar de nenhum padrão claro ter sido demonstrado, valores de densidade mais elevados foram encontrados no período diurno, supondo-se que fatores como distribuição de alimento e estratificação térmica estejam interferindo na distribuição diária deste filo.

## REFERÊNCIAS

ALVARIÑO, A. Bathymetric distribution of Chaetognatha, Siphonophorae, Medusae, and Ctenophorae off San Diego, California. **Pacific Science**, v. 21, n. 4, p. 475-482, out. 1967.

ARAÚJO, M.; CINTRA, M. Modelagem matemática da circulação oceânica na região equatorial do Arquipélago de São Pedro e São Paulo. In.: **O arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de estação científica**, Vol. Único, Brasília: DF, 2009, p. 106-113.

BALL, E. E.; MILLER, D. J. Phylogeny: The continuing classificatory conundrum of chaetognaths. **Curr. Biol.**, v. 16, n.15, p. 593-596, ago. 2006.

BOLTOVSKOY, D. Atlas Del zooplancton Del Atlántico Sul occidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino. Mar del Plata: INIDEP, 1981, 936 p.

CALDEIRA, R. M .A., GROOM, S., MILLER, P., PILGRIM, D., NEZLIN, N. P. Sea-surface signatures of the island mass effect phenomena around Madeira Island, Northeast Atlantic. **Rem. Sen. Environ.**, v. 80, n. 2, p. 336–360, may, 2002.

EDWARDS, A., LUBBOCK, R. The ecology of Saint Paul's Rocks (Equatorial Atlantic). **J. Zool**, v. 200, p. 51-69, ago. 1983.

HAYS, G. C. A review of adaptative significance and ecosystem consequences of zooplankton diel vertical migrations. **Hydrobiologia**, v. 503, p. 163-170, 2003.

HERNADÉZ-LEÓN, S.; ALMEIDA, C.; GÓMEZ, M.; TORRES, S.; MONTERO, I.; PORTILLO-HAHNEFELD, A. Zooplankton biomass and indices of feeding and metabolism in island-generated eddies around Grand Canaria. **J. Mar. Sys.**, v. 30, p. 51-66, ago. 2001.

LIANG, T. H.; VEJA-PEREZ, L.A. Diversity, abundance and biomass of epiplanktonic chaetognath off South Atlantic western sector, from Cabo Frio (23°S, 42°W) to São Pedro and São Paulo Rocks (01°N, 29°W). **Oceanides**, v. 16, n. 1, p. 34-48, 2001.

MACEDO-SOARES, L. C. P.; CARVALHO, M.; FREIRE, A. S. Variabilidade temporal e espacial da temperatura superficial do mar e da clorofila-a no entorno do Arquipélago São Pedro e São Paulo e seus efeitos na comunidade ictioplanctônica. Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, p. 7129-7166, 2011.

MELO, P. A. M. C. Dinâmica em microescala do mesozooplâncton do Arquipélago de São Pedro e São Paulo – NE, Brasil. Recife, 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Oceanografia), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

MELO, P. A. M. C.; DIAZ, X. F. G.; MACEDO, S. J.; NEUMANN-LEITÃO, S. Diurnal and spatial variation of the mesozooplankton community in the Saint Peter and Saint Paul Archipelago, Equatorial Atlantic. **Mar. Biodiv. Rec.**, v. 5, p. 1-14, out. 2012.

NEWELL, G. E.; NEWELL, R. C. **Marine plankton: a practical guide**. London: Hutchinson Educational, 1963.

PEARRE, S. J. Eat and run? The hunger/satiation hypothesis in vertical migration: history, evidence and consequences. **Biol. Rev.**, v. 78, n.1, p. 1–79, fev. 2003.

PRADO, M. S. A. Distribution and annual occurrence of Chaetognatha off Cananeia and Santos Coast (São Paulo, Brazil). Inst. Oceanogra. S Paulo, v. 17, n. 1, p. 33-55, 1968.

PREVIATTELLI, D.; SANTOS-SILVA, E. N.; DARWICH, A. J. Distribuição vertical do zooplâncton e sua relação com as variáveis ambientais. In.: SANTOS-SILVA, E. N.; APRILE, F. M.; SCUDELLER, V. V.; MELO, S. Manaus: Editora INPA, 2005, cap.07.

SANTOS, M. S. V. Caracterização de comunidades planctônicas no banco submarino Condor (Sudoeste da Ilha do Faial, Açores): Associação dos principais padrões de distribuição com fatores ambientais subjacentes. Horta, 2011. 106 p. Dissertação (Mestrado em Estudos Integrados dos Oceanos), Universidade dos Açores, Horta, 2011.

SAZIMA, I.; HAEMIG, P. D. Aves, Mamíferos e Répteis de Fernando de Noronha. **Ecologia, Info** 17, 2012.

SOUZA, C. S. Condições hidroquímicas nas regiões dos bancos e ilhas oceânicas do Nordeste Brasileiro e sua influencia sobre a composição e distribuição do Chaetognatha. Salvador, 2010. 117 p. Tese (Doutorado em Geologia), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2010.

VEGA-PÉREZ, L. A.; SCHINKE, K. P. Checklist do filo Chaetognatha do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1, p. 1-10, dez. 2011.

ZARET, T. M.; STUFFERN, J. S. Vertical migration in zooplankton as a predator avoidance mechanism. **Limnol Oceanogr.**, v. 21, n. 6, p. 804-813, nov. 1976.

---

## CHUVA DE SEMENTES DE ASSEMBLEIAS HERBÁCEAS EM UMA ÁREA SEMIÁRIDA

Souza, J. T.<sup>(1)</sup>; Souza, D. N. N.<sup>(1)</sup>; Abreu, E. R.<sup>(2)</sup>; Araújo, E. L.<sup>(3)</sup>

jeff-thiago@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-Graduação em Botânica/Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife-PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Licenciatura em Ciências Biológicas/Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife-PE, Brasil;

<sup>(3)</sup> Departamento de Biologia/Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife-PE, Brasil.

## RESUMO

A sazonalidade climática influencia fortemente os processos ecológicos em ambientes semiáridos. Objetivou-se avaliar o efeito sazonal na riqueza de espécies, densidade de diásporos e modos de dispersão da chuva de sementes de assembleias herbáceas em uma floresta semiárida jovem. O estudo foi realizado na Estação Experimental do Instituto Agronômico de Pernambuco, Brasil. Foram estabelecidos cinco transectos equidistantes entre si por 15 m e nestes foram alocados 21 coletores de sementes, distribuídos sistematicamente a intervalos de 10 m. Mensalmente, durante um ano, o material dos coletores foi recolhido, processado e identificado. A chuva de sementes apresentou riqueza de 23 espécies, distribuídas em oito famílias e 18 gêneros. Todavia, não houve diferenças estatisticamente significativas ( $X^2_y = 3,03$ ;  $gl = 1$ ;  $p = 0,08$ ). A densidade total dos diásporos herbáceos foi de  $971,1 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{ano}^{-1}$ , dos quais  $637,4 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 6 \text{ meses}^{-1}$  ocorreram na estação seca e  $333,8 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot 6 \text{ meses}^{-1}$  na estação chuvosa. Estas diferenças se mostraram estatisticamente significativas ( $X^2_y = 94,3$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0,01$ ). Foram registrados um total de 11 espécies e  $831,3 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{ano}^{-1}$  anemocóricas, nove espécies e  $67,2 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{ano}^{-1}$  autocóricas e três espécies e  $72,2 \text{ sem}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{ano}^{-1}$  zoocóricas.

**Palavras-Chave:** Caatinga, Modos de Dispersão, Sazonalidade.

## INTRODUÇÃO

A sazonalidade climática é um dos fatores de grande influência nos processos ecológicos de populações vegetais de ambientes semiáridos (ARAÚJO et al. 2005). Dentre estes processos, podemos destacar a dispersão de diásporos, que responde a sazonalidade de diferentes formas, tais como, variações no número de espécies e diásporos e na predominância de modos de dispersão (MARTÍNEZ-GARZA et al. 2011).

Além do mais, a dispersão de diásporos em ambientes semiáridos também apresentam variações a depender do hábito da planta (SOUZA, 2010). De maneira que para as assembleias de plantas lenhosas ou herbáceas, o modo de dispersão pode variar em zoocórico, autocórico e anemocórico ou predominar em um tipo, em função da aridez (MARTÍNEZ-GARZA et al. 2011). Em geral, o modo de dispersão predominante é a dispersão pelo vento, devido às características locais favoráveis, como a alta velocidade dos ventos e abertura do dossel (LIMA et al. 2008).

Uma das maneiras de avaliar as variações na dispersão de diásporos é através da chuva de sementes ou padrão de queda dos diásporos (DUNGAN et al. 2001). Esta permite verificar as espécies predominantes, o total de diásporos que cai na área e as principais estratégias de dispersão adotadas pelas espécies (ZIMMERMAN et al. 2000).

Todavia, grande parte dos estudos de chuva de sementes se restringe a assembleias de plantas lenhosas (ZIMMERMAN et al. 2000; CUBIÑA; AIDE, 2001), não havendo investigações sobre a contribuição de assembleias de plantas herbáceas. Esta escassez é ainda maior em ambientes semiáridos, onde a riqueza de espécies herbáceas pode ser de até três vezes mais elevada que as lenhosas (ARAÚJO et al. 2005).

Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito da sazonalidade climática na riqueza de espécies, densidade de diásporos e modos de dispersão da

chuva de sementes de plantas herbáceas em área de agricultura abandonada no semiárido, bem como responder as seguintes questões: (i) De que maneira a sazonalidade climática afeta a riqueza de espécies herbáceas da chuva de sementes? (ii) Como a densidade da chuva de sementes responde ao efeito sazonal? (iii) Será que os modos de dispersão da chuva de sementes são influenciados pela sazonalidade climática?

Temos como hipóteses que a riqueza, densidade e os modos de dispersão da chuva de sementes de espécies herbáceas apresentarão influência sazonal com maior número de espécies e diásporos, principalmente anemocóricos, na estação seca.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Área de estudo e histórico de uso***

O estudo foi realizado na Estação Experimental do Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA (8° 14' 18" S e 35° 55' 20" W), localizada no município de Caruaru, nordeste do Brasil. O clima local é do tipo estacional, com precipitação média anual de 682,1 mm e temperaturas que variam de 11 a 38 °C. A estação seca ocorre entre os meses de setembro a fevereiro (ARAÚJO et al., 2005). Os solos são do tipo podzólico amarelo eutrófico com textura franco-arenosa (REIS et al., 2006).

Na estação experimental, existe uma floresta jovem (3 ha) que foi submetida à corte raso para implantação de um cultivo de palma, sem utilização de nenhum tipo de fertilizante, pesticida ou fogo na área. A área cultivada foi abandonada pós-cultivo e vem se regenerando naturalmente há 19 anos.

### *Desenho amostral*

Para avaliar a chuva de sementes da floresta jovem foram estabelecidos cinco transectos equidistantes entre si por 15 m. Em cada transecto foram alocados 21 coletores de sementes, distribuídos sistematicamente a um intervalo fixo de 10 m.

Os coletores consistiram em vasos cilíndricos de polietileno com 81 cm de circunferência ( $\approx 25$  cm de diâmetro) e 30 cm de altura. A área amostral total da chuva de sementes foi de  $5,48 \text{ m}^2$ . Os coletores foram colocados diretamente sobre o solo e fixados com auxílio de estacas de madeira. Na parte externa de cada coletor foi aplicada uma camada de graxa para evitar o acesso de pequenos invertebrados e a predação e/ou remoção das sementes. Pequenos orifícios no fundo dos coletores foram feitos para evitar o acúmulo de água da chuva e deterioração das sementes, conforme adotado em outros estudos de chuva de sementes (ZIMMERMAN et al. 2000; CUBIÑA; AIDE, 2001).

Mensalmente, durante um ano, todo o material dos coletores foi recolhido e levado para processamento em laboratório (ZIMMERMAN et al. 2000; DUGAN et al. 2001), sendo os diásporos manualmente

separados de outros materiais eventualmente encontrados (galhos, folhas, resíduos etc.). Em seguida, todo o material foi identificado e quantificado. Para identificação das sementes foi utilizada bibliografia específica (Kissmann e Groth, 2000), consulta aos herbários e comparação com sementes coletadas na floresta jovem. Todos os diásporos foram classificados quanto ao modo de dispersão em diásporos dispersos pela própria planta (autocoria), diásporos dispersos pelo vento (anemocoria) e diásporos dispersos por animais (zoocoria).

### ***Análise de dados***

Para verificar diferenças sazonais na riqueza de espécies e na densidade de diásporos da chuva de sementes, foi utilizado o teste não paramétrico qui-quadrado ( $X^2$ ) com correção de Yates. Já para verificar a variação sazonal nos modos de dispersão da chuva de sementes foi utilizado o teste não paramétrico de Friedman, com teste *a posteriori* de Tukey e intervalo de confiança de 95%. Todas as análises foram realizadas no Programa Statistica 7.0 (Statsoft, 2004).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Riqueza de espécies***

A chuva de sementes da assembleia de plantas herbáceas apresentou riqueza de 23 espécies, distribuídas em oito famílias e 18 gêneros (Tabela 1). A maior riqueza esteve nas famílias Asteraceae (6), Poaceae

(5) e Fabaceae (4). Os gêneros com maior riqueza foram *Bidens* (2), *Ruellia* (2) e *Uroclhoa* (2). A riqueza na estação seca foi de 22 espécies e na estação chuvosa foi de 11 espécies. Todavia, estas diferenças não foram estatisticamente significativas ( $X^2_y = 3,03$ ;  $gl = 1$ ;  $p = 0,08$ ), mostrando que a riqueza de espécies herbáceas não sofre influência da sazonalidade climática.

Os resultados do presente estudo divergem dos padrões registrados na literatura para regiões semiáridas, que apontam forte sazonalidade na riqueza de espécies (Araújo et al. 2005; Reis et al. 2006; Santos et al. 2013). Todavia, estas divergências podem estar relacionadas ao fato de algumas espécies iniciarem sua dispersão no período de transição entre as estações, ou seja, compreendendo as duas estações (Lima et al. 2008; Souza, 2010). Além do mais, foi observado para algumas espécies (*Bidens bipinnata*, *B. pilosa* e *Gomphrena vaga*) de dispersão na estação chuvosa, que estas continuavam a manter seus diásporos fixados durante a estação seca, mesmo com suas partes aéreas mortas, contribuindo assim para a chuva de sementes das duas estações.

**Tabela 1.** Famílias, espécies e modos de dispersão (autocórico, zoocórico e anemocórico) da chuva de sementes de plantas herbáceas na floresta jovem, Pernambuco, Brasil.

Famílias	Espécies	Modos de dispersão
----------	----------	--------------------

Asteraceae	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Anemocórica
	Asteraceae 1	Anemocórica
	<i>Delilia biflora</i> (L.) Kuntze.	Anemocórica
	<i>Eclipta alba</i> (L.) Hassk	Anemocórica
	<i>Bidens bipinnata</i> L.	Zoocórica
	<i>Bidens cf. pilosa</i> L.	Zoocórica
Acanthaceae	<i>Ruellia bahiensis</i> (Nees) Morong.	Autocórica
	<i>Ruellia asperula</i> (Ness & HooK)	Autocórica
Amaranthaceae	<i>Gomphrena vaga</i> Mart.	Zoocórica
Euphorbiaceae	<i>Dalechampia scandens</i> L.	Autocórica
Fabaceae	<i>Desmodium glabrum</i> (Mill.) DC.	Autocórica
	<i>Centrosema brasilianum</i> (L.) Benth.	Autocórica
	<i>Chaetocalyx longiflora</i> Benth. ex A.Gray	Autocórica
	<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill.	Autocórica
Malvaceae	<i>Herisantia crispa</i> (L.) Brizicky	Anemocórica
	<i>Sidastrum micranthum</i> (A.St.-Hil.) Fryxell	Autocórica
	<i>Wissadula contracta</i> (Link) R.E.Fr.	Autocórica
Poaceae	<i>Digitaria insulares</i> (L.) Fedde	Anemocórica
	<i>Pappophorum pappiferum</i> (Lam.) Kuntze	Anemocórica
	Poaceae 1	Anemocórica
	<i>Uroclhoa maxima</i> (Jacq.) R.D. Webster	Anemocórica
	<i>Uroclhoa</i> sp.	Anemocórica
Sapindaceae	<i>Cardiospermum</i> sp.	Autocórica

### ***Densidade de diásporos***

A densidade total dos diásporos herbáceos foi de 971,1 sem·m<sup>-2</sup>·ano<sup>-1</sup>, dos quais 637,4 sem·m<sup>-2</sup>·6 meses<sup>-1</sup> ocorreram na estação seca e 333,8 sem·m<sup>-2</sup>·6 meses<sup>-1</sup> na estação chuvosa. Estas diferenças foram estatisticamente significativas ( $X^2_y = 94,3$ ; gl = 1;  $p < 0,01$ ), o que aponta um efeito sazonal, com maior densidade na estação seca.

Estes resultados corroboraram com os encontrados em outros estudos (Lima et al. 2008; Souza, 2010) e estão relacionados ao fato de grande

parte das espécies herbáceas em ambientes semiáridos serem terófitas anuais, ou seja, plantas que germinam, crescem e produzem sementes na estação chuvosa e dispersam seus diásporos e morrem na estação seca (Araújo et al. 2005; Santos et al. 2013).

Dentre as espécies, a maior densidade de diásporos foi de *Delilia biflora* (437,2 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup>), *Urochloa maxima* (184,8 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup>) e *Pappophorum pappiferum* (95,6 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup>). Estas três espécies reuniram aproximadamente 73% (717,7 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup>) da densidade total, o que aponta forte contribuição dessas na chuva de sementes de assembleias herbáceas. Além do mais, a maior parte da contribuição de *D. biflora* para a densidade da chuva de sementes ocorreu na estação seca (80% ou 352 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ 6 meses<sup>-1</sup>), enquanto para *U. maxima* ocorreu na estação chuvosa (64,3% ou 118,9 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ 6 meses<sup>-1</sup>).

Estes resultados podem estar relacionados com a alta produção de diásporos que espécies de áreas antropogênicas apresentam (Zimmerman et al. 2000; Cubiña e Aide, 2001), uma vez que esses ambientes são geralmente colonizados por espécies com estratégias de ocupação rápida (Dungan et al. 2001).

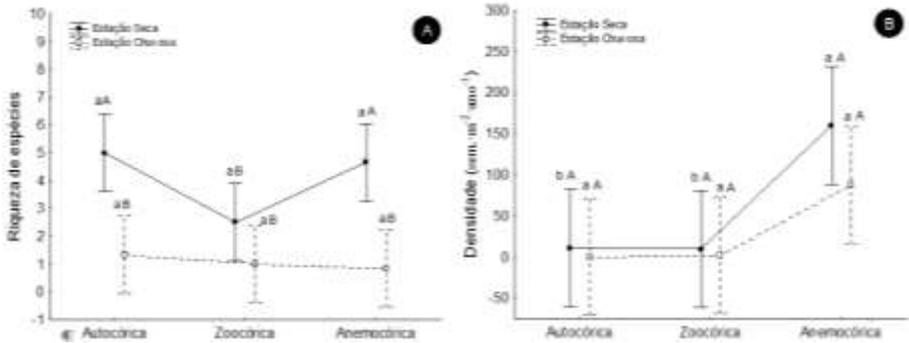
### ***Modos de dispersão***

Foram registrados um total de 11 espécies e 831,3 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup> anemocóricas, nove espécies e 67,2 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup> autocóricas e três espécies e 72,2 sem. $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ ano<sup>-1</sup> zoocóricas. Sendo estas últimas

epizoocóricas, ou seja, dispersas por adesão no exterior do corpo de animais.

Entre as estações climáticas, foi observada uma riqueza para a estação seca de 10 espécies anemocóricas, nove espécies autocóricas e três espécies zoocóricas, enquanto para a estação chuvosa foram registradas sete espécies anemocóricas, uma autocórica e três zoocóricas. Não houve diferenças significativas na riqueza de espécies entre os modos de dispersão ( $Fr = 5,54; p = 0,06$ ) isoladamente (Figura 1A). Contudo, ao verificar a riqueza de espécies entre modos de dispersão e estações climáticas, observa-se influência sazonal em espécies autocóricas ( $Tukey = 11,3; p < 0,01$ ) e anemocóricas ( $Tukey = 10,4; p < 0,01$ ), com maior número de espécies na estação seca (9 e 10 espécies) do que na estação chuvosa, respectivamente (1 e 7 espécies) (Figura 1A).

Ao contrário da riqueza, a densidade de diásporos por modos de dispersão e estações climáticas não apresentaram diferenças significativas. Contudo, a densidade entre os modos de dispersão isoladamente se mostrou significativa ( $Fr = 10,2; p < 0,01$ ), com maior densidade de diásporos anemocóricos diferindo dos autocóricos ( $Tukey = 14,5; p < 0,01$ ) e zoocóricos ( $Tukey = 12,5; p < 0,01$ ) (Figura 1B).



**Figura 1.** Variação na riqueza de espécies (A) e na densidade de diásporos (B) da chuva de sementes de plantas herbáceas por modos de dispersão (autocoria, zoocoria e anemocoria) e por estações climáticas (seca e chuvosa) em uma floresta jovem semiárida, Pernambuco, Brasil. Letras iguais denotam ausência de diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os modos de dispersão (minúsculas) e entre as estações climáticas (maiúsculas).

Os resultados do presente estudo corroboram com a literatura, que aponta que os modos de dispersão em ambientes semiáridos variam com o hábito das espécies (ZIMMERMAN et al. 2000; MARTÍNEZ-GARZA et al. 2011). De maneira que a anemocoria predomina na chuva de sementes de assembleias herbáceas em ambientes semiáridos (Lima et al. 2008; Souza, 2010), uma vez que este modo de dispersão é favorecido pela baixa precipitação, altas velocidades dos ventos e perda do dossel registrado para regiões mais secas (MARTÍNEZ-GARZA et al. 2011).

## CONCLUSÃO

A riqueza de espécies na chuva de sementes de assembleias de plantas herbáceas não é influenciada pela sazonalidade climática.

Por outro lado, a densidade de diásporos sofre efeito sazonal, com maior densidade na estação seca do que na estação chuvosa.

Por fim, os modos de dispersão apresentam efeito sazonal na riqueza de espécies, sendo esta maior para diásporos anemocóricos na estação seca. Porém, não há efeito sazonal na densidade de diásporos por modos de dispersão, apenas diferenças na densidade entre os modos de dispersão, com predominância de anemocoria.

## REFERÊNCIAS

Araújo E. L.; Silva, K. A.; Ferraz, E. M. N.; Sampaio, E. V. S. B.; Silva, S. I. Diversidade de herbáceas em micro habitats rochoso, plano e ciliar em uma área de Caatinga, Caruaru-PE. **Acta Botanica Brasilica**, 19, 285-294, 2005.

Cubiña, A.; Aide, T. M. The effect of distance from forest edge on seed rain and soil seed bank in a tropical pasture. **Biotropica**, 33(2), 260–267, 2001.

Dungan, R.; Norton, D.; Duncan, R. Seed rain in successional vegetation, Port Hills Ecological District, New Zealand. **New Zealand Journal of Botany**, 39, 115–124, 2001.

Kissman, K. G.; Groth, D. **Plantas infestantes e nocivas** – Tomo III. 2º Ed. BAST, São Paulo, Brazil. 978 p, 2000.

Lima, A. B.; Rodal, M. J. N.; Silva, A. C. B. L. **Chuva de sementes em uma área de vegetação de caatinga no estado de Pernambuco**. *Rodriguésia*, 59(4), 649-658, 2008.

Martínez-Garza C.; Osorio-Beristain, M.; Valenzuela-Galván, D.; Nicolás-Medina, A. Intra and inter-annual variation in seed rain in a secondary dry tropical forest excluded from chronic disturbance. **Forest Ecology and Management**, 262, 2207–2218, 2011.

Reis, A. M.; Araújo, E. L.; Ferraz, E. M. N.; Moura, A. N. Inter-annual variations in the floristic and population structure of an herbaceous community of “Caatinga”

vegetation in Pernambuco, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, 29, 497-508, 2006.

Santos, J. M. F. F.; Santos, D. M.; Lopes, C. G. R.; Silva, K. A.; Sampaio, E. V. S. B.; Araújo, E. L. Natural regeneration of the herbaceous community in a semiarid region in Northeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, 185, 1-16, 2013.

Souza, J. T. **Chuva de sementes em área abandonada após cultivo próxima a um fragmento preservado de caatinga em Pernambuco, Brasil**. 2010. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Pernambuco, Recife, Brasil.

Statsoft, Inc. (2004) Statistica: data analysis software system, version 7.

Zimmerman, J. K.; Pascarella, J. B.; Aide, T. M. Barriers to forest regeneration in an abandoned pasture in Puerto Rico. **Restoration Ecology**, 8:4, 350–360, 2000.

---

## **CICLAGEM DE NUTRIENTES EM SERAPILHEIRA DE CAATINGA EM ESTÁDIOS SUCESSIONAIS**

**Costa-Santos, M.B.<sup>(1)</sup>; Sampaio, E.V.S.B.<sup>(1)</sup>; Santos, R.L.<sup>(2)</sup>; Santos, N.L.<sup>(2)</sup>; Silva, J.N.<sup>(2)</sup>, Silva, E.L.<sup>(2)</sup> monalisacosta@outlook.com**

<sup>(1)</sup> Programa de Pós-graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Pernambuco - IFPE, Vitória de Santo Antão - PE, Brasil, Projeto Sisbiota.

## **RESUMO**

A serapilheira compreende a camada mais superficial do solo, sendo formada por folhas, ramos, órgãos reprodutivos e detritos, exerce inúmeras funções para o equilíbrio e dinâmica do solo. Como na Caatinga estudos na área de ciclagem de nutrientes são escassos, neste trabalho objetivou-se avaliar os seus teores em diferentes frações de serapilheira, em três estádios sucessionais. O experimento foi realizado na Fazenda Tamanduá, município de Santa Terezinha, Paraíba, seguindo o delineamento inteiramente casualizado, sendo avaliado os estádios inicial, intermediário e final, com cinco repetições. Em cada parcela foram dispostos aleatoriamente oito coletores de 0,5 m<sup>2</sup>, distantes 15 m uns dos outros. As coletas foram realizadas mensalmente por um período de 12 meses. O material foi separado manualmente em folhas, ramos e miscelânea, depois seco em estufa a 65°C para obtenção da matéria seca. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias onde se observou efeitos significativos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os teores de N, P e K foram maiores na fração miscelânea, seguida da fração folhas. A fração folhas é a que mais contribui para deposição de N, P e K.

**Palavras-chave:** Biomassa Seca, Semiárido,

## INTRODUÇÃO

O bioma Caatinga cobre uma porção significativa do território brasileiro, cerca de 73.683.649 ha (MENDES, 2005). Localizado em zona semiárida, apresenta períodos sazonais de seca e chuva (CASTELETI et al., 2003). A vegetação da Caatinga, de maneira geral, é fortemente influenciada pelas condições climáticas, especialmente a distribuição da precipitação pluviométrica, muito irregular (SANTANA; SOUTO, 2011).

Vitousek & Sanford Júnior (1986) afirmaram que, em condições naturais, os principais fatores que interferem na ciclagem de nutrientes são o clima, a composição das espécies vegetais, o estágio sucessional da floresta e a fertilidade do solo. A serapilheira é um componente do ecossistema florestal e compreende o material adicionado ao solo pelos organismos. Esses materiais incluem folhas, caules, frutos, flores, sementes e resíduos de animais (SOUZA; DAVIDE, 2001). Sua acumulação depende da quantidade e da qualidade de biomassa produzida e aportada, assim como da taxa de decomposição desse material (GOLLEY et al., 1978; ALVES et al., 2006). Os solos das regiões áridas e semiáridas apresentam geralmente baixos teores de matéria orgânica, sendo a produtividade dependente dos níveis de fertilidade natural e da possibilidade de mantê-los por meio da ciclagem de nutrientes (SAMPAIO et al., 1995). Visto isto, no presente estudo objetivou-se foi avaliar a deposição de nutrientes no ecossistema Caatinga em três estádios sucessionais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado na Fazenda Tamanduá (07°01'31''S e 37° 23' 31,8'' W), no município de Santa Terezinha, Paraíba, localizada no sertão das Espinharas, há 240 m de altitude, com solos predominantemente Neossolos Litólicos (Embrapa, 1997). O clima da região é do tipo Bsh (semi-árido) de acordo com a classificação de

Koppen (1948), com temperatura média anual de 32,8°C e chuvas anuais médias de 800 mm concentradas num curto período de 2 a 4 meses.

### ***Tratamentos e amostragens***

Foram avaliados três estádios de sucessão ecológica, inicial - com vegetação deixada em regeneração natural 10 a 15 anos antes do início do experimento; intermediário - vegetação em regeneração de 20 a 25 anos antes do início do experimento; e final - ou regeneração madura, com mais de 50 anos sem cortes rasos ou perturbações antrópicas de maior porte, com cinco repetições, totalizando 15 parcelas. Cada parcela apresentava dimensões de 30 x 60 m, com 5 m de bordadura de cada lado para evitar a entrada de bovinos.

Foram distribuídos oito coletores de serapilheira por parcela, espaçados ao menos 15 m. Cada coletor consistiu de uma armação de 1 x 0,5 m, confeccionada com tubos de PVC de ½ polegada, conectada a pés feitos do mesmo tubo, com altura de 0,40 m, e de uma tela de nylon de 1,0 mm, com a área ligeiramente maior de forma a ficar pendido no centro da armação para acomodar melhor o material depositado. A serapilheira foi coletada mensalmente de março de 2012 a fevereiro de 2013. O material foi separado manualmente em folhas (folhas inteiras, folíolos e raques), ramos, e miscelânea (flores, frutos, sementes, remanescentes de insetos e outros materiais de origem animal ou vegetal não identificados). O material foi seco em estufa a 65°C, para obtenção da

matéria seca, triturado em moinho de facas e analisado quanto as concentrações de N, P, K e S.

Para a extração de K, P e S, foram utilizados 0,5 g de matéria seca, sendo esta massa composta por duas partes iguais de dois meses consecutivos, realizando-se a digestão nitro-perclórica. O K foi dosado por fotometria de chama, enquanto o P e o S por espectrométrica (EMBRAPA, 1999). Para o N foi realizada a digestão sulfúrica (EMBRAPA, 1999), utilizando-se 0,1 g de matéria seca, sendo esta massa composta por duas partes iguais de dois meses consecutivos, e a determinação pelo método de Kjeldahl por destilação com arraste de vapor para determinação de N (Bremner & Mulvaney, 1982). Para a obtenção do conteúdo de nutrientes foi multiplicada a biomassa depositada nos dois meses pela concentração de cada nutriente.

Os dados das variáveis foram submetidos à análise da variância pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ). Nas variáveis cujos efeitos principais e, ou, interação foram significativos, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A fração miscelânea apresentou a maior concentração de N e P, seguida da fração folhas e da fração ramos em todos os estádios sucessionais (Tabela 1), semelhante ao que foi encontrado em outros estudos (Moura 2010; Santana, 2005; Souto, 2009; Barbosa, 2012). Já para o teor de K

não foi observada diferença significativa entre a fração folhas e miscelânea, que foram significativamente maiores que a da fração ramos. Este fato pode ser explicado pela grande necessidade de K para que as folhas realizem os processos metabólicos (Barbosa, 1989). Não houve diferença significativa entre os estádios, para o teor de N, P e K em nenhuma fração.

A fração miscelânea sempre apresentou maior teor de nutrientes, possivelmente devido a presença de fezes de animais, tegumentos de artrópodes e o material reprodutivo que estava incluso nesta fração.

A concentração de N encontrada neste trabalho foi semelhante a observada por Moura (2010), trabalho realizado na mesma área, e um pouco abaixo do encontrado por Santana (2005) e Barbosa (2012).

O teor de K foi menor na fração ramos, e não houve diferença entre as frações miscelânea e folhas. De maneira geral, os valores dos teores dos nutrientes apresentaram-se  $N > K > P$  (Tabela 1), seguindo os mesmos padrões de vários trabalhos realizados em diferentes ecossistemas, como mostra um levantamento feito por Santana (2009), onde todos os trabalhos indicaram que o P é encontrado em baixos níveis independente de clima e vegetação.

A deposição anual de N nos estádios não apresentou diferença significativa (Tabela 2). No entanto,, que a fração que mais contribuiu para a deposição de N foi folhas, diferenciando-se das demais frações. A fração miscelânea tendeu a ser maior que a fração ramos, explicado

pela presença de materiais ricos em produtos nitrogenados como fezes de animais e carapaças (Barbosa, 2012), mas não houve diferença significativa entre essas frações.

A deposição de P só apresentou diferença significativa entre os estádios na fração folhas, apresentando menor quantidade depositada no estádio inicial (Tabela 2). No entanto, no estádio intermediário e final a menor contribuição de P foi observada na fração ramos.

A fração folhas foi a que mais contribuiu na deposição de K, não observando-se diferença significativa entre as frações ramos e miscelânea (Tabela 2). Entre os estádios, a única fração que apresentou diferença na deposição de K foi a de folhas no estádio Intermediário, que foi maior, possivelmente, devido a maior quantidade de biomassa seca aportada.

**Tabela 1.** Teor anual de nutrientes em serapilheira em áreas sucessionais de caatinga

Estádio	Fração			Total
	Folhas	Ramos	Miscelânea	
	Nitrogênio			
	----- g kg <sup>-1</sup> -----			
Inicial	19,38 Aa	9,79 Ab	24,96 Aa	54,13
Intermediário	16,48 Aa	9,91 Ab	20,45 ABa	46,84
Final	16,21 Aa	9,41 Ab	16,27 Ba	41,89
Média	17,36	9,70	20,56	47,67
CV (%)		8,49		
	Fósforo			
	----- g kg <sup>-1</sup> -----			
Inicial	2,24 Ab	1,20 Ab	4,38 Aa	7,82
Intermediário	2,01 Ab	1,09 Ab	3,91 Aa	6,2
Final	2,40 Ab	0,97 Ac	4,49 Aa	7,86
Média	2,21	1,08	4,26	7,55
CV (%)		13,54		
	Potássio			
	----- g kg <sup>-1</sup> -----			
Inicial	7,10 Aa	2,47 Ab	7,43 Aa	17
Intermediário	7,07 Aa	2,47 Ab	7,37 Aa	16,91
Final	6,77 Aa	2,93 Ab	7,21 Aa	16,91
Média	6,98	2,62	7,34	16,94
CV (%)		7,19		

Letras minúsculas idênticas na linha e maiúsculas idênticas na coluna não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

**Tabela 2.** Deposição anual de nutrientes em serapilheira em áreas sucessionais de caatinga.

Estádio	Fração			Total
	Folhas	Ramos	Miscelânea	
	Nitrogênio kg ha <sup>-1</sup>			
Inicial	0,828 Aa	0,129 Ab	0,254 Ab	1,211
Intermediário	1,369 Aa	0,109 Ab	0,229 Ab	1,707
Final	1,122 Aa	0,110 Ab	0,240 Ab	1,472
Média	0,822	0,031	0,086	0,939
CV (%)		21,45		
	Fósforo kg ha <sup>-1</sup>			
Inicial	0,002 Bb	0,006 Aab	0,022 Aa	0,03
Intermediário	0,021 Aa	0,007 Ab	0,079 Aa	0,107
Final	0,023 Aa	0,005 Ab	0,033 Aa	0,061
Média	0,015	0,006	0,045	0,066
CV (%)		17,32		
	Potássio kg ha <sup>-1</sup>			
Inicial	0,574 Ba	0,032 Ab	0,057 Ab	0,663
Intermediário	1,121 Aa	0,024 Ab	0,096 Ab	1,241
Final	0,772 Ba	0,037 Ab	0,107 Ab	0,916
Média	0,822	0,031	0,086	0,939
CV (%)		18,26		

Letras minúsculas idênticas na linha e maiúsculas idênticas na coluna não diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

## CONCLUSÃO

Os teores de N, P e K foram maiores na fração miscelânea, sendo seguida da fração folhas.

A fração folhas é a que mais contribui para deposição de N, P e K.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, D.C.A.; ALVES, J.L.H; PRAZERES, S.M. et al. Dados fenológicos de 10 espécies arbóreas de uma área de Caatinga (Alagoinha-PE). **Acta Botanica Brasilica**, v.3, n.2, p.109-117, 1989.

BARBOSA, M.D. **Composição florística, regeneração natural, decomposição e ciclagem de nutrientes, em área de caatinga hipoxerófila em Arcoverde, Pernambuco**. 2012. 204f. Tese (doutorado em ciências florestais) Universidade Federal Rural de Pernambuco – Recife.

CASTELETI, C. H. M.; SANTOS, A. M. M.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Quanto ainda resta da Caatinga? Uma estimativa preliminar. **In:** LEAL, L.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C.. Ecologia e conservação da Caatinga. Recife: Editora da UFPE, 2003, p. 719-734.

CORREIA, M.E.F.; ANDRADE, A.G. Formação da serapilheira e ciclagem de nutrientes. **In:** SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. (Eds.). Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Porto alegre: Gênese, 1999, p. 197-225.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA – EMBRAPA **Manual de Análises química de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa solos/Embrapa Informática Agropecuária/ Embrapa Comunicação para Ciência e Tecnologia, 1999. 379p.

FERREIRA, R.L.C. et al. Deposição e Acumulo de matéria seca e nutrientes em serapilheira em um bosque de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.). **Revista Arvore**, v.31(10)p 7-12, 2007.

MOURA, P.M. **Ciclagem de Biomassa e Nutrientes em estádios sucessionais de caatinga**. 2010.100f. Tese (doutorado em Tecnologias Energéticas e Nucleares). Universidade Federal de Pernambuco – Recife.

POGGIANI, F.; SCHUMACHER, M. V. Ciclagem de nutrientes em Florestas Nativas. **In:** GONÇALVES, J.L. M.; BENEDETTI, Nutrição e fertilização florestal. Piracicaba: IPEF.v. (Eds.). 2000, p. 287-308.

SANTANA J. A. S. & SOUTO J. S. Litterfall in the caatinga of the semi-arid region of Rio Grande do Norte, Brazil. **IDESIA** (Chile)v.29, n. p. 87-94, 2011.

SANTANA, J.A **Estrutura fitossociologia, produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes em uma área de caatinga no Seridó do Rio Grande do Norte**. 2005. 184f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba – Areia.

SOUTO, P.C. **Acumulação e decomposição da serapilheira e distribuição de organismos edáficos em área de caatinga na Paraíba, Brasil.** 2006. 161f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba – Areia.

---

## **COLEOPTEROFAUNA DE INTERESSE FORENSE EM ÁREA RESIDENCIAL DE MACAPÁ-AP**

**Sidônio, I.A.P.<sup>(1)</sup>; Peniche, T.S.<sup>(2)</sup>; Cavalcante, K.S.<sup>(3)</sup>; Moutinho, C.S.<sup>(4)</sup>; Nascimento, F.A.<sup>(4)</sup>; Barros, I.F.A.<sup>(4)</sup>; Souto, R.P.<sup>(5)</sup>igor.sidonio@hotmail.com**

<sup>(1)</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amapá - PROVIC/UNIFAP, Macapá - AP, Brasil;

<sup>(2)</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Macapá - AP, Brasil, PIBIC/CNPq;

<sup>(3)</sup>Bolsista de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil, PIBIC/CNPq;

<sup>(4)</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá-AP, Brasil; <sup>(5)</sup>Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá, Macapá-AP, Brasil.

### **RESUMO**

Coleópteros representam a segunda ordem, em frequência e abundância, que coloniza carcaças em decomposição, sendo fundamentalmente importante para determinar o intervalo pós-morte (IPM). O presente experimento teve como objetivo estudar a sucessão da coleopterofauna em área residencial de Macapá-AP. O estudo ocorreu em dois períodos distintos no quintal de uma residência. Utilizou-se pinças para a coleta de adultos e imaturos na carcaça. Foram coletados 652 coleópteros separados em 7 famílias distintas. No período seco foram coletados 600 indivíduos distribuídos em 6 famílias diferentes: Cleridae, Histeridae, Staphylinidae, Dermestidae, Nitidulidae e Trogidae. Onde as três famílias com maior abundância, contando adultos e imaturos, foram Cleridae (92,67%) seguida respectivamente por Histeridae (4%) e Staphylinidae (2,17%). Durante o período de maior precipitação pluviométrica coletou-se: Cleridae, Histeridae, Dermestidae, Staphylinidae, Nitidulidae e Scarabaeidae. Totalizando 52 coleópteros. Sendo

respectivamente as três famílias de maior abundância: Histeridae (42,31%), Staphilynidae (23,08%) e Cleridae (19,23%). Verificou-se que no estudo realizado a família Trogidae foi exclusiva do período menos chuvoso e os Scarabaeidae estiveram presentes somente no período com maior precipitação. A presença de Staphylinidae é mais perceptiva durante o período com maior pluviosidade. Percebeu-se que durante os dois períodos as Famílias coletadas eram mais comuns nas fases finais de decomposição.

**Palavras-chave:** Coleópteros, Urbano, Decomposição.

## INTRODUÇÃO

A entomologia forense médico-legal é o ramo da entomologia que estuda os insetos relacionados a cadáver em decomposição, tornando-se uma ferramenta auxiliar nas investigações de crimes com morte violenta (PUJOL- LUZ et al., 2008).

Segundo Oliveira-Costa (2011) os Coleópteros representam a segunda ordem, em frequência e abundância, que coloniza carcaças em decomposição, sendo de fundamental importância para determinar o intervalo pós-morte (IPM), principalmente, nos estágios mais avançados do processo de decomposição, quando os dípteros abandonam os cadáveres.

Trabalhos relacionados a coleopterofauna são poucos quando comparados a dípteros muscoides. Por isso, o presente estudo teve como objetivo estudar a sucessão da coleopterofauna associada à carcaça de porco doméstico *S. scrofa* em área residencial no município de Macapá.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no quintal de uma residência no ambiente urbano de Macapá, localizada no bairro universidade com as coordenadas de  $0^{\circ}00'01.62''\text{N}$  e  $51^{\circ}05'25.38''\text{O}$ .

Os experimentos foram realizados de outubro a dezembro de 2012 durante o período de menor pluviosidade e posteriormente de março a abril de 2013 no período com índices maiores de precipitação pluviométrica. Utilizou-se dois porcos domésticos, um para cada período, de aproximadamente 12 kg que foram abatidos no local da compra sem lesões aparente. Estes foram colocados, como atrativo, em uma armadilha segundo Salviano (1996) a qual, consiste-se de uma pirâmide de base quadrada e sob esta coloca-se uma gaiola para proteger a carcaça de animais carniceros maiores. Os coleópteros foram capturados de forma ativa com o auxílio de pinças. Os adultos e imaturos coletados foram colocados em potes plásticos, separadamente, para os seu devido transporte. No laboratório de Artrópodes da Universidade Federal do Amapá os adultos foram triados e classificados até família e conservados em álcool 70%. Os imaturos foram transferidos para recipientes plásticos de 500 ml contendo o substrato do local mais carne bovina em avançado estado de putrefação ou pedaços de pele da carcaça. Os recipientes foram fechados com organza para permitir a circulação do ar. Os imaturos completaram seu

desenvolvimento à temperatura ambiente. Para a identificação dos adultos utilizou-se lupa esteriomicroscópica e chaves dicotômicas segundo Mise (2006).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foi coletado um total de 652 indivíduos classificados em sete famílias, sendo 600 no período menos chuvoso e 52 no período com maior pluviosidade.

No período menos chuvoso foi registrada uma riqueza de seis famílias: Cleridae, Dermestidae, Trogidae, Histeridae, Staphylinidae e Nitidulidae. A família Cleridae apresentou maior abundância (92,67%) seguida por Histeridae (4%), Staphylinidae (2,17%), Nitidulidae (0,5%) e Trogidae e Dermestidae ambos com 0,33%. Segundo Oliveira-Costa (2011) as seis famílias amostradas neste período são consideradas de interesse forense. Além disso, Mise (2006) em estudo realizado em ambiente silvestre também relatou Staphylinidae, Histeridae e Cleridae como a três famílias mais abundantes.

Do total de indivíduos de Cleridae, 430 emergiram no laboratório, os quais levaram 30 dias para completarem o seu desenvolvimento. Esta família foi a única que apresentou imaturos durante este período. Entretanto, Santos et al. (2011) em trabalho realizado utilizando carcaça de coelho em ambiente urbano no norte do Paraná não encontraram exemplares desta família. Provavelmente esta diferença apresentada

pode ter ocorrido por se tratar de regiões diferentes que apresentam climas completamente distintos, além disso, o tipo de carcaça utilizada como atrativo por eles foi diferente. Durante o presente estudo verificou-se que os Cleridae coletados alimentavam-se dos tecidos ressecados do suíno, durante a última fase de decomposição, a qual, prevaleceu a família Cleridae.

Oliveira-costa (2003) relatou que Cleridae alimentam-se de larvas e gordura presa aos ossos secos. Corroborando com o tipo de alimentação observada neste experimento.

Os Histeridae encontravam-se sobre o porco e foi a única Família presente durante a fase coliquativa, onde estavam predando larvas de dípteros. Entretanto, Basílio et al. (2009) coletaram Histeridae somente na última fase de decomposição na mesorregião do agreste pernambucano.

Os Staphylinidae só foram observados durante a fase de esqueletização quando o substrato do local estudado, foi levado para o laboratório e analisado no esteriomicroscópio. Isto ocorreu devido o tamanho reduzido da espécie presente. Entretanto, Santos et al. (2011) coletou está família durante todas as fases de decomposição.

Na mesorregião do agreste paraibano durante a estação seca Basílio et al. (2009) coletaram quatro famílias de interesse forense, dentre estas, duas estão presentes nos resultado aqui encontrados (Histeridae e Staphylinidae).

Durante o período com maior pluviosidade foram coletados 52 indivíduos de seis famílias diferentes: Cleridae, Dermestidae, Staphylinidae, Scarabaeidae, Nitidulidae e Histeridae. Silva (2010) também encontrou estas cinco famílias em dois ambientes distintos de Macapá utilizando carcaça de porco doméstico, entretanto Trogidae coletados por ela no período chuvoso só foi observado no ambiente urbano durante o período seco. Smith (1986) destacou algumas famílias aqui encontradas (Cleridae, Histeridae, Scarabaeidae e Staphylinidae) como os grupos maiores de interesse forense.

As três famílias mais abundantes respectivamente foram Histeridae (42,31%), Staphylinidae (23,08%), Cleridae (19,23%), Nitidulidae (9,62%), Dermestidae (3,85%) e Sacarabaeidae (1,92%). Monteiro (2011) em trabalho realizado na área de mata de Macapá também relatou Histeridae e Cleridae como as famílias mais abundantes.

Dos 22 Histeridae coletados um emergiu no laboratório. Além disso, coletou-se um imaturo da família Staphylinidae mas ele não completou seu desenvolvimento. Já os Cleridae cinco emergiram no laboratório e cinco foram coletados no estágio adulto.

Durante o período chuvoso apenas Staphylinidae e Scarabaeidae encontravam-se na carcaça durante a fase coliquativa. O primeiro provavelmente por ser predador de larvas de dípteros e o segundo é coleóptero necrófago, o qual, alimentava-se diretamente da carcaça.

Monteiro (2011) coletou essas duas famílias que também estavam associadas a fase coliquativa.

As outras famílias estavam presente somente na esqueletização. Dermestidae, Nitidulidae e alguns Histeridae encontravam-se sob a carcaça durante esta fase da decomposição.

Cleridae é onívoro, logo, usava a carcaça para alimentação e reprodução, alimentando-se de larvas ou pupas de díptera que estavam presentes durante as últimas fases do processo de decomposição. Alguns imaturos de Histeridae foram coletados no substrato sob o porco indicando que sua alimentação ocorria naquele local. Provavelmente alimentavam-se de ovos e larvas de díptera da família Phoridae presentes no experimento.

Cinco larvas de Histeridae foram coletadas, mas apenas uma conseguiu completar seu desenvolvimento levando um período de 30 dias de pupa à adulto. Os Nitidulidae presentes na esqueletização, onívoros, poderiam se alimentar tanto da carcaça quanto de fungos presentes no local. No processo final de esqueletização também ocorreu a presença de Dermestidae que são insetos considerados necrófagos.

Dos coleópteros coletados algumas famílias foram identificadas até espécie. A família Cleridae que esteve presente nos dois períodos foi a espécie mais abundante e todos da família eram pertencentes a espécie *Necrobia rufipes* (DeGeer, 1775). Segundo Mise (2006) *N. rufipes*

representa 90,9% dos exemplares que são coletados em experimentos forense.

Alguns Histeridae encontrados exclusivamente no período chuvoso incluindo os imaturos eram pertencentes ao gênero *Hololepta* sp. No ambiente de mata em Macapá Silva (2010) e Monteiro (2011) encontraram este gênero nos seus experimentos, entretanto Mise (2006) no Paraná não coletou este Táxon.

Os Dermestidae encontrados nos dois períodos todos eram *Dermestides masculatus* (De Geer, 1774).

## CONCLUSÃO

As Famílias Cleridae, Dermestidae, Histeridae, Nitidulidae e Staphylinidae foram comuns para os dois períodos (menor e maior pluviosidade). Entretanto Trogidae e Scarabaeidae foram exclusivos respectivamente do período menos e mais chuvoso. Além disso, a família Staphylinidae é mais representativa durante a época que chove mais e Cleridae (adultos e imaturos) são mais abundantes durante a época com menor precipitação pluviométrica.

Todas as famílias de Coleoptera, nos períodos mais e menos chuvosos foram mais frequentes nas fases finais de decomposição.

Verificou-se que os imaturos coletados e criados no laboratório pertenciam as espécies *Hololepta* sp (Histeridae) e *Necrobia rufipes*

(Cleridae). Os quais, possuem o mesmo tempo de desenvolvimento de pupa à adulto (30 dias). Estes imaturos alimentam-se de larvas e restos de tecidos da carcaça para completar seu ciclo de vida. Evidenciando a sua importância forense.

## REFERENCIAS

BASILIO, D. S.; ALVES, A. C. F.; SANTOS, W. E.; BICHO, C. L. **Sucessão da Fauna de Coleoptera (INSECTA) Em Carcaças de *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769), Em Mesorregião do Agreste Paraibano.** In: X Congresso de Ecologia do Brasil, 2009, São Lourenço – Minas Gerais. **Livro de Resumos.** São Lourenço – MG, 2009.

MISE, K. M. **Estudo da fauna de Coleoptera (Insecta) que habita a carcaça de *Sus scrofa* Linnaeus, 1758, em Curitiba, Paraná.** Curitiba – Paraná. Tese Apresentada ao Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná Para a Obtenção do Título de Mestre em Entomologia. 2006.

MONTEIRO, R. A. **Caracterização da Entomofauna Associada a Carcaças de Suínos (*Sus scrofa* L.) No Campus da Universidade Federal do Amapá.** Trabalho apresentado ao Curso de Ciências Biológicas para a Obtenção do Título de Biólogo pela Universidade Federal do Amapá. 2011.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios.** 3. Ed. Millenium, Campinas. 2011.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense: Quando os insetos são vestígios.** 1. ed. Millennium, Campinas. 2003.

PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTES, L. C.; CONSTANTINO, R. Cem anos da entomologia forense no Brasil (1908-2008). **Rev. Bras. Entomol.,** São Paulo, v.32, n.4, 2008.

SALVIANO, R. J. B.; MELLO, R. P.; BECK, L. C. N. H. & FERREIRA, A. Calliphoridae (Diptera) associated with human corpses in Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Entomologia y Vectores**, v.3, p. 145-146. 1996.

SANTOS, W. E.; SILVA, R. C.; VIEIRA, F. E. G. Sucessão da Coleopterofauna em Carcaça de Coelho, *Oryctolagus cuniculus* L., 1758, Em Área Urbana no Norte do Paraná. In: X Congresso de Ecologia do Brasil, 2011, São Lourenço – Minas Gerais. **Livro de Resumos**. São Lourenço – MG, 2011.

SILVA, V. D. **Estudo Comparativo da Coleopterofauna em Carcaças de Suíno (Sus Scrofa, Linnaeus, 1758) Em Dois Ambientes Distintos do Campus Marco Zero da Universidade Federal do Amapá, Macapá, Amapá**. Trabalho apresentado ao Curso de Ciências Biológicas para a Obtenção do Título de Biólogo pela Universidade Federal do Amapá. 2010.

SMITH, K.G.V. A. **Manual of Forensic Entomology**. Oxford: University Print House, 1986.

---

## COLIFORMES TOTAIS E *E. COLI*: ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO - PIAUÍ

Lima Neto, A.S<sup>(1)</sup>; Silva, S.Z. L<sup>(2)</sup>; Sousa, L.R.C<sup>(1)</sup>; Silva, S.R.C.N<sup>(1)</sup>; Faustino, S.K.M<sup>(1)</sup> adelinolima@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Laboratório Central de Saúde Pública “Dr. Costa Alvarenga”- Lacen, Teresina - PI, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina - PI, Brasil.

### RESUMO

A água é um elemento essencial à vida e nos últimos anos a sua qualidade e padrões de potabilidade tem sido alvo de intensas discussões, principalmente nos países em desenvolvimento, onde se observa correlação entre a qualidade da água e a ocorrência de doenças. Tendo em vista a questão da qualidade da água consumida e a ocorrência de inúmeras doenças e os baixos índices de controle de qualidade apresentados por municípios piauienses, este trabalho

teve como objetivo detectar e enumerar Coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água para consumo humano provenientes de municípios do Piauí através do uso de cartelas Quanti-tray/2000®(Iddex) para avaliar os níveis de contaminação por estes microrganismos. Foram detectados Coliformes totais e *E. coli* em 70% e 42% das amostras, respectivamente. A enumeração variou de 1 a >2.419 NMP/100 mL de amostra, sendo prevalentes entre 1 e 500 NMP/100 mL em ambos. É necessária uma ação urgente das vigilâncias sanitárias desses municípios para melhor controle da qualidade da água servida às suas populações.

**Palavras-chave:** Enumeração, Cartelas, Potabilidade.

## INTRODUÇÃO

A água doce, utilizada com maior facilidade para consumo humano, é um bem natural renovável que apresenta variações de volume com as mudanças climáticas, pois se encontra armazenada em reservatórios superficiais e subterrâneos e, nas áreas glaciais, acumulada em grandes geleiras. Existem variações sazonais que alteram a distribuição entre suas diversas formas ao longo do regime hídrico. Impactos ambientais como desmatamentos, têm alterado a disponibilidade de água, dificultando o uso para consumo humano. Atualmente, a água doce está distribuída de forma desigual no planeta. Apenas 0,3% da água doce estão em mananciais superficiais e cerca de 30% no subsolo, e a maior parte, cerca de 70%, está em geleiras (AUGUSTO *et al.* 2012).

Através dos séculos, a complexidade dos usos da água pelo homem multiplicou e produziu enorme conjunto de degradação e poluição. O desenvolvimento industrial, o crescimento demográfico e a ocupação do solo de forma intensa e acelerada vêm provocando o comprometimento

dos recursos hídricos disponíveis para consumo humano, recreação e outras atividades, aumentando consideravelmente o risco de doenças de transmissão hídrica. Além disso, os usos excessivos e as retiradas permanentes para diversas finalidades têm diminuído muito a disponibilidade de água e produzido inúmeros problemas de escassez em muitas regiões e países (VICTORINO, 2007).

A qualidade da água tornou-se uma questão de saúde pública no final do século 19 e início do século 20, devido à compreensão da relação entre água contaminada e doença. As doenças de veiculação hídrica são caracterizadas principalmente pela ingestão de água contaminada por microrganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral. Segundo dados da Organização mundial da Saúde (OMS), 80% das doenças que ocorrem em países em desenvolvimento são ocasionados pela contaminação da água (AMARAL et al, 2003; QUEIROZ et al, 2009).

No Brasil, o controle da qualidade da água para consumo humano tornou-se uma questão de saúde pública a partir da década de 70, com o decreto federal nº 79.367 de 09/03/1977, que estabelecia como competência do Ministério da Saúde (MS) a definição do padrão de potabilidade da água para consumo humano (FREITAS; FREITAS, 2005). Atualmente está em vigor a portaria nº 2.914/2011, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água

para consumo humano e seu padrão de potabilidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

O modo mais eficiente de determinar se uma água tem a qualidade pretendida é medir sistematicamente as concentrações dos seus principais constituintes. Para isso, tendo em vista o que especifica a portaria, deve-se proceder à realização de análises físicas, químicas e microbiológicas, com uma frequência adequada, em todo o sistema de abastecimento desde a origem até a distribuição, incluindo todas as etapas do tratamento. Em sistemas de distribuição de água para consumo humano podem detectar-se uma grande variedade de microrganismos como bactérias, fungos, algas, protozoários e macroinvertebrados que podem ser endógenos ou não (DIAS *et al.*, 2008). Microrganismos patogênicos presentes em água para consumo humano normalmente são encontrados em pequeno número. Além disso, dificuldades técnicas para detecção e isolamento tornam esta análise impraticável como método de rotina. Por isso, recorre-se a uma abordagem indireta, pesquisando-se grupos de microrganismos aceitos como indicadores de contaminação, nomeadamente fecal (Coliformes totais e *E. coli*) e que ocorrem em números mais elevadas facilitando assim a sua detecção e quantificação. Estes indicadores incluem grupos (não taxonômicos) de microrganismos que por si só não são geralmente perigosos, mas que informam acerca de possíveis contatos da água com matérias de origem fecal.

No Piauí, bem como em outros Estados, particularmente do Nordeste do Brasil, tanto a escassez quanto a qualidade da água são problemas reais e que demandam solução urgente. O Laboratório Central de Saúde Pública do Piauí – Lacen/PI, laboratório de referência estadual em saúde pública, realiza análises de forma contínua e sistemática em amostras de água para consumo humano provenientes de todos os municípios do Estado, de acordo com o especificado na portaria 2.914/11 no atendimento aos objetivos do programa VIGIÁGUA. As amostras piauienses são analisadas nos laboratórios de Teresina, Piripiri, Bom Jesus, Picos e Parnaíba.

Dados de ensaios microbiológicos realizados no ano 2012, no laboratório de Teresina, mostram que a quantidade de amostras realizadas no ano está muito abaixo do quantitativo mínimo estabelecido na portaria. Mais preocupante ainda é que das amostras realizadas (7.164) mais de 58% delas apresentaram contaminação com Coliformes totais e cerca de 40% destas estavam contaminadas também com *Escherichia coli*. Em 2013, de janeiro a junho foram analisadas 3.510 amostras e, de modo semelhante, em cerca de 60% delas foram detectados Coliformes totais e em 43% destas foram detectadas também *E. coli*.

Assim, observas-se que apesar dos esforços da vigilância ambiental estadual para que os municípios cumpram o que estabelece a portaria 2.914/2011 no que se refere às ações de controle de qualidade da água

para consumo humano, o grande percentual de amostras contaminadas, impróprias para consumo, repete-se ano após ano. Assim, como forma de dar um suporte a mais para a vigilância ambiental na conscientização dos gestores municipais para a importância de se fazer o controle eficiente da qualidade da água servida à população, o presente estudo apresentou como objetivo detectar e enumerar Coliformes totais e *E. coli* em amostras de água para consumo humano provenientes de municípios do Piauí através do uso de cartelas Quanti-tray/2000® (Iddex) para avaliar os níveis de contaminação por estes microrganismos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram analisadas amostras de água para consumo humano de fontes diversas encaminhadas por 20 municípios do Piauí ao Laboratório de análise de água do Lacen, nos meses de agosto e setembro de 2013. Todas as amostras foram coletadas pelos técnicos das vigilâncias sanitárias ou ambientais dos próprios municípios, seguindo a metodologia recomendada no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB, 2011). Para a detecção de Coliformes totais e *E. coli* foi usado o reagente Colilert® (Idexx) que emprega o substrato cromogênico ONPG (ortho-nitrophenyl- $\beta$ -galactoside) e o substrato fluorogênico MUG (methyl-umbelipheril-glucuronide). Para a enumeração de Coliformes totais e *E. coli* foram empregados os

mesmos substratos supracitados seguido de inoculação em cartelas Quanti-tray/2000<sup>®</sup> (Idexx). Para cada amostra foi retirada uma alíquota de 100 mL e homogeneizada com uma ampola do substrato Colilert em um frasco de vidro estéril. Após homogeneização transferiu-se todo o conteúdo para a cartela Quanti-Tray (WP2000) com 49 células grandes e 48 células pequenas. As cartelas foram seladas utilizando a seladora QuantiTray Sealer<sup>®</sup> (Idexx) e incubadas a 35° C por 24 horas. A leitura foi realizada sob lâmpada ultravioleta de 365nm. Os resultados de enumeração de Coliformes totais e *E. coli* foram expressos em número mais provável (NMP) por 100 mL da amostra, de acordo com a comparação às tabelas de Hoskins.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A enumeração de coliformes e *E. coli* em cartelas Quanti-Tray/2000<sup>®</sup> (Idexx) é um método fácil e rápido quando comparado às metodologias tradicionais, como a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos (TFTM) e de Filtração em Membrana e que apresenta resultados estatisticamente semelhantes (Kramer *et al.* 2002; Chao *et al.* 2003; Eccles *et al.* 2004).

Neste estudo foram analisadas 266 amostras de água para consumo humano, de fontes diversas, provenientes de 20 municípios do Piauí. O resultado mostrou que cada município estudado apresentou pelo menos uma amostra imprópria para o consumo. Em mais de 70% das amostras

analisadas (188) foram detectados Coliformes totais e em 42,5% delas (113) foram detectados também *E. coli* (Tabela 1). Apesar do pequeno número de amostras e do pequeno intervalo de tempo de análise pôde-se observar que os percentuais de amostras contaminadas com estes microrganismos foram semelhantes àqueles verificados em períodos anteriores, indicando que pode não haver diferença por conta de sazonalidade.

As amostras de que trata este estudo foram coletadas em diferentes tipos de fontes e sistemas de abastecimento e foram analisadas sem levar em conta qualquer tipo de tratamento que tenham sofrido ou não. Isto pode, ao menos em parte, justificar o grande percentual de amostras contaminadas. Entretanto, em comparação com resultados microbiológicos de amostras de água subterrânea utilizada para consumo humano em duas áreas urbanas do município de Feira de Santana - BA (120 amostras: coliformes totais em 90,8% e coliformes fecais em 65,8%), nossas amostras apresentaram menores índices de contaminação (SILVA; ARAUJO, 2003).

**Tabela 1.** Resultados de análise de água de consumo humano para detecção de Coliformes totais e *E. coli*.

	<b>Presença</b> n° (%)	<b>Ausência</b> n° (%)	<b>Total</b> n° (%)
Coliformes totais	188 (70,7)	78 (29,3)	266 (100,0)
<i>E. coli</i>	113(42,5)	153 (57,5)	266 (100,0)

NMP: Número Mais Provável

A análise dos resultados da enumeração de Coliformes e *E. coli* em cartelas mostrou que em 70% das amostras (188) foram detectados coliformes totais variando de 1 a >2.419 NMP/100 mL de amostra. Em mais de 45% delas (122) foram detectados coliformes variando de 1 a 500 NMP/100 mL (Tabela 2), embora tenha se observado também um grande número de amostras com contagens de coliformes superiores a 2.419 NMP/100 mL (Tabela 2).

De forma semelhante, foram detectados *E. coli* (variando de 1 a mais de 2.419 NMP/100 mL) em mais de 40% das amostras analisadas. Assim como para Coliformes totais, um alto percentual de amostras apresentou contagens de *E. coli* variando de 1 a 500 NMP/100 mL (Tabela 2).

**Tabela 2.** Resultados de quantificação de Coliformes totais em cartelas Quanti-tray/2000® (Idexx) (NMP/100 mL).

NMP/100 mL	Coliformes totais		<i>E. coli</i>	
	n° amostras	(%)	n° amostras	(%)
<1	78	(29,3)	153	(57,4)
1 a 500	122	(45,8)	102	(38,3)
501 a 1000	9	(3,4)	3	(1,1)
1001 a 2419	8	(3,1)	2	(1,0)
>2419	49	(18,4)	6	(2,2)
Total	266	(100,0)	266	(100,0)

NMP: Número Mais Provável

Pelo levantamento bibliográfico realizado, pôde-se observar que este estudo é pioneiro na quantificação de Coliformes totais e *E. coli* em amostras de água destinada ao consumo humano, visto que muitos trabalhos foram realizados usando a mesma metodologia mas em água mineral ou outros tipos de amostras (ALVES et al., 2002; KRAMER et al., 2002; CHAO et al., 2003; ECCLES et al., 2004). Uma comparação com os dados de Alves et al (2002) não é apropriada visto que este analisou apenas 18 amostras de água de consumo, tendo observado apenas uma amostra positiva para coliformes totais (1 UFC/100 mL).

## CONCLUSÃO

A metodologia de enumeração de coliformes e *E. coli* em cartelas Quanti-tray mostrou-se eficiente neste estudo.

Os percentuais de contaminação das amostras de água de consumo humano dos municípios estudados são preocupantes e demonstram ausência ou ineficiência de tratamento da água servida à população.

Os números absolutos dos resultados de enumeração de Coliformes totais e *E. coli* nestas amostras nos dá uma noção da falta de ações de controle e vigilância da qualidade da água. Além disso, indica que estas

populações estão expostas a um alto risco de doenças de veiculação hídrica.

É necessária uma ação urgente para conscientização dos gestores municipais para um melhor controle de vigilância e melhoria do tratamento da água disponibilizada para a população, minimizando assim a incidência de patologias relacionadas à água.

## REFERÊNCIAS

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

ALVES, N.C.; ODORIZZI, A.C.; GOULART, F.C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília. *Rev. Saúde Pública*, v.36, n.6, p.749-751, 2002.

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; FERREIRA, L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. *Rev. Saúde Pública*, 37(4): 510-514 2003.

DIAS, G.M.F.; BEVILACQUA, P.D.; BASTOS, R.K.X.; OLIVEIRA, A.A.; CAMPOS, G.M.M. *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em água de manancial superficial de abastecimento contaminada por dejetos humano e animal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.6, p.1291-1300, 2008.

CHAO, K.K.; CHAO, C.C.; CHAO, W. L. Suitability of the traditional microbial indicators and their enumerating methods in the assessment of fecal pollution of subtropical freshwater environments. *J. Microbiol Immunol Infect*, v.36, n.4, p.288-293, 2003.

ECCLES, J.P.; SEARLE, R.; HOLT, D.; DENNIS, P.J. A comparison of methods used to enumerate *Escherichia coli* in conventionally treated sewage sludge. *J. Appl. Microbiol.*, v.96, n.2, p. 375-383, 2004.

FREITAS, M.B.; FREITAS, C.M. A vigilância da qualidade da água para consumo humano – desafios e perspectivas para o Sistema Único de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, 10(4): 993-1004 2005.

CETESB. Guia nacional de coleta e preservação de amostras água, sedimento, comunidades aquáticas. Agência Nacional de Água. Ministérios do Meio Ambiente. Brasília – DF, 2011.

GUERRA, N.M.M.; OTENIO, M.H.; SILVA, M.E.Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C.V.; NAKAMURA, T.U.; DIAS FILHO, B.P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. *Acta Sci. Biol. Sci.*; 28(1): 13-18, 2006.

KRAMER, T.A.; LIU, J. Enumeration of coliform bacteria in wastewater solids using defined substrate technology. *Water Environ Res.*, v. 4, n. 6, p.526-530, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 2.914, de 12 de Dezembro de 2011. Normas e padrão da potabilidade da água destinada ao consumo humano. Brasília (DF); 2011;

QUEIROZ, J.T.M.; HELLER, L.; DA SILVA, S.R. Análise da Correlação de Ocorrência da Doença Diarreica Aguda com a Qualidade da Água para Consumo Humano no Município de Vitória-ES. *Saúde Soc. São Paulo*, v.18, n.3, p.479-489, 2009.

VICTORINO, C.J.A. Água: Planeta água morrendo de sede: uma visão analítica na metodologia do uso e abuso dos recursos hídricos. *EDIPUCRS*, 2007.

---

## **COLUMBELLIDAE (GASTROPODA) ASSOCIADOS À *Phragmatopoma* sp. (POLYCHAETA) EM BOA VIAGEM (PE)**

**Figueiroa, G.A.<sup>(1)</sup>; Luz, B.R.A.<sup>(1)</sup>; Silva, P.P.F.<sup>(1)</sup>; Chalegre-Sandes, K.Q.T.<sup>(1)</sup>  
gabi\_1407@hotmail.com**

<sup>(1)</sup> Laboratório de Biologia Marinha, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco - UPE, Recife - PE, Brasil.

## **RESUMO**

O presente estudo visa os moluscos encontrados associados com os tubos construídos pelo anelídeo *Phragmatopoma* sp. Os poliquetas de tal gênero vivem em colônias e formam agregados de vários tubos. Foram realizadas coletas nos meses de março, maio e julho/2013, no recife arenítico da praia de Boa Viagem, Recife (PE) (8°07'31" S e 34°53'48" O). Foram analisados parâmetros ambientais e a composição faunística. Identificaram-se seis espécies de gastrópodes. Constatou-se a relação entre o diâmetro dos tubos e a distribuição dos gastrópodes da família Columbellidae, verificando-se predominância de microformas nas espécies coletadas no interior dos tubos e de espécies de maior tamanho na superfície externa.

**Palavras-chave:** Mollusca, Recifes Costeiros, Sabellariidae.

## INTRODUÇÃO

Os organismos em rochas de praia constituem uma das mais singulares biotas do mundo. Este status especial deriva da sua ocorrência em um ambiente severo, que representa a interface entre as regiões marinha e terrestre. Há muitos problemas relacionados à conservação dos recifes de coral e dos recifes areníticos litorâneos (MC CLANAHAN, 2011).

Dentre estes organismos, o poliqueta está presente com uma grande importância. Esses invertebrados que apresentam um corpo segmentado e com muitas cerdas, possui a maior diversidade entre os anelídeos, com mais de 8.000 espécies (BUCHSBAUM, 1987). Um hábito muito comum entre os Polychaeta é a formação de tubos, sendo assim designados tubícolas. Esses tubos são construídos a partir do material presente no habitat do Annelida, que pode ser desde partículas inorgânicas (como areia, fragmentos de conchas) a outros animais, associados àquele ambiente (BOSA; MASUNARI, 2002).

Os organismos estudados pertencem à família Sabellariidae (SAVIGNY, 1818), cujas espécies são tubícolas coloniais e formadoras de recifes (PEREIRA; SOARES-GOMES, 2002), proporcionando abrigo e proteção para muitos organismos (SEPÚLVEDA; MORENO; CARRASCO, 2003).

Vários moluscos são encontrados associados nesses tubos, dentre esses a família Columbellidae (W.A. SWAINSON, 1840). Essa família é bastante diversa, apresentando cerca de 400 espécies marinhas de tamanho pequeno. Habitam a zona entre marés, em águas tropicais, se alimentando de algas e detritos animais.

Para o estudo da família Columbellidae pesquisou-se a fauna dos recifes costeiros, com ênfase nos moluscos associados aos tubos de *Phragmatopoma* sp.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi desenvolvido num *transect* demarcado no recife arenítico localizado na praia de Boa Viagem, Recife (PE) (8°07'31" S e 34°53'48" O). Esses recifes são constituídos por areia litificada com pequenos seixos e fragmentos de conchas e não foram construídos por corais (DARWIN, 1841). Nas regiões de Recife e Natal (RN), ocorrem como beach-rocks em cordões repetidos e paralelos à costa, se tratando de arenito de granulação variável, nas cores cinza escura a amarelada, com estratificação horizontal e em alguns lugares apresentando

laminação cruzada. No seu interior ocorrem conchas diversas e fragmentos de algas do tipo *Halimeda* (MORAIS, 1969).

O transect foi demarcado com 4 m de largura. Cada período de coleta foi considerado como unidade amostral. Foram realizadas coletas nos meses de março, maio e julho de 2013. As coletas foram realizadas durante o período de baixa-mar de sizígia e as datas foram determinadas pela Tábua das Marés disponibilizada pela Diretoria de Hidrografia e Navegação (DHN) da Marinha do Brasil.

Foi considerada como área de coleta a superfície lateral do recife. Foram retirados dois blocos de aglomerados de tubos, a cada período de coleta, que foram medidos pela metodologia do deslocamento em proveta graduada. Cada um dos blocos apresentava aproximadamente 714,25mm<sup>3</sup> de volume. O material coletado foi transportado para o Laboratório de Biologia Marinha (ICB/UPE), em recipiente com gelo, onde foram armazenados no freezer. Os tubos foram desagregados e foi retirada a fauna acompanhante, para identificação e classificação utilizando-se bibliografia especializada.

No momento das coletas foram mensurados os seguintes parâmetros ambientais: determinação do teor de salinidade da água pelo método do refratômetro e temperatura da água com termômetro digital. Os dados de umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica foram obtidos no site do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) com

informações da estação Curado (latitude: 8,05 ° S e longitude 34,95 ° O).

Para o estudo dos parâmetros ecológicos, foram utilizados os seguintes índices:

a) Índice de frequência por período de coleta, obtido segundo a fórmula:  $IF = (N \times 100) / nt$ , onde: IF = índice de frequência (%), N = número de exemplares coletados e nt = número total de exemplares de todas as espécies coletadas por período;

b) Frequência de ocorrência, onde foram utilizados os dados do número de amostras onde a espécie ocorreu, sendo usada a fórmula:  $F = pa / p \times 100$ , onde: F = frequência de ocorrência de uma espécie em um povoamento ou comunidade considerada, pa = número de amostras onde a espécie ocorreu e p = número total de amostras efetuadas. A partir desse cálculo as espécies foram classificadas em constantes ( $F \geq 50\%$ ), comuns ( $10\% \leq F < 50\%$ ) e raras ( $F < 10\%$ ).

c) Diversidade específica, que proporciona a noção da riqueza em espécies de uma biocenose, permitindo compará-las entre si. Para calcular a diversidade utilizou-se o índice de Shannon (1948), no qual todos os indivíduos são amostrados aleatoriamente de uma população infinita e que todas as espécies estão representadas na amostra, segundo a fórmula:  $H' = - \sum p_i \log_2 p_i$ , onde:  $p_i = n_i / N$  (densidade da espécie na amostra);  $n_i$  = número de indivíduos da espécie i e N = número total de indivíduos. O resultado é dado em bit/ind. Utilizou-se a seguinte

escala para expressar os valores de diversidade:  $H > 3,0$  (diversidade alta);  $3,0 \leq H' \leq 2,0$  (diversidade média),  $2,0 \leq H' \leq 1,0$  (diversidade baixa) e  $H' < 1,0$  (diversidade muito baixa).

d) Equitatividade, que indica o grau de homogeneidade na distribuição do número de indivíduos das espécies em uma dada biocenose. A equitatividade varia entre 0 e 1, sendo que um resultado  $> 0,5$  indica que os indivíduos estão bem distribuídos nas várias espécies. Para o cálculo dos índices de diversidade específica e equitatividade, utilizou-se o programa de computador ECOLOGIA (Ecological Measures, 1986).

Este trabalho se constitui em subprojeto (PIBIC/PFA/UPE) e está vinculado ao projeto "Caracterização e zonação da comunidade bêntica no recife arenítico da região entre marés, sob impacto antrópico, na praia de Boa Viagem (Recife, PE)", do Laboratório de Biologia Marinha, ICB/UPE, campus Santo Amaro, Recife.

Esta pesquisa objetiva coletar organismos Invertebrados, não se aplicando a legislação pertinente ao Uso de Animais em Pesquisa, a qual se refere aos experimentos com organismos Vertebrados (CEUA/UPE). A responsável pela pesquisa, Prof.a Dr.a Betty Rose de Araujo Luz, ICB/UPE, é portadora da Licença Permanente para Coleta de Material Biológico concedida pelo SISBIO, nº 14803-1.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

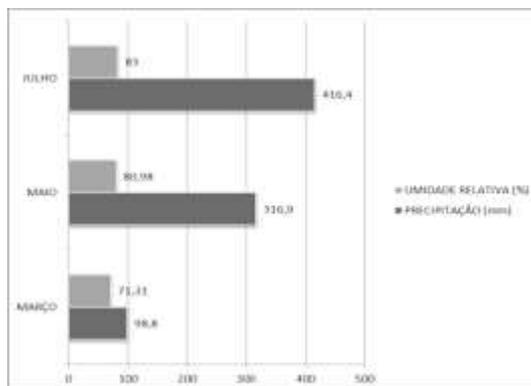
## *Parâmetros ambientais*

A maré em março, no dia 29/03, foi 0.1m às 11:11h, em maio, no dia 25/05, foi de 0.0m às 09:58h e a de julho foi de 0.0m às 11:11h no dia 24/07.

Os dados de parâmetros ambientais foram organizados e agrupados da seguinte forma: temperatura da água e salinidade (Tabela 1), e precipitação e umidade relativa do ar (Figura 1).

**Tabela 1.** Salinidade e temperatura da água nos meses de março, maio e julho/2013.

Parâmetro ambiental	MARÇO	MAIO	JULHO
Salinidade (psu)	38,5	32,0	28,5
Temperatura (°C)	32,4	31,8	28,2



**Figura 1.** Umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica no período de coleta.

## *Composição Faunística*

Foram encontradas duas espécies do gênero *Mitrella* (*M. ocellata* e *M. argus*), duas do gênero *Costoanachis* (*C. catenata* e *C. sertulariarum*) e as espécies *Astyris lunata* e *Columbella mercatoria*.

### ***Frequência de ocorrência, índice de frequência, diversidade e equitatividade das espécies***

A frequência de ocorrência (Figura 2) nos fornece uma noção relativa ao conjunto de uma comunidade (GUILLE, 1970). Das amostras consideradas, *Costoanachis catenata* foi encontrada nos meses de março, maio e julho, sendo assim considerada frequente. Frequentes também são as espécies *Astyris lunata*, *Columbella mercatoria* e *Costoanachis sertulariarum*, pois o valor se apresenta maior que 50%. Já as demais (*Mitrella ocellata* e *M. argus*) foram consideradas comuns.

Observa-se no índice de frequência (Figura 3) quantos exemplares de uma espécie foram obtidos dentro do total de exemplares de todas as espécies coletadas. Sendo assim, as mais abundantes foram as do gênero *Costoanachis*, sendo elas *Costoanachis catenata* e *Costoanachis sertulariarum*, com 46,1% e 23,07%, respectivamente. Em seguida *Astyris lunata* (12,82%), *Mitrella argus* e *Columbella mercatoria* (7,69%). A de menor índice é a *Mitrella ocellata*, com 2,56%, se apresentando como pouco comum.



**Figura 2.** Frequência de ocorrência das espécies.



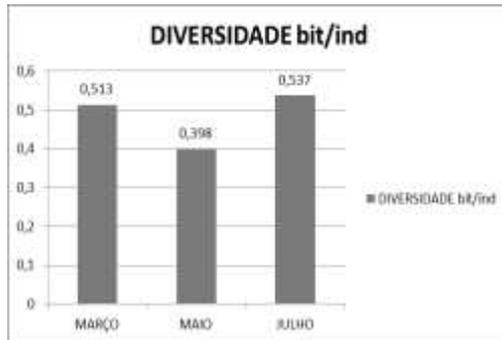
**Figura 3.** Índice de frequência das espécies.

Nos cálculos de diversidade (Figura 4) verificou-se que a diversidade de gastrópodes associados aos tubos de *Phragmatopoma sp* na área estudada é considerada muito baixa (menor que 1.0), apresentando menor índice em maio/2013.

No cálculo da equitatividade (Figura 5) verificou-se uma boa distribuição das espécies no grupo estudado, com os valores variando entre 0,8 e maiores que 0,9, ou seja, 0,5.



**Figura 4.** Índices de equitatividade nos períodos de coleta.



**Figura 5.** Índices de diversidade nos períodos de coleta.

Verificou-se que a distribuição espacial das espécies estudadas está relacionada com o diâmetro dos tubos, entre 1,0 e 4,0 mm. As espécies coletadas no interior dos tubos são consideradas microformas (*Mitrella ocellata*, *Astyris lunata* e *Mitrella argus*), por apresentarem tamanho diminuto mesmo quando adultos. As espécies de maior tamanho (*Costoanachis catenata*, *Columbella mercatoria* e *Costoanachis sertulariarum*) foram encontradas associadas à área superficial do agregado de tubos e não internamente.

## CONCLUSÃO

Nos recifes costeiros da praia de Boa Viagem (PE) foram identificadas seis espécies de gastrópodes pertencentes à família Columbellidae associadas a aglomerados de tubos de *Phragmatopoma sp.*

As espécies mais abundantes foram as do gênero *Costoanachis* (*Costoanachis catenata* e *Costoanachis sertulariarum*), seguida por *Astyris lunata*, *Mitrella argus* e *Columbella mercatoria*. Sendo que *Mitrella ocellata* foi considerada como comum.

Espécies consideradas frequentes e abundantes foram encontradas associadas à superfície externa do aglomerado de tubos (*C. catenata*, *C. mercatoria*, *C. sertulariarum*), enquanto espécies consideradas comuns (*M. ocellata*, *M. argus*) foram encontradas associadas ao interior dos tubos.

*Astyris lunata* foi considerada como frequente e abundante, ocorrendo somente no interior dos tubos.

Constatou-se a correlação entre o diâmetro dos tubos e a distribuição espacial dos gastrópodes da família Columbellidae, verificando-se predominância de microformas nas espécies coletadas no interior dos tubos e de espécies de maior tamanho na superfície externa.

A disponibilidade de microhabitats diversos se constitui no fator físico preponderante para a distribuição espacial das espécies estudadas, evidenciando a preferência por microhabitats específicos.

## REFERÊNCIAS

- BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6. Ed. São Paulo: Roca, 1996, 1025p.
- BOSA, C. R.; MASUNARI, S. **Crustáceos decápodos associados aos bancos de *Phragmatopoma caudata* (Kröyer) (Polychaeta, Sabellariidae) na Praia de Caiobá, Matinhos, Paraná**. Curitiba: UFPR. In: Revista brasileira de Zoologia v. 19, 2002, 117-133, 17p.
- BUCHSBAUM, R. Introdução ao Polychaeta. **Animais sem espinhas dorsais**. 1987: Universidade da imprensa de Chicago, Chicago. Disponível em: <http://www.ucmp.berkeley.edu/annelida/polyintro.html>. Acesso em: 27/09/2013.
- DIRETORIA DE HIDROGRAFIA E NAVEGAÇÃO, DHN. **Tábuas de marés para o porto do Recife**. 2013. Disponível em: <http://www.mar.mil.br/dhn/chm/tabuas/index.htm>. Acesso: 15/02/2013.
- INSTITUTO DE METEOROLOGIA – INMET. **Dados meteorológicos da estação Curado, PE. 2013**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>. Acesso: 20/09/2013.
- MC CLANAHAN, T. R. Human and coral reef use interactions: from impacts to solutions? **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**; Elsevier, v. 408, p. 3-10. 2011.
- NASCIMENTO, E.F. **Macroinvertebrados associados a agregados de tubos de Terebellidae Grube, 1850 (Polychaeta) na praia de Boa Viagem, Recife – PE**. Recife: FAFIRE, Monografia de Graduação, C. Biológicas. 2005, 34p.
- PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A. (org). **Biologia marinha**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002, 382p.
- RIOS, E. **Seashells of Brazil**. 2. Ed. Porto Alegre: Editora da FURG, 1994, 368p.

SEPÚLVEDA, R. D.; MORENO, R. A.; CARRASCO, F.D. **Diversidad de macroinvertebrados asociados a arrecifes de *Phragmatopoma moerchi* Kinberg, 1867 (Polychaeta: Sabellariidae) en el intermareal rocoso de Cocholgüe, Chile. Gayana**, vol. 67, n. 01, p. 45-54. In: Scielo Chile. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.cl/pdf/gayana/v67n1/art07.pdf> Acesso: 27/09/2013.

NEW YORK TIMES. Disponível em: [http://www.nytimes.com/2010/04/13/science/13adhesive.html?pagewanted=all&\\_r=0](http://www.nytimes.com/2010/04/13/science/13adhesive.html?pagewanted=all&_r=0) Acesso: 30/08/ 2013.

INMET. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/portal/>. Acesso: 19/09/2013.

ZIPCODEZOO. Disponível em: <http://zipcodezoo.com/>. Acesso: 20/08/2013.

SEASHELLS. Disponível em: [http://seashellsofsw.org.au/Columbellidae/Pages/Columbellidae\\_intro.htm](http://seashellsofsw.org.au/Columbellidae/Pages/Columbellidae_intro.htm). Acesso: 20/09/2013.

---

## COMPETÊNCIA DO *Allium cepa* COMO MODELO EM BIOENSAIOS DE FITOTOXICIDADE

**Barbosa, R. M.** <sup>(1)</sup>; **Galter, I. N.** <sup>(1)</sup>; **Pereira, C. L.** <sup>(1)</sup>; **Barreto, L. M.** <sup>(1)</sup>; **Martins, H. T.** <sup>(1)</sup>; **Andrade-Vieira, L. F.** <sup>(1)</sup> [Rodrigo\\_mb@yahoo.com.br](mailto:Rodrigo_mb@yahoo.com.br)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Vitória - ES, Brasil.

### RESUMO

A determinação de agentes tóxicos presentes no ambiente é muito importante, sendo a utilização de biotestes de fitotoxicidade uma ferramenta vantajosa. Neste trabalho foi testada a viabilidade da utilização da cebola (*Allium cepa*) como modelo em biotestes de fitotoxicidade, observando características macroscópicas como germinação e crescimento radicular. Para tanto, foram usados dois compostos tóxicos, Sulfato de Alumínio ( $Al_2SO_4$ ) e solução de Metil Metano Sulfonato (MMS) e como controle negativo foi utilizado água destilada. Foram usadas 15 placas de petri com 25 sementes cada para cada tratamento e testados 3 tempos de exposição, 72, 96 e 120 horas. Não houve diferença na taxa de germinação e o tempo de 120 horas foi o mais eficaz para caracterizar toxicidade.

**Palavras-chave:** Germinação, Crescimento Radicular.

## INTRODUÇÃO

Com o passar do tempo os diferentes tipos de poluição ambiental aumentaram consideravelmente sua gravidade e intensidade, tanto que seu impacto mutagênico ainda necessita ser estimado. O lançamento dos diferentes tipos de poluentes e o aumento dos níveis de radiação têm afetado o ecossistema e a saúde dos seres vivos, incluindo os humanos (MALUSZYNSKA; JUCHIMIUK, 2005).

Os agentes mutagênicos liberados no ambiente podem trazer problemas de grande preocupação, pois estes possuem uma alta variedade de efeitos tóxicos. Esses efeitos muitas vezes causam danos no DNA que podem desencadear em morte celular (KULTZ, 2005; FRANCO et al, 2009).

Portanto, determinar os agentes mutagênicos presentes no ambiente é muito importante. Alguns testes utilizando biomonitores já são usados

para identificar os níveis de efeito tóxico causado pelos contaminantes. Esses biomonitores precisam ser eficientes e principalmente confiáveis (GRANT 1994).

As plantas são ótimo bioindicador ambiental, pois em muitas situações quando ocorre a contaminação do ambiente o primeiro contido com os tóxicos ocorre nas raízes, que estão dispersas tanto na água como no solo, sendo a análise deste processo rápido e simples (FISKESJÖ, 1988). Além disso, os bioensaios vegetais detectam danos genéticos, que respondem em nível de DNA, cromossômico e genômico (MALUSZYNSKA; JUCHIMIUK, 2005).

A análise de germinação e crescimento radicular em testes em vegetais podem ser utilizadas na avaliação de toxicidade, tanto como testes preliminares para obtenção de dados iniciais para desdobramento em pesquisas mais profundas (LOPEZ et al., 2008) ou ser usado como teste base da pesquisa de impacto ambiental (CHARLES et al., 2011). Existe, entretanto, uma variedade alta de adaptações nas características metodológicas dos protocolos existentes. Seja relacionada ao período de tempo de exposição aos agentes, a utilização de meios sólidos ou líquidos, temperatura, tamanho do experimento e mesmo a espécie vegetal modelo adotada.

Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade da utilização da cebola (*Allium cepa*) como modelo em biotestes de fitotoxicidade e

comparar o período de exposição aos agentes tóxicos, observando características macroscópicas do crescimento radicular.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a elaboração deste experimento foi utilizado a espécie vegetal *Allium cepa*, popularmente conhecida como cebola, pertencente a família das *Alliaceae*. Para testar se a cebola é uma espécie apropriada para ser utilizada como modelo em biotestes de fitotoxicidade foi realizado o teste de crescimento radicular. O experimento foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Foram utilizado como tratamento duas soluções químicas que possuem ação citotóxica e mutagênica comprovada, sendo estas a solução de Sulfato de Alumínio  $\text{Al}_2\text{SO}_4$  ( $10^{-3}$  mol/L, pH 4:0) e a solução de Metil Metano Sulfonato (MMS) ( $4 \times 10^{-4}$  mol/L), respectivamente. A água destilada foi empregada como controle negativo.

Para o teste de crescimento radicular foi utilizado três unidades de repetição, onde cada repetição era composta de cinco placas de petri com vinte e cinco sementes cada, disposta sobre papel filtro, para cada tratamento e controle, totalizando em quarenta e cinco placas de petri. As sementes disposta nas placas de petri foram tratadas com 6mL de suas respectivas soluções e em seguida lacradas com filme plástico. As placas foram armazenadas à temperatura constante de 24°C em uma

Estufa Incubadora B.O.D. (demanda bioquímica de Oxigênio), sem fotoperíodo.

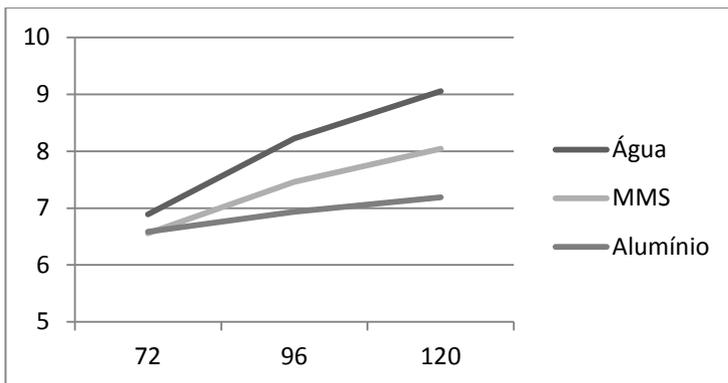
O crescimento radicular foi avaliado após 72, 96 e 120 horas de exposição aos tratamentos de Sulfato de Alumínio  $Al_2SO_4$  e de Metil Metano Sulfonato (MMS) e ao controle com o auxílio de um paquímetro digital. Os dados obtidos foram avaliados segundo o teste de Tukey a 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de germinação não apresentou diferença estatística entre o controle e os tratamentos, sendo superior a 90% de sementes germinadas. A Tabela 1 e Figura 1 apresentam as médias de crescimento radicular após os três tempos de exposição (72, 96 e 120 horas).

**Tabela 1.** Médias do crescimento radicular (mm) da cebola após 72, 96 e 120 horas de exposição.

Tratamento	72 h	96 h	120 h
Água	6,892 a	8,226 a	9,055 a
MMS	6,554 a	7,463 ab	8,041 b
Alumínio	6,584 a	6,936 b	7,188 b



**Figura 1.** Linhas representando o crescimento radicular dos três tratamentos. Eixo Y representa o tamanho em milímetros e o eixo X o tempo em horas.

No tempo de exposição de 72 horas ambos, MMS e Alumínio, não apresentaram redução significativa em relação ao controle. No intervalo de exposição de 96 horas as médias de crescimento diferiram do controle para os dois tratamentos, entretanto o tratamento com Al apresentou uma redução mais expressiva.

No período de 120 horas houve redução no crescimento radicular nos dois tratamentos em relação ao controle. No entanto, o tratamento com MMS manifestou maior sensibilidade do que no tempo de 96 horas. O tratamento com Al apresentou a maior taxa de redução de crescimento, de 20,61%.

Segundo Kochian et al. (2004) o principal e primeiro efeito do Al nos vegetais é na diminuição do crescimento radicular, inibindo o alongamento e a expansão celular e posteriormente a divisão celular. Tal efeito do Al pode ser causado pelo acúmulo de lignina nas raízes,

enrijecendo as paredes celulares e impedindo o alongamento da raiz (PEIXOTO et al., 2007). Esse efeito só começou a ser atingido com 96 horas de exposição, indicando esse como tempo mínimo de exposição para caracterização de sensibilidade a essa toxicidade.

Por sua vez o MMS apresenta ação mutagênica, sendo muito usado como agente genotóxico que, segundo Campos e Menk (2000), lesa o DNA por inserção de um grupo metila nas bases nitrogenadas dessa molécula, podendo causar mutações e aberrações cromossômicas e, por consequência, diminuir o crescimento radicular. A cebola também se mostrou sensível a este agente no tempo de exposição de 96 horas, porém apresentou redução bem menor se comparado ao Al, onde sua sensibilidade aumentou no tempo de 120 horas de exposição.

Era esperada que o vegetal apresentasse maior diminuição do crescimento radicular no tratamento com  $Al_2SO_4$ , se comparado ao controle e MMS, visto que essa é sua principal característica, entretanto ambos os tratamentos apresentaram resultados estatisticamente próximos para MMS e  $Al_2SO_4$ .

## **CONCLUSÃO**

É viável a utilização da cebola como espécie modelo em biotestes de fitotoxicidade. A cebola apresentou redução no crescimento radicular mais significativo, para os dois agentes tóxicos, no tempo de exposição

de 120 horas. A cebola mostrou-se mais sensível à toxicidade por Alumínio.

## REFERÊNCIAS

CAMPOS, R. M. A.; MENK, C. F.M. Biomonitoramento de Mutagênese Ambiental. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. Vol 12, p. 24, 2000.

CHARLES, J.; SANCEY, B.; MORIN-CRINI, N.; BADOT, P. M.; DEGIORGI, F.; TRUNFIO, G.; CRINI, G. Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 2057–2064, 2011.

FRANCO, R., SÁNCHEZ-OLEAB, R., REYES-REYES, E.M., PANAYIOTIDIS, M.I., Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à Trois. *Mutat. Res* 674, 3 22, 2009.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test: an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 197, n. 2, p. 243-260, Feb. 1988.

GRANT, W.F. The present status of higher plant bioassay for detection of environmental mutagens. *Mutation Research*, v. 310, n. 2, p. 175-185, Oct. 1994.

KOCHIAN, L. V.; HOCKENGA, O. A.; PINEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 55:459-493, 2004.

KULTZ, D., 2005. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annu. Rev. Physiol.* 67, 225e257.

LOPEZ, G. D.; CAMBERO, J. P. G.; CALVO, A. C. Germination of *Lactuca sativa* seeds as pre-screening in toxicology studies in higher plants. *Toxicology Letters* 180S, S32–S246, 2008.

MALUSZYNSKA, J.; JUCHIMIUK, J. Plant genotoxicity: a molecular cytogenetic approach in plant bioassays. *Plant Genotoxicity*, v. 56, n. 2, p. 177-184, June 2005.

PEIXOTO, P. H. P.; PIMENTA, D. S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de Sorgo sob estresse de Alumínio. *Bragantia*, Campinas. V.66, n.1, p. 17 – 25, 2007.

---

## **COMPOSIÇÃO DE CONSÓRCIOS MICROBIANOS PARA APLICAÇÃO EM PROCESSOS DE BIORREMEDIAÇÃO**

**Silva, M. G. C.<sup>(1)</sup>; Almeida, D. G.<sup>(2)</sup>; Gusmão, N. B.<sup>(1)</sup>; Sousa, M. F. V. Q. S.<sup>(1)</sup>**  
gloriawerneck@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife – PE, Brasil, CNPq;

<sup>(2)</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife – PE, Brasil, Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO; CAPES, TERMOPE.

### **RESUMO**

Em áreas poluídas por derrames rotineiros ou acidentais de petróleo ou seus derivados, os micro-organismos autóctones atuam como agentes potenciais de transformação, pela sua capacidade de degradar uma ampla variedade de substâncias recalcitrantes, reduzindo ou removendo estes poluentes, o que resulta na redução da toxicidade ou possível mineralização destes compostos. Deste modo, estes micro-organismos podem ser aplicados em processos de biorremediação. Nestas áreas poluídas, bactérias e fungos compartilham substratos comuns e sua proximidade espacial gera tanto interações sinérgicas quanto antagônicas. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi verificar a presença ou ausência de interações antagônicas entre micro-organismos

isolados da água do mar, nas proximidades da empresa TERMOPE, do porto de Suape, no Estado de Pernambuco, Brasil, para formar consórcios microbianos mistos para aplicação em processos de biorremediação. Para avaliar a existência de interações antagônicas, foi aplicado um teste de antibiose aos micro-organismos em estudo. Como resultado, foi observado que 85% das linhagens testadas apresentaram reação antagônica contra pelo menos uma dentre as testadas. Com base nestes dados, foi possível compor oito diferentes consórcios cujas linhagens não mostram antagonismo, os quais podem ser utilizados em processos de biorremediação de locais contaminados por petróleo e seus derivados.

**Palavras-chave:** Biorremediação, Consórcio Microbiano, Petróleo.

## INTRODUÇÃO

A contaminação por petróleo e seus derivados tem causado sérios danos à saúde e ao meio ambiente e cada vez mais atenção tem sido dada para o desenvolvimento e implementação de tecnologias inovadoras para a remoção destes contaminantes (SATHISHKUMAR et al., 2008). Devido a seus custos e benefícios, a biorremediação constitui uma alternativa muito atraente que tem sido utilizada para eliminar ou minimizar os efeitos dos poluentes, empregando micro-organismos com potencialidade para biodegradação e sendo capazes de transformar os contaminantes em substâncias menos tóxicas ou mineralizando esses compostos (CERQUEIRA et al., 2012; SATHISHKUMAR et al., 2008).

Nos últimos anos, tem-se demonstrado que muitos micro-organismos possuem a capacidade de utilizar hidrocarbonetos de petróleo como única fonte de carbono e energia (CHEN et al., 2009). Quando há uma

eventual poluição de ambientes marinhos por compostos do petróleo, micro-organismos hidrocarbonoclasticos, os quais geralmente existem em baixas densidades nestes ambientes, são estimulados a crescer nestas condições, causando mudanças na estrutura das comunidades microbianas das áreas afetadas (HARAYMA et al., 2004). Estas espécies são capazes de se adaptar rapidamente e, conseqüentemente, como resultado, se multiplicar e superar os seus concorrentes (GERTLER et al., 2010). Bactérias e fungos nestas áreas compartilham substratos comuns e sua proximidade espacial gera tanto interações sinérgicas quanto antagônicas (ROMANÍ et al., 2006).

Sendo assim, este estudo objetivou verificar a presença ou ausência de interações antagônicas entre micro-organismos isolados da água do mar, nas proximidades da empresa TERMOPE, do porto de Suape, no Estado de Pernambuco, Brasil, para formar consórcios microbianos mistos para aplicação em processos de biorremediação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismos***

Foram utilizados treze micro-organismos isolados de diferentes pontos da água do mar, nas proximidades da empresa TERMOPE, localizada no Porto de Suape – PE, por meio da técnica de enriquecimento, utilizando *bunker* ou óleo diesel como única fonte de carbono. Estas culturas microbianas foram identificadas por códigos alfanuméricos e

estão sendo mantidas em meios de cultura apropriados, a 4°C, na Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (DAUFPE).

### ***Meios de cultura e manutenção das linhagens***

Os meios de cultura utilizados foram Tryptic-Soy-Agar (TSA), contendo 15,0g de Trypticase, 5,0g de Peptona de soja, 5,0g de NaCl e Ágar, 15,0g em 1L de Água destilada, para o cultivo das bactérias; e meio Sabouraud (SAB), contendo 10g de Peptona; 40,0g de Glicose e 15,0g de Ágar em 1L de Água destilada, para o cultivo dos fungos. A manutenção das linhagens foi realizada em placas de Petri contendo o meio TSA ou SAB, conforme a natureza do micro-organismo, acrescidas de 1% (v/v) do óleo combustível *bunker*. Mensalmente, foram realizados repiques para renovar o meio de cultivo e manter as linhagens nestas condições.

### ***Avaliação de interações antagônicas entre as linhagens e composição de consórcios microbianos para fins de biorremediação***

Os micro-organismos foram utilizados na forma de blocos de ágar circulares ( $\emptyset = 6$  mm) após cultivo em placas contendo meio apropriado e incubação a 30°C. Para as bactérias, os blocos de ágar foram retirados após 24h de cultivo em meio Tryptic-Soy-Agar – TSA.

Para a levedura e fungos filamentosos, os blocos foram retirados após 48h e 72h de cultivo em meio Sabouraud – SAB, respectivamente.

As linhagens foram submetidas a um teste de antibiose, baseado no método de Bauer et al (1966), para verificar a ocorrência de interações antagônicas. Para este fim, cada micro-organismo foi semeado em placas de Petri ( $\varnothing = 15$  cm) com o auxílio de *swabs*, contendo o meio apropriado para cada grupo microbiano. Em seguida, blocos de ágar ( $\varnothing = 6$  mm), contendo cada linhagem já crescida a ser testada, foram transferidos para as placas dos micro-organismos teste e dispostos invertidos em posições equidistantes. As placas foram incubadas a 30°C, sendo verificada diariamente a ocorrência ou não da formação de halos de inibição em torno de cada bloco, indicando ocorrência ou não de antagonismo. Qualquer halo produzido, independente do seu diâmetro, foi considerado como inibição. Posteriormente, consórcios microbianos foram montados de modo a não conter linhagens que apresentaram antagonismo. Um segundo critério empregado na composição dos consórcios exigiu a presença de bactérias, levedura e fungos filamentosos, a fim de aumentar o potencial da degradação de petróleo e derivados em função da diversidade microbiana (GHAZALI et al., 2004).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Observou-se que 85% dos micro-organismos testados apresentaram reação antagônica contra pelo menos um dentre os testados (Quadro 1). Dentre as linhagens estudadas, as únicas que não provocaram qualquer tipo de inibição aos demais micro-organismos foram: a bactéria P11B1 e o fungo filamentosso P132. As linhagens que não sofreram qualquer inibição foram: as bactérias P11B1 e P11B5, a levedura P12 e o fungo filamentosso P22F2B (Figura 1). As Figuras 1 e 2 estão ilustrando os aspectos dos halos de inibição quando o “tapete” microbiano é constituído por uma bactéria e por um fungo filamentosso, respectivamente.

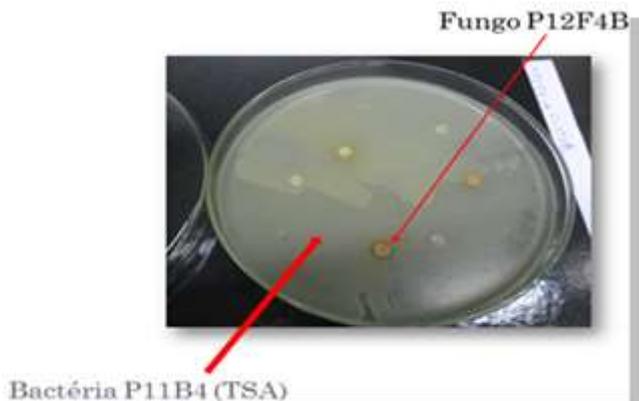
A ocorrência de halos de inibição evidencia interações antagônicas, provavelmente devido à produção de metabólitos com atividade antimicrobiana capazes de inibir o crescimento de outros micro-organismos. Norman et al (2004) estudaram o efeito de um desses metabólitos, a piocianina, produzido por *Pseudomonas aeruginosa*, sobre uma comunidade microbiana crescendo em (1%) de óleo cru e obtiveram uma redução específica na biodegradação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – HPAs, além de um decréscimo na diversidade dessa comunidade, demonstrando que a seleção de linhagens com ausência de interações antagônicas é de extrema importância quando o objetivo é o emprego de micro-organismos em processos de biorremediação. Este critério de seleção é de suma importância, uma vez que permite obter consórcios microbianos onde os micro-organismos possam crescer e atuar de forma

sinérgica, potencializando a degradação do óleo e, conseqüentemente, limpando o ambiente (ALVAREZ, 2007). Portanto, linhagens com interações antagônicas não devem ser combinadas em consórcio, visto que isto inviabilizaria sua aplicação em processos de biorremediação.

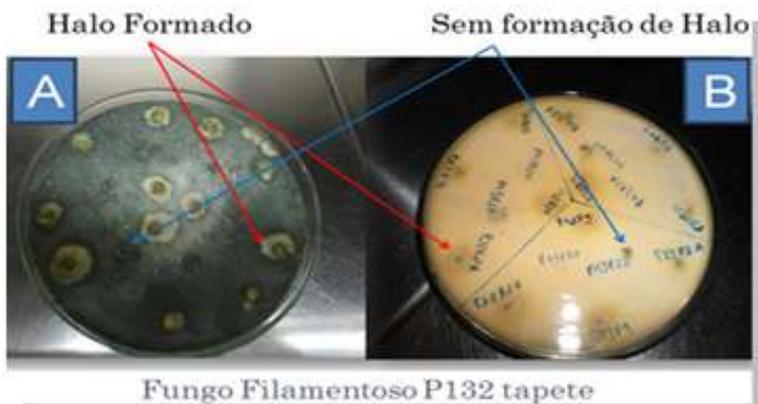
Com base nos resultados apresentados na Quadro 1, foi possível compor oito diferentes consórcios (Tabela 1), cujas linhagens não apresentaram antagonismo. Além disso, como segundo critério para a composição dos consórcios, foi exigido a presença simultânea de bactérias, levedura e fungos filamentosos a fim de aumentar o potencial de biodegradação de petróleo e de derivados em função da diversidade microbiana, uma vez que isto possibilita a atuação de um maior espectro enzimático na biodegradação, através da expressão metabólica de micro-organismos pertencentes a táxons distintos (GHAZALI et al., 2004).

**Quadro 1.** Resultados do teste de antagonismo. Os quadrados marcados estão indicando, simultaneamente, as linhagens que provocaram inibição (situadas à esquerda) e as que sofreram inibição (situadas na parte superior).

Linhagens que provocaram inibição, colocadas na forma de blocos de água		Linhagens que sofreram inibição, sementes como tapete												
		Bactérias					Levedura		Fungos filamentosos					
		P1101	P1102	P1103	P1104	P1105	P12	P122A	P122B	P123	P124B	P222A	P222B	P224
Bactérias	P1101													
	P1102							X						
	P1103		X						X	X				
	P1104		X	X										
	P1105		X											
Levedura	P12							X						
Fungos filamentosos	P122A													X
	P122B							X				X		X
	P123													
	P124B				X			X	X	X				
	P222A								X	X	X			
	P222B								X	X	X	X		
	P224								X	X	X	X		X



**Figura 1.** Halo de inibição em torno do bloco de ágar, evidenciando reação antagônica do fungo P12F4B contra a bactéria P11B4.



**Figura 2.** Aspecto do halo de inibição formado em torno dos blocos de ágar das linhagens que apresentaram reação antagônica contra o fungo P132. A) Verso da placa; B) Reverso da placa.

**Tabela 1.** Consórcios microbianos mistos montados conforme os resultados do teste de antagonismos e seguindo os critérios já estabelecidos.

Consórcios	Micro-organismos envolvidos
------------	-----------------------------

	Bactérias			Levedura	Fungos filamentosos	
C1	P11B1	P11B4		P12	P13F2B	P132
C2	P11B1	P11B2		P12	P13F2B	P132
C3	P11B1	P11B3	P11B4 P11B5	P12	P22F2A	
C4	P11B1	P11B3	P11B5	P12	P12F4B	
C5	P11B1	P11B3	P11B5	P12	P22F2A	P22F2B
C6	P11B1	P11B3	P11B5	P12	P22F2A	P23F4
C7	P11B1	P11B4	P11B5	P12	P22F2A	P22F2B
C8	P11B1	P11B4	P11B5	P12	P22F2A	P23F4

## CONCLUSÃO

O presente estudo comprovou a viabilidade da utilização do teste de antibiose para selecionar linhagens com prévia capacidade de biodegradação de petróleo e derivados, com relação à ausência de interações antagônicas, para compor consórcios microbianos para fins de biorremediação.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ, V. M. **Bioprospecção da população bacteriana halotolerante e biodegradadora de óleo presente em solo impactado na região de Pannels, SE.** Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2007.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology.** v. 45, p. 493-496. 1966.

CERQUEIRA, V. S.; HOLLENBACH, E. B.; MABONI, F.; CAMARGO, F. A. O.; PERALBA, M. C. R.; BENTO, F. M. Bioprospection and selection of bacteria

isolated from environments contaminated with petrochemical residues for application in bioremediation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1203 – 1222, 2012.

CHEN, L. I.; CHEN, Y.; CHEN, L.; CHEN, W. Study on fungi-bacteria augmented remediation of petroleum contaminated soil from Northwest of China. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 7, p. 750 – 753, 2009.

GERTLER, C.; NÄTHER, D. J.; GERDTS, G.; MALPASS, M. C.; GOLYSHIN, P. N. A. Mesocosm Study of the Changes in Marine Flagellate and Ciliate Communities in a Crude Oil Bioremediation Trial. *Microbial Ecology*. v.60, p.180 – 191, 2010.

GHAZALI, F. M.; RAHMAN, R. N. Z. A.; SALLEH, A. B.; BASRI, M. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 54, p. 61 – 67. 2004.

HARAYAMA, S.; KASAI, Y.; HARA, A. Microbial communities in oil-contaminated seawater. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 15, p. 205 – 214, 2004.

NORMAN, R. S.; MOELLER, P.; MCDONALD, T. J.; MORRIS, Pamela J. Effect of Pyocyanin on a Crude-Oil-Degrading Microbial Community. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 9, p. 4004 – 4011, 2004.

ROMANÍ, A. M.; FISCHER, H.; MILLE-LINDBLOM, C.; TRANVIK, L. J. Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differential extracellular enzyme activities. *Ecology*, v. 87, No. 10, p. 2559 – 2569, 2006.

SATHISHKUMAR, M.; BINUPRIYA, A. R.; BAIK, S; YUN, S.; Biodegradation of Crude Oil by Individual Bacterial Strains and a Mixed Bacterial Consortium Isolated from Hydrocarbon Contaminated Areas. **Clean**, v. 36, n.1, p. 92 – 96.

---

## CONCEPÇÃO DOCENTE SOBRE A CONFIABILIDADE DAS FONTES EXISTENTES DE BIOTECNOLOGIA

Pinheiro, J. P. S.<sup>(1)</sup>; Oliveira, M.S.<sup>(1)</sup>; Leite, J.S.<sup>(1)</sup>; Nunes, L.T.<sup>(1)</sup>; Linhares, F.R.A.<sup>(1)</sup>; Pinheiro, R.R.R.<sup>(1)</sup>; Lopes, J.T.<sup>(1)</sup>; Salmiteo-Vanderley, C. S.B.<sup>(1)</sup>  
joapaulospinheiro@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Ceará, Campus do Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil.

## RESUMO

A Biotecnologia envolve diversas questões éticas, sociais e políticas exigindo que cada indivíduo tenha conhecimento formulado para tomar decisões cabíveis. No entanto, de que forma podemos confiar nas informações existentes sobre essa temática? O objetivo principal do presente trabalho foi verificar a opinião de professores do Ensino Médio sobre as fontes e confiabilidade das informações existentes sobre técnicas e/ou aplicações da Biotecnologia. Para isso, foram escolhidos docentes do 3º ano do ensino médio de quatro escolas de Fortaleza – CE, selecionadas de acordo com as taxas de participação das escolas no Exame Nacional do Ensino Médio. A coleta dos dados foi realizada através de entrevista com treze perguntas semiestruturadas questionando-se acerca de sua(s) fonte(s) de informações referentes à Biotecnologia e a confiabilidade que se pode ter sobre essas fontes. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética, por meio da Plataforma Brasil, CAAE: 04454912.5.0000.5534. Diante disso, constataram-se que os docentes não se sentem seguros no conteúdo que está disponível para o acesso do público, principalmente na Internet e na televisão, as mais relatadas pelos entrevistados, pois na maioria das vezes, trazem informações sensacionalistas e equivocadas, necessitando-se assim “selecionar de acordo com a formação acadêmica aquilo que é certo ou errado”.

**Palavras-chave:** Ensino, Biologia, Meios de Comunicação.

## INTRODUÇÃO

Para o Conselho Federal de Biologia (CFBio) a Biotecnologia é definida como: “qualquer técnica que utilize organismos vivos ou partes, para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas ou animais, ou desenvolver micro-organismos para usos específicos”.

A Biotecnologia é uma ciência por um lado muito antiga, quando se refere às técnicas de fabricação dos pães e vinhos, mas por outro lado é uma ciência muito moderna, quando pensamos em Engenharia Genética, como clonagem e terapia gênica (HARMS, 2002).

Esta parte “moderna” da Biotecnologia mostra um elevado potencial para resolver vários problemas do mundo moderno, mas ao mesmo tempo é acompanhado de novas questões, especialmente, éticas (HARMS, 2002).

Vários debates podem ser percebidos quanto aos benefícios e malefícios da Biotecnologia. Já que por um lado reconhece-se que pode ajudar a encontrar soluções para alguns problemas da sociedade, por outro lado surgem dúvidas e críticas quanto aos aspectos éticos, sociais, ambientais, políticos e econômicos envolvidos na Biotecnologia (FIRMINO, 2007).

Referente às aplicações benéficas da Biotecnologia, Firmino (2007, p.20) aponta:

(...) aumento da produtividade agrícola, redução das perdas pós-colheita, custos menores de produção, melhoramento das qualidades dos alimentos, redução da utilização de pesticidas, (...), e novas soluções para a medicina, para a indústria farmacêutica e, em geral, menor impacto para o ambiente (...).

Do que se depreende uma vasta possibilidade de melhorias para a sociedade, principalmente no setor econômico e na qualidade de vida.

Firmino (2007, p.21) destaca quais problemas, ou dúvidas, que a Biotecnologia pode causar na sociedade, são eles:

(...) o consumo de alimentos geneticamente modificados pode causar alergias, devido à expressão de proteínas alergênicas; poder ocorrer “contaminação” acidental de culturas tradicionais através da disseminação de sementes e do pólen de plantas transgênicas (...). Questiona-se se a Biotecnologia poderá realmente contribuir para acabar com a fome no mundo, pois a falta de acesso ao alimento é, sobretudo, devido à pobreza. (...) A maior controvérsia, no caso dos animais geneticamente modificados, encontra-se no campo da alimentação humana.

Logo, faz-se necessário que olhemos os dois lados (benefícios e malefícios), a fim de que possamos adotar a postura correta na utilização ou não da tecnologia. Mas de que forma podemos confiar nas informações existentes sobre essa temática?

Portanto, este trabalho teve como objetivo verificar a opinião de professores do Ensino Médio, que contribuem no processo de ensino-

aprendizagem, sobre as fontes e confiabilidade das informações existentes sobre técnicas e/ou aplicações da Biotecnologia.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente estudo possui um caráter descritivo, constitui um levantamento, em que se deseja conhecer o comportamento de um grupo significativo de pessoas para, após análise qualitativa, obter conclusões de acordo com os dados coletados (GIL, 2002).

Para a realização da pesquisa, foram escolhidas quatro escolas do município de Fortaleza – CE de acordo com as diferentes taxas de participação (igual ou superior a 75% no ENEM; maior ou igual a 50% e menor que 75%; maior ou igual a 25% e menor que 50%; e inferior a 25%) estipuladas pelo INEP no Exame Nacional do Ensino Médio (ENEM) no ano de 2010.

Foram escolhidos os docentes do 3º ano do ensino médio, uma vez que neste ano deve ser abordado com mais ênfase conteúdos de Biotecnologia, e que o assunto e as atividades são direcionados ao Exame Nacional do Ensino Médio.

A amostra do presente estudo foi constituída por todos os professores de ambos os sexos e de qualquer faixa etária que lecionam no 3º ano de cada escola nos turnos da manhã e da tarde, e que se disponibilizaram a participar da pesquisa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Quantidade de Professores e as respectivas escolas participantes do estudo.

<b>Quantidade de Professores</b>	<b>Escola</b>
<b>2 Professores</b>	Colégio da Polícia Militar do Ceará
<b>1 Professor</b>	Colégio Estadual Liceu do Ceará
<b>2 Professores</b>	Escola de Ensino Médio João Mattos
<b>1 Professor</b>	Escola de Ensino Médio Marechal Humberto de Alencar Castelo Branco

Os dados foram coletados no mês de agosto de 2012 através de entrevistas gravadas e posteriormente transcritas, *ipsis litteri* ao que foi dito pelo entrevistado, ou por entrevistas escritas.

A coleta dos dados foi realizada através de entrevista com treze perguntas semiestruturadas questionando-se de onde retira informações referentes à Biotecnologia e a confiabilidade que se pode ter sobre essas fontes.

Ficou a critério de o professor responder da forma que optasse, sem nenhuma intervenção do entrevistador. Durante o processo de investigação, os participantes foram convidados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Para a análise das entrevistas, os docentes foram nomeados com a letra P e um número de forma aleatória, a fim de não identificar a qual instituição de ensino pertence.

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará – UECE, através da Plataforma Brasil, com o CAAE: 04454912.5.0000.5534.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fontes de informação que existem em nossa sociedade são vastas, permitindo o amplo acesso a notícias, com o intuito de que cada um possa formular a opinião acerca de um determinado assunto. Os entrevistados relataram que têm conhecimento sobre a Biotecnologia através:

*(...) de fontes de dados provenientes de **revistas científicas** indexadas e de **livros de 3º grau** com linguagem textual mais acessível para os discentes. Utilizo o **livro-texto** para conceitos chave e nos exemplos mais comuns (P1) (grifo nosso).*

*Revistas de divulgação científica, livros, **artigos**, **páginas de universidades** (P2) (grifo nosso).*

*Tanto **através da disciplina** quanto através das fontes de informação (**internet, televisão...**) (P3) (grifo nosso).*

*Leitura, internet, **documentários** (P4) (grifo nosso).*

***Jornal**, revista, livros, internet. (P5) (grifo nosso).*

*Através de **estudos**, da mídia (televisão), revistas, até mesmo do nosso **trabalho dia-a-dia**, livros (P6) (grifo nosso).*

Dentre os veículos de comunicação, a internet é o mais utilizado pelos sujeitos investigados, já que permite uma busca mais rápida das informações acerca das pesquisas científicas. Além disso, ela contribui para que a escola, através do professor, possa realizar uma aula mais dinâmica, através de diversos recursos disponíveis em sites, e com uma captação de conhecimento mais ampla (FAGUNDES et al., 2012).

Diariamente, vemos muitos meios de comunicação, como a televisão, veiculando informações sobre tecnologias aplicadas em organismos vivos, ou seja, notícias sobre a Biotecnologia. No entanto, essas informações podem ou não ser coerentes.

E aí? Acreditar ou não nas informações?

De acordo com P3 e P5:

*(...) no caso da **mídia não é confiável**. Daí necessita que haja busca de outras fontes para que a gente possa adotar um ponto de vista correto (P3) (grifo nosso).*

***Internet não, mas jornal dependendo do jornal eu acho que são confiáveis (P5) (grifo nosso).***

Os temas da atualidade são trazidos principalmente em jornais e em revistas, não sendo possível, muitas vezes, encontrá-los em livros didáticos. Esse material que traz essas informações, na maioria das vezes, traz conceitos simplificados com analogias ruins e sensacionalistas (XAVIER et al., 2006).

Goulart e Maia (2012) explicam porque esse sensacionalismo acontece principalmente no Brasil:

A sociedade desinformada não tem base para questionar os benefícios e os malefícios da biotecnologia, ficando a mercê da forma como a mídia trata essa questão, na maioria das vezes de forma alarmista e pouco elucidativa, principalmente no Brasil que ainda não tem uma tradição de jornalismo científico.

Firmino (2007) teve como uma das conclusões de seu trabalho que entre os meios de divulgação da Biotecnologia, os que são mais utilizados como fonte de pesquisa e de atualização é a Televisão e a Internet. Porém, as fontes mais utilizadas nem sempre são as mais confiáveis.

Por isso, Firmino (2007) relata que: “cientistas/investigadores, médicos, professores e manuais escolares/aulas merecem grande credibilidade, surgindo só depois os jornais e a Internet”.

Diante disso, faz-se necessário que se busque maiores informações sobre a credibilidade da fonte que está emitindo aquele conhecimento, como foi citado pelo P2:

*Procuro informações sobre os autores, as instituições que realizam as pesquisas/trabalhos (P2).*

Para saber se aquilo é verdadeiro ou não, o P4 discorre que:

*(...) Em relação a essas fontes, se realmente a gente não estiver se atualizando e tendo esse cuidado com as informações que a gente passa, que é o que a*

*gente sempre fala para os meninos: nem tudo é verdadeiro, mas pelo menos o básico a nossa formação permite avaliar se é coerente ou não, se é possível ou não (P4).*

Além disso, P4 ressalta que essas informações não são buscadas frequentemente em virtude:

*(...) horário de planejamento é pouco, o nosso contato também até com a própria universidade, às vezes fica muito restrito. A gente não consegue mais, parece que perde um pouco desse elo (P4).*

Diante do exposto, ressalta-se a importância do planejamento das aulas, que faz com que fique mais fácil de organizar o trabalho do professor. Nessa etapa do processo de ensino é possível procurar informações confiáveis, já que o planejamento deve ser uma organização das ideias e informações disponíveis (CASTRO et al., 2008).

O planejamento é de fundamental importância, como mencionam Menegolla e Sant'anna (2001) citado por Castro et al. (2008, p.54), uma vez que:

*É um instrumento direcional de todo o processo educacional, pois estabelece e determina as grandes urgências, indica as prioridades básicas, ordena e determina todos os recursos e meios necessários para a consecução de grandes finalidades, metas e objetivos da educação.*

Uma das ferramentas que também pode auxiliar no processo de ensino-aprendizagem é o contato dos professores e dos alunos do ensino básico com a universidade, pois segundo Fagundes et al. (2012):

Ao socializar as atividades que podem ser desenvolvidas em espaços de pesquisa na universidade, com equipamentos adequados, normas de segurança, técnicas de pesquisa, pode-se despertar tanto a curiosidade sobre o tema a que o laboratório está vinculado como o encantamento pelo campo científico, ou seja, desvendar um campo de trabalho promissor e necessário para o desenvolvimento de um país.

## **CONCLUSÃO**

Foi possível constatar durante as entrevistas que os docentes não se sentem seguros no conteúdo que está disponível para o acesso do público, principalmente na Internet e na televisão, as mais relatadas pelos entrevistados, pois na maioria das vezes, trazem informações sensacionalistas e equivocadas, necessitando-se assim “selecionar de acordo com a formação acadêmica aquilo que é certo ou errado”.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho torna-se um incentivo para que sejam realizadas novas pesquisas, principalmente, tentando demonstrar como os alunos adquirem o conhecimento e participam ativamente do processo de ensino-aprendizagem, já que o tema proposto é aplicado de diversas formas na sociedade, possuindo benefícios e malefícios, que são desconhecidos ou mal informados.

## REFERÊNCIAS

CASTRO, P. A. P. P.; TUCUNDUVA, C. C.; ARNS, E. M. A importância do planejamento das aulas para organização do trabalho do professor em sua prática docente. **ATHENA - Revista Científica de Educação**, v. 10, n. 10, jan.- jun. 2008.

**CFBIO.** A Biotecnologia. Disponível em:<  
[http://www.cfbio.gov.br/conteudo.php?pagina=texto\\_biotecnologia](http://www.cfbio.gov.br/conteudo.php?pagina=texto_biotecnologia) > Acesso em: 14 maio 2012.

FAGUNDES, W. A.; PEREIRA, C. M.; CRISOSTIMO, A. L. A aplicação da Biotecnologia no ensino como forma de disseminar Ciência & Tecnologia. In: 4º Congresso Internacional de Educação, Pesquisa e Gestão, 2012, Ponta Grossa. **Anais eletrônicos...** Paraná: CIEPG. Disponível em: < <http://www.isapg.com.br/2012/ciepg/down.php?id=2691&q=1> > Acesso: 13 out. 2012.

FIRMINO, M. N. P. **Biotecnologia – Estudo Exploratório das Percepções e Atitudes de Professores e Alunos.** Dissertação de Mestrado em Biologia para o Ensino apresentada à Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2007.

GIL, Antônio Carlos. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa.** 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GOULART, A. O. F.; MAIA, E. D. Biotecnologia no século XXI: Um caso de Letramento Científico. In: **Anais do Simpósio Nacional de Ensino de Ciência e Tecnologia**, 3. 2012, Ponta Grossa.

HARMS, U. Biotechnology Education in Schools. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 5, n.3, 2002.

XAVIER, M. C. F.; FREIRE, A. S.; MORAES, M. O. A nova (moderna) Biologia e a Genética nos livros didáticos de biologia no ensino médio. **Ciência & Educação**, Bauru, v.12, n.3, set.- dez. 2006.

---

## CONCEPÇÕES SOBRE REPRODUÇÃO HUMANA DOS ALUNOS DE CURSINHO PRÉ-VESTIBULAR

Nunes, L.T.<sup>(1)</sup>; Leite, J.S.<sup>(1)</sup>; Oliveira, M.S.<sup>(1)</sup>; Pinheiro, J.P.S; Linhares, F.R.A.<sup>(1)</sup>; Melo-Maciel, M.A.P.<sup>(1)</sup>; Porto, V. B.<sup>(1)</sup>; Salmito-Vanderley, C.S.B.<sup>(1)</sup>  
larissatn.br@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Ceará – UECE, Campus do Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil.

### RESUMO

Diversas pesquisas mostram as diferentes formas de compreensão dos estudantes a cerca do tema reprodução humana, demonstrando muitas vezes a falta de conhecimentos básicos que auxiliem o desenvolvimento de uma posição de criticidade a cerca do tema. A Universidade Estadual do Ceará (UECE) possui um projeto de cursinho popular que visa oportunizar aos alunos de escolas públicas um bom cursinho preparatório. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo verificar as concepções dos alunos do Cursinho UECEVest sobre reprodução humana. Foram escolhidos os estudantes do cursinho UECEVest que concluíram o ensino médio no ano de 2012, com um total de 53 alunos. Um questionário com perguntas objetivas foi elaborado com a finalidade de analisar as concepções dos alunos sobre reprodução humana. Essa pesquisa tem a perspectiva de servir como um material de auxílio para os professores entenderem as concepções alternativas dos alunos sobre a temática para, dessa forma, realizarem uma abordagem mais efetiva do assunto para a geração de um conhecimento consciente. Em uma análise geral da pesquisa podemos verificar que a maioria dos alunos do cursinho UECEVest detém concepções corretas sobre reprodução humana de acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio.

**Palavras-chave:** Ensino-aprendizagem, Biologia.

## INTRODUÇÃO

Segundo o PCNEM, o conhecimento de Biologia deve subsidiar o julgamento de questões polêmicas sobre as temáticas referentes à biotecnologia da reprodução humana, como por exemplo, a reprodução *in vitro* que traz à tona aspectos éticos envolvidos na produção e aplicação do conhecimento científico e tecnológico (BRASIL, 2000).

Análises de pesquisas em níveis nacionais e internacionais mostram que grande parte dos alunos que concluíram os estudos em nível de educação básica, apresentam explicações de concepções de termos biológicos, através do senso comum e de informações veiculadas pelos meios da comunicação social (PEDRANCINI et al., 2006).

Diversas pesquisas mostram as diferentes formas de compreensão dos estudantes a cerca do tema reprodução humana, demonstrando muitas vezes a falta de conhecimentos básicos que auxiliem o desenvolvimento de uma posição de criticidade a cerca do tema.

A Universidade Estadual do Ceará (UECE) possui um projeto de cursinho popular que visa oportunizar aos alunos de escolas públicas um bom cursinho preparatório para que possam ingressar em uma universidade. O projeto intitulado Cursinho Pré-Vestibular UECEVest possui uma carga horária semestral de 490 horas entre os meses de fevereiro a junho e agosto a dezembro. Disponibilizando a cada semestre aulas expositivas, vestibulares simulados, minicursos e aulões

de véspera para a preparação para a prova de vestibular da UECE e do Exame Nacional do Ensino Médio (ENEM) (CEARÁ, 2008).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo verificar as concepções dos alunos do Cursinho UECEVest sobre reprodução humana através da análise do conhecimento sobre a nomenclatura específica da Biologia referente à reprodução humana. Fazendo uma avaliação do nível de conhecimento dos alunos sobre a biotecnologia aplicada à área.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O cursinho UECEVest foi o local da realização do estudo, por ser um ambiente de ensino localizado dentro do campus do Itaperi da Universidade Estadual do Ceará, e por ser um local acessível a realização de pesquisas. Nesse ambiente educacional podemos encontrar alunos de escolas públicas e particulares da região metropolitana de Fortaleza, o que faz da pesquisa um reflexo da realidade da formação em Biologia de toda a cidade.

Foram escolhidos os estudantes do cursinho UECEVest que concluíram o ensino médio no ano de 2012. O grupo amostral do presente estudo foi constituído por alunos de ambos os sexos com uma faixa etária de 19 a 25 anos pertencente aos turnos manhã, tarde e noite do Cursinho, de todas as turmas, com um total de 53 alunos. Um questionário com

perguntas objetivas foi elaborado com a finalidade de analisar as concepções dos alunos sobre reprodução humana.

No momento da aplicação dos questionários os alunos ficaram em uma sala separada e uma explicação sobre a importância da pesquisa e a necessidade da honestidade de cada aluno foi realizada para a posterior aplicação.

Para a tabulação dos resultados as questões foram analisadas a partir de métodos de porcentagem para quantificar as questões, como também foram feitas análises dos itens mais respondidos entre os corretos, incorretos e itens não respondidos. A pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Ceará (UECE), de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CNS/ MS), N° do processo 06186312.2.0000.5534.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A questão de nº 1 do questionário foi elaborada com a finalidade de entender quais conceitos os alunos teriam maior e menor dificuldade de saber o significado, pois segundo o PCNEM (2000) cada ciência particular possui um código intrínseco, nomenclaturas específicas, uma lógica interna e apropriar-se desses códigos e dos conceitos possibilitam o estudante o entendimento e participação efetiva nesse mundo.

Os termos colocados na questão foram os mais utilizados no ensino de reprodução humana. De acordo com as análises dos dados observada na Tabela 1 podemos destacar que 96% dos alunos responderam corretamente o significado do termo ejaculação como sendo o processo de eliminação do esperma. Esse termo, que é bastante veiculado pela mídia e pela linguagem popular, possui uma melhor memorização pelos alunos. Para Giordan e De Vecchi (1996), citado por Grimes e Schroeder (2011) as concepções e os conceitos dos estudantes são bastante influenciados pela mídia, pelas atividades profissional e social do adulto.

O termo com menor porcentagem de acertos foi o termo cariogamia por ser um termo bastante científico e pouco comentado. Alguns outros termos como espermátide, ovogônia e menarca não foram respondidos por 6% dos alunos, e os mesmos declaram não conhecer o significado desses termos (Tabela 1). Dessa forma, numa situação de ensino, temos que considerar que na apresentação de um novo conteúdo, o aluno já possui uma série de conceitos, concepções e conhecimentos que foram adquiridos pelas suas experiências pessoais. Esses conhecimentos são denominados de conhecimentos prévios e servirão como base para que o aluno estabeleça as relações e faça as acomodações necessárias para que se inicie o processo de aprendizagem (MIRAS, 2006).

**Tabela 1.** Análise das respostas da questão 1, conceitos sobre nomenclaturas de reprodução humana.

<b>Conceitos</b>	<b>Acertos</b>	<b>Erros</b>	<b>Não Responderam</b>
A - Ovulogênese	75%	23%	2%
B - Ovulação	68%	30%	2%
C - Gônadas	62%	36%	2%
D - Espermatogênese	77%	23%	0%
E - Gametas	77%	21%	2%
F - Ejaculação	96%	2%	2%
G - Cariogamia	60%	36%	4%
H - Espermátide	77%	17%	6%
I - Ovogônias	62%	28%	6%
J - Menarca	75%	9%	6%

A questão de nº 2 pergunta qual a principal função dos métodos contraceptivos, 60% dos alunos responderam o item A, que afirma que a principal função desses métodos é a prevenção da gravidez e não a prevenção de DST's. Alguns ainda responderam que a principal função dos métodos contraceptivos é tanto prevenir a gravidez quanto prevenir DST's (Tabela 2).

**Tabela 2.** Análise das respostas da questão 2, sobre métodos contraceptivos.

<b>Ítems de respostas</b>	<b>Porcentagem de respostas</b>
A- Prevenção da gravidez	60%
C- Evitar DST's	32%
A/C-Prevenção da gravidez e evitar DST's	8%

Na questão de nº 3 foi abordado um estudo de caso sobre uma técnica de Reprodução Humana Assistida (RHA), relatando o seguinte exemplo: “Um casal americano, John e Mary, que tentam ter filhos há dez anos, agora esperam quatro bebês todos filhos biológicos do casal, já que Mary engravidou de gêmeos, ao mesmo tempo, que a mãe de aluguel.” Qual dos itens abaixo explica como esse fato pode ser possível?

Sobre as respostas dos alunos podemos analisar a Tabela 3 que mostra um total de 79% de alunos que responderam o item B como item correto. O item B relata que esse fato só é possível, pois a técnica de reprodução utilizada pelo casal é aplicada em laboratório onde pode ser realizada uma fecundação *in vitro* com os espermatozoides de John e os ovócitos de Mary, que formarão embriões que posteriormente serão implantados no útero de Mary e da barriga de aluguel. Para responder essa questão corretamente era necessário o aluno compreender a técnica de barriga de aluguel, na qual a mulher cede o seu útero para a implantação de um embrião já formado por fertilização *in vitro*.

**Tabela 3.** Análise das respostas da questão 3 sobre biotecnologia da reprodução.

Itens respondidos	Porcentagem de respostas
A	9%
B	79%
D	6%
E	6%

Na questão de nº 4 foram listadas quatro técnicas de Reprodução Humana Assistida (RHA), para os alunos relacionarem o nome da técnica com a explicação. O item com maior número de acertos foi o item C que fala sobre a Maternidade por substituição ou Barriga de aluguel que é uma técnica que vem sendo utilizada pelas mulheres e que por muito tempo foi banalizada, como forma de suborno e fonte de renda. Já a técnica com menor número de acertos foi à fertilização *in vitro*, item B que é uma técnica bastante conhecida atualmente, porém muitas vezes é mal entendida, pois é confundida com a inseminação artificial (Tabela 4).

**Tabela 4.** Análise das respostas da questão 4, sobre biotecnologia da reprodução.

	Acertos	Erros	Não Responderam
A - Inseminação artificial	66%	34%	0%
B - Fertilização <i>in vitro</i>	62%	34%	4%
C - Maternidade por substituição	94%	4%	2%
D - Indução da ovulação	79%	19%	2%

Oliveira, (2006) relata que a compreensão do tema Reprodução Humana Assistida está associada aos conhecimentos básicos inerentes ao ensino de Biologia atual como: Divisão celular, gametas, células

haploides, células diploides, cromossomos, mutação, cariótipo entre outros que já se configuram no currículo de Biologia do Ensino Médio.

O PCN+ (2002) relata a importância da Biotecnologia, pois, no primeiro semestre da terceira série, as características hereditárias, a Biotecnologia, as aplicações da engenharia genética e as implicações éticas, legais e sociais desses temas colocariam os alunos, que terminam o ensino médio, frente aos grandes temas contemporâneos, trazendo à tona os preconceitos e os tabus e fornecendo-lhes ferramentas para o desenvolvimento de juízos de valor e posicionamento crítico nos assuntos polêmicos da sociedade atual.

## **CONCLUSÃO**

Em uma análise geral da pesquisa podemos verificar que a maioria dos alunos do cursinho UECEVest detém concepções corretas sobre reprodução humana de acordo com os Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio. Com relação aos termos com menores índices de acertos, podemos evidenciar que eles são pouco utilizados e pouco veiculados pela mídia e pelo conhecimento popular, o que faz surgir uma maior dificuldade nos alunos para o entendimento de tal terminologia.

O conhecimento dos alunos sobre Biotecnologia referente à reprodução humana nos demonstra que as técnicas de Reprodução Humana Assistida estão sendo corretamente entendidas pelos alunos, apesar do pouco debate e da pouca veiculação de informações nos livros sobre esse assunto.

Diante disso, essa pesquisa faz uma abordagem da concepção dos alunos sobre reprodução humana e serve como um material de auxílio para os professores entenderem as concepções alternativas dos alunos sobre a temática para, dessa forma, realizarem uma abordagem mais efetiva do assunto para a geração de um conhecimento consciente.

## **REFERÊNCIAS**

BRASIL, Ministério da Educação. **Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio. Parte III – Ciências da Natureza, Matemática e suas tecnologias.** Brasília, 2000.

\_\_\_\_\_, Ministério da Educação. **Orientações Educacionais Complementares aos Parâmetros Curriculares Nacionais - PCN + Ensino Médio.** Brasília, 2002.

CEARÁ. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ. **Projeto político pedagógico do cursinho UECEVest.** Fortaleza, 2008.

GIORDAN, A.; DE VECCHI, G. de. **As origens do saber: das concepções dos aprendentes aos conceitos científicos.** 2º Ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1996.

GRIMES, C.; SCHROEDER, E. **Concepções de licenciandos de um curso de Ciências**

**Biológicas sobre o tema “origem da vida”.** X Congresso Nacional de Educação, Curitiba, 2011. **Anais Eletrônicos...** Curitiba, 2011. Disponível em: <[http://educere.bruc.com.br/CD2011/pdf/5317\\_2789.pdf](http://educere.bruc.com.br/CD2011/pdf/5317_2789.pdf)>. Acesso em: 12 abr. 2013.

MIRAS, M. **Um Ponto de partida para a aprendizagem de novos conteúdos: os conhecimentos prévios.** In COLL, C. et al. O construtivismo na sala de aula. 6. ed. São Paulo: Ática, 2006.

OLIVEIRA, C. L. C; CAVEDON, C.C; VILAR, K.S.P. **Estratégias de Ensino de Biologia no Pré-Vestibular Popular.** UNIrevista - Vol. 1, nº 2, abril, 2006. Disponível em: <[http://www.unirevista.unisinos.br/\\_pdf/UNIrev\\_Oliveira\\_et\\_al.pdf](http://www.unirevista.unisinos.br/_pdf/UNIrev_Oliveira_et_al.pdf)>. Acesso em: 07 mar. 2013.

PEDRANCINI, V.D.et.al. **A biologia no ensino médio e o desenvolvimento científico e biotecnológico.** In: V ENCONTRO NACIONAL DE PESQUISA EM EDUCAÇÃO EM CIENCIA, 2006, Bauru. Anais eletrônicos... Disponível em: <<http://www.nutes.ufrj.br/abrapec/venpec/conteudo/painelarea1.htm>>. Acesso em: 20 abr. 2012.

---

## CONSTRUÇÃO DE IMUNOSSENSOR COM NANOTUBOS DE CARBONO-AGAROSE PARA *Leishmania chagasi*

Soares, E.C.L.<sup>(1)</sup>; Guerra, D.A.C.<sup>(1)</sup>; Landim, V.P.A.<sup>(1)</sup>; Dutra, R.A.F.<sup>(1)</sup>  
erikinhalima@gmail.com

<sup>(1)</sup>Laboratório de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, Facepe.

### RESUMO

A leishmaniose visceral, antiga enfermidade parasitária, tem no cão principal reservatório e o mais importante transmissor para o homem. A rápida mutação do parasito torna o diagnóstico difícil. Antígenos recombinantes se mostram atrativos pela especificidade, por considerar a variabilidade sorotípica. Uma matriz de imobilização estável para antígeno recombinante de *Leishmania chagasi* (rLc) foi construída, para desenvolvimento de imunossensores eletroquímicos. Nanomateriais, como nanotubos de carbono (CNTs), promove excitantes resultados relacionados com aumento de

sensibilidade destes sensores. Ágar, biopolímero extraído de algas marinhas, tem propriedades como baixa viscosidade, elevada transparência, apresentando larga aplicação na indústria, porém pouco relatado na elaboração de filmes. CNT aminados foram dispersos em solução aquosa de agarose e depositados na superfície sensora. Após secagem, o antígeno foi imobilizado nesta superfície; quatro diluições de um pool de soros caninos foram depositadas para formação de imunocomplexo. Cada etapa da construção foi acompanhada por voltametria cíclica. O filme de agarose mais CNTs apresentou aumento da área eletroativa mostrando aumento de transferência eletrônica. A imobilização do rLc e a formação do imunocomplexo foram confirmadas pela redução dos picos redox, pela natureza isolante das moléculas biológicas. Estes resultados mostram-se como potenciais para desenvolvimento de imunossensores na detecção seletiva da *Leishmania chagasi*.

**Palavras-chave:** *Leishmania chagasi*, Nanotubos de Carbono, Imunossensor.

## INTRODUÇÃO

As leishmanioses representam um grave problema de Saúde Pública e são consideradas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das principais zoonoses mundiais, com ocorrência de casos em 88 países dos quatro continentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania* e transmitidas por dípteros da subfamília Phlebotominae (*Phlebotomus* sp. e *Lutzomyia* sp.). Os cães são os principais reservatórios do parasita, por isso, o monitoramento da leishmaniose canina é fundamental para o controle da transmissão do parasita ao homem. Em virtude das várias dificuldades no diagnóstico desta enfermidade, a busca por novas alternativas como os biossensores, tem se mostrado atrativa e promissora.

Biossensores são dispositivos compostos por uma parte biológica (sensor) e outra eletrônica (transdutor), que acoplados são capazes de detectar espécies químicas ou biológicas quali e/ou quantitativamente, imediatamente ao reconhecimento do analito, dispensando etapas e provas bioquímicas necessárias aos métodos convencionais (GRIESHABER et al., 2008). Dentre os vários tipos, os eletroquímicos foram utilizados no presente estudo. A crescente demanda por biossensores aplicados particularmente na área de diagnóstico impõe exigências mais rígidas no que se refere à seletividade, tempo de resposta, rapidez de confecção, compatibilidade com circuitos eletrônicos periféricos e, sobretudo, na necessidade de miniaturização do dispositivo.

De acordo com Souza (2008), o agar é um biopolímero da classe dos poligalactanos extraído de algas marinhas vermelhas chamadas agarófitas. Estas são encontradas nas famílias *Gracilariaceae*, *Gelidiaceae*, *Phyllophoraceae* e *Ceramiaceae*. Existem vários biopolímeros extraídos de algas marinhas que são cada vez mais aplicados à biotecnologia. Dentre eles o ágar é o muito utilizado (MURANO et al., 1990). Apesar de suas inúmeras aplicações, são poucos os estudos relacionados à sua utilização para a preparação de filmes.

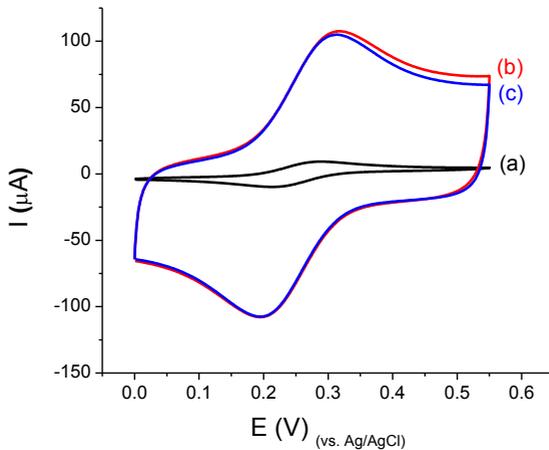
## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Uma solução aquosa de agarose a 1,5% foi preparada em água destilada a 100° C. Em seguida, 1 mg de nanotubos de carbono aminados (NTCs-NH<sub>2</sub>) foram dispersos por 1 h na solução de agarose (1,5 %) em banho de ultra-som. Eletrodos de ouro (EAu) foram previamente polidos com solução de alumina de granulometria 0,3 µm. A técnica de layer-by-layer foi utilizada para modificação do eletrodo de ouro. Inicialmente, uma alíquota de 3 µL do filme de NTCs-NH<sub>2</sub> preparado em agarose foi gotejado na superfície sensora e seco à temperatura ambiente por cerca de 1 h. Logo após, 3 µL do antígeno recombinante de *Leishmania chagasi* (rLc) foi incubado na superfície sensora durante 30 min. Os sítios inespecíficos foram bloqueados com uma solução de glicina (50 mM). Posteriormente, 3 µL de quatro diluições de um pool de soros caninos infectados (1:1200; 1:800; 1:400 e 1:200) foram pipetados na superfície do eletrodo de ouro com intervalos de 30 min. Entre todas as etapas do imunoenensaio o eletrodo foi submetido a lavagens com tampão fosfato salino (PBS) (pH 7.4, 10 mM). Todas as etapas foram caracterizadas por voltametria cíclica em solução equimolar de 5 mM de K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>/ K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Previamente a deposição do filme nanoestruturado na superfície do EAu, um estudo de concentração de agarose em relação à de nanotubos foi realizado. Os dados deste estudo evidenciaram que a concentração

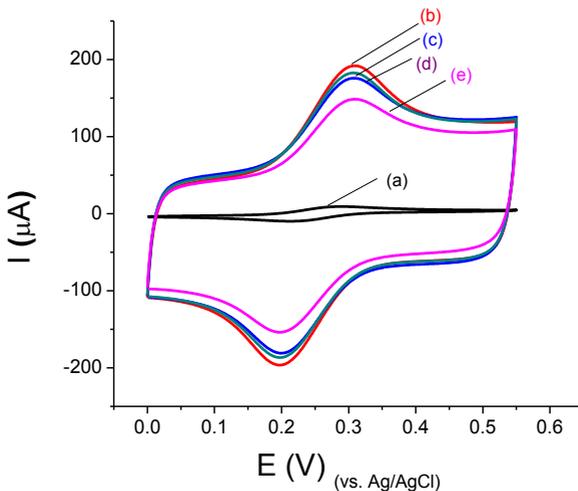
de 1,5% como ótica para a formação do filme. Os voltamogramas na Figura 1 mostram a comparação do perfil eletroquímico do eletrodo não-modificado (limpo) e o modificado com um filme de NTCs-agarose (Figura 1a e 1b, respectivamente). Um aumento da área eletroativa e da transferência de elétrons foi observado após a deposição do filme. Este se mostrou bastante estável quando submetido a 20 voltametrias cíclicas sucessivas (Figura 1c).



**Figura. 1** Voltamogramas cíclicos do (a) E Au limpo, (b) modificado com o filme de NTCs-agarose e (c) estabilidade do filme após 20 ciclos voltamétricos.

A imobilização do antígeno *rLc* e a formação do imunocomplexo com os anticorpos do soro canino sobre o filme de NTCs-agarose pode ser analisado na Figura 2. Uma redução proporcional dos picos redox nos voltamogramas entre as etapas de imobilização e interação antígeno-anticorpo foi observada. Estes dados demonstram a formação de uma

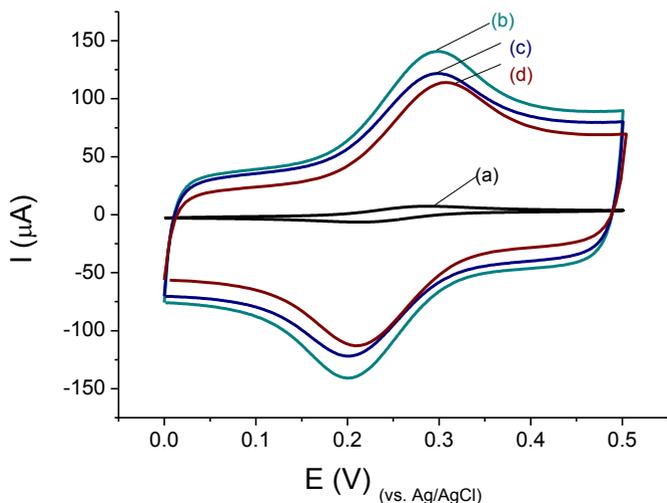
camada isolante entre as etapas, devido a sua natureza isolante das moléculas biológicas envolvidas no processo. A interação do antígeno *rLc* com o anticorpos do soro canino diluído (1:200) formando imunocomplexos pode ser evidenciada através da redução dos picos redox.



**Figura 2.** Voltamogramas cíclicos das etapas do imunossensor: (a) EAu limpo, (b) EAu/NTCs-agarose, (c) EAu/NTCs-agarose/*rLc*, (d) EAu/NTCs-agarose/*rLc*/glicina e (e) EAu/NTCs-agarose/*rLc*/glicina/ soro (1:200).

A estabilidade e reprodutibilidade do filme de NTCs-agarore sobre o EAu foi avaliado. Para o estudo, o EAu/NTCs-agarore/*rLc*/glicina incubado com soro canino diluído foi submetido a um período de incubação em água destilada durante 72 h após a incubação prévia do soro e registro eletroquímico. A Figura 3 mostra que a degradabilidade

do filme é mínima, levando-se em consideração o período em que eletrodo permaneceu mergulhado em água destilada.



**Figura 3.** Voltamogramas cíclicos da estabilidade e reprodutibilidade do filme nanoestruturado para as amostras de soro canino: (a) EAu limpo, (b) EAu/NTCs-agarose/rLc/glicina, (c) EAu/NTCs-agarose/rLc/glicina/soro e (d) EAu/NTCs-agarose/rLc/glicin/ soro após 72 h.

## CONCLUSÃO

A agarose mostrou-se como um material de fácil utilização e com boa afinidade com os NTCs, além de não apresentar inicialmente, nenhum tipo de interação inespecífica com as biomoléculas utilizadas neste ensaio. Os NTCs favoreceram a transferência de carga, além de aumentar a área eletroativa da superfície sensora, viabilizando a

imobilização covalente do antígeno recombinante de *rLc* e a interação com os soros caninos diluídos. Estes resultados mostram-se como potenciais para desenvolvimento de imunossensores e aplicação como métodos diagnósticos de baixo custo, passíveis de miniaturização e de uso prático na detecção seletiva da *Leishmania chagasi*.

## REFERÊNCIAS

ARVIZU-HIGUERA, D. L.; RODRÍGUEZ-MONTESINOS, Y. E.; MURILLO-ÁLVAREZ, J. I.; MUÑOZ-OCHOA, M. HERNÁNDEZ-CARMONA, G. **Effect of alkali treatment time and extraction time on Agar from *Glacilaria vermiculophylla***. Journal of Applied Physiology. Vol. 20, pp. 515-519. 2007.

GRIESHABER, D.; MACKENZIE, R.; VÖRÖS, J.; REIMHULT, E. **Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures**. Sensors, 8, 1400-1458, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE- Secretaria de Vigilância em Saúde- **Leishmaniose Visceral**. Disponível em <http://portal.saude.gov.br>, acesso em 15/03/2013 as 18:30.

MURANO, E.; BRANDOLIN, C.; ZANETTI, F.; PAOLETTI, S.; RIZZO, R. **Characterization of the Agar fraction extracted from *Gracilaria dura* (*Gracilariales, Rhodophyta***. Hydrobiologia. Vol. 204/205, PP. 567 – 571, 1990.

SOUZA, A. M. M. **Aplicação de biopolímeros extraídos de algas na produção de embalagens biodegradáveis**. Dissertação de mestrado em Engenharia Química – Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2008.

Decher, G.; Hong, J. D.; **Makromol.Chem.** Macromol. Symp. 46, 321, 1991.

---

## COMPARISON OF TRACE ELEMENTS CONCENTRATION AMONG SEX OF *Litopenaeus vannamei*

Araújo, L.N.C.P.<sup>(1)</sup>; Silva, E.<sup>(1)</sup>; Oliveira, H.M.<sup>(1)</sup>; Viana, Z.C.V.<sup>(2)</sup>; Santos, V.L.C.<sup>(2)</sup> [edevaldos@yahoo.com.br](mailto:edevaldos@yahoo.com.br)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos – PB, Brasil.

<sup>(2)</sup>Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, Brasil. CNPq, FAPESB.

## ABSTRACT

The consumption of shellfish has been growing rapidly due to the expansion of shrimp culture. Most shrimp farms are located near the sea coast, being susceptible to chemical pollutants such as trace elements. In this paper we present a comparative study of the distribution of Zn, Mn, Cu, Fe in tissues (muscle, viscera and exoskeleton) of *Litopenaeus vannamei* (male and female) from shrimp farms located around the Todos os Santos Bay, Salvador - Bahia. Shrimp samples (*Litopenaeus vannamei*) were collected in two shrimp farms sites located around in the Todos os Santos Bay, Bahia – Brazil: Salina das Margaridas – SAL and Santo Amaro – SAM. Composite sub-samples of muscle tissue, exoskeleton and viscera from 76 to 120 individuals were used for analysis. An inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP OES) with axially viewed configuration was employed for determinations of trace elements (Cu, Zn, Mn, Fe). Significant differences between males and females from the same locality were not observed only between different locations (Mn and Fe). The trace elements distribution in tissues were, in descending order: Zn: viscera > muscle > exoskeleton; Fe: exoskeleton > muscle; Mn and Cu: viscera > exoskeleton > muscle. For human consumption, the values found for zinc and copper concentration in all shrimps are below the tolerance limit set by ANVISA.

**Keywords:** Farm shrimp, seafood, ICP OES

## RESUMO

O consumo de crustáceos vem crescendo rapidamente, graças à expansão da cultura de camarão. A maioria das fazendas de camarões é localizada próxima da costa marítima, sendo suscetíveis a poluentes químicos tais como

elementos traço. Nesse trabalho foi realizado um estudo comparativo da distribuição de Zn, Mn, Cu, Fe nos tecidos (músculo, víscera e exoesqueleto) de *Litopenaeus vannamei*, macho e fêmea, de carcinoculturas localizadas em torno da Baía de Todos os Santos, Salvador Bahia. As amostras de camarão (*Litopenaeus vannamei*) foram coletadas em duas carcinoculturas localizadas em torno da Baía de Todos os Santos, Bahia - Brasil: Salina das Margaridas - SAL e Santo Amaro - SAM. As subamostras de músculo, exoesqueleto e vísceras de 76 a 120 indivíduos foram usadas para análises. Para a determinação dos elementos traço (Cu, Zn, Mn, Fe) foi utilizado o Espectrômetro de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) com vista axial. Significantes diferenças entre machos e fêmeas da mesma localidade não foram observadas, apenas entre machos e fêmeas entre localidades diferentes para o manganês e o ferro. A distribuição dos elementos nos tecidos foram, em ordem decrescente: Zn: víscera > músculo > exoesqueleto; Fe: exoesqueleto > músculo; Mn and Cu: víscera > exoesqueleto > músculo. Para consumo humano, os valores encontrados para as concentrações de zinco e do cobre, em todos os camarões estão abaixo do limite tolerável pela ANVISA.

**Palavras-chave:** Carcinocultura, Frutos do Mar, ICP OES.

## INTRODUCTION

Over the past 20 years the growth of shrimp farms has increased, mainly in the Southeast and West Asia, and Latin America and other tropical regions (GRÄSLUND and BENGTON, 2001). The industry is a shrimp farm producing sector of great importance to many countries in Asia (GRÄSLUND, 2003). It is estimated that the global consumption of crayfish is around 1.5 kg/capita/year (FAO, 2004).

Shrimp farms are usually located near the coast and use seawater directly from the coastal area to use in shrimp farming (WU and CHEN, 2004). However, the coastal seawater is usually contaminated by

various kinds of chemical pollutants mainly by human activities. Among these chemical contaminants are trace elements.

These potential contaminants, although their origins are also natural sources, most of it are the result of human activities. Its accumulation in the aquatic environment may favor a probable bioaccumulation and biomagnification in organisms throughout the food chain of the aquatic ecosystem. The major anthropogenic sources are: industrial processes of minerals and metals, metals leaching of waste, solid waste and continental runoff, and animal and human excretion (MESTRINHO, 1998).

The metals in ionic forms, free or associated with other chemical species, have important roles in biological systems of organisms. Some of them are considered essential because of their disabilities cause diseases to the body, which can be minimized or extinguished with supplemental feeding element.

Elements such as copper (Cu), zinc (Zn), manganese (Mn) and iron (Fe) are considered essential elements for both crustaceans and to the man, participating in many metabolic reactions in the body. However, its excess can cause damage and/or diseases that may be incompatible with the life of the animal in the environment and to man as a consumer in the food chain.

This paper presents a comparative study of the distribution of metals in different tissues and in both sexes of the species cultivated vannamei

shrimp *Litopenaeus carciniculturas* into two distinct regions around the Baía de Todos os Santos (BTS) in Salvador - Bahia. In addition, levels of trace elements concentrations were compared with acceptable limits for human consumption in Brasil.

## **MATERIAL AND METHODS**

Shrimp samples (*Litopenaeus vannamei*) were collected directly from the two sites: (Salina das Margaridas – SAL, Santo Amaro – SAM). They were caught in shrimp farms located around in the Todos os Santos Bay (Bahia – Brazil), between December 2005 and January 2006. Composite sub-samples of muscle tissue, exoskeleton and viscera from 76 to 120 individuals were used for analysis. The samples were stored individually in sterile polyethylene vials at 20 °C, freeze-dried and homogenized. They were collected using a non-metallic net. Each white shrimp weighed 19 – 24 g, all market size. The humidity percentage was  $77 \pm 1\%$ .

Masses of 200 mg of samples were directly introduced into PTFE closed vessels with volumes of 23 mL. A volume of 2.0 mL of ultrapure nitric acid solutions was added to each vessel. Then, a volume of 2.0 mL of H<sub>2</sub>O was also added to each reaction vessel. Parr bombs were sealed and put in a muffle furnace set at  $110 \pm 10^{\circ}\text{C}$  and remained at this temperature during 12 h. After cooling down at room temperature, solutions were transferred to glass volumetric flasks and volumes were

made up to 10 mL with water. All the materials used in the experiments were previously washed in ultra pure water, and a stainless steel knife was used to cut the tissues.

The precision and accuracy of the method employed for the determinations were validated by analysis in triplicate of certified reference materials (CRM) NIST 1566b Oyster Tissue, using the same analytical procedure. The recovery rates were: Cu (90%); Zn (96%); Mn (89%) e Fe (102%). The limit of detection were ( $\mu\text{g g}^{-1}/\text{dry weight}$ ): Cu (0.013); Zn (0.003); Mn (0,0003) e Fe (0.007). Analytical blanks were run in the same way as the samples and the concentrations were determined using the standard solutions prepared in the same acid matrix.

All reagents were of analytical grade unless otherwise stated. Ultrapure water (Milli-Q<sup>®</sup>, Millipore, USA) with conductivity lower than  $18.2 \text{ m}\Omega \text{ cm}^{-1}$  was used throughout. The multielement reference solutions were prepared daily from  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  stock solutions of each element (Titrisol<sup>®</sup>, Merck, Germany).

Each reported result was the average value of the three analyses. The results were offered as means $\pm$ SEM. One-way ANOVA was utilized to compare the data by sex and by tissue. Results were considered significant at  $<0.05$ .

## **RESULTS AND DISCUSSION**

The concentrations of trace elements (Zn, Mn, Cu, and Fe) are in Table 1. In general, there were significant variations ( $p < 0.05$ ) between the tissues for all elements determined. In general, their distribution in tissues were comparable with those reported in other regions of the world, being in descending order: Zn: viscera > muscle > exoskeleton; Fe: exoskeleton > muscle; Mn and Cu: viscera > exoskeleton > muscle. Significant differences between males and females from the same locality were not observed only between different locations (Mn and Fe).

When shrimp is exposed to excess zinc in a polluted environment, the rate of concentration of that component increases in its body, but it has Organic regulating the excess is eliminated by excretion. Commonly, the concentration of zinc in the body of this crustacean is about 50-120  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ . Values above 200  $\text{mg}\ \text{g}^{-1}$  would lead to his death (RAINBOW and MOORE, 1986). The presence of zinc in a higher concentration in the exoskeleton of samples is related probably to the availability of the metal substrate being adsorbed by the exoskeleton of the animal.

The high concentration of copper in the organs may be due to adsorption material adhered on the gills instead of passing into the metabolic pathway metal (SZEFER et al. 1,990; BAMBANG et al, 1995).

Iron levels, were generally larger in the exoskeleton to the muscle. The wide variation between the concentrations of different locations can

also be attributed to the difference in chemical composition influences of sediment and pore water of the sea and their salinity waters where shrimp were cultured (SADIQ et al, 1992).

**Table 1.** Concentrations ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight) of trace elements in shrimp tissues from the Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil.

	<b>Tissue</b>	<b>SAL Female</b>	<b>SAL Male</b>	<b>SAM Female</b>	<b>SAM Male</b>
Zn	Muscle	44.0 ± 0.9	40.8 ± 0.6	34.5 ± 1.2	36.6 ± 0.2
	Viscera	25.8 ± 4.1	28.0 ± 0.6	25.5 ± 0.6	20.3 ± 0.3
	Exoskeleton	57.8 ± 2.6	53.7 ± 0.6	53.2 ± 0.6	52.2 ± 0.5
Mn	Muscle	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.01	2.30 ± 0.01	2.10 ± 0.01
	Viscera	1.30 ± 0.1	1.00 ± 0.01	ND	ND
	Exoskeleton	0.30 ± 0.01	0.40 ± 0.01	9.80 ± 0.01	9.80 ± 0.30
Cu	Muscle	30.1 ± 0.1	32.6 ± 0.4	28.7 ± 0.4	37.8 ± 0.2
	Viscera	111.0 ± 4.0	118.0 ± 1.1	120.0 ± 4.0	104.0 ± 1.1
	Exoskeleton	88.2 ± 8.9	77.6 ± 1.1	65.2 ± 1.1	70.2 ± 0.7
Fe	Muscle	94.2 ± 0.6	86.0 ± 0.6	69.5 ± 0.6	63.4 ± 0.4
	Viscera	112.0 ± 3.0	96.9 ± 0.6	60.7 ± 0.6	65.8 ± 5.6
	Exoskeleton	111.0 ± 4.0	118.0 ± 0.6	66.5 ± 0.6	71.9 ± 2.1

Farm shrimp: SAL - Salina das Margaridas; SAM - Santo Amaro. ND – Not determined.

The variations of the iron and manganese concentrations between locations cultivation was significant. This variation is related to the

variation in water salinity between the shrimp farms, as shown by iron, with the low salt content tend to accumulate higher concentration of manganese in the tissues (MÉNDEZ et al, 1998) mainly in calcified tissues (EISLER, 1987).

According to the Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1965), the elements, zinc and copper, had values below the maximum tolerable and is adequate for human consumption. ANVISA does not establish threshold values for intake of iron and manganese in foods.

## **CONCLUSION**

There were significant variations ( $p < 0.05$ ) between the tissues for all elements determined.

Significant differences between males and females from the same locality were not observed only between different locations (Mn and Fe).

The trace elements distribution in tissues were, in descending order: Zn: viscera > muscle > exoskeleton; Fe: exoskeleton > muscle; Mn and Cu: viscera > exoskeleton > muscle.

For human consumption, the values found for zinc and copper concentration in all shrimps are below the tolerance limit set by ANVISA.

## REFERENCES

ANVISA - Agência de Vigilância Sanitária -, Brasil. **Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965**. Acessado em 28 de maio de 2013. Disponível online em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=22>

BAMBANG, Y., THUET, P., CHARMANTIER-DAURES, M., TRILLES, J.P., CHARMANTIER, G. **Effect of copper on survival and osmoregulation of various developmental stage of the shrimp *Penaeus japonicus* bate (Crustacea, Decapoda)**. Aquatic Toxicology. 1995; 33: 125-139.

EISLER, R. **Polycyclic aromatic hydrocarbon hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review**. U.S. Fish and Wildlife Service. Biological Report 85: 81p.,1987.

FAO – Food and Drug Administration. **Yearbooks of Fishery Statistics Summary tables**. Acessado em 28 de maio de 2013. Disponível on line em: <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/summary/default.htm>.

GRÄSLUND, S., BENGTSON, B. **Chemical and biological products used in southest Asian shrimp farming, and their potential impact on the environment – a review**. The Science of the Total Environment 2001; 280: 93-131.

GRÄSLUND, S., HOLMSTROM, K., WAHLSTROM, A. **A field survey of chemicals and biological products used in shrimp farm**. Marine Pollution Bulletin. 2003; 46: 81-90.

MENDÉZ, L. ACOSTA, A., RACOTTA, I. **Mineral concentrations in muscle and hepatopâncreas of newly caught wild and hatchery-exhausted spawners of pacific white shrimp, *Penaeus vannamei***. Journal Applied Aquiculture. 1998; 4: 17-26.

MESTRINHO, S. **Estudo do comportamento Geoquímico dos Metais Pesados nos Sedimentos da região estuarina do Rio Paraguaçu – Bahia: Recursos minerais e Hidrogeologia**. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Hidrogeologia). Instituto de Geociências. USP, São Paulo. 1998.

RAINBOW, P. S., MOORE, P. G. **Comparative metal analyses in amphipod crustaceans.** *Hydrobiologia*. 1986; 141: 273-289.

SADIQ, M., ZAIDI, T. H., HODA, A., MIAN, A. A. **Heavy metal of health significance in comonly consumed shrimps in the eastern province of Saudi Arabia.** 1995; 29, 313-319. *Journal Environmental Science and Health*.

SZEFER, P., SZEFER, K., SKWARZEC, B. **Distribution of trace metals in some representative fauna of the Southern Baltic.** *Marine Pollution Bulletin*. 1990; 21: 60-62.

WU, J.P., CHEN, H.C. **Effects of cadmium and zinc on oxigen consumption, ammonium excretion, and osmorregulation of whit shrimp (*Litopenaeus vannamei*).** *Chemosphere*. 2004; 57:1591-1598.

---

## **CRESCIMENTO DA FITO INVASORA *Cryptostegia madagascariensis* SUBMETIDA A ESTRESSE SALINO**

Sousa, L.A.<sup>(1)</sup>; Guimarães, L.L.<sup>(1)</sup>; Reis, A.T.<sup>(1)</sup>; Costa, I.S.C.<sup>(1)</sup>; Araújo, J.P.<sup>(1)</sup>;  
Dias, F.Y.E.C.<sup>(1)</sup>; Monteiro, C.C.<sup>(1)</sup>; Bonilla, O.H.<sup>(1)</sup>  
luan\_alencar\_sousa@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Ceará – UECE, Campus do Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil,  
Agência de Desenvolvimento Econômico do Estado Ceará - (ADECE)

### **RESUMO**

A bioinvasão é uma problemática que vem se agravando no nordeste brasileiro. No estado do Ceará, uma espécie denominada *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE tem ameaçado a principal fonte de renda de mais de quarenta mil famílias, a carnaúba, *Copernicia prunifera*. As matas de carnaúba estão sendo devastadas devido ao ataque da *C. madagascariensis*, trazida da ilha de Madagascar para o Brasil para servir como planta ornamental. É uma planta muito agressiva que mata a carnaúba por sombreamento e inibição da fotossíntese, causando prejuízo econômico a cadeia produtiva. Para tentar controlar a população de *C. madagascariensis* foi

testada sua resistência ao estresse salino. As plantas foram medidas semanalmente e suas alturas foram usadas para calcular a taxa de crescimento relativo (TCR) e a taxa de crescimento absoluto (TCA). Todas as plantas sobreviveram aos quatro tratamentos, comprovando que a *C. madagascariensis* apresenta mecanismos para suportar a salinidade, sendo necessários mais testes para comprovar este fato.

**Palavras-chave:** Unha-do-cão, Taxa de Crescimento, Bioinvasão.

## INTRODUÇÃO

À medida que espécies exóticas introduzidas pelo homem conseguem formar populações autossustentáveis passam a ser chamadas de espécies estabelecidas. Algumas das espécies estabelecidas tornam-se aptas a avançar sobre ambientes naturais e alterados, transformando-se em espécies exóticas invasoras. Zalba in Matthews (2005). Espécies exóticas invasoras exibem alta capacidade de competição e adaptação. A competição com espécies nativas é beneficiada pelo fato da espécie invasora não encontrar no novo ambiente os predadores, parasitas e competidores que possuía em sua área de origem. Ziller (2003).

Ziller (2001) comenta que a bioinvasão tem sido a segunda maior responsável pela perda e diminuição de espécies nativas em ambientes naturais, perdendo apenas para destruição de ecossistemas por ações realizadas pelo homem. Em unidades de conservação, a problemática da invasão de espécies tem sido a principal ameaça à manutenção da biodiversidade. Segundo R. D. Zenni & S. R. Ziller (2011) alguns exemplos de plantas invasoras encontradas no Brasil são *Urochloa*

*maxima* (Jacq.) RD. Webster, *Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf e a *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE.

A *Cryptostegia madagascariensis* é uma planta encontrada originalmente na ilha de Madagascar, na África, e se destaca principalmente pelo tamanho dos frutos e o formato da corona. Ela é conhecida popularmente como unha-do-diabo, unha-do-cão, unha-de-moça, cipó-de-sapo, viuvinha e boca-de-leão. É uma planta arbustiva e trepadeira oportunista, desenvolvendo ramos que podem alcançar alturas consideráveis, apropriando-se de outras plantas como suporte (VIEIRA et al., 2004). Segundo a mesma autora, os indivíduos de *C. madagascariensis* possuem inflorescências cimas dicasiais, flores com cinco sépalas verdes, cinco pétalas róseas e cinco elementos de corona. Os frutos são do tipo seco, deiscente, com uma deiscência longitudinal e as sementes comosas, tendo o vento como o principal dispersor (BARROSO et al., 1999 apud VIEIRA, 2001). Lorenzi e Souza (1999) citaram o cultivo de *Cryptostegia grandiflora* no Brasil como ornamental e mencionaram que ela tem sido propagada por meio de sementes e com dificuldade por estacas.

No Nordeste brasileiro temos uma situação preocupante, pois as matas de carnaúbas (*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore) tem sido atacadas por *C. madagascariensis* que é uma planta bastante agressiva na ocupação dos espaços, mata as demais espécies por asfixia e sombreamento, e pode dizimar grandes extensões de carnaubais quando

não controlada. O aumento de biomassa provocado pela *C. madagascariensis* está associada a um decréscimo de água nos ambientes afetados, devido ao aumento de evapotranspiração. Considerando o caráter semiárido em que vêm ocorrendo essa bioinvasão, a presença dessa espécie exótica invasora no Nordeste representa uma condição desastrosa à manutenção dos recursos hídricos. O trabalho tem como objetivo realizar um teste de tolerância salina (NaCl) da *Cryptostegia madagascariensis*.

## **MATERIAIS E METODOS**

O experimento foi conduzido no viveiro da área experimental do Laboratório de Ecologia da Universidade Estadual do Ceará - UECE (campus do Itaperi) em Fortaleza-Ce, na quadra chuvosa, que compreende os meses de fevereiro a maio. Para testar a tolerância salina da *Cryptostegia madagascariensis* foram coletadas sementes maduras que foram plantadas em uma semeadeira de isopor preenchidas com vermiculita, sendo dado um tempo de vinte dias para que as sementes germinassem. Os vasos e os pratos foram lavados, etiquetados e preenchidos com um dos três substratos, o qual teve um delineamento inteiramente casualizado com esquema fatorial 5 x 3, sendo o primeiro fator correspondente aos tratamentos salinos (0 mM, 5 mM, 10 mM e 15 mM e 20 mM) e o segundo aos três tipos de substratos (areia, vermiculita e adubo), com 10 repetições. No dia da transferência as

plantas foram colocadas nos vasos de trezentos gramas e colocadas primeiramente abaixo de um telhado durante um período de três dias, para se adaptarem ao novo ambiente. Durante esses dias as plantas foram regadas com água. Após três dias os vasos foram transferidos para um canteiro durante o período da tarde para que as plantas não fossem expostas a alta radiação solar do horário do meio-dia. No quarto dia as plantas começaram a ser regadas com solução nutritiva seguindo o protocolo de Breckle (1976) adicionado de NaCl. Durante o período de trinta dias as plantas foram regadas com sua concentração de NaCl correspondente que estava indicada na etiqueta, sendo realizada uma medição de todas as plantas a cada seis dias com o auxílio de uma régua milimetrada de trinta centímetros. Após os trinta dias todas as alturas foram tabeladas no Microsoft Office Excel 2007 e com elas foram calculados a Taxa de Crescimento Absoluto e a Taxa de Crescimento Relativo (TCA e TCR respectivamente) de acordo com a formula de Samuelson et al. (1992) e Salim (1989).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Podemos observar nas Figuras 1 a 6 que todas as plantas de *C. madagascariensis* sobreviveram em todos os cinco níveis dos tratamentos de NaCl, e que a planta deve apresentar mecanismos para

suportar o estresse causado pelo cloreto de sódio. Observamos que nas plantas cultivadas em vermiculita, onde o maior TCR foi de 0,050 cm/cm/dia, tivemos um crescimento 22% maior que nas plantas cultivadas na areia (TCR 0,039 cm/cm/dia). As plantas que tiveram o menor resultado foram as de areia na concentração de 0 mM (TCR 0,033 cm/cm/dia) que foi 15,4% inferior em comparação com o tratamento na areia na concentração de 15 mM e foi 34% inferior se comparado ao tratamento de 5 mM na vermiculita. Segundo Reis e Muller (1979) a TCR expressa o incremento na massa de matéria seca, por unidade de peso inicial, em um intervalo de tempo. A *C. madagascariensis* apresenta algum processo de ajuste osmótico, visto que as quantidades de NaCl testadas não foram inversamente proporcionais ao crescimento da planta, uma vez que não houve uma variação significativa nas médias dos comprimentos das plantas no experimento, pois segundo Läuchli & Grattan (2007) a salinidade possui dois componentes que são responsáveis pelo estresse: um osmótico e outro iônico, sendo este último responsável pelo balanceamento nutritivo e pela diminuição dos efeitos tóxicos dos íons no vegetal. Uma justificativa para esse fenômeno pode ser o fato de que as concentrações de 5, 10, 15, 20 mM de NaCl sejam muito baixas para afetar significativamente o crescimento da *C. madagascariensis*.



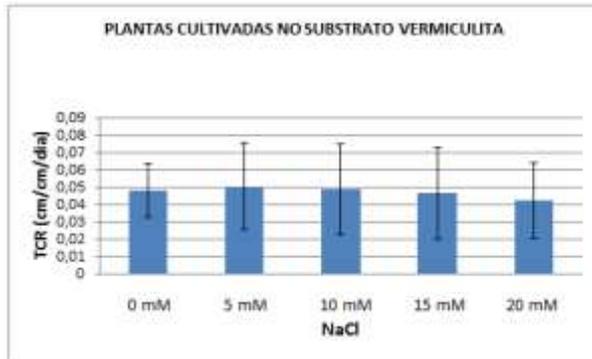
**Figura 1.** Taxa de Crescimento Relativo (TCR) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução nutritiva cultivadas em areia, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.

Observamos na figura 01 o TCR das plantas cultivadas em areia mostrando que seus valores foram em média 15% inferiores quando comparados com os TCRs dos outros tratamentos (Figuras 2 e 3) em adubo e vermiculita respectivamente.



**Figura 2.** Taxa de Crescimento Relativo (TCR) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução

nutritiva cultivadas em adubo, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.



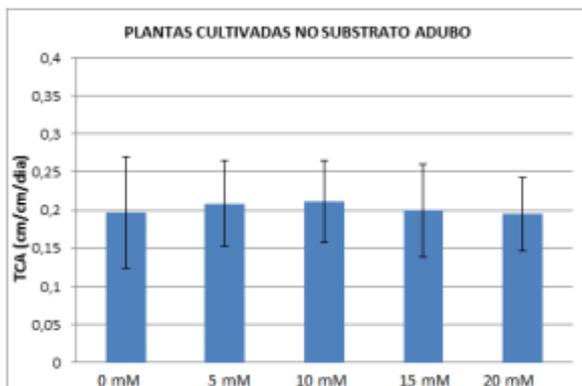
**Figura 3.** Taxa de Crescimento Relativo (TCR) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução nutritiva cultivadas em vermiculita, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.

As demais mostram a taxa de crescimento absoluto. Segundo Benincasa (2004), a TCA indica variação ou incremento entre duas amostragens sucessivas, isto é, indica a velocidade de crescimento ( $\text{g dia}^{-1}$  ou semana). A TCA pode ser usada para se ter uma ideia da velocidade média de crescimento ao longo do período de observação em valores médios.

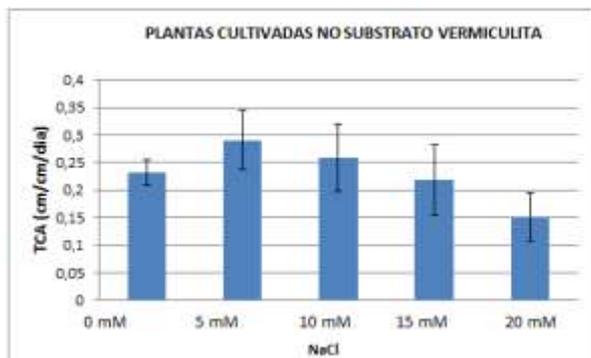
Observamos que se comparamos os valores de TCA da figura 04 com os valores das figuras 05 e 06, o valor médio do TCA da areia é 60% menor que os outros tratamentos.



**Figura 4.** Taxa de Crescimento Absoluto (TCA) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução nutritiva cultivadas em areia, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.



**Figura 5.** Taxa de Crescimento Absoluto (TCA) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução nutritiva cultivadas em adubo, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.



**Figura 6.** Taxa de Crescimento Absoluto (TCA) de *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE submetida a cinco concentrações de NaCl na solução nutritiva cultivadas em vermiculita, em viveiro. Com  $n = 7$  e  $t = 30$  dias. Período: Abril a Maio no ano de 2013.

## CONCLUSÃO

As plantas sobreviveram às quatro concentrações de NaCl. Os maiores crescimentos observados se deram no substrato de vermiculita, seguido do adubo e da areia respectivamente. É necessário realizar novos testes com salinidades maiores que as testadas para verificar a máxima tolerância salina desta planta invasora.

## REFERENCIAS

- BENICASA, M. M. P. **Análise de Crescimento de Plantas (noções básicas)**. Jaboticabal. FUNEP. 2004. 42p.
- BRECKLE, S. W. 1976. Zur Ökologie und zu den Mineralstoffverhältnissen absalzender und nicht absalzender Xerohalophyten. **Dissertationes Botanicae**, 35. J. Cramer Vaduz.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1999. 1120 p.

RAFAEL DUDEQUE ZENNI and SÍLVIA RENATE ZILLER, An overview of invasive plants in Brazil *Revista Brasil. Bot.*, V.34, n.3, p.431-446, jul.-set. 2011.

REIS, G. G.; MULLER, M. W. **Análise de crescimento de plantas - mensuração do crescimento**. Belém, CPATU, 1978. 35p.

SAMUELSON, M.E.; ELIASON, L. & LARSON, C.M. (1992) Nitrate - **regulated growth and cytokinin responses in seminal roots of barley**. *Plant Physiology*, 98: 309-315.

VIEIRA, M. F. et al. Biologia reprodutiva de *Cryptostegia madagascariensis* Bojer Ex Decne. (Periplocoideae, Apocynaceae), espécie ornamental e exótica no Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, 2004.

VIEIRA, R. D; CARVALHO, N. M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: **FUNEP/UNESP – FCAVJ**, 1994. 164p.

ZALBA, S.M. Adaptive management of biological invasions: a tool for reducing uncertainty and improving diagnosis and effectiveness of control. **XIX Meeting of the Society for Conservation Biology**. Brasília, Brasil, 2005.

ZILLER, S. R.; GALVÃO, F. A. Degradação da Estepe Gramíneo-lenhosa no Paraná por Contaminação Biológica de *Pinus elliotti* e *P. Taeda*. **Revista Floresta**, Paraná, v. 32, n. 1, p. 41-47. 2002.

ZILLER, S. R. Os processos de degradação ambiental originados por plantas exóticas invasoras. 2001a. Disponível em: <<http://www.institutihorus.org.br/Ciência%20Hoje.pdf>>. Acesso em: 23 abr. 2008.

---

## **CRESCIMENTO, ESPORULAÇÃO E GERMINAÇÃO DE *Fusarium lateritium* FRENTE AO EXTRATO AQUOSO DE *Caesalpinia pyramidalis***

Santos, A.C.S.<sup>(1)</sup>; Oliveira, R.L.S.<sup>(2)</sup>; Barbosa, L.F.S.<sup>(1)</sup>; Costa, A.F.<sup>(2)</sup>; Tiago, P.V.

<sup>(1)</sup>; Oliveira, N.T.<sup>(1)</sup> ana.carla.bio@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, CNPq.

<sup>(2)</sup>Instituto Agrônômico de Pernambuco - IPA, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

Graças a adaptação às regiões secas, características nutricionais e boa aceitabilidade pelos animais, a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*), cactácea de origem mexicana, tornou-se no Nordeste Brasileiro uma das principais espécies destinadas a alimentação dos rebanhos bovinos, caprinos, ovinos. A produtividade da cultura, contudo, tem sido ameaçada pelo ataque de pragas e patógenos, destacando-se como principal praga da palma forrageira, a cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae*). Tendo em vista os danos que cochonilha do carmim tem causado, é necessário encontrar métodos que promovam a redução e o controle da praga. A utilização de extratos vegetais, controle biológico através de fungos entomopatogênicos e associações destes, podem ser alternativas a serem estudadas, uma vez que têm se demonstrado eficientes e oferecem menos riscos à saúde das pessoas e dos ecossistemas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do extrato aquoso de *Caesalpinia pyramidalis* sobre o crescimento vegetativo, esporulação e germinação de isolados de *Fusarium lateritium*, visando a possibilidade de empregá-los juntos no controle da cochonilha do carmim em palma forrageira. Os resultados mostraram que os isolados URM6776 e URM6779 veiculados nas concentrações de 5% e 10%, respectivamente, são os mais indicados para estudo de patogenicidade sobre *D. opuntiae*.

**Palavras-chave:** Fungos Entomopatogênicos, Insetos-praga, Palma Forrageira.

## INTRODUÇÃO

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*), planta de origem mexicana, é hoje uma cactácea incorporada à paisagem do Nordeste semiárido brasileiro, onde há a maior área cultivada do mundo. É uma das principais espécies destinadas à alimentação dos rebanhos bovinos,

caprinos e ovinos, graças à adaptação da planta a regiões secas (Lopes et al., 2009), desempenhando, assim, um papel importante para o desenvolvimento das regiões semiáridas, sobretudo pela reduzida disponibilidade hídrica desses locais que é um fator limitante na capacidade de produção de forragem (Nascimento, 2008).

Dentre as pragas da palma forrageira, a cochonilha do carmim (*Dactylopius opuntiae* Cockerell Hemiptera: Dactylopiidae), vem sendo considerada a mais danosa. O contínuo processo de alimentação pela praga, aliado ao aumento da infestação, provoca o amarelecimento, seca e morte das raquetes em curto espaço de tempo. Sob as condições do Sertão, a dispersão rápida do inseto é favorecida pela ausência de inimigos naturais e pelo clima quente que estimula vários ciclos reprodutivos durante o ano. Em alguns estados do Nordeste, sua explosão populacional tem provocado até 100% de morte das plantas (Lopes et al., 2009, Chiacchio, 2008), causando consequências socioeconômicas gravíssimas em comunidades agrícolas onde a atividade leiteira é dependente do cultivo de palma (Lopes et al., 2009).

Tendo em vista o prejuízo que a cochonilha do carmim tem causado à cultura da palma, é necessário investigar e investir em métodos que promovam o controle da praga. O controle baseado em produtos químicos sintéticos causa danos à saúde do aplicador, do consumidor e dos ecossistemas, uma vez que contamina o ambiente e seus recursos, e elimina organismos que não são pragas. A utilização de extratos vegetais, controle biológico através de fungos entomopatogênicos e

associações destes, podem ser alternativas a serem estudadas, uma vez que têm se demonstrado eficientes e oferecem menos riscos à saúde das pessoas e dos ecossistemas.

A utilização de extratos vegetais para o controle de insetos é um método de baixo custo e ao alcance do agricultor. Além de ter ação seletiva, não apresenta efeito residual prolongado, decompõe-se rapidamente e tem eficiência no controle de várias espécies de insetos-praga (Brechelt, 2004, Brito et al., 2008). O controle de insetos-praga utilizando fungos, além de ser eficiente, pode ser empregado isoladamente ou integrado com outros métodos, como os inseticidas naturais de origem vegetal (Marques et al., 2004). A associação de extratos de origem vegetal com fungos entomopatogênicos pode aumentar a eficiência do controle biológico de pragas, reduzir custos e impactos ambientais. Sendo assim, estudos avaliando a compatibilidade de fungos com extratos botânicos são necessários, pois mostram o potencial de utilização conjunta de esporos fúngicos veiculados em extratos.

Estudos realizados por nosso grupo de pesquisa demonstraram que isolados de *Fusarium lateritium* foram eficientes no controle de *D. opuntiae* (dados não publicados). De acordo com o trabalho de Góes, et al, 2003, o extrato da folha de *Caesalpinia bracteosa* Tul. foi eficiente no controle de *Spodoptera frugiperda* Smith; nossos estudos indicaram que o extrato de *C. ferrea* Mart. ex Tul. também foi eficiente no controle da cochonilha do carmim (dados não publicados). A espécie *C. pyramidalis* Tul. ocorre na região do Semiárido de Pernambuco, sendo

de fácil acesso aos agricultores e por estes motivos surgiu o interesse em estudar o efeito de seu extrato frente a isolados de *F. lateritium* visando avaliar a possibilidade de empregá-los juntos no controle de *D. opuntiae*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Locais de coleta do material botânico e procedência dos isolados fúngicos***

As folhas de *C. pyramidalis* foram coletadas no interior do Estado de Pernambuco e trazidas para o laboratório de Fungos Fitopatogênicos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para a preparação do extrato.

Os isolados de *F. lateritium* foram obtidos de adultos de *D. opuntiae* coletados em diferentes municípios de Pernambuco e depositados na Micoteca URM com os números de acesso URM6776, URM6778, URM6779 e URM6782.

### ***Obtenção do extrato vegetal***

As folhas de catingueira (*C. pyramidalis*) foram lavadas em água corrente e colocadas em solução de hipoclorito de sódio a 10% por 20 minutos, seguido de lavagem em água destilada para desinfestação e repouso sobre papel absorvente para a redução do excesso de água (Celoto et al., 2008). Após, o material foi seco em estufa e triturado, e em seguida suspenso em água destilada, em uma concentração de 30%, permanecendo em repouso por 48h e filtrado. O extrato obtido foi

esterilizado em vapor fluente por 15 minutos e diluído para as concentrações 5%, 10% e 20%.

***Efeito do extrato de Caesalpinia pyramidalis sobre o crescimento vegetativo, a esporulação e a germinação de isolados de F. lateritium***

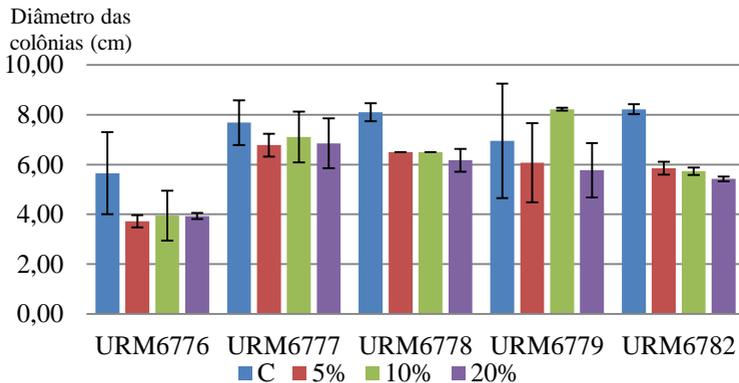
Para avaliar o crescimento vegetativo e a esporulação dos isolados fúngicos frente às concentrações do extrato, discos de 0,12 cm<sup>2</sup> contendo micélio dos fungos foram transferidos, para o centro de placas de Petri com BDA (controle) e com o meio BDA acrescido do extrato vegetal nas concentrações de 5%, 10% e 20%. Após sete dias de incubação a 28°C, foram medidos os diâmetros das colônias. Em seguida, blocos cilíndricos (0,28 cm<sup>2</sup>) retirados das colônias foram transferidos para tubos de ensaio contendo água destilada esterilizada + tween 80 (0,01%) e o número de conídios estimado em Câmara de Neubauer. Para a taxa de germinação, conídios que ficaram em contato com as concentrações de extrato durante três horas, foram semeados em meio de cultura e, após 14 horas de incubação, realizou-se a contagem de conídios germinados e não germinados, a fim de se verificar a porcentagem de germinação.

Para as variáveis (crescimento vegetativo e esporulação), o delineamento experimental é inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, sendo cinco isolados de *F. lateritium* e três concentrações do extrato vegetal, mais controle (ausência de extrato), com três repetições. Para a variável taxa de germinação, o delineamento consistiu

em 4 tratamentos (três concentrações do extrato vegetal, mais controle) e três repetições.

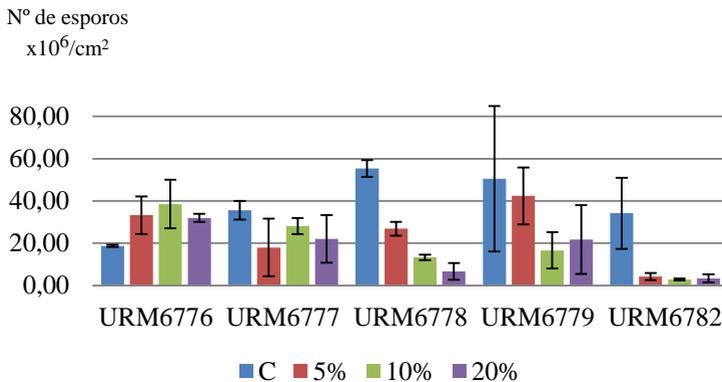
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao crescimento vegetativo, para todos os isolados foi observada uma interferência das diferentes concentrações do extrato de catigueira comparada ao controle (BDA) (Figura 1). O isolado URM6779 apresentou, na concentração de 10%, um crescimento vegetativo mais acentuado (8,22cm) em relação aos outros tratamentos, inclusive o controle (6,95cm). Os resultados corroboram os obtidos por Pramila et al. (1999), que verificaram que produtos comerciais obtidos de nim, usados nas concentrações de 10.000, 1.000 e 100ppm, tiveram efeitos diversos no crescimento de *Beauveria bassiana*, variando de inibitórios a estimulantes.



**Figura 1.** Crescimento vegetativo das colônias frente às concentrações do extrato.

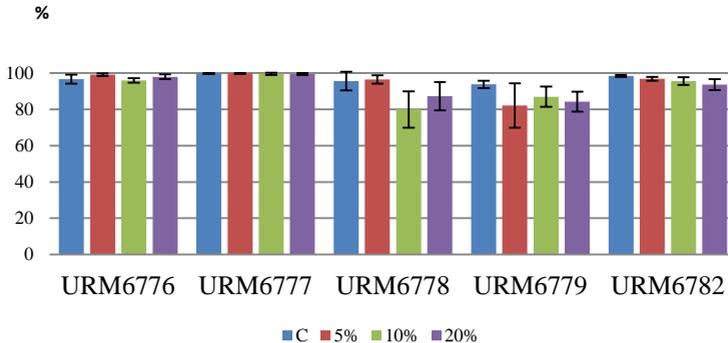
Com relação à esporulação (Figura 2) o isolado URM6776 apresentou uma maior quantidade de esporos na presença do extrato em relação ao controle, indicando uma possível estimulação da produção de esporos pelo extrato. Para a maioria dos isolados a concentração de esporos foi maior no tratamento controle. Essa diferença possivelmente não ocorreu para o isolado URM6779 que apresentou pequena diferença na taxa de esporulação nos meios BDA e BDA + extrato de catingueira 5%. A esporulação do isolado URM6782, comparado aos demais, foi bastante afetada pelos extratos de catingueira nas três concentrações estudadas.



**Figura 2.** Esporulação dos isolados fúngicos frente às concentrações do extrato.

Quanto a taxa de germinação (Figura 3), não observou-se interferência acentuada pelas concentrações do extrato, com destaque para os isolados URM6776, URM6777 e URM6782, que apresentaram ótimos índices de germinação inclusive na concentração de 20%, com os valores de  $99,50\% \pm 0,50$ ,  $98\% \pm 1,32$  e  $93,67 \pm 3,01$ , respectivamente.

O resultado vai ao encontro do que foi evidenciado no trabalho de Landa; Bohata (1999), no qual não constatou-se efeitos negativos no crescimento e germinação de conídios de *P. fumosoroseus* diante de dois inseticidas derivados de nim.



**Figura 3.** Taxa de germinação dos esporos fúngicos frente às concentrações do extrato.

Embora para a maioria dos isolados a produção de esporos tenha sido menor na presença do extrato, em relação ao controle, a viabilidade dos esporos não foi afetada, como constatado no presente trabalho e no trabalho de Marques et al.(2004), no qual o óleo de nim afetou o crescimento e a esporulação de *B. bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, mas não afetou a viabilidade dos conídios destes fungos. Santos; Lima (2011) também observaram que, sendo o crescimento vegetativo de colônias de *B. bassiana* prejudicado nos meios com extrato de nim, a esporulação e viabilidade dos conídios não foram prejudicadas.

## CONCLUSÃO

Com base no que foi observado nos ensaios de crescimento vegetativo, esporulação e germinação, os isolados URM6776 e URM6779 são os mais indicados para estudo de patogenicidade em associação ao extrato aquoso de catingueira nas concentrações de 5% e 10%, respectivamente, sobre *D. opuntiae*.

## REFERÊNCIAS

- BRECHELT, A. 2004. *Manejo Ecológico de Pragas e Doenças*. Santiago de Chile: Rede de Ação em Praguicidas e suas Alternativas para a América Latina. 33p.
- BRITO, C. H., LOPES, E. B., ALBUQUERQUE, I. C., BATISTA, J. L. 2008. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha-do-carmim na Paraíba. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 8(2): 1-5.
- CELOTO, M.I.B., PAPA, M.F.S., SACRAMENTO, L.V.S., CLEOTO, F.J. 2008. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletrotichum gloesporioides*, *Acta Scientiarum* 30:1-5.
- CHIACCHIO, F. P. B. 2008. Incidência da cochonilha do carmim em palma forrageira. *Bahia Agrícola* 8(2):12-14.
- GÓES, G.B., NERI, D.K.P., CHAVES, J.W.N., Maracajá, P.B. 2003. Efeito de extratos vegetais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Caatinga* 16: 47-49.
- LANDA, Z.; BOHATA, A. 1999. Compatibility of entomogenous fungus *Paecilomyces fumosoroseus* with natural insecticides based on azadirachtin and neem oil. *Collection of Scientific Papers – Series for Crop Sciences*, Ceske Budejovice, v.16, n.2, p.99-106.
- LOPES, E. B., ALBUQUERQUE, I. C., BRITO, C. H., BATISTA, J. L. 2009. Velocidade de Dispersão de *Dactylopius opuntiae* em Palma Gigante (*Opuntia ficus-indica*). *Revista Engenharia Ambiental* 6(2): 644-649.

MARQUES, R. P., MONTEIRO, A. C., PEREIRA, G. T. 2004. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Revista Ciência Rural*, Santa Maria 34(6): 1675-1680.

NASCIMENTO, J. P. 2008. Caracterização morfológica e estimativa da produção de *Opuntia ficus-indica*, mil sob diferentes arranjos populacionais e doses de fósforo no semi-árido da Paraíba, Brasil. Dissertação UFCG, Patos PB. 48p.

PRAMILA GUPTA, M.; PAUL, M.S.; SHARMA, S.N. 1999. Studies on compatibility of white muscardine fungus *Beauveria bassiana* with some neem products. *Indian Phytopathology*, New Delhi, v.52, n.3, p.278-280.

SANTOS, L. P.; LIMA, E. A. L. A. 2011. Ação inseticida de *Beauveria bassiana* e de extratos vegetais no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). In: Anais do XIX CONIC III CONITI VII JOIC.

---

## DENSIDADE DE DINOFLAGELADOS E TINTINÍDEOS NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO

Correia, E. P.<sup>(1)</sup>; Neumann-Leitão, S.<sup>(1)</sup>; Melo, P. A. M. C. (1),  
Costa, A. E. S. F.<sup>(1)</sup> erikacorreia2@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Oceanografia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

### RESUMO

Foram realizadas duas campanhas para amostrar dinoflagelados e tintinídeos, sendo a primeira (C1) em junho de 2010 e a segunda (C2) em setembro de 2011. Em cada campanha foram realizadas coletas diurnas e noturnas, em duas estações fixas, uma a Leste (E1) e outra a Oeste (E2) do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP). As coletas tiveram o objetivo de identificar os principais padrões de densidade das comunidades de dinoflagelados e tintinídeos no ASPSP. Foram encontrados seis gêneros de Dinoflagellata e nove de Tintinnina, todos cosmopolitas e/ou típicos de águas quentes. Os valores médios de densidade de C1 apresentaram uma tendência de manutenção da densidade desde a camada mais superficial até a mais profunda; enquanto em C2 foi possível constatar uma tendência de diminuição da camada superficial em direção à camada mais profunda. Foi possível constatar a ausência de um padrão de migração vertical diária para os dinoflagelados, devido aos valores médios de densidade no período noturno terem sido geralmente maiores do que no período diurno. A maior densidade de dinoflagelados em relação à densidade de tintinídeos deveu-se, provavelmente, à melhor utilização de um recurso disponível no ambiente para ambos.

**Palavras-chave:** Atlântico Tropical, Distribuição Vertical, Zooplâncton.

## INTRODUÇÃO

A região oceânica tropical do oceano Atlântico é dominada por águas quentes e oligotróficas da Corrente Sul Equatorial e correntes derivadas (EKAU e KNOPPERS, 1999). Esse caráter oligotrófico é explicado pela existência de uma termoclina permanente na região, a qual não permite que águas profundas ricas em nutrientes se misturem com águas superficiais (TRAVASSOS et al., 1999; MACEDO et al., 2009; FLORES-MONTES, 2003).

Neste tipo de região oligotrófica, os organismos fitoplanctônicos são os principais responsáveis por sustentar a produtividade primária (TIBURCIO, et al., 2011). Sabe-se que as comunidades de fitoplâncton tropical são ricas em pequenas células; em oceanos tropicais abertos e oligotróficos, os dinoflagelados, cocolitoforídeos e os pequenos flagelados nus dominam o fitoplâncton (LONGHURST e PAULY, 1987).

Os dinoflagelados são considerados bons indicadores biológicos das massas d'água e os melhores biomarcadores oceanográficos (KOENING e OLIVEIRA, 2009). Ainda, se destacam por sua riqueza de espécies, diversidade morfológica e radiação adaptativa ao colonizar os diversos habitats encontrados nos oceanos (TIBURCIO, et al., 2011).

Apesar dos dinoflagelados serem um grupo primariamente autotrófico, um número estimado de mais de 2000 espécies não possuem cloroplastos e são exclusivamente heterotróficas (HANSEN e CALADO, 1999; JACOBSON, 1999). Ainda, muitos dinoflagelados que contem cloroplastos são mixotróficos, onde uma parte de seus nutrientes é obtido de maneira heterotrófica, particularmente quando a concentração de nutrientes é baixa no ambiente (SMALLEY et al., 2003).

Dentro do grupo dos organismos heterotróficos, encontram-se os tintinídeos, que se alimentam primariamente de organismos autotróficos nanoplanctônicos. No microzooplâncton, os tintinídeos são geralmente

um grupo pequeno quando comparado aos outros grupos principais, como ciliados oligotríquidos e dinoflagelados heterotróficos (DOLAN et al., 1999).

Os tintinídeos desempenham um papel importante em teias alimentares marinhas pelágicas, agindo como um elo entre a fração microbiana e herbívoros maiores (PIERCE e TURNER, 1994; ALDER, 1999), servindo como presa para uma variedade de organismos zooplancônicos, como copépodas (STOECKER e CAPUZZO, 1990). Sua diversidade específica, abundância absoluta e sensibilidade ecológica contribuem para a utilização dos tintinídeos como traçadores de corrente oceânicas (BOLTOVSKOY, 1986). Além disso, é um consenso que esses organismos também são importantes traçadores de ressurgência e massas d'água (PIERCE e TURNER, 1993; KRSINIC e GRBEC, 2006).

Deste modo, o presente estudo visa identificar os principais padrões de densidade das comunidades de dinoflagelados e tintinídeos no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP), com base em variações horizontais e verticais, em diferentes momentos amostrais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizadas duas campanhas para amostrar os dinoflagelados e tintinídeos, sendo: C1 (02 de junho de 2010) e C2 (27 de setembro de 2011). Dentro de cada campanha foram realizadas coletas diurnas e

noturnas, em duas estações fixas, uma a Leste (E1) e outra a Oeste (E2) do ASPSP, ambas distando aproximadamente 640m do arquipélago.

Em cada uma das estações, foram feitos arrastos verticais com rede de plâncton com sistema de fechamento tipo Nansen, em camadas de 20 metros, até 100 m de profundidade, quais sejam: L1: 0-20 m, L2: 20-40 m, L3: 40-60 m, L4: 60-80 m e L5: 80-100 m. Todas as amostras foram preservadas em solução salina de formol a 4% e neutralizadas com tetraborato de sódio ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ).

Em laboratório, foram realizadas análises quali-quantitativas dos dinoflagelados e tintinídeos. As amostras foram fracionadas utilizando um quarteador do tipo MOTODA, em frações até 1/64, desde que um número mínimo de 300 indivíduos fosse analisado, incluindo outras frações do microzooplâncton. As amostras que não atingiram esse número mínimo total de indivíduos foram analisadas em sua totalidade. As amostras foram analisadas em microscópio composto utilizando uma lâmina do tipo Sedgwick-Rafter, sendo a identificação baseada na menor unidade taxonômica possível.

A densidade de organismos ( $\text{ind.m}^{-3}$ ) foi calculada para avaliar os aspectos estruturais das comunidades de dinoflagelados e tintinídeos.

A similaridade entre as amostras foi calculada a partir do índice de similaridade de Bray-Curtis. As análises com base neste índice foram realizadas a partir dos dados de densidade ( $\text{ind.m}^{-3}$ ), transformados para  $\log(x+1)$  e padronizados para o total. A partir disso, foi feita a análise

de similaridade (ANOSIM). Essas análises foram feitas utilizando o programa PRIMER 6 (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram encontrados seis gêneros de Dinoflagellata (*Ceratocorys* sp., *Ornithocercus* sp., *Ceratium* sp., *Dinophysis* sp., *Protoberidinium* sp. e *Pyrocystis* sp.) e nove de Tintinnina (*Rhabdonella* sp., *Rhabdonellopsis* sp., *Codonella* sp., *Codonellopsis* sp., *Dictyocysta* sp., *Epiplocytilis* sp., *Petalotricha* sp., *Undella* sp. e *Cyttarocylis* sp.), além de um taxa de cada grupo que foram identificados até a menor unidade taxonômica possível (Dinoflagellata sp1. e Tintinnina sp. 1).

Segundo Dolan e Pierce (2013), os gêneros de tintinídeos *Codonella* sp., *Codonellopsis* sp. e *Dictyocysta* sp. são cosmopolitas; enquanto os gêneros *Cyttarocylis* sp., *Epiplocytilis* sp., *Petalotricha* sp., *Rhabdonella* sp., *Rhabdonellopsis* sp. e *Undella* sp. são típicos de águas quentes, como é o caso do ASPSP, que apresenta valores de temperatura em torno dos 27°C (MACEDO et al., 2009).

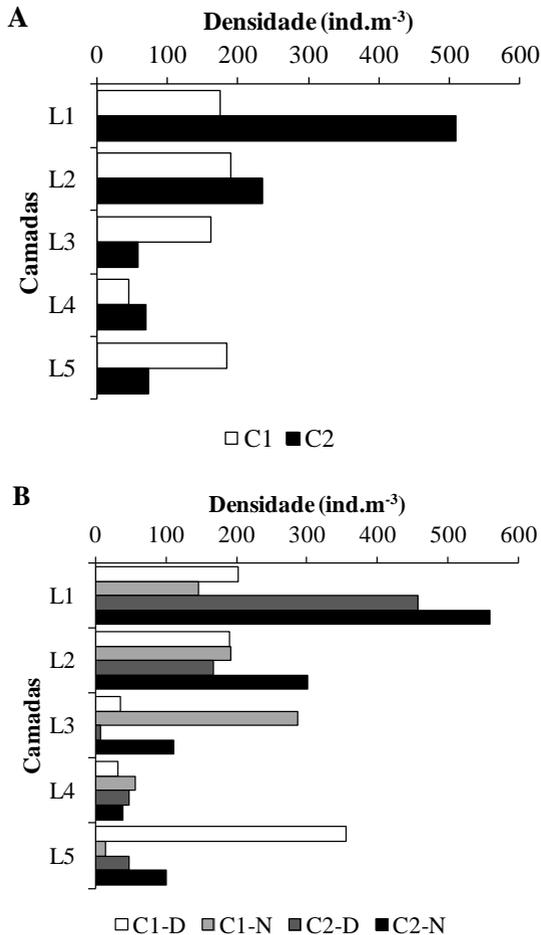
Segundo o banco de dados OBIS (Ocean Biogeographic Information System), todos os gêneros de dinoflagelados identificados no presente

estudo são cosmopolitas, estando distribuídos por todas as regiões oceânicas.

O valor máximo de densidade total de organismos encontrado foi de 699,41 ind.m<sup>-3</sup> ( $\pm 61,94$  ind.m<sup>-3</sup>) na camada L5, da E1 da C1, durante o período diurno. Separadamente, o maior valor de densidade de dinoflagelados foi de 490,43 ind.m<sup>-3</sup> ( $\pm 103,06$  ind.m<sup>-3</sup>), enquanto o de tintinídeos foi 473,71 ind.m<sup>-3</sup> ( $\pm 67,81$  ind.m<sup>-3</sup>).

Os valores médios de densidade durante C1 apresentaram uma tendência de manutenção da densidade, desde a camada mais superficial (L1 - 174,16 $\pm$ 45,64 ind.m<sup>-3</sup>) até a mais profunda (L5 - 184,95 $\pm$ 343,10 ind.m<sup>-3</sup>). Enquanto em C2 foi possível constatar uma tendência de diminuição da densidade de organismos de L1 (508,91 $\pm$ 143,16 ind.m<sup>-3</sup>) em direção à L5 (73,27 $\pm$ 64,74 ind.m<sup>-3</sup>) (Figura 1A). Quando comparadas, C1 e C2 apresentaram diferenças significativas (ANOSIM,  $p = 0,001$ ).

Observando os períodos do dia junto às campanhas (Figura 1B), foi possível perceber que os valores médios de densidade no período noturno são geralmente maiores do que no período diurno, com exceção de C1 nas camadas L1 e L5. A diferença entre os valores médios de densidade entre os períodos foi significativa entre C1 e C2 (ANOSIM,  $p=0,036$ ), mas não foi significativa entre os períodos dentro de uma mesma campanha (ANOSIM,  $p=0,272$  para C1 e  $p=0,067$  para C2).



**Figura 1.** Média de densidade de organismos (ind.m<sup>-3</sup>) nas Campanhas (A) e nas Campanhas separado pelo período da coleta (B), onde: C1 = Campanha 1; C2 = Campanha 2; D = Diurno; N = Noturno.

Não foi observado um padrão de migração vertical diária (MVD) para os dinoflagelados, quando estes migrariam para áreas mais profundas durante a noite e voltariam à superfície durante o dia. No presente

trabalho, foi observado que tanto durante o período diurno quanto no período noturno, os valores de densidade de dinoflagelados nas camadas superficiais foram maiores do que nas camadas mais profundas. Este comportamento pode ser justificado pelo fato de que alguns dinoflagelados são mixotróficos ou heterotróficos (TAYLOR, 1987; LEE, 2008), migrando para áreas mais superficiais durante a noite para aproveitar a disponibilidade de alimento nestes ambientes. Muitos dinoflagelados heterotróficos tem sido relatados como predadores de bactérias, flagelados, diatomáceas, outros dinoflagelados, ciliados (como os tintinídeos deste estudo) e metazoários (JACOBSON e ANDERSON, 1986; HANSEN, 1991).

A partir dos dados de densidade foi possível observar que, principalmente durante C2, o aumento na densidade de tintinídeos acompanha o aumento na densidade de dinoflagelados. Ambos podem estar aproveitando um recurso que está disponível no ambiente, fazendo com que cresçam juntos. Porém, os dinoflagelados parecem aproveitar melhor e mais rapidamente esse recurso, fazendo com que sua densidade seja geralmente maior do que a dos tintinídeos. Contudo, são necessários outros estudos mais específicos para comprovar essa hipótese.

Não foram encontradas diferenças significativas entre as estações de coleta (ANOSIM,  $p=0,267$ ) das duas campanhas, nem quando comparadas apenas as estações de uma mesma campanha (ANOSIM,  $p=0,323$  para C1 e  $p=0,104$  para C2). Essa ausência de diferenças

significativas entre as estações de coleta, localizadas em lados opostos do ASPSP, pode ser explicada pela não existência de um mecanismo de ressurgência e conseqüente enriquecimento das águas superficiais resultantes de uma interação entre correntes e topografia (TRAVASSOS et al, 1999). Esse enriquecimento de águas superficiais poderia aumentar a densidade de organismos fito e zooplancctônicos em uma estação (ou em ambas), o que acarretaria em possíveis diferenças significativas.

## **CONCLUSÃO**

Os seis gêneros de Dinoflagellata e os nove de Tintinnina encontrados eram todos cosmopolitas e/ou típicos de águas quentes, como é o caso do ASPSP;

Não foi identificado um padrão de MVD para os dinoflagelados – os valores de densidade de dinoflagelados nas camadas superficiais foram maiores do que nas camadas mais profundas, sendo este comportamento justificado por alguns dinoflagelados serem mixotróficos ou heterotróficos, podendo preda, inclusive os tintinídeos;

Por, provavelmente, aproveitar melhor um recurso que estava disponível no ambiente para ambos os grupos taxonômicos estudados, os dinoflagelados geralmente apresentaram uma densidade maior do que os tintinídeos, porém mais estudos são necessários para confirmar essa hipótese;

A não existência de um mecanismo de ressurgência local no ASPSP pode ter sido o fator primordial para as comunidades não terem diferido significativamente entre as estações de coleta;

Apesar do esforço realizado neste trabalho, ficou evidenciada a importância de mais estudos para estes grupos no ASPSP a fim de esclarecer lacunas no conhecimento ainda existentes.

## REFERÊNCIAS

ALDER, V. A. Tintinnoinea. In: BOLTOVSKOY, D. (Ed) **South Atlantic zooplankton**. Backhuys, Leiden, p. 321–384, 1999.

BOLTOVSKOY, D. Biogeography of the Southwestern Atlantic: current problems and prospects. In: PIERROT-BULTS, A. C.; VAN DER SPOEL, S.; ZAHURANCE, B. J.; JOHNSON, R. K. (Eds). **Pelagic Biogeography**. UNESCO Technical Papers in Marine Science. v. 49, p. 14-24. 1986.

DOLAN, J. R.; VIDUSSI, F.; CLAUSTRE, H. Planktonic ciliates in the Mediterranean Sea: longitudinal trends. **Deep-Sea Research**. v. 46, p. 2025-2039, 1999.

DOLAN, J. R.; PIERCE, R. W. Diversity and Distribution of Tintinnids. In: DOLAN, J. R.; MONTAGNES, D. J. S.; AGATHA, S.; COATS, D. W.; STOECKER, D. (Eds). **The Biology and Ecology of Tintinnid Ciliates: Models for Marine Plankton**. John Wiley & Sons. 2013.

EKAU, W.; KNOPPERS, B.A. An introduction to the pelagic system of the northeast and east brazilian shelf. **Archive of Fishery and Marine Research**. v. 47, n. 2, p. 113-132. 1999.

FLORES MONTES, M. J. **Fatores que Influenciam na Produtividade dos Oceanos: A Importância do Fluxo de Difusão dos Nutrientes para a Biomassa do Fitoplâncton na Região Oceânica do Nordeste Brasileiro**. 179 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências. Departamento de Oceanografia, Recife. 2003.

HANSEN, P. J. Quantitative importance and trophic role of heterotrophic dinoflagellates in a coastal pelagial food web. **Marine Ecology Progress Series**. v. 73, p. 253-261, 1991.

HANSEN, P. J.; CALADO, A. J. Phagotrophic mechanisms and prey selection in free-living dinoflagellates. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. v. 46, n. 4, p. 382–389. 1999.

HARVEY, M.; GALBRAITH, P.S.; DESCROIX, A. Vertical distribution and diel migration of macrozooplankton in the St. Lawrence marine system (Canada) in relation with the cold intermediate layer thermal properties. **Progress In Oceanography**, v. 80, p. 1-21. 2009.

INTERGOVERNMENTAL OCEANOGRAPHIC COMMISSION (IOC) OF UNESCO. **The Ocean Biogeographic Information System (OBIS)**. Web. <http://iobis.org>. Consultado em 08/10/2013.

JACOBSON, D. M. A Brief History of Dinoflagellate Feeding Research. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. v. 46, n. 4, p. 376-381. 1999.

JACOBSON, D. M.; ANDERSON, D. M. Thecate heterotrophic dinoflagellates: Feeding behavior and mechanisms. **Journal of Phycology**. v. 22, p. 249–58, 1986

KOENING, M.L.; OLIVEIRA, M.S.D. Estrutura da comunidade fitoplanctônica. In: Hazin, F.H.V. (Ed.). **O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de Estação Científica**. Brasília: SECIRM, p. 116-127. 2009.

KRSINIC, F.; GRBEC, B. Horizontal distribution of tintinnids in the open waters of South Adriatic (Eastern Mediterranean). **Scientia Marina**. v. 70, n. 1, p. 77-88. 2006.

LEE, R. E. **Phycology**. Nova Iorque, Cambridge University Press, p. 262-309, 2008.

LONGHURST, A.R.; PAULY, D. **Ecology of Tropical Oceans**. San Diego: Academic Press, 407p. 1987.

MACEDO, S.J.; FLORES-MONTES, M.J.; COSTA, C.M.P. Hidrologia. In: Hazin, F.H.V. (Ed.). **O arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de estação científica**. Brasília: SECIRM, p. 100-105. 2009.

MELO, P. A. M. C. **Efeito da turbulência sobre a migração vertical dos Copepoda no Arquipélago de São Pedro e São Paulo – Brasil**. 72 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências. Departamento de Oceanografia, Recife. 2013.

PIERCE, R. W.; TURNER, J. T. Global biogeography of marine tintinnids. **Marine Ecology Progress Series**. v. 94, p. 11-26. 1993.

PIERCE, R. W.; TURNER, J. T. **Plankton studies in Buzzards Bay, Massachusetts, USA. IV. Tintinnids**, 1987 to 1988. v. 112, p. 235-240. 1994.

REYGONDEAU, G.; BEAUGRAND, G. Water column stability and *Calanus finmarchicus*. **Journal of Plankton Research**, v. 33, p. 119-136. 2011.

SMALLEY, G. W.; COATS, D. W.; STOECKER, D. K. Feeding in the mixotrophic dinoflagellate *Ceratium furca* is influenced by intracellular nutrient concentrations. **Marine Ecology Progress Series**. v. 262, p. 137-151. 2003.

STOECKER, D. K.; CAPUZZO, J. M. Predation on Protozoa: Its Importance to Zooplankton. **Journal of Plankton Research**. v. 12, n. 5, p. 891-908. 1990.

TAYLOR, F. J. R. **The Biology of Dinoflagellates**. Botany Monographs, p. 1-785, 1987.

TIBURCIO, A.S.X.D.S.; KOENING, M.L.; MACÊDO, S.J.D.; MELO, P.A.M.C. A comunidade microfítotoplanctônica do Arquipélago de São Pedro e São Paulo (Atlântico Norte-Equatorial): variação diurna e espacial. **Biota Neotropica**. v. 11, p. 203-215. 2011.

TRAVASSOS, P.; HAZIN, F.H.V.; ZAGAGLIA, J.R.; ADVINCULA, R.; SCHÖBER, J. Thermohaline structure around seamounts and islands off North-Eastern Brazil. **Archive of Fishery and Marine Research**. v. 47, p. 211-222. 1999.

TRAVASSOS, P.; PEREIRA, A.D.A.; TOLOTTI, M.T. Comportamento da Albacora laje *Thunnus albacares* (BONNATERRE, 1788). In: Hazin, F.H.V. (Ed.). **O arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de estação científica**. Brasília: SECIRM p. 234-243. 2009.

---

## DESCOLORAÇÃO DO CORANTE TÊXTIL ÍNDIGO CARMINE POR ESPÉCIES DE *Aspergillus*

Araújo, G. R.<sup>(1)</sup>; Bezerra, J. D. P.<sup>(1)</sup>; Freire, K. T. L. S.<sup>(1)</sup>; Paiva, L. M.<sup>(1)</sup>; Souza Motta, C. M.<sup>(1)</sup>; Malosso, E.<sup>(1)</sup>; Silva, D. C. V.<sup>(1)</sup> [gianne.rizzuto@gmail.com](mailto:gianne.rizzuto@gmail.com)

<sup>(1)</sup> Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

Dos compostos responsáveis pela contaminação dos efluentes, os corantes têxteis são os que causam mais danos ao meio ambiente. Pesquisas apontam a utilização de agentes biológicos como uma solução para problemas com efluentes têxteis. Os fungos são muito utilizados neste tratamento, por serem capazes de degradar compostos recalcitrantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de descoloração do corante têxtil Índigo Carmine por *Aspergillus terreus* e *Aspergillus sclerotiorum* em meio líquido e testar a toxicidade do produto degradado. As espécies foram cedidas pela Micoteca URM da UFPE. Na avaliação, discos contendo cultura fúngica foram inoculados em frascos de Erlenmayer, contendo meio Extrato de Malte e corante avaliado. Em seguida, os frascos foram incubados sob condição estática, no escuro, a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 10 dias. Por fim, foi realizado um teste de toxicidade do produto degradado. *Aspergillus terreus* degradou 100% do corante têxtil em 5 dias de experimento, em 10 dias ambas espécies degradaram 100% do corante. Neste teste foi possível constatar que estes fungos apresentaram toxicidade não letal. Conclui-se que as espécies são eficientes na descoloração, mas o produto da degradação apresenta toxicidade, tornando sua utilização em meio industrial, até então, desvantajosa. Pesquisas futuras poderão apontar soluções.

**Palavras-chave:** Contaminação de Efluentes, Agentes Biológicos, Toxicidade.

## INTRODUÇÃO

O setor têxtil possui grande responsabilidade na contaminação ambiental devido à liberação de efluentes têxteis, muitas vezes sem o tratamento adequado, que causam prejuízos ao meio ambiente. A problemática ambiental envolvendo despejos de grandes quantidades de

efluentes tem se agravado nos últimos anos, tornando-se ainda mais preocupantes (KUNZ et al., 2002).

Nas indústrias têxteis ocorrem processos que geram efluentes complexos, estes podem apresentar grande quantidade de matéria orgânica, cor intensa e elevados teores de sais. Os corantes utilizados no tingimento dos tecidos são os principais compostos responsáveis pela contaminação dos efluentes, além de serem de difícil tratamento e possuírem na sua composição agentes tóxicos e cancerígenos que causam danos à saúde humana (GONDIM et al., 2007; YUZHU et al., 2001; ANJANEYLU et al., 2005).

O surgimento de novas tecnologias para o tratamento de resíduos é de grande interesse industrial e econômico. Existem três tipos de tratamentos de efluentes têxteis: físico, químico e biológico. Recentemente o tratamento biológico ganhou importância devido à sua eficiência, por apresentar menores custos na aplicação e por poder gerar produtos que não agredem o meio ambiente (BAFANA et al., 2008).

Agentes biológicos têm sido utilizados como uma boa alternativa para solucionar os problemas com resíduos (BERGSTEN et al., 2009). Alguns estudos apontam os fungos como micro-organismo promissor para o tratamento de efluentes têxteis, por algumas espécies possuírem a capacidade de descolorir e degradar diferentes compostos recalcitrantes (NETO et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de descoloração do corante têxtil Índigo Carmine por *Aspergillus terreus* e *Aspergillus sclerotiorum* em meio líquido e testar a toxicidade do produto degradado.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Citologia e Genética, no Departamento de Micologia, do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizadas duas espécies de fungos filamentosos *Aspergillus terreus* (URM5579) e *Aspergillus sclerotiorum* (URM5586) cedidas pela Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco. As espécies foram provenientes de sedimento de manguezal de Barra de Jangada, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil.

Para a avaliação da capacidade de descolorir corantes em meio líquido, discos de 6 mm de culturas dos fungos foram inoculados em frascos de Erlenmeyer (125 mL) contendo 50 mL do meio Extrato de Malte acrescido de 0,05% (m/v) do corante avaliado. Após a inoculação, os frascos foram incubados sob condição estática, no escuro, a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  por até 10 dias. Em intervalos de cinco dias, a biomassa foi separada através de filtração em membrana Millipore (0,45  $\mu\text{m}$ ), o filtrado foi utilizado para a determinação da redução da cor em espectrofotômetro (610nm) e para avaliação da toxicidade (SILVA et al., 2009).

A toxicidade do produto degradado foi analisada utilizando sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) segundo a metodologia de Tiquia *et al.* (1996). Foram utilizadas Placas de Petri contendo papel de filtro impregnado com 5 mL do material biodegradado com 10 feijões que foram colocados na placa de modo equidistante, previamente desinfetados com hipoclorito de sódio a 1% e água destilada esterilizada. Paralelamente, foram feitas placas controle empregando 5mL do corante têxtil e placas controle com 5 mL de água destilada. Todos os testes foram realizados em triplicata, sob a temperatura de 25°C, durante sete dias. Após esse período, três aspectos foram quantificados: percentual de germinação, percentual de crescimento da raiz e o índice de germinação.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em observação realizada no quinto dia de experimento, foi verificado que *A. terreus* descoloriu 100% do corante têxtil Índigo Carmine, e que *A. sclerotiorum* havia descolorido 86,8%. Em 10 dias de experimento as duas espécies haviam descolorido 100% o corante têxtil (Figura-1). A espécie *A. terreus* demonstrou ser mais eficiente na descoloração tendo em vista seu excelente desempenho nas primeiras 120 horas.

De acordo Silva *et al.* (2009), o tempo que um resíduo leva para ser degradado por um micro-organismo é um fator importante na otimização do processo, pois torna o micro-organismo promissor em

processos descoloração e descontaminação de ambientes ou resíduos contaminados.



**Figura 1.** Descoloração do corante têxtil Índigo Carmine em meio líquido. A) *A. sclerotiorum*, B) *A. terreus*.

Dellamatrice (2005) em seu experimento, obteve resultados satisfatórios com algumas linhagens de *Pleurotus* sp. que conseguiram descolorir mais de 97% do corante Índigo e 92% o corante Remazol Brilliant Blue R (RBBR). O corante Preto Enxofre foi degradado em menor grau que os citados anteriormente, apenas 27%.

De acordo com Silva e Monteiro (2000), para ocorrer a degradação de corantes por micro-organismos, além de apresentarem um boa quantidade de biomassa, é necessário que o fungo apresente um sistema enzimático capaz de degradar o composto em questão. Dullius (2004) observou que espécies pertencentes ao gênero *Aspergillus* possuem alta capacidade de remover corantes presente em efluentes no período de 24 horas. Silva et al. (2013) testaram *Aspergillus aculeatus* na descoloração do corante têxtil preto intenso N®, este mostrou-se

bastante promissor no processo de degradação do corante atingindo 90% de eficiência.

Couto et al. (2004) estudaram a descoloração do corante Índigo Carmine por *Trametes hirsuta* em um biorreator de leito fixo e constataram que esta espécie conseguiu degradar quase todo corante em apenas três dias. Estes atribuíram essa descoloração do corante Índigo Carmine a produção da enzima lacase e uma associação de outros mecanismos.

Oliveira et al. (2010) afirmaram que as condições de cultivo das culturas fúngicas podem afetar o metabolismo e a fisiologia do micro-organismo, ativando suas enzimas. O nível de descoloração para a um micro-organismo que se encontra na condição estática pode ser diferente, do outro que esteja submetido a condições de agitação. Foi realizada uma comparação dos diversos corantes com as diferentes percentagens de descoloração e foi concluído que pequenas diferenças estruturais podem afetar fortemente o grau de descoloração.

Pereira et al. (2010), testando o fungo *Lentinula edoddes* constataram que este descoloriu o corante Remazol Brilliant Blue R (RBBR) num percentual de 70%, em 15 dias. Entretanto, Almeida et al. (2012) relataram em seu trabalho que *Penicillium ochrochloron* MTCC 517 descoloriu 93% do corante trifenilmetano, em condição estática, com temperatura a 25 ° C e pH 6,5, num período de duas horas e meia de cultivo.

Quanto a toxicidade do produto degradado, entres as espécies testadas, *A. sclerotiorum* apresentou maiores índices de germinação (23,56), percentual de crescimento da raiz (27,5%) e percentual de germinação da semente (87,5%), diferindo de *A. terreus* com 11,77 de índice de germinação, 15% de percentual de crescimento da raiz e 78,5% de percentual de germinação da semente.

O percentual de crescimento da raiz não atingiu um nível elevado como o alcançado com o percentual de germinação, disso pode-se inferir que o produto degradado não apresentou toxicidade letal para a semente, contudo apresentou uma toxicidade capaz de inibir o crescimento da raiz.

Palácio (2009) em seu experimento testou a toxicidade de um produto degradado com sementes de alface, e neste trabalho, foi possível observar que nenhuma semente germinou, logo ficou constatado o alto nível de toxicidade do meio. Quanto a avaliação da toxicidade no crescimento da raiz e radícula, foi possível constatar baixos níveis de toxicidade, pois não foram suficientes para inibir a germinação, porém retardaram ou inibiram o crescimento da raiz e radícula.

## CONCLUSÃO

*Aspergillus terreus* (URM5579) descolore totalmente o corante têxtil Índigo Carmine, em meio líquido, no período de cinco dias.

*Aspergillus sclerotiorum* (URM5586), *Aspergillus terreus* (URM5579) são capazes de descolorir de modo eficiente o corante têxtil Índigo Carmine em meio líquido, em 10 dias de experimento;

*Aspergillus sclerotiorum* (URM5586) e *A. terreus* (URM5579) apresentam toxicidade não letal para as sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

As espécies avaliadas são eficientes na descoloração do corante têxtil Índigo Carmine, mas o produto da degradação apresenta toxicidade, tornando necessário o conhecimento da enzima envolvida na degradação para posterior purificação.

## REFERÊNCIAS

ANJANEYLU, Y.; CHARY, N. S.; RAJ, D. S. S. Descolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 4, p.245-273, 2005.

BAFANA, A.; KRISHNAMURTHI, K.; DEVI, S. S.; CHAKRABARTI, T. Biological decolourization of C.I. Direct Black 38 by *E. gallinarum*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 157, p. 187-193, 2008.

BERGSTEN-TORRALBA, L. R.; NISHIKAWA, M. M.; BAPTISTA, D. F.; MAGALHÃES, D. P.; SILVA, M. Descolorization of different textile dyes by *Penicillium simplicissimum* and toxicity evaluation after fungal treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 40, n. 4, 2009.

COUTO, S. R. SANROMÁN, M. A.; Continuous descolourisation of a leather azo dye *Trametes hirsute*. **Afinidad**, v. 61, 2004.

DELLAMATRICE, P. M. **Biodegradação e toxicidade de corantes têxteis e efluentes da estação de Tratamento de Águas Residuárias de Americana, SP.**

2005. Tese (Doutorado em Agricultura) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2005.

DULLIUS, C. H. **Utilização de fungos para biodegradação de corantes têxteis sintéticos.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós- Graduação em desenvolvimento Regional, Universidade Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2004.

GONDIM, A. L. N. BARBOSA, A. P. A.; PAZ, M. C. F. Remoção Biológica de Corantes Têxteis através do consórcio bacteriano entre *Pseudomonas aeruginosa* e *Geobacillus stearothermophilus* UCP98. CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2, 2007, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: UFPB, 2007.

KUNZ, A.; ZAMORA, P. P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. Revisão, **Química. Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.

NETO, J. M. C.; SANTOS, A. Z.; TAVARES, C. R. G.; COSTA, S. M. G. **Descoloração de corantes e efluentes têxteis utilizando fungos.** ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO, 11, 2002, Maringá. **Anais...** Universidade Estadual de Maringá/ Pró- Reitoria de pesquisa e Pós- Graduação; 2002.

OLIVEIRA, L. H. S.; BARRETO, M. B.; VITALLI, V. M. V.; MACHADO, K. M. G.; MATHEUS, D. R. Descoloração de corantes sintéticos por basidiomicetos tropicais brasileiros. **Naturalia**, Rio Claro, v.33, p. 85-99, 2010.

PALÁCIO, S. M. **Aplicação do processo de eletrocoagulação seguido por degradação fotocatalítica utilizando TiO<sub>2</sub> no tratamento de efluente têxtil.** 2009. Tese (Doutorado) - Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2009.

PEREIRA, A. R. B.; BUENO, F. L.; SANTOS, S. C.; LIMA, C. A. A.; DIAS, A. L. T. Biodegradation of dyes and textile effluents by fungi. **Holos Environment**, v. 10, n. 2, 2010.

SILVA, J. H.; MONTEIRO, R. T.; Degradação de xenobióticos por fungos filamentosos isolados de areia fenólica. Parte da tese de Mestrado. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, Viçosa, v. 24, p. 669-674, 2000.

SILVA, K. C.; SILVA, T. M.; SILVA, JR.; CERRI, M. O.; Da SILVA, S. L.; CARVALHO, B. M. A. Otimização das variáveis, pH, força iônica e meio nutricional na descoloração de corante industrial têxtil pelo fungo *Aspergillus aculeatus*. BBR –

**Biochemistry and Biotechnology Reports.** Edição especial, v.2, n.2, p. 1-4, jun. 2013.

SILVA, M.F.; AZEVEDO, L. M. L.; GOMES, E. B.; SENNA, K. X. F. R.; MIRANDA, R. C. M.; GUSMÃO, N. B. Descoloração de efluentes têxteis por bactérias isoladas de ambientes contaminados por petroderivados. SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 17, 2009, Natal. **Anais...** Natal: FAPESP, 2009.

SILVA, M. G. C.; BAPTISTA, N. M. Q.; ALMEIDA, D. G.; DAYANA, A. F.; PAIVA, A. L. R.; SANTOS, L. L.; MACIEL, C. C. S.; MIRANDA, R. C. M.; CABRAL, J. J. S. P.; GUSMÃO, N. B. Emprego de Fungos Filamentosos na Degradação de Corante Índigo. JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 9, 2009, Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2009.

TIQUIA, S. M.; TAM, N. F. Y.; HODGKISS, I. J. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. **Environmental Pollution**, v. 93, n. 3, p. 249-256, 1996.

YUZHU, F.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. **Bioresource Technology**, v. 79, p. 251-262, 2001.

---

## DESCONTAMINAÇÃO BACTERIOLÓGICA DA ÁGUA ATRAVÉS DE UM PASTEURIZADOR SOLAR

Silva, T.C.D.<sup>(1)</sup>; Calazans, G. M. T.<sup>(1)</sup>; Carielo, G.<sup>(1)</sup>; Tiba, C.<sup>(1)</sup>  
teresa.tecatk@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

### RESUMO

A água destinada ao consumo humano deve ser isenta de agentes biológicos como vírus, bactérias, protozoários e helmintos. O homem sempre procurou alternativas para purificação da água. Dentre os métodos conhecidos os que usam energia solar como forma de descontaminação tem grande destaque. Assim, o presente trabalho tem como finalidade avaliar a qualidade microbiológica da água tratadas por um protótipo que usa da tecnologia de pasteurização solar. As amostras de água foram coletadas em um lagoinho localizado no jardim do departamento de antibióticos do campus Recife da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras coletadas foram

submetidas a tratamentos específicos durante cinco dias. As análises microbiológicas foram feitas através da técnica de tubos múltiplos. Os resultados obtidos mostram a descontaminação da água após o tratamento de pasteurização solar. As análises mostraram que o método é eficiente no tratamento da água atendendo às características exigidas pelo Ministério da Saúde, sob o ponto de vista bacteriológico.

**Palavras-chaves:** Coliformes Totais, Potabilidade, Pasteurização Solar.

## INTRODUÇÃO

A água destinada ao consumo humano deve ser isenta de agentes biológicos como vírus, bactérias, protozoários e helmintos (BRANCO, 1977). Desde o final do século XIX e início do século XX, a qualidade da água tornou-se uma questão de saúde pública. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% das doenças ocorridas em países subdesenvolvidos ocorrem através do consumo de água contaminada. (DOMINGUES *et al*, 2007).

Desde os primórdios das civilizações, o homem procura alternativas de tratamento para água. Essas populações sempre possuíram costumes, técnicas ou equipamentos para tentar, domesticamente, tornar mais limpa a água que consumiam (WEBER, 2007). Em épocas pré-colombianas na América, alguns índios do continente usavam “filtros” primitivos feitos de pedra porosa e de material originado de lava vulcânica, para separar os elementos sólidos da água que retiravam de poços, rios ou lagos (HOYOS, 2003).

Com a finalidade de purificar a água utilizada nas residências, surgiram diversos equipamentos e utensílios domésticos que limpavam a água (BELLINGIERI, 2006). Com o passar do tempo, foram descobrindo maneiras de tornar a água aparentemente mais limpa para o consumo doméstico. Primeiramente de maneira mais rudimentar, utilizando plantas e até processos físicos como decantação, sedimentação e posteriormente, usando processos mais elaborados, com materiais mais desenvolvidos (HOYOS, 2003).

Assim, o presente trabalho tem como finalidade avaliar a qualidade microbiológica da água, quanto à presença de coliformes totais e fecais, tratadas por um protótipo que tem como base de funcionamento o uso da tecnologia de pasteurização solar.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta das amostras***

As amostras de água foram coletadas em um laguinho localizado no jardim do departamento de antibióticos do campus Recife da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras foram acondicionadas em frasco de capacidade de 10L previamente esterilizado com álcool 70%, evitando contaminação adicional. Posteriormente uma sub amostra de 100mL da água foi transferida para frascos plásticos com tampa rosqueada previamente esterilizados afim

de se realizar uma análise da amostra antes do tratamento de pasteurização solar.

### ***Tratamento***

As amostras coletadas do laguinho foram conduzidas ao coletor solar, e lá foram depositados um volume de cerca de 2L para que passasse pelo processo de descontaminação da máquina. Após a passagem da água através do protótipo uma nova coleta foi realizada e imediatamente levada para o laboratório de processos fermentativos (LPF) para análise bacteriológica da água. Esse procedimento de coleta foi repetido durante cinco dias consecutivos utilizando as seguintes configurações de tratamento: 55°C por 3600 segundos; 60°C por 2700 segundos; 65°C por 1800 segundos; 75°C por 900 segundos e 85°C por 15segundos.

### ***Técnica utilizada***

As análises foram feitas quanto a presença de coliformes totais e coliformes fecais, especificamente *E.coli*. A técnica realizada foi a técnica de tubos múltiplos utilizando o meio Caldo Fluorocult LMX (MERCK, 2000), esse meio proporciona a detecção simultânea de coliformes totais e *E. coli* devido a presença de um substrato cromogênio e de um substrato fluorogênico, usados respectivamente pelos dois grupos.

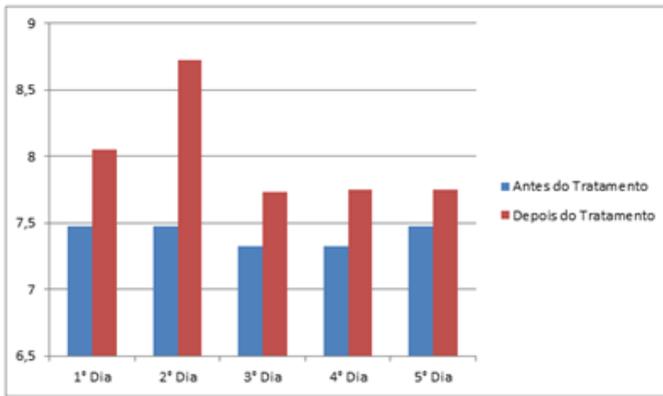
Para semeio das amostras utilizaram-se pipetadores automáticos acoplados com ponteiras estéreis para as inoculações de 1000 µL, 100 µL e 10 µL em três séries de três tubos contendo 1 mL do meio

fluorocult, respectivamente, com incubação a 35°C por 24-48 horas. Após 24 horas de incubação, os cultivos verdes azulados indicaram a presença de coliformes totais e os cultivos que apresentaram fluorescência sob luz ultravioleta 366 nm, indicam a presença de *E. coli*. O cálculo do NMP dos coliformes foi efetuado pela tabela de Mac Crady (BRASIL, 2003) para obter o NMP/g ou mL, para série de 3 tubos, com intervalos de confiança 95%, dividir por 10 os valores correspondente ao arranjo de tubos positivos obtido na análise (BRASIL, 2003).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Determinação de pH***

A Portaria do Ministério da Saúde (MS) Nº 2914 de 12/12/2011 recomenda que, no sistema de distribuição, o pH da água seja mantido na faixa de 6,0 a 9,5. Observa-se em média que todas as amostras do processo, tanto na primeira quanto na segunda etapa de experimentos, apresentaram-se dentro da faixa estabelecida pela portaria supracitada (Figura 1). Durante o processo de desinfecção ocorreram apenas pequenas oscilações no pH das amostras fato confirmado em experimentos realizados por Silva (2010).



**Figura 1.** Variação do pH antes e após o tratamento da água.

### *Pesquisa de Coliformes totais e E. coli*

Os resultados das análises obtidas antes do tratamento de pasteurização solar mostraram que a água estava contaminada do ponto de vista bacteriológico devido a presença de coliformes totais. A pesquisa da presença de *E.coli* também foi realizada através da observação de fluorescência nos tubos contendo fluorocult e mostrou-se positivos na maioria dos tubos analisados. Segundo a portaria N° 2914 de 12/12/2011 do MS recomenda ausência total de bactérias do grupo coliformes para que a água seja considerada potável, portanto esta água é considerada imprópria para o consumo humano.

Todas as amostras apresentaram um grande número de bactérias demonstrando altos valores de NMP, como pode ser visto na Quadro 1.

**Quadro 1.** Parâmetros bacteriológicos pela técnica dos tubos múltiplos.

PARÂMETRO BACTERIOLÓGICO	1º DIA DE TRATAMENTO (55°C)		2º DIA DE TRATAMENTO (60°C)		3º DIA DE TRATAMENTO (65°C)		4º DIA DE TRATAMENTO (75°C)		5º DIA DE TRATAMENTO (85°C)	
	ANTES [NMP]	DEPOIS [NMP]								
CT.*	11000	<3	>14000	<3	11000	<3	>14000	<3	>14000	<3
<i>E. coli</i>	2500	<3	90	<3	40	<3	40	<3	40	<3

\*CT. – COLIFORMES TOTAIS

Outro fato importante a ser observado é que a presença de *E. coli* significa provavelmente que a água teve uma contaminação fecal recente já que as bactérias dessa espécie fazem parte da microbiota intestinal do homem e outros animais de sangue quente e por sua vez podem indicar a presença de patógenos entéricos (POPE et al, 2003).

As análises realizadas após a passagem da água no protótipo de pasteurização solar mostrou-se negativa em todos os ensaios (Quadro 1). As diferentes temperaturas usadas nos diferentes tempos demonstrou-se eficiente na eliminação de todas as bactérias do grupo coliformes totais e *E. coli* identificadas antes do tratamento. A desinfecção por luz solar de água foi relatada por Silva (2010) numa técnica mais primitiva que consistia no acondicionamento de água em garrafas PET e sua exposição ao sol (técnica conhecida como SODIS), entretanto não obteve-se uma eliminação total das bactérias apesar do grande tempo de exposição.

## CONCLUSÃO

A desinfecção por luz solar de água mostrou o potencial de inativação de coliformes termotolerantes e coliformes totais, através das análises realizadas nas diferentes etapas, nos diversos intervalos de tempo, da água submetida ao método de pasteurização solar.

Devido ao exposto anteriormente, a água submetida a esse processo de desinfecção e nas condições que foram averiguadas na presente pesquisa, apresentou resultados satisfatórios, atendendo às características exigidas pelo Ministério da Saúde, sob o ponto de vista bacteriológico, para que ela seja considerada potável para o consumo humano.

## REFERÊNCIAS

BELLINGIERI, J.C. **Uma análise da indústria de filtros de água no Brasil**. In: 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE CERÂMICA, Blumenau. SC. v. 11, nº 3, maio-junho. p. 31-35, 2006.

BRANCO, S.M.; ROCHA, A.A. **Poluição, proteção e usos múltiplos de represas**. São Paulo, CETESB, 1977.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62**, de 26 de agosto de 2003. Oficializada os Métodos Analíticos Oficiais para Análise Microbiológica para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União de 18/09/2003, Seção 1, p. 14, 2003.

DOMINGUES, V. O.; TAVARES, G. D.; STÜKER, F.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M.; HÖRNER, R. **Contagem de bactérias heterotróficas na água para consumo humano: comparação entre duas metodologias**. Saúde, Santa Maria, vol 33, n 1: p 15-19, 2007.

HOYOS, R. **Progreso de la filtración casera en America Latina. Água latinoamericana.** Disponível em: <http://www.agualatinoamericana.com/docs/PDF/1-2-02hoyos.pdf> . Acesso em 13 de maio de 2011.

MERCK. Microbiology Manual. Berlin. Alemanha. 407p, 2000.

POPE, M.L; et al. Assessment of the Effects of Holding Time and Temperature on Escherichia coli Densities in Surface Water Samples. Appl Environ Microbiol.

October; 69(10): 6201–6207, 2003.

SILVA, I.F.M.C. **Avaliação da eficiência do sodis como método alternativo para obtenção de água potável.** 2010. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, 2010.

WEBER, C. R. **Avaliação de Sistemas Domésticos de Filtração Utilizados como Purificadores de Água.** 2007. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, 2007.

---

## **DESCRIÇÕES BASEADAS EM CARACTERES VEGETATIVOS E SUA APLICABILIDADE NO ENSINO**

**Santos, J.P.Q.<sup>(1)</sup>; Tabelini, H.M.<sup>(1)</sup>; Hollunder, R.K.<sup>(1)</sup>; Pereira, M.C.A.<sup>(1)</sup>**

jaqueline\_pegó@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Graduanda da Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Vitória – ES, Brasil.

<sup>(2)</sup> Docente da Universidade Federal do Espírito Santo- UFES, Vitória – ES, Brasil.

## **RESUMO**

Inventários florísticos e fitossociológicos também incluem coletas de dados de indivíduos em estado vegetativo. Uma ferramenta que utiliza esses tipos de dados são as chaves de identificação baseadas em materiais estéreis vegetais, estas vêm sendo cada vez mais empregadas no ensino de botânica, ecologia e áreas afins. O presente trabalho tem como objetivo valorizar as análises baseadas em caracteres morfológicos vegetativos e mostrar suas vantagens de ser utilizada em atividades de educação. Para isso foi realizado um levantamento dos dados morfológicos vegetativos dos morfoespécies arbóreas do Horto Botânico situado no CCA/UFES, Alegre-ES. Foram observadas e anotadas as principais características físicas das árvores, por exemplo, tipo de casca, tipo e forma da folha entre outros. Tais características foram organizadas em uma tabela e ao final desse procedimento foi possível separar os 209 indivíduos arbóreos presentes na área em 45 morfoespécies. O método utilizado no presente estudo estimula o pesquisador a observar características vegetais que normalmente não são valorizadas, e mostra que tais estruturas são marcantes para distinguir espécies, além disso, o trabalho pode ser utilizado em aulas práticas de ensino.

**Palavras-chave:** Morfoespécies, Identificação de Espécies, Práticas.

## INTRODUÇÃO

Na maioria dos estudos que envolvem biodiversidade, é indispensável à identificação das espécies. Por exemplo, em pesquisas de ecologia e conservação, a identificação de plantas em campo é essencial e deve ser realizada de forma prática e rápida. Tratando-se da identificação das espécies da flora, um método que vem sendo cada vez mais empregado em estudos de campo para se conhecer os indivíduos são as análises baseadas em caracteres morfológicos vegetativos, por exemplo, através

de chaves de identificação que utilizam somente materiais estéreis (URBANETZ; TAMASHIRO; KINOSHITA, 2010).

Segundo Batalha, Aragaki e Mantovani (1998) descrições baseadas em caracteres morfológicos vegetativos tem o benefício de poder ser utilizadas em qualquer época do ano. Os caracteres estéreis estão sempre disponíveis e são macroscopicamente evidentes, de forma que pesquisadores, professores e alunos das mais diversas áreas do conhecimento sejam aptos a utiliza-la (GENTRY, 1993 apud BATALHA; MANTOVANI, 1999, p.3).

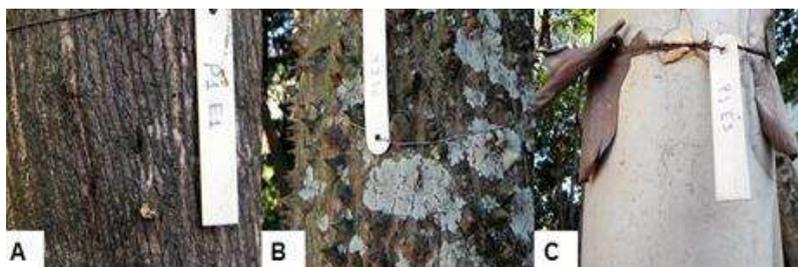
Ao observar as características morfológicas dos vegetais, tais análises podem gerar diversas ferramentas didáticas de ensino, métodos essenciais para atividades tanto no ensino regular quanto na graduação. De acordo com Prigol e Giannotti (2012), para obter-se um nível de elevado de ensino-aprendizagem a respeito de qualquer tema das ciências naturais, novas metodologias de educação devem estar associadas ao que é aprendido em aula teórica, como por exemplo, aulas demonstrativas, excursões e aulas práticas. A partir dessas descrições morfológicas, por exemplo, uma chave de identificação vegetativa pode ser elaborada e utilizada em aulas práticas com os alunos, ou então as próprias características levantadas podem auxiliar na caracterização e/ou para destacar indivíduos arbóreos em aulas de campo.

Nesta perspectiva o presente trabalho tem como objetivo incentivar a utilização das análises baseadas em caracteres morfológicos, além de associar a eficiência de tal método ao ensino.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi realizado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo situado no município de Alegre, em uma área de fragmento florestal, denominado como Horto Botânico Antônio Teles Zimerer. Originalmente as espécies arbóreas introduzidas no Horto estavam distribuídas em uma área de aproximadamente um hectare, atualmente a área possui 4.064 m<sup>2</sup> e apresenta indivíduos arbóreos de grande porte, estrato herbáceo e algumas espécies representantes de sub-bosque.

Primeiramente, a área do Horto Botânico foi dividida em parcelas de 10 x 10 m para a realização de um censo dos espécimes arbóreos, para esse procedimento todos os indivíduos foram plaqueteados, ao redor de cada árvore foi fixada uma pequena placa de identificação contendo a localização desta em relação à parcela (Figura 1).



**Figura 1.** Indivíduos plaqueteados, P=parcela e E= espécime. A) Placa de identificação P1- E1. B) Placa de Identificação P1-E2. C) Placa de identificação P1-E3.

Este censo foi utilizado também em outro estudo que tem como objetivo a descrição da estrutura desta comunidade através do cálculo de parâmetros fitossociológicos. Ao auxiliar na execução desse estudo foi possível ao mesmo tempo realizar o reconhecimento da área e das árvores para o presente trabalho.

Dando continuidade ao presente estudo foi realizado um levantamento dos dados morfológicos vegetativos para agrupar os indivíduos arbóreos em morfoespécies (que aparentam ser da mesma espécie morfológicamente), para isso foi observado e anotado as principais características vegetativas das árvores. As características analisadas foram: tipo foliar (simples ou composta- parimpenada ou imparipenada), filotaxia e forma da folha (que só é válida para folhas simples) e coloração e tipo de superfície do ritidoma, todos esses dados de acordo com as obras Flora da Reserva Ducke (1. ed.) e Morfologia

Vegetal - organografia e dicionário ilustrado da morfologia das plantas vasculares (1. ed.).

Com base nesse levantamento foi possível realizar uma análise onde um dado conjunto de estados de caracteres foi atribuído e descreveu cada morfoespécie, possibilitando a identificação de todos os indivíduos pertencentes a cada morfoespécie. Vale ressaltar que algumas espécies arbóreas durante o estudo estavam em período de senescência foliar, então não foi possível levantar as características referentes às suas folhas, já outras passaram pelo seu período fértil, sendo assim, aproveitou-se para coletar uma amostra (flor e/ou fruto), a partir da amostra coletada foi feita a identificação taxonômica do indivíduo.

Após o levantamento dos dados morfológicos de todas as espécies arbóreas presentes na área e a respectiva identificação quando possível em nível de espécie os dados coletados foram organizados em uma tabela, nesta as morfoespécies identificadas taxonomicamente aparecem com seu nome científico e aquelas não identificadas, como Morfoespécie 1, Morfoespécie 2 e assim em diante.

## **RESULTADOS E DICUSSÃO**

Na área do Horto Botânico foi possível contabilizar 209 os indivíduos, após as análises das características morfológicas vegetativas esses indivíduos foram agrupados em 45 morfoespécies.

O material confeccionado através das descrições (Quadros 1 e 2) pode ser considerado um instrumento didático para atividades práticas na área. A tabela apresenta as semelhanças e diferenças entre as morfoespécies e também quantifica quantos grupos morfológicos de espécies existem na área e o número de indivíduos por morfoespécie.

**Quadro 1.** Descrições das características vegetativas morfológicas das morfoespécies arbóreas do Horto Botânico Antônio Teles Zimerer.

Morfoespécie	Tipo foliar	Filotaxia	Forma da folha	Tipo de Ritidoma	Indivíduos por morfoespécie
<i>Allophylus</i> sp.	F.C.T	A.E	-	R.L	5
<i>Artocarpus heterophyllus</i>	F.S	A.E	F.O	R.S.A	2
<i>Bauhinia</i> sp.	F.C.D	A.D	-	R.E.S.R	5
<i>Caesalpinia ferrea</i>	F.C.P.I	A.E	F.E	R.L	32
<i>Cecropia</i> sp.	F.S	O.V	F.O	R.L.D	1
<i>Cedrela</i> sp.	F.C.P.I	A.D	-	R.E.S	14
<i>Citrus</i> sp.	F.S	A.E	F.E	R.E	1
<i>Dalbergia nigra</i>	F.C.P.I	O.D.S	-	R.P.L.G	7
<i>Ennerlobium timbouva</i>	F.C.P.P	A.D	-	R.P.L.G	10
<i>Eucalyptus</i> sp.	F.S	A.D	F.L.C	R.L.M.C	1
<i>Licania tomentosa</i>	F.S	A.D	F.E	R.L	1
<i>Muntingia calabura</i>	F.S	A.D	F.E	R.E.S.R	1
<i>Parkia aquatica</i>	F.C.D	O.V	-	R.E.S.R	6
<i>Pteridium guineense</i>	F.S	O.D	F.O	R.L.M.C	1
<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	F.C.D	A.D	-	R.E	6
<i>Schizolobium parahyba</i>	F.C.P	O.D.S	-	R.L.L.V	5
<i>Syzygium malaccense</i>	F.S	O.D.S	F.E	R.S.A	1
<i>Tabebuia chrysoneicha</i>	F.C.D	O.D.S	-	R.E.S.R	1
<i>Tabebuia</i> sp.	F.C.D	O.V	-	R.E.S.R	4
<i>Trichilia</i> sp.	F.S	O.D	F.E	R.E.S.R	1
Morfoespécie 1	F.C.P.P	A.E	-	R.E.S	13
Morfoespécie 2	F.C.P.P	A.E	-	R.L.D	14
Morfoespécie 3	F.S	A.E	F.E	R.E.S.P	5
Morfoespécie 4	F.S	A.E	F.E	R.D	5
Morfoespécie 5	F.C.P.I	A.D	-	R.E.S.P	8

\*Senescência.

TIPO DE FOLHA	FORMA DA FOLHA	TIPO DE RITIDOMA
F.S = Folha simples	F.E = Folha elíptica	R.L = Rindoma liso
F.C.D = Folha composta digitada	F.O = Folha obovada	R.E.S.R = Rindoma estriado com sulcos rasos
F.C.T = Folha composta trifoliolada	F.O.B = Folha obelíptica	R.E.S.P = Rindoma estriado com sulcos profundos
F.C.P.P = Folha composta penada paripenada	F.O.R = Folha orbicular	R.L.D = Rindoma com lenticelas dispersas
F.C.P.I = Folha composta penada imparipenada	F.R = Folha rombóide	R.L.L.V = Rindoma com lenticelas em linhas verticais
	F.L.C = Folha lanceolada	R.L.L.H = Rindoma com lenticelas em linhas horizontais
		R.E = Rindoma com espinhos
		R.E.S = Rindoma escamoso
		R.R = Rindoma rugoso
		R.P.L.G = Rindoma com placas lenhosas grandes
		R.S.A = Rindoma sujo e áspero
		R.L.M.C = Rindoma com lâminas coriáceas
		R.D = Rindoma com depressões
		R.R.E = Rindoma reticulado

**Quadro 2.** Descrições das características vegetativas morfológicas das morfoespécies arbóreas do Horto Botânico Antônio Teles Zimerer.

Morfoespécie 6	F.C.D	O.DS	-	R.E.S.P	8
Morfoespécie 7	F.C.T	A.E	-	R.L.	1
Morfoespécie 8	F.S	O.D	F.E	R.L.D	10
Morfoespécie 9	F.S	O.D	F.E	R.L.L.H	2
Morfoespécie 10	F.C.P.I	O.D	-	R.L	1
Morfoespécie 11	F.C.D	O.V	-	R.E.S.R	1
Morfoespécie 12	F.C.P.P	O.D	-	R.RE	6
Morfoespécie 13	F.C.D	O.DS	-	R.RE	1
Morfoespécie 14	F.C.P.P	A.D	-	R.L	11
Morfoespécie 15	F.S	A.E	F.OB	R.ES	2
Morfoespécie 16	F.S	A.D	F.OR.	R.E.S.R	2
Morfoespécie 17	F.C.D	O.V	O.V	R.E.S.R	2
Morfoespécie 18	F.C.D	O.V	O.V	R.E.S.R.	3
Morfoespécie 19	*	*	*	R.L.L.V	1
Morfoespécie 20	F.C.P.P	A.D	*	R.ES	4
Morfoespécie 21	*	*	*	R.R	1
Morfoespécie 22	F.S	O.DS	F.R	R.L	2
Morfoespécie 23	F.C.D	A.E	'	R.ES	1
Morfoespécie 24	F.S	O.DS	F.E	R.E.S.R	1
Morfoespécie 25	F.S	O.DS	F.OB	R.ES	1

**\*Senescência.**

**TIPO DE FOLHA**

FS = Folha simples  
 F.C.D = Folha composta digitada  
 F.C.T = Folha composta trifoliolada  
 F.C.P.P = Folha composta penada parmpenada  
 F.C.P.I = Folha composta penada imparipenada

**FORMA DA FOLHA**

FE = Folha elíptica  
 FO = Folha obovada  
 FOB = Folha obelíptica  
 FOR = Folha orbicular  
 FR = Folha rombóide  
 FLC = Folha lanceolada

**TIPO DE RITIDOMA**

R.L = Ritidoma liso  
 R.E.S.R = Ritidoma estriado com sulcos rasos  
 R.E.S.P = Ritidoma estriado com sulcos profundos  
 R.L.D = Ritidoma com lenticelas dispersas  
 R.L.L.V = Ritidoma com lenticelas em linhas verticais  
 R.L.L.H = Ritidoma com lenticelas em linhas horizontais  
 R.E = Ritidoma com espinhos  
 R.ES = Ritidoma escamoso  
 R.R = Ritidoma rugoso  
 R.P.L.G = Ritidoma com placas lenhosas grandes  
 R.S.A = Ritidoma sujo e áspero  
 R.L.M.C = Ritidoma com lâminas coriáceas  
 R.D = Ritidoma com depressões  
 R.RE = Ritidoma reticulado

A proposta para os dados apresentados nos quadros é a de que os professores possam utilizar tais informações como base para aulas de botânica, ecologia, educação ambiental, conservação entre outros. Mas se faz necessário que os professores utilizem tais dados de uma forma motivadora. De acordo com Rissi e Cavassan (2013), aulas que priorizam a investigação e a visualização do material estudado, permite que o aluno seja o sintetizador do conhecimento. Além do mais, esses conceitos podem servir de ponto de partida para discussões interessantes entre os alunos e o professor.

A técnica de identificação baseada em caracteres morfológicos é uma ferramenta muito importante no momento de reconhecer ou ao menos agrupar espécies de acordo com caracteres comuns. O método de observação utilizado no presente estudo estimula o pesquisador a analisar detalhes que normalmente não são valorizadas, por exemplo, tipo de casca, disposição dos ramos, coloração do tronco. No momento de discernir as espécies, quanto mais caracteres morfológicos vegetativos observados é vantajoso, pois permite que a identificação seja mais exata e também propicia que o pesquisador memorize as características marcantes de cada espécie (ROTTA, 1977).

Joly (1976) ressalta que jamais o educador deve propor o estudo da classificação das plantas sem recorrer a exemplares vivos, ou seja, à natureza. Para o autor só a prática pode levar o aluno a aprender as características mais importantes de cada espécie.

Gentry (1993 apud CARVALHO, 2008, p10), estudando a flora da Colômbia, Equador e Peru confeccionou um guia de identificação botânica das espécies lenhosas (lianas, arbustos e árvores) baseados em caracteres vegetativos, este material inovou a forma de se observar às espécies no campo, originando uma nova escola a partir deste projeto. Como já abordado anteriormente, uma análise baseada em materiais estéreis possui algumas vantagens no momento que for utilizada, como por exemplo, não requer que a planta a ser identificada esteja no período de floração ou frutificação (MAIORALLI et al., 2009), deste modo, uma aula que aborde identificação de plantas, nunca ficaria incompleta no momento que for ministrada.

Uma característica marcante e única nas espécies arbóreas é o seu ritidoma (casca externa, que é bem desenvolvida em caules e raízes mais velhos). Em 1982, Lima comprovou ser possível a identificação botânica de trinta espécies arbóreas e arbustivas da caatinga do nordeste do Brasil a partir da observação da morfologia da casca. Ele reparou a presença de características únicas, originando distinções notáveis entre as espécies, assim sendo possível a identificação (ALENCAR, 1998).

## **CONCLUSÃO**

Uma descrição baseada em vegetativos é muito prática, pode ser utilizado o ano todo e nas mais diversas áreas vegetais, desde um jardim de uma escola até uma floresta.

Estruturas morfológicas vegetativas, como caules e folhas, são estruturas marcantes para distinguir espécies.

Os dados encontrados é a base para aulas didáticas, que poderá ser utilizada em aulas de campo pela própria universidade e também por escolas de Alegre e adjacências.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J. D. C. Identificação Botânica de árvores de floresta tropical úmida da Amazônia por meio de computador. **Revista Acta Amazônica**. Manaus, v. 28, n. 1, p. 3-30, 1998.

BATALHA, M.A.; ARAGAKI, S.; MANTOVANI, W. Chave de identificação das espécies vasculares do cerrado em Emas (Pirassununga, SP), baseada em caracteres vegetativos. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**. São Paulo, v. 17, p. 85-108, 1998.

BATALHA, M.A.; MANTOVANI, W. Chave de identificação baseada em caracteres vegetativos para as espécies vasculares do Cerrado na ARIE Pé-de-Gigante (Santa Rita do Passa Quatro, SP). **Revista do Instituto Florestal**. São Paulo, v. 11, n.2, p. 137-158, 1999.

CARVALHO, D. C. DE. **Chave de identificação baseada em caracteres vegetativos para as espécies arbóreas da floresta ombrófila densa submontana na ilha da Marambaia, Mangaratiba,RJ**. 2008, 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) - Faculdade de Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. Nacional, São Paulo. 1976.

MAIORALLI, C. P.; SOUZA, C.M.L.; RAMOS, D.C.T.L.; PICCOLO, F.B.; MOTA, L.

L. E.; MEIRELES, S. M. **Chave de identificação baseada em caracteres vegetativos para as espécies arbustivo-arbóreas de fragmentos de cerrado do município de Itirapina, SP**. São Paulo: Instituto de Biologia, UNICAMP, 2009.

PRIGOL, S.; GIANNOTTI, S. M. A importância da utilização de práticas no processo de Ensino-aprendizagem de ciências naturais enfocando a Morfologia da flor. In: Simpósio Nacional de Educação –XX Semana da Pedagogia, 1.,2008, Cascavel/PR. **Anais eletrônicos...**Disponível em: <http://www.unioeste.br/cursos/cascavel/pedagogia/eventos/2008/1/Artigo%2033.pdf> Acesso em: 23 Ago. 2012.

RISSI, M.N.; CAVASSAN, O. Uma proposta de material didático baseado nas espécies de Vochysiaceae existentes em uma trilha no cerrado de Bauru SP. **Biota Neotropica** (Edição em Português. Online). São Paulo, v. 13, p. 27-41, 2013.

ROTTA, E. Identificação Dendrológica do Parque Municipal da Barreirinha, Curitiba-PR (Baseadas em características macromorfológicas). **Revista Floresta**. Curitiba, v. 8, n. 1,1977.

URBANETZ, C.; TAMASHIRO, J. Y.; KINOSHITA, L. S. Chave de identificação de espécies lenhosas de um trecho de Floresta Ombrófila Densa Atlântica, no Sudeste do Brasil, baseada em caracteres vegetativos. **Biota Neotropica** (Edição em Português). São Paulo, v. 10, p. 349-398, 2010

---

## DETECÇÃO DE ATIVIDADE LECTÍNICA EM TECIDOS DE *Cassia fistula* L.

Araújo, J.R.C.<sup>(1)</sup>; Pereira, J.C.S.<sup>(1)</sup>; Santos, M.L.T.<sup>(1)</sup>; Cortez, A. O.<sup>(1)</sup>; Silva, M.D.C.<sup>(1)</sup> ronielly-campelo@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil.

### RESUMO

*Cassia fistula*, popularmente conhecida como chuva-de-ouro, pertence à família de leguminosas; essa espécie tem apresentado potenciais aplicações biológicas, revelando atividade antimicrobiana, antioxidante e larvicida. Seu uso na medicina popular também tem sido observado. Lectinas são proteínas de origem não imune que se ligam reversivelmente a carboidratos e podem ser encontradas em vegetais, animais e micro-organismos. Neste trabalho, folhas, flores e sementes de *Cassia fistula* foram submetidos a extrações,

precipitações proteicas com sulfato de amônio (diferentes saturações), ensaios de atividade hemaglutinante (AH) para detecção de atividade lectínica e quantificação proteica. Foi detectada atividade lectínica em extratos brutos (EB) e frações de todos os tecidos avaliados. As frações de folhas revelaram maiores concentrações de proteínas; entre as preparações obtidas, a fração 0-80% dialisada de folhas apresentou maiores títulos de AH e a mais elevada AH específica (AHE). Os resultados revelaram os tecidos de *C. fistula* como uma fonte de amostras proteicas com atividade lectínica.

**Palavras-chave:** Atividade Hemaglutinante, Lectinas.

## INTRODUÇÃO

O uso de plantas pela população humana, assim como a investigação de novos recursos vegetais, tem merecido destaque na atualidade devido ao crescente interesse pelos produtos naturais. A espécie *Cassia fistula*, pertencente à família Leguminosae, tem importância ornamental e apresenta distribuição em regiões tropicais e subtropicais, incluindo a região semiárida do Brasil. Também conhecida como chuva de ouro, tem sido amplamente avaliada quanto às suas potenciais ações biológicas, e tem apresentado atividade antitumoral, antioxidante, cicatrizante, larvicida, antinutricional, antimicrobiana (Govindarajan et al., 2011; Gupta et al., 2000; Manonmani et al., 2005; Kumar et al., 2006; Duraipandiyan et al., 2011; Siddhuraju et al., 2002; Duraipandiyan; Ignacimuthu, 2007), entre outras propriedades.

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica, capazes de interagir de forma reversível com carboidratos através de

pelo menos dois sítios de ligação, aglutinar células vegetais e/ou animais e precipitar glicoconjugados (Goldstein et al., 1980). Essas proteínas são amplamente distribuídas na natureza, sendo encontradas em animais e vegetais. Nas plantas, as lectinas podem ser detectadas em diferentes tecidos tais como folhas (Koike et al., 1995), sementes (Kamemura et al., 1996), cascas (Wititsuwannakul et al., 1998) e raízes (Yamashita et al., 1992). Lectinas de leguminosas têm sido intensamente estudadas (Sharon e Lis, 1990; Paiva e Coelho, 1992; Coelho e Silva, 2000), sendo esta família a mais explorada quanto ao isolamento dessa classe de macromoléculas.

A presença de lectinas em uma amostra proteica é revelada através de um ensaio de atividade hemaglutinante (AH), em que se utiliza uma diluição seriada da amostra seguida de uma incubação com eritrócitos, para se avaliar a formação de uma rede de aglutinação de células por lectinas.

O objetivo deste trabalho foi detectar a presença de atividade lectínica em extratos brutos e frações proteicas obtidas a partir de diferentes tecidos de *C. fistula*, tais como folhas, flores e sementes.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material vegetal***

Folhas, flores (órgãos sexuais, e pétalas e sépalas) e sementes de *C. fistula* foram coletadas pela manhã na cidade de Mossoró-RN e foram postas para secar em temperatura ambiente. Um espécime do vegetal coletado foi destinado à identificação taxonômica baseada na comparação com a coleção pertencente ao acervo do Herbário Dárdano de Andrade-Lima, do Departamento de Ciências Vegetais da UFERSA.

### ***Extrações e precipitações proteicas***

Os materiais coletados foram triturados e as farinhas foram submetidas à extrações proteicas a 10% (p/v), em temperatura ambiente, sob agitação constante por 16 horas, em solução salina (NaCl 0,15M), seguidas de centrifugação (8.000 rpm, 20 min, 4°C) para a obtenção dos extratos brutos (EB). As farinhas obtidas das folhas foram também submetidas à extração proteica em soluções tampão (diferentes valores de pH: 2, 5, 7, 8 e 10).

Os EB de folhas e sementes, preparados em solução salina, foram submetidos a fracionamentos salinos para precipitação proteica, em temperatura ambiente, sob agitação constante e suave por 4 horas; os fracionamentos foram realizados com a adição do sulfato de amônio, nas saturações de 0-30%, 30-60%, 60-90% e 0-80% (os precipitados foram denominados F0-30, F30-60, F60-90 e F0-80, respectivamente). As frações obtidas de folhas foram submetidas à diálise exaustiva em membranas semipermeáveis, a 4°C, por 5 h contra NaCl 0,15M para

eliminação do sulfato de amônio. Durante o processo, trocas da solução foram realizadas periodicamente.

### ***Ensaio de atividade hemaglutinante (AH)***

Para detecção de atividade lectínica em EB e frações, foram realizados ensaios de AH em placas de microtitulação (Correia e Coelho, 1995); os EB de todos os tecidos preparados em solução salina e os EB de folhas preparados em soluções tampão (valores de pH: 2, 5, 7, 8 e 10) foram ensaiados utilizando eritrócitos glutarizados de coelho e/ou eritrócitos humanos (tipo A); as frações proteicas (dialisadas ou não dialisadas) obtidas de folhas e as frações proteicas (não dialisadas) obtidas de sementes foram ensaiadas utilizando eritrócitos glutarizados de coelho, carneiro, bezerro e eritrócitos humanos (tipo A). As amostras foram submetidas a diluições seriadas em solução salina e/ou soluções tampão, seguidas da adição de eritrócitos em suspensão de 2,5 %, tratados com glutaraldeído; o título de cada AH foi determinado como o inverso da maior diluição com total aglutinação, após 45 min de repouso. AH específica das amostras foi determinada como a AH dividida pela concentração proteica.

### ***Estimativa proteica***

As frações proteicas obtidas, dialisadas ou não-dialisadas, foram submetidas à quantificação de proteínas de acordo com Lowry et al. (1951), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) com valores compreendidos entre 0 e 500 µg.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de AH permite detectar a atividade lectínica de amostras proteicas; a AH dos EB de folhas, de órgãos sexuais, de pétalas e sépalas e de sementes, preparados em solução salina, utilizando eritrócitos glutarizados de coelho e humanos (tipo A), foi detectada (Tabela 1). O EB de folhas apresentou a melhor AH ( $64^{-1}$ ); por isso, as folhas foram escolhidas para extração proteica em soluções tampão com diferentes valores de pH para avaliar a presença e a variação de AH frente a variação de pH. Apenas EB em pH 2 não revelou AH (Tabela 2); EB em pH 7 e 8 apresentaram maior título de AH (Tabela 2), equivalente ao título obtido com o EB em solução salina (Tabela 1). Os EB de folhas e de sementes preparados em solução salina foram submetidos a fracionamento salino com sulfato de amônio nas saturações de 0-30%, 30-60%, 60-90%; EB de folhas foram também submetidos a precipitação proteica utilizando saturação de 0-80%. A AH das frações foi avaliada com eritrócitos glutarizados de coelho, carneiro, bezerro e humanos (tipo A) (Tabela 3). Frações da folha exibiram maiores títulos de AH; por isso, foram submetidas ao processo de diálise exaustiva em membrana semipermeável (a 4°C, por 5h) para separação do sulfato de amônio. As frações das folhas apresentaram maiores títulos de AH após diálise, com todos os tipos de eritrócitos

utilizados; o melhor resultado foi obtido com F0-80% ensaiada com eritrócitos glutarizados de coelho, com uma AH de  $1024^{-1}$ .

**Tabela 1.** Atividade hemaglutinante (AH) dos extratos brutos de tecidos de *Cassia fistula* em NaCl 0,15 M, utilizando eritrócitos glutarizados de coelho ou humanos tipo A.

Extratos Brutos (EB)	AH com eritrócitos de coelho	AH com eritrócitos humanos tipo A
EB de folhas	$64^{-1}$	$8^{-1}$
EB de sementes	$32^{-1}$	$2^{-1}$
EB de órgãos sexuais	$32^{-1}$	$2^{-1}$
EB de pétalas e sépalas	$8^{-1}$	0

A estimativa proteica das amostras revelou maior concentração de proteínas nas frações não dialisadas de folhas (Tabela 4), em que FF2 apresentou o maior teor proteico (37,9 mg/ml); porém, a melhor AHE foi obtida nas frações dialisadas, em que FF4d apresentou a mais elevada AHE (164.10). Leite e colaboradores (2002) investigaram a presença de lectinas na leguminosa *Indigofera suffruticosa*; a F0-60 dialisada, obtida a partir das folhas dessa espécie, apresentou AH de  $2048^{-1}$  e o teor proteico de 9,1 mg/ml. Tais dados, comparados aos resultados obtidos nesse estudo, são um respaldo ao potencial lectínico verificado em diferentes tecidos de *C. fistula*.

**Tabela 2.** Atividade hemaglutinante (AH) dos extratos brutos de folhas de *Cassia fistula* em soluções tampão com diferentes valores de pH, utilizando eritrócitos glutarizados humanos tipo A.

Extratos Brutos (EB) de folhas em diferentes valores de pH	AH com eritrócitos humanos tipo A
EB em pH 2	0
EB em pH 5	$4^{-1}$

EB em pH 7	8 <sup>-1</sup>
EB em pH 8	8 <sup>-1</sup>
EB em pH 10	4 <sup>-1</sup>

**Tabela 3.** Atividade hemaglutinante (AH) das frações proteicas de folhas e de sementes de *Cassia fistula* em NaCl 0,15 M, utilizando eritrócitos glutarizados de coelho, carneiro, bezerro ou humanos tipo A.

Frações Proteicas	AH com eritrócitos humanos tipo A	AH com eritrócitos de coelho	AH com eritrócitos de carneiro	AH com eritrócitos de bezerro
SF1	2 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
SF2	2 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
SF3	2 <sup>-1</sup>	4 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
FF1	2 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>	4 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
FF2	4 <sup>-1</sup>	64 <sup>-1</sup>	2 <sup>-1</sup>	4 <sup>-1</sup>
FF3	4 <sup>-1</sup>	64 <sup>-1</sup>	8 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>
FF4	4 <sup>-1</sup>	64 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
FF1d	2 <sup>-1</sup>	64 <sup>-1</sup>	8 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>
FF2d	4 <sup>-1</sup>	256 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>	8 <sup>-1</sup>
FF3d	4 <sup>-1</sup>	256 <sup>-1</sup>	16 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>
FF4d	8 <sup>-1</sup>	1024 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>	32 <sup>-1</sup>

SF1: fração 0-30% de sementes; SF2: fração 30-60% de sementes; SF3: fração 60-90% de sementes; FF1: fração 0-30% de folhas; FF2: fração 30-60% de folhas; FF3: fração 60-90% de folhas; FF4: fração 0-80% de folhas; FF1d: fração 0-30% dialisada de folhas; FF2d: fração 30-60% dialisada de folhas; FF3d: fração 60-90% dialisada de folhas; FF4d: fração 0-80% dialisada de folhas.

**Tabela 4.** Estimativa proteica das frações proteicas de folhas e de sementes de *Cassia fistula*, e atividade hemaglutinante específica (AHE) com eritrócitos glutarizados de coelho.

Frações	Proteínas (mg/ml)	AHE com eritrócitos de coelho
SF1	5,4	5.93
SF2	7,4	4.33
SF3	2,1	1.90
FF1	33,7	0.48
FF2	37,9	1.69
FF3	25,5	2.51
FF4	31,7	2.02
FF1d	8,7	7.36
FF2d	11,5	22.26
FF3d	5,62	45.55

## CONCLUSÃO

*Cassia fistula* revelou ser uma rica fonte lectínica, pois foi detectada atividade hemaglutinante, utilizando diferentes eritrócitos, em todos os extratos brutos e frações proteicas obtidas a partir de folhas, flores e sementes, principalmente com eritrócitos de coelho.

As amostras dialisadas revelaram os mais elevados valores de atividade hemaglutinante específica (AHE); a fração 0-80% dialisada de folhas (FF4d) e, em seguida, a fração 60-90% dialisada de folhas (FF3d) apresentaram os melhores valores de AHE.

Outros ensaios e métodos estão sendo desenvolvidos com amostras proteicas de *C. fistula* para melhor caracteriza-las quanto à especificidade a carboidratos, perfil eletroforético e para o isolamento lectínico.

## REFERÊNCIAS

COELHO, L.C.B.B.; SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 295-300, 2000.

CORREIA, M. T. S; COELHO, L. C. B. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, Isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, p. 261-273, 1995.

DURAI PANDIVAN, V; IGNACIMUTHU, S. Antibacterial and antifungal activity of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 590-594, 2007.

DURAI PANDIVAN, V; IGNACIMUTHU, S; PAULRAJ, MG. Antifeedant and larvicidal activities of Rhein isolated from the flowers of *Cassia fistula* L. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 18, p. 129-133, 2011.

GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T; SHARON, N. What should be called a lectin? **Nature**, v. 285, p. 66, 1980.

GOVINDARAJAN, M; SIVAKUMARI, R; RAJESWARI, M. Larvicidal efficacy of *Cassia fistula* Linn. leaf extract against *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 1, p. 295-298, 2011.

GUPTA, M; MAZUMDER, UK; RATH, N; MUKHOPADHYAY, D. K. Antitumor activity of methanolic extract of *Cassia fistula* L. seed against Ehrlich Ascites Carcinoma. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 151-156, 2000.

KUMAR, MS; SRIPRIVA, R; RAGHAVAN, HV; SEHGAL, PK. Wound Healing Potential of *Cassia fistula* on Infected Albino Rat Model. **Journal of Surgical Research**, v. 131, p. 283-289, 2006.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MANONMANI, G; BHAVAPRIYA, V; KALPANA, S; GOVINDASAMY, S; APPARANANTHAM, T. Antioxidant activity of *Cassia fistula* (Linn.) flowers in alloxan induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 39-42, 2005.

SHARON, N.; LIS, H. Legumes lectins – a large Family of homologous proteins. **Federation American Societies Experimental Journal**, Bethesda, v. 4, p. 3198-3208, 1990.

SIDDHURAJU, P; MOHAN, P. S; BECKER, K. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. **Food Chemistry**, v. 79, p. 61-67, 2002.

KAMEMURA, K.; FURUICHI Y.; UMEKAWA H.; TAKAHASHI, T. Purification and characterization of a pod lectin from Great Northern bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Biochemical Biophysical Acta**, v. 1289, p. 87-94, 1996.

KOIKE, T.; BEPPU, H.; KUSUYA, H.; MARUTA, K. SHIMPO, K.;SUZUKI, M.; TITANI, K.; FUJITA, K. A37kDa mannose-bind lectin with hemagglutinating and mitogenic activities from “Kidachi Aloe” (*Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger). **Journal Biochemistry**, v. 109, p. 899-903, 1995.

LEITE, S. P.; LEITE, A. C. R.; SILVA, M. B. R.; PAIVA, P. M. G.; LIMA, E. E. O.; COELHO, L. C. B. B.; LIMA, V. L. M. Atividade lectínica em folhas de *Indigofera suffruticosa*. Universidade Federal do Ceará, p. 1-4. 2002.

PAIVA, P. M. G.; COELHO, L. C. B. B. Purification and partial characterization of two lectins isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu Bean) **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, p. 113-118, 1992.

WITITSUWANNAKUL, R.; WITISUWANNAKUL, D. SAKULBORIRUG, C. A lectin from the bark of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Phytochemistry**, v. 47, p. 183-187, 1998.

YAMASHITA, K.; OHKURA, T.; UMETSU, K.; SUZUKI, T. Purification and characterization of A Fuc? 1- 2 Gal ? 1 - and GalNAc ? 1-specific lectins in root tubers of *Trichosanthes japonica*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, p. 25414-25422, 1992.

---

**DETECÇÃO DE ATIVIDADE LECTÍNICA EM TECIDOS DE  
*Combretum leprosum* MART.**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil.

## RESUMO

Lectinas são proteínas presentes em diversos organismos, de origem não imune, capazes de ligar a carboidratos ou glicoconjugados, através de sítios ligantes específicos. *Combretum leprosum* é uma planta amplamente utilizada na medicina popular. Há uma gama de estudos explorando várias propriedades farmacológicas de extratos alcoólicos e hidroalcoólicos dessa espécie; por outro lado, há escassez de estudos farmacológicos com extratos aquosos dos diferentes tecidos da planta, explorando potenciais macromoléculas, como polissacarídeos e proteínas, como possíveis agentes biológicos ativos. Neste trabalho, cascas, folhas e sementes de *C. leprosum* foram submetidas a processos de extração e precipitação proteica; as amostras foram avaliadas através de método de quantificação de proteínas e ensaios de atividade hemaglutinante (AH) com eritrócitos humanos (sistema ABO) para detectar presença de atividade lectínica. Todas as amostras apresentaram títulos elevados de AH.

**Palavras-chave:** Lectinologia, Mofumbo.

## INTRODUÇÃO

As informações etnofarmacológicas de uma planta constituem um ponto de partida importante para a descoberta de novos agentes terapêuticos de origem vegetal. O uso popular de uma planta para o tratamento de doenças é um indicativo da presença de compostos bioativos com utilidade potencial na medicina (Mans et al., 2000).

A diversidade, em termos estruturais e de propriedades químicas na qual essas substâncias ocorrem na natureza, podem servir para o desenvolvimento de um grande número de produtos naturais de interesse comercial, principalmente fitofármacos. *C. leprosum* Mart. (Combretaceae) é uma espécie comumente encontrada no Nordeste do Brasil, onde é popularmente conhecida como “mufumbo”, “mofumbo” ou “cipoaba” (Lira et al., 2002); a espécie é amplamente utilizada na medicina popular (Albuquerque et al., 2007). Com relação à importância, ao potencial bioativo e a ocorrência dessa planta na Caatinga, há uma gama de estudos explorando várias propriedades farmacológicas de extratos alcoólicos e hidroalcoólicos dessa espécie, focando a ação de metabólitos secundários (Pietrovski et al., 2006; Longhi-Balbinot et al., 2009, 2011, 2012; Nunes et al., 2009; Lopes et al., 2010; Teles et al., 2011, Horinouchi et al., 2013); por outro lado, há escassez de estudos farmacológicos com extratos aquosos dos diferentes tecidos da planta, explorando potenciais macromoléculas, como polissacarídeos e proteínas, como possíveis agentes biológicos ativos. Por isso, a espécie mostra-se como excelente objeto de estudo para avaliação da atividade lectínica de extratos e frações proteicas obtidas a partir de diferentes tecidos, como folhas, cascas e sementes.

## **MATERIAL E METÓDOS**

### ***Material vegetal, extração e precipitação de proteínas***

Um espécime de cada material vegetal coletado foi destinado à identificação taxonômica baseada na comparação com a exsicata MOSS 10195 pertencente ao acervo do Herbário Dárdano de Andrade-Lima, do Departamento de Ciências Vegetais da UFERSA. Os tecidos (folhas, casca do caule e sementes) foram separadamente triturados e cada farinha foi submetida à extração (10% p/v) em solução de NaCl 0,15M (por 16 h, sob agitação constante, a temperatura ambiente), seguida da filtração e centrifugação (8000 rpm, por 20 min, a 4°C) para obtenção do extrato bruto (EB).

EB foi submetido à precipitação proteica utilizando sulfato de amônio; o sal foi adicionado ao EB para uma concentração salina de 30% (p/v); após agitação por 4 h a temperatura ambiente, foi realizada centrifugação (8000 rpm, por 20 min, a 4°C) para obtenção da fração proteica. O procedimento foi repetido com o sobrenadante da centrifugação, para uma concentração salina de 30-60% e, em seguida, para uma concentração salina de 60-90%. As frações foram submetidas à diálise exaustiva em membranas semipermeáveis, a 4°C, por 7 h contra NaCl 0,15M para eliminação do sulfato de amônio. Durante o processo, trocas da solução foram realizadas periodicamente.

### ***Ensaio de atividade hemaglutinante (AH)***

Para detectar atividade lectínica, as amostras proteicas foram submetidas a ensaios de AH em placas de microtitulação (Correia; Coelho, 1995). Foram colocados 50 µl de NaCl 0,15M em cada poço, e

adicionadas as amostras (50 µl) ao segundo poço de cada ensaio; foram realizadas diluições seriadas das amostras, seguidas da adição (50 µl) de eritrócitos humanos (sistema ABO) em suspensão (2,5% v/v, em NaCl 0,15M), tratados com glutaraldeído, de acordo com o método de Bing et al. (1967). Após 45 min em repouso, o título da AH foi determinado como o inverso da maior diluição com total aglutinação. A AH específica (AHE) foi determinada como a AH dividida pela concentração proteica (em mg/ml).

### ***Dosagem proteica***

As amostras proteicas (EB, frações e sobrenadantes finais, obtidas pré e pós-diálise) foram quantificadas pelo método de Lowry et al. (1951) sendo utilizada uma curva padrão de albumina sérica bovina, com valores compreendidos entre 0 e 500 µg.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A etapa inicial consistiu no processo de extrações de proteínas de diferentes tecidos (10% p/v) em NaCl 0,15M, utilizando 50g de farinha das folhas e das cascas secas, e 20g de farinha de sementes secas. Os extratos (EB) renderam 384mL, 380mL e 166mL, respectivamente. NaCl 0,15M tem sido uma solução de extração amplamente utilizada

devido a manutenção da atividade biológica das proteínas de interesse (Coelho; Silva, 2000)

Os EB foram então submetidos ao processo de fracionamento salino utilizando-se três saturações de sulfato de amônio, explorando a diferença de solubilidade que as proteínas apresentam em solução contendo sulfato de amônio, com pellets ressuspensos de maneira uniforme entre as amostras (1mL de NaCl 0,15M/fracionamento obtido a partir de 10g de farinha). O fracionamento a 30% do extrato bruto da semente (EBS) não formou precipitado. Posteriormente, alíquotas de todas as frações foram dialisadas; após esse procedimento, foram realizados novos ensaios de AH e a dosagem de proteínas dos EB e suas respectivas frações não dialisadas (Tabela 1) e dialisadas (Tabela 2); as amostras dialisadas apresentaram menor solubilidade em NaCl 0,15M.

A redução da quantidade de proteínas nas amostras dialisadas esteve relacionada à diluição ocorrida durante a diálise. A dosagem de proteínas das amostras obtidas a partir das sementes revelou um elevado conteúdo proteico no EB (denominado EBS) e na fração proteica obtida no último processo de fracionamento, com 60-90% de saturação salina (fração denominada SF3).

Gaidamashvili e van Staden (2002) estudaram a presença de lectinas em casca de *Combretum mkuzense*, determinando a concentração mínima da proteína que provoca a aglutinação visível igual a 9,3mg/ml; essa concentração, comparada às concentrações obtidas nesse estudo

(Tabelas 1 e 2), pode ser considerada elevada, dando respaldo ao potencial lectinico de diferentes tecidos de *C. leprosum*.

**Tabela 1.** Atividade hemaglutinante de amostras obtidas a partir de casca, folhas e sementes de *C. leprosum*, não dialisadas.

Amostra	E	AH ( <sup>-1</sup> )	Proteína (mg/mL)	MCAHV (mg/mL)	Proteína	
					Total (mg x vol)*	AHE (AH/mg/ml)
<b>EBF</b>	A	2048	14.98	0.007	-	136.70
	B	1024		0.015		68.35
	AB	1024		0.015		68.35
	O	1024		0.015		68.35
<b>FF1</b>	A	32768	98.91	0.003	296.73	331.29
	B	32768		0.003		331.29
	AB	32768		0.003		331.29
	O	32768		0.003		331.29

<b>FF2</b>	A	131072	97.75	0.001	293.24	1340.95
	B	32768		0.003		335.24
	AB	32768		0.003		335.24
	O	8192		0.012		83.81
<b>FF3</b>	A	4096	91.49	0.022	274.47	44.77
	B	4096		0.022		44.77
	AB	4096		0.022		44.77
	O	4096		0.022		44.77
<b>EBC</b>	A	4096	21.67	0.005	-	188.99
	B	4096		0.005		188.99
	AB	4096		0.005		188.99
	O	4096		0.005		188.99
<b>CF1</b>	A	8192	53.67	0.007	161.02	152.63
	B	2048		0.026		38.16
	AB	4096		0.013		76.31
	O	1024		0.052		19.08
<b>CF2</b>	A	16384	91.93	0.006	275.78	178.23
	B	4096		0.022		44.56
	AB	16384		0.006		178.23
	O	2048		0.045		22.28
<b>CF3</b>	A	-	105.89	-	317.67	-
	B	-		-		-
	AB	-		-		-
	O	-		-		-
<b>EBS</b>	A	-	105.31	-	-	-
	B	-		-		-
	AB	-		-		-
	O	-		-		-
<b>SF2</b>	A	16384	73.02	0.004	219.05	224.38
	B	65536		0.001		897.53
	AB	32768		0.002		448.76
	O	4096		0.018		56.10
<b>SF3</b>	A	32768	111.85	0.003	335.56	292.95

B	4096	0.027	36.62
AB	16384	0.007	146.48
O	65536	0.002	585.90

E: eritrócito; AH: atividade hemaglutinante; AHE: atividade hemaglutinante específica; MCPAV: concentração mínima da proteína que provoca a aglutinação visível; EBF: Extrato bruto da folha; FF1: Fração 0-30% da folha; FF2: Fração 30-60% da folha; FF3: Fração 60-90% da folha; EBC: Extrato bruto da casca; CF1: Fração 0-30% da casca; CF2: Fração 30-60% da casca; CF3: Fração 60-90% da casca; EBS: Extrato bruto da semente; SF2: Fração 30-60% da semente; SF3: Fração 60-90% da semente. \*Referente à quantidade de proteína inicial antes da diálise.

**Tabela 2.** Atividade hemaglutinante de amostras obtidas a partir de casca, folhas e sementes de *C. leprosum*, dialisadas.

Amostra	E	AH ( <sup>-1</sup> )	Proteína (mg/mL)	MCAHV (mg/mL)	Proteína Total (mg x vol)*	AHE (AH/mg)
<b>FF1D</b>	A	32768		0.002		492.95
	B	16378	66.47	0.004	262.57	246.39
	O	16378		0.004		246.39
<b>FF2D</b>	A	8192		0.007		150.19
	B	8192	54.55	0.007	282.55	150.19
	O	8192		0.007		150.19
<b>FF3D</b>	A	8192		0.005		194.88
	B	8192	42.04	0.005	250.12	194.88
	O	2048		0.021		48.72
<b>CF1D</b>	A	512		0.080		12.53
	B	512	40.87	0.080	138.97	12.53
	O	512		0.080		12.53
<b>CF2D</b>	A	4096		0.011		88.83
	B	8192	46.11	0.006	216.71	177.67

	O	8192		0.006		177.67
<b>CF3D</b>	A	8192		0.005		197.61
	B	8192	41.45	0.005	335.78	197.61
	O	32		1.295		0.77
<b>SF2D</b>	A	2048		0.012		83.56
	B	2048	24.51	0.012	35.54	83.56
	O	2048		0.012		83.56
<b>SF3D</b>	A	16384		0.002		590.51
	B	4096	27.75	0.007	-	147.63
	O	2048		0.014		73.81

E: eritrócito; AH: atividade hemaglutinante; AHE: atividade hemaglutinante específica; MCPAV: concentração mínima da proteína que provoca a aglutinação visível; FF1D: Fração 0-30% dialisada da folha; FF2D: Fração 30-60% dialisada da folha; FF3D: Fração 60-90% dialisada da folha; CF1D: Fração 0-30% dialisada da casca; CF2D: Fração 30-60% dialisada da casca; CF3D: Fração 60-90% dialisada da casca; SF2D: Fração 30-60% dialisada da semente; SF3D: Fração 60-90% dialisada da semente. \*Referente à quantidade de proteína inicial após a diálise.

## CONCLUSÃO

A espécie vegetal *Combretum leprosum* constitui uma fonte rica de lectinas, uma vez que todos os extratos brutos e frações obtidas com sulfato de amônio dos três tecidos estudados apresentaram elevados títulos de atividade hemaglutinante com eritrócitos humanos (sistema ABO). As amostras dialisadas que revelaram os mais elevados valores de atividade hemaglutinante específica foram a fração 60-90% dialisada da semente (SF3D) e, em seguida, a fração 0-30% dialisada da folha (FF1D) (ensaiadas com eritrócitos humano tipo A). Ensaio e métodos específicos estão sendo realizados para caracterizar as amostras com atividade lectínica quanto à afinidade e especificidade a carboidratos e para o isolamento lectínico.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brasil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325-354, 2007.

BING, D. H.; WEYAND, J. G. M.; STAVINSKY, A. B. Hemagglutination with aldehyde fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. **Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 124, p. 1166-1170, 1967.

COELHO, L.C.B.B.; SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 295-300, 2000.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, Isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, p. 261-273, 1995.

GAIDAMASHVILI, M; VAN STADEN, J. Lectin-like proteins from South African plants used in traditional medicine. **South African Journal of Botany**, v. 68, p. 36–40, 2002.

HORINOUCI, C. D. S.; MENDES, D. A. G. B.; SOLEY, B. S.; PIETROVSKI, E. F.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. S.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F. *Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae): Potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agente. **Journal of Ethnopharmacology**, 145, 311–319, 2013.

LONGHI-BALBINOT, D. T.; LANZMASTER, D.; BAGGIO, C. H.; SILVA, M. D.; CABRERA, C. H.; FACUNDO, V. A. & SANTOS, A. R. S. Anti-inflammatory effect of triterpene 3b, 6b, 16b-trihydroxylup-20(29)-ene obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 59–64, 2012.

LONGHI-BALBINOT, D. T.; MARTINS, D. F.; LANZMASTER, D.; SILVA, M. D.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. S. Further analyses of mechanisms underlying the antinociceptive effect of the triterpene 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 16 $\beta$ -trihydroxylup-20(29)-ene in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 653, p. 32–40, 2011.

LONGHI-BALBINOT, D. T.; PIETROVSKI, E. F.; GADOTTI, V. M.; MARTINS, D. F.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. S. Spinal antinociception evoked by the triterpene 3 $\beta$ , 6 $\beta$ , 16 $\beta$ -trihydroxylup-20(29)-ene in mice: Evidence for the involvement of the glutamatergic system via NMDA and metabotropic glutamate receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 623, p. 30–36, 2009.

LOPES, L. S.; MARQUES, R. B.; PEREIRA, S. S.; AYRES, M. C. C.; CHAVES, M. H.; CAVALHEIRO, A. J.; VIEIRA JÚNIOR, G. M.; ALMEIDA, F. R. C. Antinociceptive effect on mice of the hydroalcoholic fraction and (-) epicatechin obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich. **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research**, v. 43, n. 12, p. 1184-1192, 2010.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MANS, D. R. A.; ROCHA, A. B.; SCHWARTSMANN, G. Anti-cancer drug discovery and development in Brasil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anti-cancer compounds. **The Oncologist**, v. 5, p. 185-198, 2000.

NUNES, P. H.; CAVALCANTI, P. M.; GALVÃO, S. M.; MARTINS, M. C. Antiulcerogenic activity of *Combretum leprosum*. **Pharmazie**, v. 64, n. 1, p. 58-62, 2009.

PIETROVSKI, E. F.; ROSA, K. A.; FACUNDO, V. A.; RIOS, K.; MARQUES, M. C.; SANTOS, A. R. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3h,6h,16h-trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 83, n. 1, p. 90-99, 2006.

TELES, C. B. G.; MOREIRA, L. S.; SILVA, A. A. E.; FACUNDO, V. A.; ZULIANI, J. P.; STÁBELI, R. G.; SILVA-JARDIM, I. Activity of the Lupane Isolated from *Combretum leprosum* against *Leishmania amazonensis* Promastigotes, **Journal of The Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 5, p. 936-942, 2011.

---

# DETECÇÃO DE LÍPASE POR CEPA DE *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*

Santos Cordeiro, C.C.<sup>(1)</sup>; Lima, J. M. M.<sup>(2)</sup>; Lima, B.F.<sup>(1)</sup>; Correia, M. A. B.<sup>(1)</sup>; Andrade Silva, N. R.<sup>(1)</sup>; Sá Muniz, M. C.<sup>(1)</sup>; Souza D.G.<sup>(1)</sup>; Rocha Moura, C. M.; Lima, J. M. M.<sup>(2)</sup>; Alves da Silva, C.A.<sup>(1)</sup> cidaliacordeiro@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Católica de Pernambuco - UNICAP, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

Lipases pertencem ao grupo das hidrolases que catalisam a conversão de triacilgliceróis a ácidos graxos livres e glicerol. Possuem significativo potencial biotecnológico como catalisadores em reações de síntese orgânica em meio não aquoso utilizando processos simplificados com altos rendimentos. A produção de lipases tem sido realizada, usualmente, por processo fermentativo submerso; entretanto, o processo em fase sólida também tem se mostrado promissor, quando são utilizados resíduos como fontes de substrato que são nutrientes de baixo custo. O *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* isolado do solo da Caatinga de Pernambuco representa um gênero de fungos filamentosos com um elevado potencial biotecnológico na produção de ácidos orgânicos e enzimas. Foi realizado inoculado em meio de esporulação (YMA – extrato de malte, extrato de levedura, peptona, glicose e ágar) por 96h em seguida foi realizado a suspensão de esporos  $10^7$  mL/esporos e inoculado 5% da suspensão nos meios de produção com soro de leite (5%, 10% e 20%) acrescido do indutor tween 80 mas 0,1% de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>), 0,1% de fosfato de potássio monobásico (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 0,05% de sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O). O pH foi ajustado a 6,5 com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,5 M. Os experimentos foram realizados em duplicata em Erlenmeyers de 500 mL, com volume inicial de meio de 200 mL, e mantidos em agitador orbital a 28 °C por 216 horas, com agitação de 150 min<sup>-1</sup>. Amostras foram coletadas no tempo inicial de 24 horas por 9 dias para determinação da atividade lipolítica. Na fermentação submersa, a cepa do *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* de acordo com o resultado obtido foi observado produção de lípase com a presença do indutor.

**Palavras-chave:** Produção Enzimática, Enzima, Caatinga.

## INTRODUÇÃO

A tecnologia enzimática é hoje um dos campos mais promissores dentro das novas tecnologias para síntese de compostos de alto valor agregado (LIMA,2012).Enzimas são catalisadores biológicos que possuem diversas vantagens em relação aos catalisadores químicos, como a alta seletividade para determinados substratos, a sua versatilidade (podem atuar em amplas faixas de pH e temperatura) e a sua biodegradabilidade. Dentre as enzimas mais utilizadas estão as lípases (glicerol éster hidrolases E. C. 3.1.1.3), que são muito empregadas pela indústria química, farmacêutica, alimentícia, cosmética, entre outras.Portanto, as lípases têm as aplicações clássicas baseadas em processos que utilizam reações de hidrólise de triacilgliceróis, mas a sua utilização em meios orgânicos (ambientes aquo-restritos), tem possibilitado o seu uso em reações de síntese de ésteres.Os ésteres são amplamente utilizados em diversas áreas, por exemplo, como aditivos em combustíveis, emolientes em cosméticos, drogas, biopolímeros e herbicidas ( SALUM,2010 ). Segundo Salum (2010) Convencionalmente, as lípases são produzidas por micro-organismos por processos de fermentação submersa (FS), que apresentam as vantagens de maior facilidade de controle do processo e bons rendimentos para a produção de enzimas extracelulares. A economia do processo deve-se à possibilidade da utilização de resíduos

agroindustriais como substrato. A aplicação de resíduos em bioprocessos, ajudando na resolução de problemas de poluição causados pelo despejo de rejeitos agroindustriais na natureza promovendo substratos alternativos de baixo custo, tornando-se economicamente viável em países que são grandes produtores agrícolas, como o Brasil. O reconhecimento dessas vantagens tem proporcionado um aumento considerável na produção e comercialização de lípases, resultando no desenvolvimento de tecnologias alternativas consistentes para utilização no setor industrial (ROVEDA, 2010; CASTRO, 2004). Objetivo deste trabalho produzir lípases via fermentação submersa utilizando fungo selecionado do banco do Laboratório do Núcleo de Pesquisa de Processos Ambientais Universidade Católica de Pernambuco, utilizando como meio resíduo de soro de leite.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Isolamento, identificação e seleção de fungos produtores de lípases***

Os fungos já estavam previamente isolados, identificados e selecionados dos bancos de micro-organismos do Laboratório do Núcleo de Pesquisa de Análise Processos Ambientais.

### ***Produção de lípases via fermentação submersa***

#### ***Micro-organismos***

Os fungos selecionados no item 2.1 foram utilizados para a produção de lípases via fermentação submersa.

### ***Preparo do inóculo***

O preparo dos inoculos foi realizado em placas de Petri contendo o meio YMA utilizando os fungos que apresentaram maiores velocidades de crescimento radial. O inóculo foi incubado durante 7 dias em estufa a 30 °C. Após o crescimento, foi preparada uma suspensão de esporos através da adição de 20 mL de uma solução de 0,1% de emulsificante Tween 80 (Synth), seguida de raspagem dos esporos com uma alça de Drigalsky. A inoculação dos meios foi realizada adicionando-se 5 mL de solução de esporos para cada 200 mL de meio de cultivo.

### ***Meio de cultivo e condições experimentais***

O meio de cultivo utilizado nas fermentações foi o resíduo de soro de leite em concentrações variadas 5%,10% e 20% ao qual se adicionaram os seguintes nutrientes: 0,1% de nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ), 0,1% de fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0,05% de sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e 1% de Tween 80 como indutor. O pH foi ajustado a 6,5 com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1,5 M.

Os experimentos foram realizados em duplicata em Erlenmeyers de 500 mL, com volume inicial de meio de 200 mL, e mantidos em agitador orbital a 28 °C por 216 horas, com agitação de 150 min<sup>-1</sup>. Amostras foram coletadas no tempo inicial de 24 horas por 9 dias para determinação da atividade lipolítica.

### ***Determinação da atividade lipolítica***

A atividade enzimática de lipase foi detectada através da metodologia descrita por Soares et al. (1999). Foi realizada uma reação de uma mistura contendo 5 ml de uma emulsão de óleo de oliva e goma arábica (7%), 2 mL de tampão fosfato de sódio (0,1 M) pH 7,0 e 1 mL do extrato bruto filtrado da lipase produzida na encubação em meio líquido. A mistura foi agitada em shaker orbital a 82 rpm, 37 °C, durante 10 minutos. A reação foi parada através da adição de 10 mL de uma mistura acetona-etanol-água (1:1:1), que irá liberar os ácidos graxos livres presentes na mistura, e titulado com uma solução de KOH (0,04 N) na presença do indicador fenolftaleína. Os ensaios foram realizados em triplicatas e a atividade enzimática foi determinada através da seguinte relação: uma unidade da atividade lipolítica (U/mL) será definida como a quantidade da enzima bruta que liberou 1 µ/mL de ácido graxo por minuto.

### ***Cálculo da atividade enzimática***

A atividade enzimática de lipase foi calculada através da equação seguinte equação:

$$AE \text{ (U/mL)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \times 1000}{t \times V_c}$$

Onde: AE é a atividade lipolítica (U/mL); Va é o volume da amostra titulada (mL); Vb é o volume da amostra utilizado na reação (mL); N é a normalidade da solução de KOH (mol/L); t é o tempo de reação em minutos (SOARES, et al, 1999).

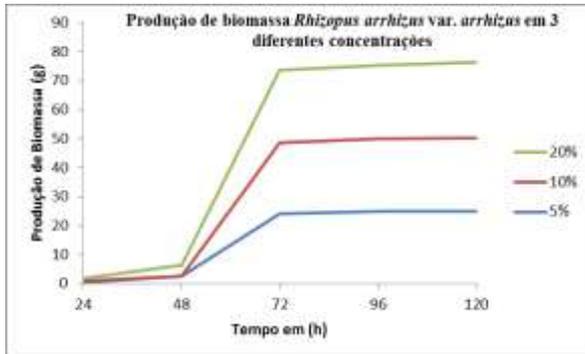
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As lipases podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana, sendo as últimas as mais utilizadas. Dentre as enzimas microbianas, as produzidas por fungos são especialmente valorizadas por serem extracelulares, o que facilita sua recuperação do meio de cultivo. Os fungos filamentosos têm sido estudados como bons produtores de lipases, sendo os gêneros mais citados *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Geotrichum* e *Fusarium* (COLLA;REINEH;COSTA,2012).

Na produção de biomassa em diferentes concentrações 5%,10% e 20% (Figura 1) verificou-se que o fungo *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* obteve melhor rendimento de biomassa na concentração de 20% de soro de leite.O *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* apresentou uma fase lag ou de adaptação de 24h, que um período crítico, onde o micro-organismo sintetiza as enzimas necessárias ao metabolismo dos componentes presentes no meio.

Conforme Hiss(2001) os fungos filamentosos não apresenta a fase logarítmica passando logo para a estacionária, onde há um balanço entre

a velocidade de crescimento e o velocidade de morte celular, causando uma desaceleração e acúmulo de metabólitos, no entanto o *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* apresentou uma fase logarítmica com 48h de cultivo e entrando na estacionária com 72 h de cultura.

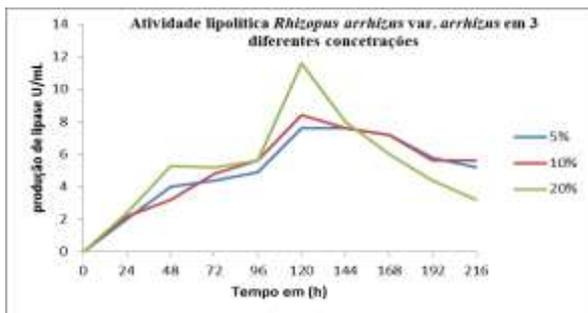


**Figura 1.** Produção de biomassa em diferentes concentrações 5%,10% e 20.

As lipases microbianas são produzidas principalmente em cultivos submersos (COLLA;REINEH;COSTA ,2012).

A atividade lipolítico apresentada pelo o *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus* (Figura 2) não foi significativo em relação as literaturas revisadas, apresentou um maior pico de atividade em 120 h na concentração de 20% de soro de leite com a produção de 11,60 U/mL.

No entanto alguns fatores podem afetar a produtividade destes bioprocessos são principalmente os tipos de concentrações de nutrientes, o pH e a presença de concentrações de indutores, agitação e temperaturas entre outros.



**Figura 2.** Atividade lipolítica apresentada pelo o *Rhizopus arrhizus* var. *arrhizus*

## CONCLUSÃO

A realização de pesquisas que utilizam micro-organismos isolados de novos ambientes, bem como a utilização de resíduos agroindustriais na composição dos meios é necessário, a fim obter elevadas produtividades a custo menores, e fatores que possam afetar a produtividade passe ser controlados, minimizando os erros.

## REFERÊNCIAS

- CARVALHOS,P.O.et al. Potencial de biocatálise enantiosseletiva de lipase microbianas. Química Nova,v.28,n.4,p.614-621,2005.
- CASTRO, H. F. et al. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. Química Nova, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.
- COLLA,M.L.;REINEHR,C.O.;COSTA,J.A.V.Aplicação e Produção de Lipase Microbiana.Revista CIATEC-UPF,V.4(2),P.1-14,2014.
- D'ANNIBALE, A. et al. Olive-mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production. Bioresource Technology, v. 97, n. 15, p. 1828-1833, 2005.

LIMA, V. M. G. M. Produção e purificação da lipase de *Bacillus megaterium* CCOC-P2637 e sua aplicação em biocatálise em solventes orgânicos. Curitiba, 2004. 148 p. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Paraná – UFPR.

MAIA, M. M. D. et al. Effect of culture conditions on lipase production by *Fusarium solani* in batch fermentation. *Biosource Technology*, v.76,n.1,p.23-27,2001.

MENDES, A. A.; CASTRO, H. F. Aplicação de lipases no tratamento de águas residuárias com elevados teores de lipídeos. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p. 296-305, 2005.

ORLANDELLI, R. C. et al. Enzimas de Interesse Industrial: produção por fungos e aplicações. *Rev. Saúde e Biol.*, v.7, n.3, p.97-109, set.-dez., 2012

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMMED, A. Industrial application of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

HISS, Haroldo; Cinética de Processo Fermentativo. *Biotecnologia Industrial*.v.2;2001.p.93-121.

ROVEDA, M.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 30(1):126-131, jan-mar. 2010.

SANT'ANA JUNIOR, G. L. Produção de Enzimas Microbianas. In: LIMA, A. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. (coords). *Biotecnologia Industrial-processo fermentativos*. São Paulo: Edgard Blucher, Ltda, 2001. p.351-362.

SOARES, C. M. F.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 77-79, 1999. 13 p.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, Y. C. Production, purification, characterization and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, v. 19, n. 8, p. 627-662, 2005.

SALUM, T. F. C. Produção e Imobilização de lipases de *Burkholderia cepacia* LTEB11 para síntese de ésteres etílicos. Paraná. 2010. Tese-Universidade Federal do Paraná.

# DEUTONINFAS DE UROPODINA EM PARTES CORPORAIS DE *Chlorida festiva*

Capanaga, P.X.A.A.<sup>(1)</sup>; Silva, F.M.<sup>(1)</sup>; Regueira, J.C.R.<sup>(1)</sup>; Iannuzzi, L.<sup>(1)</sup>  
patxibio@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

O comportamento forético, que consiste na dispersão de animais geralmente de tamanho reduzido está presente em diversos grupos zoológicos. Este trabalho visa avaliar a existência de preferência por partes corporais de *Chlorida festiva* para fixação de deutoninfas de Uropodina e possíveis causas que contribuem para infestação destes coleópteros. Dos exemplares de *C. festiva* da Coleção Entomológica da Universidade Federal de Pernambuco que apresentavam ácaros em sua superfície corporal foram separados três grupos. Cada grupo com dois exemplares, nos quais foram realizadas a contagem e a localização das deutoninfas. Nos exemplares avaliados foi observada uma preferência pela região torácica. Estudos mais aprofundados sobre as peculiaridades destes organismos podem ajudar a elucidar esta relação.

**Palavras-Chave:** Ácaros, Cerambycidae, Foresia.

## INTRODUÇÃO

Os insetos surgiram há cerca de pelo menos 400 Ma. A ordem Coleoptera, que compreende os besouros, é a ordem mais diversa dentro da classe Insecta, tendo surgido no período Triássico, há cerca de 230 Ma (GRIMALDI & ENGEL, 2005). Observando besouros preservados em âmbar, é possível constatar que o estabelecimento da relação entre ácaros e besouros não surgiu recentemente. A grande capacidade de locomoção e diversidade de habitats ocupados pelos insetos, torna

destes, seres potenciais para o comportamento forético por parte de ácaros por possibilitar uma grande dispersão e ocupação de outros ambientes. Os ácaros apresentam hábitos alimentares variados e ocupam praticamente todos os tipos de ambientes que se apresentem acessíveis à vida animal (FLECHTMAN 1975). Os besouros cerambicídeos, popularmente conhecidos como besouros longicórneos ou serra-paus, apresentam como característica marcante, a presença de antenas geralmente longas, com 11 ou 12 artículos e tarsos criptopentâmeros (ARNET, Jr. et. al 2002; COSTA LIMA, 1938). Ácaros Uropodina, além do solo e serrapilheira, habitam líquens e cascas de árvores e apresentam tamanho entre 300 e 1200  $\mu\text{m}$  (KONTSCHÁN 2011). Os ácaros da infraordem Uropodina são de vida livre ou associados a insetos, bem como outros taxa dentro da subordem Mesostigmata (FLECHTMAN 1975).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Neste trabalho foram utilizados exemplares de *Chlorida festiva* da Coleção Entomológica da Universidade Federal de Pernambuco. Os exemplares foram coletados com armadilha Malaise no período compreendido entre os meses de Maio e Julho de 2003 na Reserva Ecológica de Gurjaú, localizada no Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco.

Dentre os exemplares da espécie, foram escolhidos os besouros que apresentavam ácaros na superfície corporal. Os exemplares que apresentavam infestação foram medidos e separados em três grupos de acordo com o seu tamanho: pequeno (P), médio (M) e grande (G). De cada um destes grupos, foram utilizados dois exemplares (Figura 1): P1 (17mm), P2 (18 mm), M1 (20 mm), M2 (21 mm), G1 (24 mm) e G2 (25 mm).



**Figura 1.** Exemplares de *Chlorida festiva* dos diferentes grupos de tamanho, infestados por deutoninfas de Uropodina.

Sendo o tórax visivelmente a região mais infestada, este foi dividido em três partes (Fig.2) para permitir uma melhor análise dos dados. Para observação dos ácaros sobre os besouros foi utilizado estereomicroscópio, possibilitando a retirada de cada indivíduo com o auxílio de um alfinete. Os ácaros foram fotografados sob microscópio óptico com aumento de 400x, contabilizados e avaliados quanto à região que ocupavam no inseto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os exemplares de *C. festiva* analisados, G2 apresentou maior número de deutoninfas de Uropodina (Figura 4) e M2 foi o indivíduo que apresentou o menor número destes ácaros (Tabela 1).

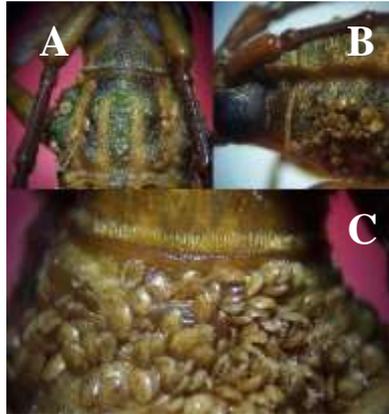
**Tabela 1.** Número de deutoninfas de Uropodina coletadas nas diferentes partes corporais dos exemplares de *Chlorida festiva*.

Exemplar	Tórax			Perna anterior		Outras partes		Total
	Dorsal	Lateral	Ventral	Fêmur	Coxa	Élitro	Antena	
P1 – 17 mm	0	21	57	0	0	0	0	78
P2 – 18 mm	0	24	23	0	0	0	0	47
M1 – 20 mm	4	21	106	1	0	1	0	133
M2 – 21 mm	0	0	33	0	0	0	0	33
G1 – 24 mm	6	39	88	0	2	0	0	135
G2 – 25 mm	11	31	200	0	0	3	1	246
TOTAL								672

Das estruturas corporais do besouro, a presença de ácaros foi predominante no tórax, apresentando 98,8% do total de ácaros encontrados nos exemplares. Em relação às regiões do tórax, a região ventral (Figura 2C) apresentou maior infestação por parte destes aracnídeos, aproximadamente 75,4% do total, seguido da região lateral com cerca de 20,2%.

As demais partes somadas apresentaram cerca de 2,2% do total de ácaros (Figura 3). O tórax pode ter sido bastante colonizado por se tratar de uma região pouco móvel (quando comparada a outras partes como

pernas e élitros) e a porção ventral do tórax talvez possa fornecer maior proteção para estes indivíduos.



**Figura 2.** *Chlorida festiva*. A) região dorsal do tórax; B) região lateral do tórax; C) região ventral do tórax.



**Figura 3.** *Chlorida festiva*. A) Deutoninfa de Uropodina sobre o élitro; B) fêmur; C) antena.

A presença de um pedicelo anal é uma característica marcante em deutoninfas de Uropodina. Através desta estrutura, a deutoninfa é capaz de se fixar sobre a superfície de outros animais, o que evidentemente torna possível sua dispersão para outros habitats, comportamento denominado foresia. Por se tratar de uma estrutura de superfície irregular, quando comparado a outras estruturas, o tórax pode fornecer maior capacidade de fixação ao ácaro.



**Figura 4.** Deutoninfa de Uropodina encontrada nos indivíduos de *Chlorida festiva*..

## CONCLUSÃO

Os ácaros se apresentaram predominantemente concentrados na região do tórax, sendo a região ventral deste, amplamente infestada.

Provavelmente, a irregularidade e proteção oferecida por essa estrutura. A identificação da espécie de ácaro associada a *C. festiva*, juntamente com um estudo mais aprofundado dessa relação talvez possa elucidar algumas questões pertinentes. Dentre estas questões, se destaca a grande quantidade de ácaros encontrados em *C. festiva*, quando comparadas as demais espécies de Cerambycidae.

## REFERÊNCIAS

ARNETT JR, R. H.; THOMAS M. C.; SKELLEY P. E.; FRANK. J. H. American Beetles Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea. Vol. 2. 2002.

COSTA LIMA, A. Coletânea Insetos do Brasil. 1º Tomo. UFRJ. 1ª Ed. 1938.

FLECHTMAN C. H. W. Elementos de acarologia. 1ªEd. pp. 344. 1975.

GRIMALDI, D. & ENGEL M. S. Evolution of the Insects. 2005.

KONTSCHÁN, J. 2011. Taxonomic elements on Uropoda Gressitti Hirschmann, from South Georgia (Acari: Uropodina: Uropodidae). 1972.

---

## DIAGNÓSTICO AMBIENTAL DO ATERRO SANITÁRIO DE TIMON, MA

Sousa, N. D. C.<sup>(1)</sup>; Saraiva, L. S.<sup>(2)</sup>; Sena, R. S.<sup>(3)</sup>; Silva, B. C.<sup>(4)</sup>; Santos, L. B.<sup>(5)</sup>;  
Melo, L. F. S.<sup>(4)</sup> [nayaradannielle@gmail.com](mailto:nayaradannielle@gmail.com)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Piauí - IFPI, Terezina - PI, Brasil;

<sup>(2)</sup>Universidade Estadual do Piauí - UEPI, Terezina - PI, Brasil;

<sup>(3)</sup>Instituto Científico de Ensino Superior e Pesquisa - ICESP, Brasília - DF, Brasil;

<sup>(4)</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - IFTO, Palmas - TO, Brasil;

<sup>(5)</sup>Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, São Luiz - MA, Brasil.

## RESUMO

A urbanização acelerada e o rápido adensamento das cidades têm provocado inúmeros problemas para a destinação dos resíduos sólidos. Este artigo tem por finalidade avaliar o funcionamento como forma de diagnóstico ambiental do aterro sanitário do município de Timon – MA, avaliando a forma de disposição final de resíduos sólidos urbanos no município. O método adotado foi o exploratório-descritivo e *in loco* operacionalizada via estudo de caso. Esta pesquisa revela que o aterro sanitário de Timon – MA foi projetado atendendo o modelo adequado para o funcionamento do aterro sanitário, sendo que isto não corresponde à atualidade. O aterro se encontra em desordem as normas, estando com sua usina de reciclagem e cooperativa desativadas. Assim, o aterro sanitário de Timon – MA atualmente não obedece às normas da Política Nacional dos Resíduos Sólidos. Sendo inutilizado como área de aterro sanitário, sendo assemelhada a uma área de lixão. Oferecendo riscos a saúde dos catadores e prejuízos ao meio ambiente por acúmulo de lixo de forma irregular.

**Palavras Chave:** Gestão de resíduos, Problemas Ambientais.

## INTRODUÇÃO

A história dos resíduos sólidos se confunde com a própria história do homem urbano. Na idade média o lixo era disposto de forma aleatória, no solo ou na água, enterrados ou queimados. Os detalhes sobre o desenvolvimento do gerenciamento de resíduos sólidos são extensos, tendo cada país a sua própria história, em função da disponibilidade de área, clima, educação, entre outros fatores. (GUIZARD et al, 2006).

A crescente degradação ambiental, notória neste último século, tem originado muitos questionamentos acerca dos problemas que a contaminação urbana poderia desencadear sobre a saúde da população. Os resíduos sólidos são considerados a expressão mais visível e concreta dos riscos ambientais, ocupando um importante papel na estrutura de saneamento de uma comunidade urbana e, conseqüentemente, nos aspectos relacionados à saúde pública (MUÑOZ, 2002).

A falta de planejamento municipal acompanhada de pouco investimento em educação ambiental, bem como do congestionamento dos aterros resultou na insuficiência para o atendimento da destinação final do lixo e a consequência final foi a proliferação dos lixões como alternativa para a questão (SANTOS, 1990).

Há uma falta de percepção na sociedade e entre os governantes, e essa falta de atenção para a destinação do lixo se torna um grande problema. A destinação deve ter como consequência não só a limpeza pública, mas também o incentivo a redução da produção de lixo, na forma de reutilização, reciclagem e a também repensando o consumismo exagerado. A preocupação com o meio ambiente vem sendo crescente, devido aos problemas ambientais que estão aparecendo a afetando diretamente a população, mas em relação a destinação do lixo ainda falta muito para que se alcance as metas da educação ambiental. A divulgação sobre isso ainda é pouca, o trabalho em conjunto com a

sociedade é essencial, para que assim o ser humano trabalhe ativamente como ser social; valendo-se do potencial econômico do lixo, para que ocorra o reaproveitamento com resultados positivos.

Do ponto de vista de sustentabilidade, a prioridade é minimizar os impactos ambientais provocados pela destinação inadequada dos resíduos, erradicando os lixões que representam uma situação sanitária indesejável. É importante implantar o manejo diferenciado dos resíduos, incorporando o princípio da minimização de rejeitos e estimuladas a reutilização e a reciclagem dos materiais (ABREU, 2001).

Este artigo tem por finalidade avaliar o funcionamento como forma de diagnóstico ambiental do aterro sanitário do município de Timon – MA atualmente relacionando com seu projeto inicial, avaliando a forma de disposição final de resíduos sólidos urbanos no município em sua atualidade.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram realizados estudos nos meses de dezembro de 2011 a junho de 2012, sendo estes realizados em etapas, entre escolha da área a ser estudada, levantamento bibliográfico e estudo de campo, visitas, entrevistas informal e análise dos resultados. A pesquisa adotada foi a exploratória-descritiva operacionalizada, sendo que para Vergara (2000), “a investigação exploratória é realizada em área na qual há pouco conhecimento acumulado e sistematizado”.

### ***Caracterização da área de estudo***

O Município de Timon-MA tem sua posição geográfica determinada pelo paralelo de 5° 05' 12" de latitude sul em sua interseção com o meridiano de 42° 50' 12" de longitude oeste, às margens do rio Parnaíba e faz parte da região metropolitana de Teresina, Capital do Estado do Piauí, ocupando uma área geográfica de 1.740,559 km<sup>2</sup> com população estimada de aproximadamente 147.214 habitantes. O clima é quente o ano inteiro, com temperatura variando entre os extremos de 20°C e 40°C, sendo que a temperatura média no período mais quente do ano é de 37°C durante o dia e 23°C durante a noite (IBGE, 2010).

O aterro sanitário de Timon está localizado próximo à rodovia federal BR-316 que liga Teresina-PI a São Luis-MA, exatamente no km 5, partindo de Timon em direção a São Luis, distante 8 km do centro da cidade e 7 km da margem do Rio Parnaíba. (SILVA, 2010).

### ***Levantamento Bibliográfico***

Foram efetuados levantamentos bibliográficos sobre os temas: resíduos sólidos, coleta e disposição, e tratamento de resíduos sólidos urbanos. Normas técnicas e procedimentos para construção de aterros; informações regionais e locais sobre a área e seu entorno.

### ***Levantamento de Campo***

Foram feitas visitas a Secretaria de Planejamento - SEMPLAN, a Secretaria de Meio Ambiente e a Secretaria de Desenvolvimento

Urbano – SDU-Norte de Timon-MA. Nestas visitas foram realizadas entrevistas semi-estruturadas informais e de perguntas abertas, com os secretários responsáveis. Posteriormente foram realizadas visitas ao Aterro Sanitário de Timon-MA, para análise, descrição, registro fotográfico, e entrevistas com o diretor e engenheiro sanitarista do Aterro, catadores e com os cooperadores do local.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Estrutura e Funcionamento do Aterro Sanitário de Timon – MA***

O Aterro Sanitário de Timon – MA atendia os problemas causados pelo lixo e trabalhava de forma que pudesse reduzir, reutilizar, reciclar e repensar as formas de como tratar os resíduos sólidos urbanos. Recebia em média cinco toneladas de lixo urbano por dia e operando na cidade com 26 caminhões, sendo que tinha um caminhão exclusivo para lixo hospitalar. Os caminhões faziam o despejo do lixo não aproveitado no momento da reciclagem, onde o destino final seria o aterro. O rejeito sofria processo de redução, compactação e cobertura por matéria inerte, o que pode ser observado na Figura 1.



**Figura 1.** Aterramento do lixo urbano, nos primeiros meses de funcionamento do Aterro Sanitário. Fonte: SOUSA, 2004.

A usina de reciclagem era vista como uma solução simples e ecologicamente correta, com cinco etapas de funcionamento: Recepção, Bojo, Esteira mecânica, Triturador, Esteira e Peneira. O manuseio da usina foi destinado aos trabalhadores da Cooperativa de Catadores de Lixo de Timon – COCALT para facilitar a separação do material reciclado e do material orgânico. O material reciclado era comercializado pelos trabalhadores da cooperativa. Já o material orgânico era aproveitado em forma de adubo orgânico. Depois que o material era peneirado e separado do rejeito, o material orgânico era colocado para entrar em processo de maturação para formar o adubo orgânico.

Associado a produção de adubo orgânico, com o apoio da prefeitura houve a criação da Horta Comunitária dos cooperados da COCALT, onde a horta era cuidada pelos membros da cooperativa e adubo produzido pela usina de reciclagem era utilizado na própria horta, sendo

considerado um projeto de sucesso pelo tempo que funcionou. Funcionou também a produção de carvão vegetal pelos trabalhadores da cooperativa, que eram destinados a venda e, às vezes, para uso próprio dos mesmos. O material recolhido com a poda das árvores da cidade servia de matéria prima para a fabricação do carvão vegetal.

A vigilância sanitária da cidade utilizava o aterro para o descarte de remédios e demais produtos com validade vencida, sendo feita a incineração dos mesmos. O aterro sanitário também era útil para a Agência Nacional de Defesa Agropecuária do Maranhão -AGED, que descartava animais com doenças contagiosas no local. Frisando que todos os procedimentos eram vistoriados por sanitaristas, o que garantia a correta execução dos processos.

### ***Situação Atual do Aterro Sanitário de Timon -MA***

Atualmente, a usina de reciclagem encontra-se desativada. O funcionamento da usina parou no ano de 2007, e segundo o técnico sanitarista responsável pelo local, por falta de peças e manutenção. O aterro conta com a presença de 26 catadores de lixo que trabalham permanente, desde sua inauguração. Antigamente, estes contavam com a presença de uma cooperativa COCALT que também se extinguiu em 2007. Mesmo assim atualmente, os ex-membros continuam no local trabalhando individualmente com a venda do material reciclável

recolhido de forma irregular a terceiros. Obtendo-se em média o percentual de 1000 kg/dia de material reciclável.

O aterro conta com uma área total com cerca de 104 hectares, mas sendo utilizado apenas 1 vala medindo 70/100 m com 4 m de profundidade.

A coleta e a disposição final dos resíduos sólidos urbanos da cidade é realizada pela prefeitura da cidade, sendo a secretaria da SDU – NORTE a responsável direta pela coleta de lixo, contando com 25 caminhões trabalhando diariamente pela coleta de lixo na cidade, sendo que entre estes existem 1 caminhão coletor-compactador e 1 caminhão para lixo hospitalar. São despejadas no aterro sanitário em 3 carradas/dia, onde tem-se a média estimada em 3 toneladas por carrada, de lixo não-seletivo. Toda a cidade de Timon – MA tem o seu lixo desembocado no aterro sanitário da cidade. A coleta de lixo é realizada de 2 a 3 vezes por semana.

Depois de 8 anos de uso, em média, do aterro sanitário observa-se que o lixo coletado não é mais aterrado como deveria, a separação é feita pelos próprios catadores, em meio ao lixo, sem equipamento de proteção individual, perdendo assim a sua função de aterro sanitário e podendo ser caracterizado como “lixão”, o que pode ser visualizado abaixo na Figura 2, que representa o aterro sanitário na situação atual.



**Figura 2.** Área atual do Aterro Sanitário de Timon – MA no momento do despejo dos resíduos sólidos.

Pode ser observado pela Figura 3 que não há uso de material de proteção individual no aterro sanitário de Timon – MA. Por se tratar de um lugar de alta insalubridade e pelo forte odor do metano, o uso de equipamentos de segurança deveriam ser obrigatórios. Para alcançar os objetivos da adoção de medidas adequadas para as questões dos resíduos sólidos e suas implicações é imprescindível que a sociedade passe por uma transformação: que parte da população é compelida a consumir cada vez mais, deixando para outra parte apenas o lixo gerado como fonte de sobrevivência (ABREU, 2001).

## **CONCLUSÃO**

O aterro sanitário de Timon não se encontra em funcionamento adequado levando em consideração os modelos de Aterro Sanitário que

devem ser implantados segundo a PNRS (2010), e principalmente em relação a sua capacidade de funcionamento mensurada no projeto inicial.

O aterro tinha em sua disposição uma estrutura de funcionamento adequada, e mesmo assim constata-se um descaso da administração pública do local para que a estrutura fosse mantida em funcionamento.

A área foi inutilizado como aterro sanitário, sendo assemelhada a uma área de lixão.

Oferece riscos a saúde dos catadores e prejuízos ao meio ambiente por acúmulo de lixo de forma irregular.

Assim, o aterro sanitário de Timon – MA atualmente não obedece às normas da Política Nacional dos Resíduos Sólidos.

## REFERÊNCIAS

ABREU, M. de F. **Do lixo à cidadania: estratégias para a ação**. Brasília: Caixa Econômica Federal, 2001.

BRASIL. Lei 12. 035, de 02 de agosto de 2012. Política Nacional dos Resíduos Sólidos. Diário Oficial da União. Brasília, 2010.

GUIZARD, J. B. R; RAFALDINI, M. E; PONTES, F. F. F; BRONZEL, D.; PERES, C. S; FERREIRA, E. R.; REIS, F. A. G.V. **Aterro sanitário de Limeira: diagnóstico ambiental. Engenharia Ambiental**. Junho, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Anuário de Estatística. 2010

MUÑOZ, S. I. S. **Impacto Ambiental na área do Aterro Sanitário e incinerador de resíduos sólidos de Ribeirão Preto, SP: Avaliação dos níveis de metais pesados.** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2002.

SILVA, E. A; LIMA, M. O; MELO, L. F. S. **Geotecnologia aplicada a conservação do meio ambiente: o caso do aterro sanitário do município de Timon – Ma.** Instituto Federal do Piauí, 2010.

SANTOS, J. B. F. **As condições de trabalho e as suas repercussões na vida e na saúde dos catadores de lixo do aterro sanitário do Jangurussu: Relatório de pesquisa.** Fortaleza, CE: SINE/CE, 1990.

---

## **DIAGNÓSTICO DE CONTAMINAÇÃO FECAL- CANAL DE SANTA CRUZ, ITAPISSUMA, PE**

**Lira, J.A.M.<sup>(1)</sup>; Oliveira, F.H.P.C.<sup>(2)</sup>; Luz, B.R.A.<sup>(1)</sup>; Santos, E.C.P.<sup>(1)</sup>**

jaila.lira@gmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade de Pernambuco - UPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Companhia Pernambucana de Saneamento - COMPESA, Recife - PE, Brasil.

### **RESUMO**

O presente trabalho avaliou a qualidade microbiológica das amostras de água provenientes do Canal de Santa Cruz (CSC), às margens do município de Itapissuma- PE- Brasil. O Canal de Santa Cruz tem sido alvo de despejos possivelmente domésticos e industriais que contribuem para a sua contaminação e conseqüentemente degradam o ecossistema local. O esgoto lançado pode afetar as atividades pesqueiras e principalmente a saúde dos consumidores de frutos-do-mar, sendo assim o trabalho objetivou a verificação da qualidade ambiental através da confirmação da presença de *Escherichia coli*, Coliformes totais, *Clostridium* e *Enterococcus* nas amostras coletadas. As coletas foram realizadas nos meses de novembro e dezembro de 2012 em quatro pontos, onde foram coletadas quatro amostras por mês. Os resultados confirmaram a presença desses microrganismos, com destaque para *Clostridium*, que apresentou resultado >23NMP/mL em todos os pontos. A

confirmação da presença desses patógenos, juntamente com a visível poluição do local, contribuem para um diagnóstico de má qualidade dessas águas.

**Palavras –chaves:** Qualidade Microbiológica, Poluição, Saúde Pública.

## INTRODUÇÃO

O município de Itapissuma é o maior fornecedor de pescados do Estado de Pernambuco, cerca de 70% da sua população depende direta ou indiretamente da pesca artesanal (FIGUEIREDO E LEITÃO, 2009). O manguezal do Canal de Santa Cruz é de extrema importância para as comunidades ribeirinhas é considerado fonte de vida, alimento e trabalho, o despejo de esgotos industriais e domésticos lançados no Canal de Santa Cruz é apontado como uma das causas da poluição, dessa maneira, causa a degradação do meio ambiente e prejudica a pesca no município de Itapissuma (LIMA & QUINAMO, 2000).

A qualidade das águas pode ser avaliada através de indicadores microbiológicos de poluição fecal como: Coliformes Termotolerantes, Coliformes Totais, *Escherichia coli* e *Enterococcus* (SHIBATHA *et al*, 2004). No entanto, também são utilizadas bactérias do gênero *Clostridium* e a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (MENDES, 2010).

O Canal de Santa Cruz tem sido alvo de lançamentos de rejeitos orgânicos. Com base nessas informações e sobre os riscos que a poluição pode causar fez-se necessária a confirmação da presença de *Escherichia coli*, Coliformes totais, *Clostridium* e *Enterococcus* como

indicadores de poluição fecal, com a finalidade de verificar a qualidade ambiental dessas águas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Descrição da área de estudo***

O município de Itapissuma fica localizado no litoral norte do Estado de Pernambuco a 34,89° W e 7,77°S, está inserido na Área de Proteção Ambiental por ser cercado de ecossistema de manguezais, resquícios de Mata Atlântica e Restinga. Esse município margeia o Canal de Santa Cruz, que fica localizado a 7° 34'00''- 7 ° 55'16''S e 34° 48'48''- 34°52'48''W (CPRH, 2011). O Canal de Santa Cruz é definido como um braço de mar localizado entre o Município de Itapissuma e a Ilha de Itamaracá que sofre influência de águas dulcícolas e oceânicas (KEMPF, 1970).

### ***Metodologia de campo***

As coletas foram realizadas às margens do Canal de Santa Cruz durante os meses de novembro e dezembro de 2012. Foram determinados quatro pontos, os quais são mais frequentados pelos pescadores: ponto 1 margem esquerda a oeste (Mangue do Aterro localizado próximo à colônia de pescadores Z-10), ponto 2 margem direita a oeste (Mangue do Arame, localizado próximo ao presídio agrícola), ponto 3 margem direita a leste (Mangue das Garças localizado próximo ao Nazareno

Dorf) e ponto 4 na margem esquerda a leste ( Mangue do Suruajá localizado próximo ao estaleiro Navessul).

Dessa forma foram coletadas, aleatoriamente, quatro amostras de água/mês contendo 1000mL cada. Também foram considerados dados ambientais como temperatura da água (aferida “in loco”, por meio de um termômetro digital) e valores de pH, fornecidos pela Agência Pernambucana de Recursos Hídricos (CPRH,2012).

As amostras foram coletadas em sacos plásticos estéreis, em seguida foram devidamente identificadas e armazenadas em recipientes de isopor com gelo. Logo após essas amostras foram transportadas até o Laboratório de microbiologia do Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), pertencente à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde foram realizadas as análises microbiológicas no prazo de 24 horas após as coletas, conforme descrito por Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, (APHA, 1998)

### ***Metodologia de laboratório***

Os primeiros ensaios realizados foram *E.coli* e Coliformes Totais/100mL, seguiu conforme as orientações relacionadas (APHA, 1998). Sendo assim foram transferidos 100mL da amostra para frascos estéreis, em seguida foram adicionados os substratos cromogênico e fluorogênico (ONPG e MUG). Dessa forma, a mistura foi homogeneizada e colocada em estufa a 35,0° C  $\pm$ 1,0°C durante 24  $\pm$  2 horas, para posterior observação da mudança da sua coloração ( cor

amarelo escuro como indicativo da presença de Coliformes Totais). A mistura também foi submetida à luz ultra violeta para confirmar a sua capacidade de fluorescência ( indicativo da presença de *E. coli*).

Clostrídio sulfito redutor NMP/100mL, baseou-se nas instruções normativas nº 62, de 23 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003). Sendo assim foi utilizada uma série contendo 10 tubos de ensaio com 10mL de caldo DRCM em concentração dupla, distribuídos por meio de pipetador calibrado e ponteira descartável estéril. Antes da realização dos ensaios foi feita a assepsia da abertura dos sacos estéreis contendo as amostras de água, por meio de álcool etílico a 70% .Em seguida foram pipetados 10mL da amostra nos 10 tubos com caldo DRCM, transferindo-os para jarra GasPak® juntamente com um gerador de anaerobiose e tubo controle inoculado com cepa de referência e tubo branco sem amostra. Dessa maneira, a jarra foi incubada em estufa com temperatura controlada em  $35,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$  durante  $48 \pm 2$  horas. Após o período de incubação foi feita cuidadosamente a abertura da jarra, para verificar se havia ocorrido turvação e enegrecimento dos tubos confirmativo da presença do gênero *Clostridium*.

Para realização do ensaio Enterococos NMP/100mL foi necessário o preparo de Caldo azida dextrose em dupla concentração, dessa maneira foram preparados 100mL e assim foram distribuídos 10mL, por meio de pipeta calibrada, em 10 tubos de ensaio. Após as distribuições os

tubos pipetados foram autoclavados a 121°C e 1 ATM. Também foram utilizados os controles branco ( 10m L de Caldo azida) e positivo, sendo esse último inoculado com 10µ L da cepa de referência, mantida sob refrigeração em Agar nutriente inclinado (APHA, 1998). Dessa forma, todos os tubos pipetados foram incubados na estufa com temperatura controlada em 35,0°C ±1,0°C durante 24 horas ±2 horas. Após esse intervalo verificou-se se havia turvação ou formação de precipitado no meio, como indicativo presuntivo da presença de *Streptococcus faecalis*.

A confirmação da presença da espécie ocorreu através da pipetagem de 200µL dos tubos positivos no teste presuntivo para as placas de petri com meio Agar enteroccosel, as quais foram invertidas e incubadas em estufa controlada a 35,0°C ±1,0°C durante 24± 2 horas. No final, foi possível observar crescimento de colônias negras com halos marrons, sendo esse um indicativo da presença da espécie.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados confirmaram a presença de todos os microrganismos estudados. Foi confirmada a presença de *E.coli* e Coliformes totais em todas as amostras (Figura 1 A),sendo assim apontamos o lançamento de esgotos domésticos e industriais não tratados, como possíveis causadores da poluição no local.

As resoluções nº 274 (CONAMA, 2000) e nº 357 (CONAMA, 2005) estabelecem respectivamente, limite de 800 *E.coli*/100mL e 1000 Coliformes termotolerantes/100mL para as águas salobras. No Entanto, não foi possível comparar os nossos resultados com os parâmetros mencionados, pois o método utilizado permitiu a análise dos dados qualitativos. Também foi confirmada a presença incontável do Gênero *Clostridium* em todas as amostras, sendo os resultados expressos como >23 NMP/100mL (Figura 1B). A presença desses microrganismos é um forte indicativo de contaminação por esgotos, uma vez que eles habitam a nossa flora intestinal.

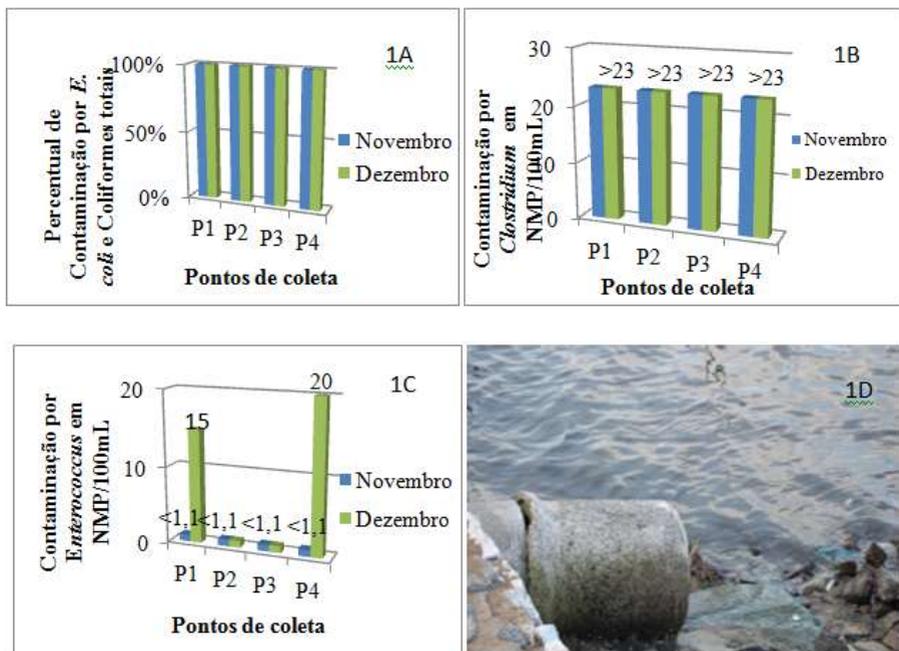
O gênero *Enterococcus* foi encontrado apenas nos pontos 1 e 4 do mês de dezembro, sendo assim apresentaram resultados de 15 NMP/100mL e 20NMP/100mL respectivamente (Figura 1 C). Esse gênero é bastante resistente à salinidade e pode habitar o trato intestinal do homem e de outros animais, dessa forma os resultados reforçam as suspeitas de contaminação por esgoto não tratado. Das normas brasileiras só a resolução nº 274 (CONAMA, 2000) estabelece limites para tal ensaio, nossos resultados estão dentro dos padrões estabelecidos, que preconizam limite de até 100 Enterococos NMP/100mL.

A poluição do Canal de Santa Cruz foi abordada por Rasp (1999), que apontou os causadores de problemas ambientais da região como: implantação de indústrias, agroindústrias e lançamento de esgoto doméstico. Outro autor que aborda o mesmo tema é Mellancon (1995),

o qual confirma a contaminação fecal no Canal de Santa Cruz expressa por  $>2400$  NMP/100mL. O autor também faz um alerta sobre o lançamento de esgoto doméstico no local, sendo assim podemos observar que a poluição é um problema antigo.

Dados mais recentes do CPRH (2012) também confirmaram a contaminação por Coliformes termotolerantes, nesse grupo está incluso *E.coli*. cujo valor foi 2300 NMP/100mL, também foram fornecidos valores de pH(7,8) e temperatura ( $29^{\circ}\text{C}$ ) durante o mês de novembro, a temperatura aferida por nós no local da coleta variou de  $28,9^{\circ}\text{C}$  a  $30,6^{\circ}\text{C}$ , aproximando-se do valor informado pelo CPRH. Essas variáveis contribuem para a multiplicação das bactérias mesófilas, cuja temperatura ( $10^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ ) e Ph( 5,0 a 8,0) estão dentro desses valores considerados ótimos para o crescimento (TORTORA, 2005).

O CPRH classifica o ponto próximo ao mercado de Itapissuma, como poluído e de alta ação antrópica, esses resultados enfatizam as suspeitas de contaminação por esgoto, próximo ao local de coleta existe lançamento de resíduos ( Figura 1D).



Fonte: autor (20/05/2013)

**Figura 1.** (A) Representação da contaminação por *E. coli* e coliformes totais em 100% das amostras. (B) Representação da contaminação incontável do gênero *Clostridium*, em todas as amostras. (C) Representação da baixa contaminação do gênero *Enterococcus* nas amostras. (D) Lançamento de esgoto próximo ao mercado de Itapissuma.

Os resultados obtidos em outros trabalhos também estão de acordo com os nossos, como é o caso de Vieira (2008), cuja contaminação por *E.coli* e Coliformes totais esteve presente em 100% das suas amostras. Miotto (2009) confirmou a presença do gênero *Enterococcus* nas amostras de água, cujo resultado variou de <1,8 NMP/100mL e 210 NMP/100 mL apresentando contaminação mais relevante, diferente dos nossos resultados, em que obtivemos a ausência do microrganismo.

Galvão (2004) também realizou ensaios para verificar a presença do gênero *Clostridium*, seus resultados oscilaram entre 3,2 NMP/100mL e 1,5 NMP/100mL, enquanto os nossos foram incontáveis em todos os pontos estudados.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, os pontos de coleta estão contaminados pelos patógenos analisados nesse estudo, com exceção do gênero *Enterococcus* que está dentro dos padrões estabelecidos.

De maneira geral o Canal de Santa Cruz, no trecho de Itapissuma, está contaminado e oferece riscos à saúde pública, pois deles são retirados os frutos- do –mar mais consumidos da Região Metropolitana do Recife.

Apontamos a conscientização ambiental e maior fiscalização por parte dos órgãos competentes, como soluções para minimização da poluição no local.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS. Dados do monitoramento do Canal de Santa Cruz. 2012.

AGÊNCIA ESTADUAL DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS. A pesca no litoral Norte. *Diagnóstico sócioambiental- Litoral Norte de*

Pernambuco.p. 91-98.2011.Disponível em: < <http://www.cprh.pe.gov.br>>. Acesso em: 16/05/12.

APHA; AWWA; WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20 ed. Washington: APHA, 1998.

BRASIL. 2001. Conselho Nacional do Meio Ambiente –CONAMA. Resolução nº 274, de novembro de 2000. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em:

08 de janeiro de 2013.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>> Acesso em: 19 de outubro 2012.

FIGUEIREDO, A.C.A.O.; LEITÃO; M.R.F.A. O processo da extensão pesqueira no Município de Itapissuma- Pernambuco Período de 1995-2009, 2009.

GALVÃO, J.A. Qualidade microbiológica da água de cultivo e do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758), comercializados em Ubatuba, SP. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

KEMPF, M. Nota preliminar sobre os fundos costeiros da região de Itamaracá (norte do Estado de Pernambuco, Brasil). *Trab. Oceanografia*. Universidade Federal de Pernambuco. PE. Recife, v. 9/11, p. 95-110, 1970.

LIMA, T. & QUINAMO, T. "Características sócio-econômicas". In: BARROS, H. M.; ESKINAZI-LEÇA, E.; Macedo, S. J. & Lima, T. (eds.): *Gerenciamento Participativo de Estuários e Manguezais*. Recife: Editora Universitária. p.181-225, 2000.

MELANCON, M. J. Bioindicators used in aquatic and terrestrial monitoring. In: HOFFMAN, D. J.; RATTNER, B. A.; BURTON JR, G.A.; CAIRNS JR, J. (Eds.) *Handbook of ecotoxicology*. Flórida: Lewis Publishers/CRC Press. p. 220-240, 1995.

MENDES, B. Microbiologia da água. Pag 506-522 in Ferreira, W.F.C, Sousa, J.C.F. & Lima, N. (coords.). Microbiologia. Lidel-Edições técnicas, Lda. Lisboa. 622 f. 2010.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Sistema de consulta à legislação. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 12/05/2013.

MIOTTO, L.A. Coliformes termotolerantes e *Enterococcus* sp em Ostras e águas salinas utilizadas para cultivo de moluscos bivalves na Baía Sul da Ilha de Santa Catarina- Brasil. 104 f. Dissertação em Ciências do Alimentos – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: Santa Catarina, 2009.

RASP, U. Ambiente e saúde em área de manguezal: o caso de Vila Velha – Itamaracá- PE. Dissertação em Saúde Pública – Departamento de estudos em Saúde Coletiva. 110f. Recife, 1999.

SHIBATA, T.; SOLO-GABRIELE, H.M.; FLEMING L.E.; ELMIR. S. Monitoring marine recreational water quality using multiple microbial indicators in an urban tropical environment. *Water Research*, v.38, p.3119-3131, 2004.

TORTORA, G. J; FUNKE, B. R; CASE, C. L. *Microbiologia: Doenças Microbianas do Sistema Digestivo*. Porto Alegre: Artmed Editora S/A, Ed 8, cap. 25, p. 705-709, 2005.

VIEIRA, R.H.S.F; ATAYDE, M.A; CARVALHO, E.M.R; CARVALHO, F.C.T; FONTELLES FILHO, A.A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua suscetibilidade a diferentes antimicrobianos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. São Paulo, n 3, v .45, p . 180-189, 2008.

## DILUENTES NA CONGELAÇÃO SEMINAL DE *PROCHILODUS BREVIS*

Pinheiro, R.R.R.<sup>(1)</sup>; Souza, M.E.M.<sup>(1)</sup>; Lopes, J.T.<sup>(1)</sup>; Pinheiro, J.P.S.<sup>(1)</sup>; Nunes, L.T.<sup>(1)</sup>; Torres, T.M.<sup>(1)</sup>; Linhares, F.R.A.<sup>(1)</sup>; Nunes, J.F.<sup>(1)</sup>; Salmito-Vanderley, C.S.B.<sup>(1)</sup> romuloroberto-bio@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes, Universidade Estadual do Ceará - UECE, Fortaleza - CE, Brasil.

### RESUMO

*Prochilodus brevis*, uma espécie endêmica da região semiárida, vem despertando interesse acerca da sua reprodução em cativeiro devido à pesca predatória e as dificuldades de sua produção em aquicultura. Assim, objetivou-se, avaliar o efeito de soluções diluidoras, sobre a cinética e morfologia do sêmen pós-descongelamento de curimatã comum. Tiveram a reprodução induzida pelo Extrato Hipofisário de carpa, 20 machos adultos. Do sêmen coletado confeccionaram-se seis *pools* que foram congelados em ACP-104<sup>®</sup> (T1) e solução de glicose a 5% (T2) acrescidas de 10% de metilglicol. As amostras foram descongeladas após 15 dias em banho-maria a 25°C.30s<sup>-1</sup> e analisadas pelo SCA *Sperm class analyser* e fixadas para posterior análise morfológica. O sêmen diluído em T1 apresentou: percentual de espermatozoides móveis (86,1 ± 3,8%); taxa de normais (80,0 ± 4,3%); VCL (54,1 ± 8,1); VSL (29,9 ± 5,8); e VAP (45,5 ± 7,3); superior estatisticamente quando comparado ao sêmen diluído em T2 que apresentou: percentual de espermatozoides móveis (67,8 ± 2,7%); normais (54,0 ± 3,8%); VCL (31,6 ± 3,6); VSL (14,0 ± 4,1); e VAP (22,5 ± 4,4). Assim recomenda-se a utilização do diluidor ACP-104<sup>®</sup> acrescido de 10% de Metilglicol.

**Palavras-chave:** Peixe, Espermatozoide, Diluente.

## INTRODUÇÃO

O curimatã comum (*Prochilodus brevis*, Steindachner 1875) é uma espécie de interesse econômico e ecológico, endêmica da região semiárida brasileira (GURGEL et al. 2012). A pesca predatória de *P. brevis*, principalmente no período que antecede a desova, quando as fêmeas se encontram maduras, e o barramento dos rios que impedem as migrações da espécie, põe em risco a sobrevivência da espécie (NASCIMENTO et al., 2012).

Diante da dificuldade da sua reprodução em cativeiro, técnicas de reprodução artificial têm sido elaboradas, como por exemplo, a criopreservação de sêmen, na qual as amostras de sêmen são conservadas a baixas temperaturas para posterior utilização na piscicultura. No entanto, os processos de congelamento e descongelamento levam a uma redução do número de espermatozoides normais, além de reduzir a taxa de motilidade, dificultando a fertilização. Para minimizar os danos desse processo, são adicionados diluidores que devem proporcionar proteção aos espermatozoides contra as crioinjúrias (SALMITO-VANDERLEY, 2010). Desta forma é importante o conhecimento da composição deste meio de congelamento, pois este é um fator determinante da qualidade seminal após a descongelamento (SALMITO-VANDERLEY et al., 2012). A avaliação da motilidade e morfologia são essenciais na análise da qualidade do sêmen (MATOS et al., 2008).

A glicose é comumente utilizada como um agente crioprotetor externo para vários tipos de células (PURDY, 2006), mas também como um imobilizador não-iônico do sêmen de peixes de água doce, sendo o diluente mais utilizado para a criopreservação (HORVÁTH et al., 2003;. CRUZ-CASALLAS et al., 2006;. VIVEIROS et al., 2009). A água de coco em pó específica para peixe, ACP-104<sup>®</sup>, é um diluente padronizado e estabilizado, que mantém as características físico-químicas da água de coco *in natura*. Composta por sais, proteínas, açúcares, vitaminas, gorduras neutras além de indutores da divisão celular e diversos eletrólitos (MELO et al., 2010). Este diluente vem apresentando bons resultados de viabilidade espermática e de fertilização pós-criopreservação seminal em *Colossoma macropomum* (tambaqui) (LEITE et al, 2013) e em *Prochilodus lineatus* (curimba) (VIVEIROS et al., 2010).

Assim, a padronização de protocolos de criopreservação adequados aos parâmetros fisiológicos de cada espécie animal se faz necessária, com o intuito de minimizar os efeitos deletérios da criopreservação (SILVA e GUERRA, 2011).

Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do diluente ACP-104<sup>®</sup> quando comparado com o diluente padrão (glicose) acrescido de Metilglicol (MG) sobre a cinética e morfologia do sêmen pós-descongelamento de *Prochilodus brevis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo transportou-se 20 machos de curimatã comum, em idade reprodutiva, oriundos do Centro de Pesquisa em Aquicultura (CPAq) do Departamento Nacional de obras Contra as Secas (DNOCS) em Pentecoste-CE, localizado entre os 03°45'00"S e 39°21'00"W, a 90 Km de Fortaleza, que foram mantidos no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes, localizado na Universidade Estadual do Ceará (Uece), Fortaleza, Ceará, Brasil. Sendo arraçoados duas vezes ao dia com ração contendo 28% de proteína bruta fornecida na base de 3% de biomassa.

Tais animais tiveram a espermiacção induzida pelo extrato hipofisário de carpa (três mg kg<sup>-1</sup> peso vivo, via injeção intra-celomática) 18h antes da coleta de sêmen. No dia da coleta os animais foram sedados utilizando-se uma solução à base de óleo de cravo (eugenol) sendo imediatamente submetidos à coleta de sêmen, após a sedação, e em seguida devolvidos ao tanque de manuseio. Para a coleta de sêmen os animais foram contidos em decúbito lateral, tiveram os olhos envoltos em pano úmido, para minimização do estresse e facilitação de sua contenção. O orifício genital foi enxuto com papel toalha e então realizada uma leve compressão abdominal no sentido anteroposterior. O sêmen foi coletado em tubos graduados de polietileno e mantido a aproximadamente 4 °C em caixa de poliestireno. Somente as amostras válidas (sem

contaminação com sangue, fezes e urina e motilidade superior a 85% após ativação com água do tanque) foram utilizadas para o experimento.

O sêmen de três animais foi utilizado para constituição de cada *pool* (n=6) que foram diluídos na proporção de 1:9 (sêmen: diluidor) em dois tratamentos (T1: ACP-104<sup>®</sup> mais 10% de MG e T2: solução de glicose 5% mais 10% de MG).

O sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL, mantido a 4 °C por 10 min, submetido a vapor de nitrogênio líquido em *Dry shipper* (-170°C) por 15 min e transferido para um botijão criogênico (-196°C).

As amostras foram descongeladas após 15 dias em banho-maria a 25° C 30s<sup>-1</sup>. Uma alíquota de cada amostra foi ativada com NaCl (50mM) na proporção 1:50 (sêmen: ativador) para mensurar objetivamente o percentual de espermatozoides móveis por meio do sistema computadorizado de análise (SCA).

Outra alíquota foi diluída em solução de citrato de sódio formolizado a 4%, na proporção de 1:10 (sêmen: fixador) para análise das morfopatologias, sendo realizado o esfregaço pela deposição de 4 µL de solução de sêmen diluído em corante rosa bengala na proporção de 5:1 (sêmen: corante). Foram confeccionadas duas lâminas de cada amostra e observados 200 espermatozoides por meio de microscopia ótica com aumento de 400X. Foram observadas anomalias tais como: macrocefalia, microcefalia e defeitos na cauda (enrolada, dobrada, quebrada e corrugada).

Os dados de motilidade foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e submetidos à análise de variância, seguido pelo teste t student ( $p < 0,001$ ), os dados de morfologia foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão submetidos à análise de variância seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) utilizando o programa estatístico ASSISTAT<sup>®</sup> versão 7.6 beta (2013).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A média de volume seminal encontrada foi de  $1,61 \pm 0,57$  mL com concentração espermática de  $12,87 \cdot 10^9 \pm 4,11$  sptz. mL<sup>-1</sup>, osmolaridade de  $267 \pm 13,11$  mOsm. Kg<sup>-1</sup> e pH de  $8,5 \pm 0,3$  corroborando os dados encontrados por Pinheiro, et al. (2013).

As características seminais somente podem ser preservadas em temperaturas criogênicas se, antes do início da congelação, o sêmen for diluído em criosoluções (diluidores) adequados, que têm por função essencial manter os espermatozoides imobilizados para que durante a congelação e a descongelação, as trocas osmóticas celulares possam ser restabelecidas de modo contínuo, corrigindo o desequilíbrio iônico, que acompanha as mudanças bruscas de temperatura, favorecendo assim a sobrevivência e viabilidade dos espermatozoides.

**Tabela 1.** Taxa de espermatozoides móveis e morfologicamente normais no sêmen fresco e pós-descongelamento de *Prochilodus brevis* em diferentes soluções diluidoras.

Pool	Espermatozoides móveis (%)			Normais (%)		
	Sêmen Fresco	Tratamentos		Sêmen Fresco	Tratamentos	
		ACP + MG	Glicose + MG		ACP + MG	Glicose + MG
I	92,3	87,3	64,9	95,5	82,0	57,0
II	93,5	84,4	66,4	96,0	83,0	60,0
III	91,7	92	65,3	97,0	86,0	51,0
IV	98,0	89,9	68,9	91,0	78,0	54,0
V	96,3	84,2	71,1	93,0	75,0	52,0
VI	89,8	82,8	70,6	94,0	76,0	50,0
Média ± DP	93,6 ± 3,1 <sup>a</sup>	86,1 ± 3,8 <sup>a</sup>	67,8 ± 2,7 <sup>b</sup>	94,4 ± 2,2 <sup>a</sup>	80,0 ± 4,3 <sup>a</sup>	54,0 ± 3,8 <sup>b</sup>

Letras minúsculas distintas, na mesma linha, indicam diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os tratamentos.

Dessa maneira, sabe-se que não somente o diluidor como outros fatores podem influenciar a motilidade dos espermatozoides de peixes. Fatores como a solução ativadora, sua osmolaridade (ALAVI et al., 2009) e temperatura (BILLARD et al., 1995), estado nutricional e sanitário dos animais, condições de análise e espécie estudada (MURGAS et al., 2011).

**Tabela 2.** Velocidade curvilinear (VCL), velocidade linear progressiva (VSL) e velocidade média da trajetória (VAP) do sêmen fresco e pós-descongelamento de *Prochilodus brevis* em ACP-104 e solução de glicose acrescido de metilglicol.

	VCL ( $\mu\text{m. s}^{-1}$ )	VSL ( $\mu\text{m. s}^{-1}$ )	VAP ( $\mu\text{m. s}^{-1}$ )
Sêmen fresco	148,6 ± 5,4 <sup>a</sup>	72,9 ± 4,5 <sup>a</sup>	123,7 ± 5,3 <sup>a</sup>
ACP-104	54,1 ± 8,2 <sup>b</sup>	30,0 ± 5,8 <sup>b</sup>	45,5 ± 7,4 <sup>b</sup>
Glicose	31,6 ± 3,6 <sup>c</sup>	14,0 ± 4,1 <sup>c</sup>	22,6 ± 4,4 <sup>c</sup>

Letras minúsculas distintas, na mesma coluna, indicam diferença significativa ( $p < 0,001$ ) entre os tratamentos.

Da mesma forma, a presença de anormalidades espermáticas pode estar relacionada com a deficiência nutricional, idade dos reprodutores, variações ambientais e genéticas (MILIORINI, 2006) como por falhas durante a espermatogênese. Essas anormalidades observadas no sêmen também podem ser devido à manipulação, à fixação com solução formolizada, técnica de esfregação ou influência do corante (SOUZA et al., 2012). Contudo, no presente estudo não houve diferença significativa do percentual de espermatozoides móveis (93,6 %) e normais (94,4 %) no sêmen fresco quando comparado ao sêmen tratado com ACP-104<sup>®</sup> que teve 86,16 % e 80,0 % de espermatozoides móveis e normais, respectivamente. No entanto, no sêmen tratado com glicose foi observada uma redução significativa do percentual de móveis (67,8 %) e de normais (54,0 %) quando comparado com o sêmen tratado com ACP-104 sendo essa redução significativa mais acentuada quando comparada ao sêmen fresco. Conforme detalhado na tabela 1.

Segundo Viveiros et al. (2010) o conhecimento dos parâmetros de velocidade espermática é de grande importância uma vez que há uma forte correlação entre as taxas de fertilização e as velocidades espermáticas, sendo a velocidade curvilínea (VCL) a que possui maior correlação. Foi percebido um decréscimo acentuado das velocidades no sêmen tratado com glicose quando comparado ao sêmen tratado com

ACP-104, que obteve velocidade semelhante ao encontrado em *Prochilodus lineatus* e que conferiu bons resultados de fertilização, tabela 2.

## CONCLUSÃO

No presente estudo, o diluidor ACP-104 acrescido de 10% de Metilglicol mostrou-se mais adequado para a congelação dos espermatozoides de *Prochilodus brevis*, uma vez que obteve resultados superiores de cinética e morfologia quando comparado ao sêmen congelado com o diluidor padrão.

## REFERÊNCIAS

- ALAVI, S.M.H.; RODINA M.; VIVEIROS A.T.M.; COSSON J.; GELA D.; BORYSHPOLETS S.; LINHART O. Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave parameters in Northern pike (*Esox lucius* L.). *Theriogenology*, v. 72, p. 32–43, 2009.
- BILLARD, R.; COSSON J.; PERCHEC G.; LINHART O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, v. 129, p. 95- 112, 1995.
- CRUZ-CASALLAS P.E.; VELASCO-SANTAMARÍA Y.M. Determinación de las características seminales y seminación artificial en peces. In: Daza PV, Landines PMA, Sanabria OAI (Ed.). *Reproducción de peces en el trópico*. Bogotá, DC: Imprenta Nacional de Colombia. pp. 175-195. 2006.
- GURGEL, L.L.; VERANI, J.R.; CHELLAPPA, S. Reproductive ecology of *Prochilodus brevis* an endemic fish from the semiarid region of Brazil. *The Scientific World Journal (Ecology Domain)*, p. 1-7, 2012.

HORVÁTH, A.; MISKOLCZI, E.; URBÁNYI, B. Cryopreservation of common carp sperm. *Aquat Living Resour*, 16:457-460. 2003.

LEITE, L.V.; MELO, M.A.P.; OLIVEIRA, F.C.E.; PINHEIRO, J.P.S.; CAMPELLO, C.C.; NUNES, J.F.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Determinação da dose inseminante e embriogênese na fertilização artificial de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.2, p.421-429, 2013.

MATOS, D.L.; ARAÚJO, A.A.; ROBERTO, I.G.; TONIOLLI, R. Análise computarizada de espermatozoides: Revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.32, n.4, p.225-232, 2008.

MELO, M.A.P.; MACIEL, F.S.; OLIVEIRA, F.C.E.; SALGUEIRO, C.C.M.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B.; NUNES, J.F. Água de coco em pó (ACP-104®) na criopreservação de sêmen de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) In: SEMINÁRIO NORDESTINO DE PECUÁRIA (PECNORDESTE), *Anais...* Fortaleza, 2010.

MILIORINI, A.B. Ativadores e concentrações de metanol e dimetilsufóxido na qualidade do sêmen criopreservado de curimba (*Prochilodus lineatus*). 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

MURGAS, L.D.S.; FELIZARDO, V.O.; FERREIRA, M.R.; ANDRADE, E.S.; VERAS, G.C. Importância da avaliação dos parâmetros reprodutivos em peixes nativos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.35, n.2, p.186-191, 2011.

NASCIMENTO, M.M.; NASCIMENTO, W.S.; CHELLAPPA, N.T.; CHELLAPPA, S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.

PINHEIRO, R.R.R.; CAJADO, F.J.L.; PINHEIRO, J.P.S.; NUNES, L.T.; LOPES, J.T.; MELO-MACIEL, M.A.P.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Avaliação das características do sêmen fresco de curimatã comum (*Prochilodus brevis*) In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, *Anais...* Uberlândia, 2013.

PURDY, P.H. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research*, v. 63 p. 215-225, 2006.

SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Biotecnologias da reprodução em peixes de água doce. In: V CONGRESSO NORTE NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL, *Palestra...* Patos-PB, 2010

SALMITO-VANDERLEY, C.S.B.; VIEIRA, M.J.A.F.; LEITE, L.V.; OLIVEIRA, F.C.E.; LINHARES, F.R.A.; SALGUEIRO, C.C.M.; NUNES, J.F. Meios de congelamento para conservação de sêmen de peixes da família Characidae. *Ciência Animal*, v. 22, p. 687-690, 2012.

SILVA, S.V.; GUERRA, M.M.P. Efeitos da criopreservação sobre as células espermáticas e alternativas para redução das crioinjúrias. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.35, n.4, p.370-384, 2011.

SOUZA, M.E.M.; OLIVEIRA, F.C.E.; OLIVEIRA, M.S.; PINHEIRO, J.P.S.; LEITE, J.S.; SALMITO-VANDERLEY, C.S.B. Avaliação de três diferentes corantes na detecção de anormalidades de cauda em espermatozoides de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Ciência Animal*, v. 22, p. 255-268, 2012.

VIVEIROS, A.T.M.; ORFÃO, L.H.; MARIA, A.N.; ALLAMAN, I.B. A simple, inexpensive and successful freezing method for curimba *Prochilodus lineatus* (Characiformes) semen. *Animal Reproduction Science*, v.112, p.293-300. 2009.

VIVEIROS, A.T.M.; NASCIMENTO, A.F.; ORFÃO, L.H.; ISAÚ, Z.A. Motility and fertility of the subtropical freshwater fish streaked prochilod (*Prochilodus lineatus*) sperm cryopreserved in powdered coconut water. *Theriogenology*, v.74, p.551-556, 2010.

---

## DIPTEROFAUNA DE INTERESSE FORENSE EM AMBIENTE URBANO NA AMAZÔNIA ORIENTAL

Peniche, T. <sup>(1,2)</sup>; Barros, I. F. A. <sup>(2)</sup>; Sidônio, I. A. P. <sup>(2)</sup>; Cavalcante, K. S. <sup>(2)</sup>;  
Moutinho, C. S. <sup>(2)</sup>; Nascimento, F. A. <sup>(2)</sup>; Souto, R. N. P. <sup>(2,3)</sup>  
tayrespeniche18@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Bolsista de Iniciação Científica PIBIC/CNPq, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil;

<sup>(2)</sup> Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil ;

<sup>(3)</sup> Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

## RESUMO

A entomologia forense é a aplicação do estudo dos insetos e outros artrópodes a procedimentos legais. O período em que os insetos colonizam a carcaça pode ser utilizado para estimar o intervalo pós-morte (IPM). Objetivou-se estudar a composição da dipterofauna de interesse forense em carcaças de *Sus scrofa* (L., 1758) em ambiente urbano de Macapá - AP. Os experimentos foram realizados no quintal de uma residência, área urbana de Macapá. Utilizou-se duas carcaças de suínos, expostas em períodos distintos. Foram coletados 2.295 dípteros muscóides, distribuídos entre adultos coletados e adultos emergidos em laboratório, a saber: *Chrysomya albiceps* com 1.367 indivíduos, *Chrysomya megacephala* (248), *Chrysomya putoria* (78), *Lucilia eximia* (242), *Chloroprocta idioidea* (13), *Lucilia cuprina* (02), *Musca domestica* (05), *Ophyra aenescens* (139), *Oxysarcodexia intona* (05), *Oxysarcodexia fluminensis* (04), *Oxysarcodexia thornax* (04), *Ravinia belforti* (05) e *Peckia (Peckia) chrysostoma* (15), *Hermetia illucens* (30) e *Ornidia obesa* (02). As famílias Fanniidae e Ulidiidae não foram identificadas a nível de espécie. Conclui-se que *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Lucilia eximia*, *Ophyra aenescens* e *Hermetia illucens* são espécies com grande potencial para a Entomologia forense, uma vez que servem como indicadores de intervalo pós-morte (IPM) para área residencial da cidade de Macapá – AP.

**Palavras-chave:** Entomologia, IPM, Dípteros.

## INTRODUÇÃO

A entomologia forense é a ciência que os insetos aplicados nas investigações criminais. Os insetos são importantes por serem considerados os primeiros artrópodes a chegarem ao local do crime, e participarem efetivamente da decomposição da carcaça, tanto pelos adultos, quanto por seus imaturos, e muitas das vezes, são fatores determinantes no tempo da decomposição do cadáver. O processo de

chegada das diferentes ordens de insetos na carcaça, recebe o nome de sucessão entomológica (OLIVEIRA-COSTA, 2011; RAFAEL et al., 2012). Lord e Stevenson (1986) subdividiram essa ciência em três áreas principais, sendo Entomologia urbana, de Produtos estocados e a Médico-Legal. Gomes (1997) divide os processos de decomposição, em ambiente terrestre, em cinco fases, que são mais utilizadas em países neotropicais, sendo: Fresca, Coloração, Gasosa ou enfisematosa, Coliquativa ou da fusão e Esqueletização.

A ordem Diptera, uma das maiores e mais diversas ordens de insetos, reúne os mosquitos e as moscas, estas últimas representando o grupo de insetos de maior importância para os estudos de entomologia forense. Segundo Oliveira-Costa (2011), as quatro subfamílias de califorídeos que ocorrem na região neotropical são Toxitarinae, Mesembrinellinae, Chrysomyinae e Calliphorinae. E os gêneros de maior importância forense neotropical são *Chrysomya*, *Hemilucilia*, *Lucilia*, *Cochliomyia* e *Calliphora*. Estes insetos em grandes populações podem causar transtornos ao homem e animais, por estarem associados ou serem causadores de míases (FARES et al., 2005). Apesar disso são úteis como decompositores de carcaças e têm importância forense na elucidação de crimes, uma vez que a identificação desses insetos e suas taxas de desenvolvimento permitem estimar o intervalo pós-morte – IPM.

Segundo Oliveira-Costa (2013), a região Norte vem contribuindo efetivamente com os trabalhos no Brasil. Um banco de dados está sendo montado para auxiliar os profissionais que visam trabalhar com entomologia forense. No estado do Amapá o uso da entomologia forense é relativamente recente, e aos poucos conquista o interesse de peritos, acadêmicos e pesquisadores. Pujol- Luz e Francez (2008), publicaram trabalhos onde calcularam o IPM através dos insetos na Polícia Técnico Científica (POLITEC) do Amapá. O trabalho teve como objetivo estudar a composição da dipterofauna, a identificação e tempo das fases de decomposição de carcaças de suínos *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758), em ambiente urbano da cidade de Macapá – AP, analisando a diversidade de espécies de dípteros adultos coletados e imaturos nos dois períodos verificando as espécies de interesse forense que servem como possíveis indicadores de intervalo pós-morte (IPM) em área urbana de Macapá.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no quintal de uma residência, no Bairro Universidade, área urbana da cidade de Macapá (0°00'01.62"N e 51°05'25.38"O). Como modelo experimental foram utilizadas carcaças de dois suínos *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758) de aproximadamente 12 kg, utilizadas de isca para atratividade dos insetos. As carcaças foram expostas durante o período menos chuvoso, de 22 de outubro a 07 de

novembro de 2012 e no período mais chuvoso, de 25 de março a 09 de abril de 2013, no ambiente de estudo. As coletas foram feitas diariamente, sempre no mesmo horário utilizando uma armadilha adaptada de Salviano (1996), que tem forma de pirâmide feita de ferro tipo vergalhão  $\frac{3}{4}$  de base quadrada revestida com os tecidos Oxford e Organza e com os frascos de PVC, ou garrafas tipo pet, colocados no ápice da mesma, funcionando como tubo coletor para capturar os dípteros adultos. Os insetos imaturos foram coletados com auxílio de pinças e colocados em recipientes plásticos contendo carne moída e outro com vermiculita para a pupação dos insetos. As moscas coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, para identificação e quantificação. Os dados quantitativos e qualitativos foram armazenados em planilhas do programa Excel e analisados usando-se os softwares Past e BioEstat 5.0. Para a estimativa da diversidade de espécies foi aplicado o índice de Shannon (1949) que é o índice mais usado para medir a diversidade de uma comunidade, pois incorpora tanto a Riqueza quanto a Equitabilidade. É definido da seguinte forma,  $H' = - \sum pi(\log pi)$ , onde,  $pi$  = valor importância,  $\log$  = base 2 ou 10 ou neperiano e diversidade  $H'$  é essencialmente adimensional, o mesmo foi feito no programa Past.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Um total de 2.295 dípteros muscóides foi coletado, entre adultos e emergidos no laboratório durante os períodos menos chuvoso 2012 e mais chuvoso de 2013. No período menos chuvoso de 2012 foram coletados 462 adultos, distribuídos em seis famílias e oito espécies: Calliphoridae (*Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794), *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1830), *Lucilia eximia* (Wiedemann, 1819)), Muscidae (*Musca domestica* (Linnaeus, 1758), *Ophyra aenescens* (Wiedemann, 1830), Stratiomyidae (*Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758)) e Syrphidae (*Ornidia obesa* (Fabricius, 1775). Fanniidae e Ulidiidae, não foram identificados até espécie, por conta disso não entraram na análise. Emergiram em laboratório 813 indivíduos da família Calliphoridae, quatro espécies foram identificadas, a saber: *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Chloroprocta idioidea* (Robineau-Desvoidy, 1830) e *Chrysomya putoria* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Riqueza e Abundancia de dípteros adultos e emergidos durante o período menos chuvoso de 2012 em área urbana de Macapá - AP.

Espécies	Adultos Coletados	%	Adultos Emergidos	%	Total	%
<i>Chrysomya albiceps</i>	205	70,69	749	92,13	954	86,49
<i>Chrysomya megacephala</i>	20	6,90	50	6,15	70	6,35
<i>Chrysomya putoria</i>	52	17,93	1	0,12	53	4,81
<i>Lucilia eximia</i>	4	1,38	0	0	4	0,36
<i>Musca domestica</i>	4	1,38	0	0	4	0,36
<i>Ophyra aenescens</i>	3	1,03	0	0	3	0,27
<i>Hermetia illucens</i>	1	0,34	0	0	1	0,09
<i>Ornidia obesa</i>	1	0,34	0	0	1	0,09
<i>Chloroprocta idioidea</i>	0	0	13	1,60	13	1,18

<b>TOTAL</b>	<b>290</b>	100	<b>813</b>	100	<b>1103</b>	100
--------------	------------	-----	------------	-----	-------------	-----

No período mais chuvoso foram coletados 213 espécimes adultos pertencentes a cinco famílias: Calliphoridae, Muscidae, Sarcophagidae, Syrphidae e Ulidiidae. Foram identificadas doze espécies: *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria*, *Lucilia eximia*, *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830), *Musca domestica*, *Ophyra aenescens*, *Oxysarcodexia fluminensis* (Lopes, 1946), *Oxysarcodexia intona* (Curran e Walley, 1934), *Oxysarcodexia thornax* (Walker, 1849), *Ravinia belforti* (Prado e Fonseca, 1932) e *Ornidia obesa* (Fabricius, 1775) (Tabela 2). As famílias Ulidiidae com (163) indivíduos e Fanniidae com (9) não foram identificadas até espécie. Chegaram até a fase adulta em laboratório 873 indivíduos, distribuídos em quatro famílias: Calliphoridae, Sarcophagidae, Stratiomyidae e Muscidae. Foram identificadas sete espécies: *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Chrysomya putoria*, *Lucilia eximia*, *Ophyra aenescens*, *Hermetia illucens* e *Peckia (Peckia) chrysostoma* (Wiedemann, 1830) (Tabela 2).

A família Calliphoridae apresentou a maior riqueza de espécies *Chrysomya albiceps*, *C. megacephala*, *C. putoria*, *Lucilia eximia*, *L. cuprina* e *Chloroprocta idioidea*. A espécie *C. albiceps* foi a mais abundante nos dois períodos de experimentos entre os adultos coletados e emergidos no laboratório; é considerada uma espécie de grande importância forense. A esta espécie foi atribuído por D' Almeida e

Lopes (1983) o índice de +60,85 de sinantropia. Carvalho e Linhares (2001) em uma área de mata, assinalaram nove espécies de califorídeos, sendo quatro comuns as observadas no presente estudo, *C. albiceps*, *C. megacephala*, *C. putoria* e *L. eximia*. Relataram *C. albiceps* como a espécie mais abundante em carcaças de suíno; estes mesmos autores afirmam que esta espécie chega à carcaça logo após sua exposição, e é predominante em ralação as outras devido a veracidade de suas larvas, fato observado *in loco* a predação de outras larvas. Souza (2009) em área urbana identificou *C. albiceps* e *L. eximia* como as espécies mais abundantes e presentes em todos os estágios de decomposição, porém neste estudo *L. eximia* não foi uma espécie com abundancia significativa. Lobato e Souto (2013) em área de mata coletaram apenas adultos de *C. idioidea*. Carvalho e Linhares (2001) consideram *C. megacephala* uma espécie de grande potencial forense, pois foi associada, como espécie predominante a carcaça colocada em área urbana. Oliveira-Costa (2005) coletou esta espécie colonizando carcaça suína e cadáveres humanos na região metropolitana do Rio de Janeiro. A família Muscidae apresentou duas espécies *Musca domestica* e *Ophyra aenescens*, Monteiro e Souto (2012) coletaram estas duas espécies colonizando carcaças de porcos em área urbana de Macapá – AP. Salviano (1996) no Rio de Janeiro observou *Ophyra aenescens* como a segunda espécie mais frequente em carcaças de suínos e Oliveira-Costa et al. (2001) registraram adultos desta espécies colonizando cadáveres humanos. A família Syrphidae e Stratiomyidae,

apresentaram duas espécies *Ornidia obesa* apenas entre os adultos coletados e *Hermetia illucens*, esteve presente apenas entre os adultos coletados durante o período menos chuvoso e durante o período mais chuvoso apresentou-se apenas entre os adultos emergidos em laboratório.

**Tabela 2.** Riqueza e Abundancia de dípteros adultos e emergidos durante o período mais chuvoso de 2013 em área urbana de Macapá - AP.

Espécie	Adultos Coletados		Adultos Emergidos		Total	
		%		%		%
<i>Chrysomya albiceps</i>	90	46,39	323	37,47	413	39,11
<i>Chrysomya megacephala</i>	11	5,67	167	19,37	178	16,86
<i>Chrysomya putoria</i>	19	9,79	6	0,70	25	2,37
<i>Lucilia cuprina</i>	2	1,03	0	0	2	0,19
<i>Lucilia eximia</i>	31	15,98	207	24,01	238	22,54
<i>Musca domestica</i>	1	0,52	0	0	1	0,09
<i>Ophyra aenescens</i>	21	10,82	115	13,34	136	12,88
<i>Ornidia obesa</i>	1	0,52	0	0	1	0,09
<i>Oxysarcodexia fluminensis</i>	4	2,06	0	0	4	0,38
<i>Oxysarcodexia intona</i>	5	2,58	0	0	5	0,47
<i>Oxysarcodexia thornax</i>	4	2,06	0	0	4	0,38
<i>Ravinia belforti</i>	5	2,58	0	0	5	0,47
<i>Peckia chrysostoma</i>	0	0	15	1,74	15	1,42
<i>Hermetia illucens</i>	0	0	29	3,36	29	2,75
<b>TOTAL</b>	<b>194</b>	<b>100</b>	<b>862</b>	<b>100</b>	<b>1056</b>	<b>100</b>

A família Sarcophagidae esteve presente apenas no período mais chuvoso, apresentando cinco espécies: *Oxysarcodexia intona*, *O. fluminensis*, *O. thornax*, *Ravinia belforti* e *Peckia chrysostoma* esta última espécie foi o único sarcófagídeo entre os adultos emergidos em laboratório. Segundo Souza e Linhares (1997) as espécies desse grupo tem preferência por períodos mais frios do ano, o que explica a sua ausência durante o período menos chuvoso. *Oxysarcodexia* e *Peckia* são considerados os gêneros que possuem alta riqueza e abundância em carcaças, em experimentos realizados no Brasil (Salviano, 1996; Carvalho e Linhares, 2001). No Distrito Federal Barros et al. (2008) coletaram (*O. fluminensis*, *O. thornax*, *Ravinia belforti* e *Peckia (P) chrysostoma*) e *O. thornax* mostrou-se a espécie mais abundante.

A estimativa do índice de diversidade de Shannon foi maior no período mais chuvoso (1,573) quando comparada ao menos chuvoso (0,568), entretanto não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois períodos ( $t= 1, 1887$  e  $p= 0,1231$ ). As maiores temperaturas influenciam diretamente a velocidade da decomposição e colonização de um cadáver, influenciando assim, na putrefação, sucessão e atividade dos insetos (CAMPOBASSO e INTRONA 2001).

Cinco fases de decomposição foram observadas durante o período menos chuvoso Fase fresca, Coloração ou cromática, Gasosa, inchamento ou enfisematosa, Coliquativa ou da fusão e Esqueletização ou mumificação, corroborando com as fases descritas por Oliveira-

Costa (2011). Monteiro e Souto (2012) no Campus Marco zero da Universidade Federal do Amapá também observaram a mumificação da carcaça. Duas fases, Coloração e Gasosa ocorreram simultaneamente.

## CONCLUSÃO

A riqueza das espécies de muscóides amostradas sofreu influência da precipitação pluviométrica.

A sucessão das espécies de muscóides nas carcaças foi influenciada pelos períodos de menor e maior precipitação.

As espécies *Chrysomya albiceps*, *Chrysomya megacephala*, *Lucilia eximia*, *Ophyra aenescens* e *Hermetia illucens* mostraram-se com grande potencial para a Entomologia forense, uma vez que servem como indicadores de intervalo pós-morte (IPM) para área residencial da cidade de Macapá – AP.

## REFERÊNCIAS

BARROS, R. M.; MELLO-PATIU, C. A.; PUJOL-LUZ, J. R. **Sarcophagidae (Insecta, Diptera) associados à decomposição de carcaças de *Sus scrofa* Linnaeus (Suidae) em área de Cerrado do Distrito Federal, Brasil.** Rev. Bras. Entomol. 52: 606-609, 2008.

CAMPOBASSO, C. P.; INTRONA, F. **The forensic entomologist in the context of the forensic pathologist's role.** Forensic Science International, 120: 132-139, 2001.

CARVALHO, L. M. L.; LINHARES, A. X. **Seasonality of Insect succession and pig carcass decomposition in a natural forest area in southeastem Brazil.** Journal Forensic Sciences 46: 604-608. 2001.

D'ALMEIDA J. M.; LOPES, H. S. **Sinantropia de dípteros calíptratos (Calliphoridae) no Estado do Rio de Janeiro.** Arquivos da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 6(1): 30-47, 1983.

FARES, N. H.; MELO, D. V.; STUCCHI, N.; CARVALHOSA. A. A.; CASTRO, P. H. S.; SIQUEIRA, C. R. B. Miíase em paciente com 10 anos de idade: relato de caso clínico e revisão de literatura. Revista de Clínica e Pesquisa Odontológica v. 1(4) 49 - 54p. 2005.

GOMES, H. **Medicina Legal.** 32 ed. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1997.

LOBATO, T. A. S.; SOUTO, R. N. P. **Composição e sucessão de califorídeos em carcaças de *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758) em área de mata de terra firme e lago no Distrito de Fazendinha, Macapá-AP.** Monografia em Ciências Biológicas (Bacharel). Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, Brasil. 2013.

LORD, W.D; STEVENSON, J.R. Directory of forensic entomologists, 2nd. Ed. Def. Pest Mgmt. Info. Anal. Center, Walter Reed Army Medical Center, Washington, D.C., p. 42. 1986.

MONTEIRO, R. A.; SOUTO, R. N. P. **Caracterização da entomofauna associada a carcaças de suínos (*Sus scrofa* L.) no campus da Universidade Federal do Amapá-UNIFAP.** In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2013, Curitiba. **Resumo de Congresso.** Curitiba-PR, 2012. Disponível em: <[http://www.cbe2012.com.br/\\_apps/trabalhos/762/762](http://www.cbe2012.com.br/_apps/trabalhos/762/762)>. Acesso em: 5 abril. 2013.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Entomologia Forense - Quando os insetos são vestígios:** Tratado de Perícias Criminalísticas. 3. ed. Campinas, SP: Millennium. 502p. 2011.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Insetos “peritos”: A entomologia forense no Brasil.** 1ª ed. Millennium, Campinas. 2013.

OLIVEIRA-COSTA, J. **Levantamento da entomofauna cadavérica com vistas à formação de um banco de dados de aplicação em investigações de morte violenta do Estado do Rio de Janeiro.** Tese de Doutorado em Ciências Biológicas (Zoologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Brasil. 2005.

OLIVEIRA-COSTA, J.; MELLO-PATIU, C. A.; LOPES, S. M. **Dípteros muscóides associados com cadáveres humanos no local da morte, no estado do Rio de Janeiro – Brasil.** Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia 464: 1-6. 2001.

PUJOL-LUZ, J.; FRANCEZ, P.; URURAHY-RODRIGUES, A.; CONSTANTINO, R. **The black-soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera, Stratiomyidae), used to estimate the postmortem interval in a case in Amapá State, Brazil.** Journal of Forensic Sciences, v. 53, p. 476-478. 2008.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B.; CASARI, S. A. e CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia.** Ribeirão Preto. Holos Editora, 810 p. 2012.

SALVIANO, R. J. B.; MELLO, R. P.; BECK, L. C. N. H. & FERREIRA, A. **Calliphoridae (Diptera) associated with human corpses in Rio de Janeiro, RJ, Brazil.** Entomologia y Vectores, v.3, p. 145-146. 1996.

SOUZA, A. M.; LINHARES, A. X. **Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in Southeastern Brazil: relative abundance and seasonality.** Med Vet Entomol 11: 8-12. 1997.

SOUZA, A. S. B. **Calliphoridae (Diptera) associados a cadáver de porco doméstico (*Sus scrofa* L.) na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil.** Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 55p, 2009.

---

## DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA FAMÍLIA FABACEAE NA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ

Gama, R.C.<sup>(1)</sup>; Aparício, W.C.S.<sup>(1)</sup>; Estigarribia, F.<sup>(1)</sup>; Galvão, F.G.<sup>(1)</sup>; Figueiredo, K.C.E.S.<sup>(1)</sup> roci.gama29@gmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

### RESUMO

A família Fabaceae é a terceira maior família botânica existente com cerca de 19.325 espécies. Está dividida em três subfamílias de acordo com suas características, que são: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae. Os

objetivos deste trabalho são realizar o levantamento das espécies arbóreas da família Fabaceae, descrever a morfologia da família e avaliar o padrão de distribuição espacial da família nos distintos fragmentos de áreas de transição cerrado-floresta da Universidade Federal do Amapá. O trabalho foi desenvolvido em quatro fragmentos florestais, localizados no Campus Universitário Marco Zero do Equador da Universidade Federal do Amapá, na rodovia Juscelino Kubitschek de Oliveira, km 02, Bairro Jardim Marco Zero, na cidade de Macapá. O padrão de distribuição espacial foi analisado com base no Índice de Morisita ( $I_m$ ) e confirmadas pelo qui-quadrado ( $X^2$ ), com significância de 5%. As características morfológicas da família foram confirmadas com as citadas pela literatura. Nas áreas estudadas foram encontrados 509 indivíduos, sendo que 160 são da subfamília Caesalpinioideae, 72 são da subfamília Faboideae e 277 são da subfamília Mimosoideae. A maioria das espécies da família Fabaceae apresentaram potencial alimentício e forrageiro. Para área de estudo as espécies da família Fabaceae apresentaram um padrão espacial agregado.

**Palavras-chave:** Florística, Amazônia, Morfologia.

## INTRODUÇÃO

Dentro de um ecossistema, as plantas encontram-se dispostas de acordo com várias associações, intra e interespecíficas existentes ao decorrer de sua distribuição natural. O tipo de distribuição espacial que uma espécie possui é padrão resultante de variados fatores bióticos e abióticos, os quais interagem entre si (Meirelles & Luiz, 1995; Duriganet et al, 2000).

A família Fabaceae foi escolhida para o estudo, pelo fato da mesma ser relatada em diversos trabalhos para Amazônia como sendo uma das famílias de maior representatividade e maior importância. É a terceira maior família botânica existente com cerca de 19.325 espécies. Está

dividida em três subfamílias de acordo com suas características: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae.

Com isso, estes estudos voltados para a distribuição espacial de espécies lenhosas auxiliam na compreensão do comportamento das mesmas, em relação à como estas se localizam em sua área de ocorrência e como estão se regenerando, subsidiando em criação de estratégias de manejo sustentável e ecológico. O estudo da distribuição espacial das árvores é de grande interesse para o manejo florestal, uma vez que está relacionada ao crescimento dos indivíduos, à distribuição diamétrica, à densidade de árvores e, conseqüentemente, à produção volumétrica (SILVA et al., 2004).

Contudo, os objetivos deste trabalho são realizar o levantamento das espécies arbóreas da família Fabaceae, descrever a morfologia da família, categorizar o potencial de uso econômico de algumas espécies e avaliar o padrão de distribuição espacial da família nos distintos fragmentos de áreas de transição cerrado-floresta da Universidade Federal do Amapá.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi desenvolvido em quatro fragmentos florestais, localizados no Campus Universitário Marco Zero do Equador da Universidade Federal do Amapá, na rodovia Juscelino Kubitschek de Oliveira, km 02, Bairro Jardim Marco Zero, na cidade de Macapá. Com

área total de 906.722,44 m<sup>2</sup>, caracterizada como Zona de Transição Cerrado-Floresta, internamente a vegetação local possui presença de árvores de grande e pequeno porte (MENEZES et al., 2006, p.1).

O município possui um clima equatorial super-úmido (Am) com poucas variações de temperatura, o período mais frio apresenta elevados índices de pluviosidade com precipitação anual de cerca de 2.500mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004, p.42).

Para o levantamento foi realizado um inventário florístico arbóreo em cada um dos quatro fragmentos no qual em todas as áreas foram locadas parcelas sistemáticas permanentes de 10 x 25 m equidistantes em 25 m. O fragmento 1 possui cerca de 1 ha, sendo locadas 5 parcelas, o fragmento 2 possui 1,65 ha e foram locadas 7 parcelas, o fragmento 3 apresenta 1,38 ha, no qual foram locadas 8 parcelas. Contudo a área do fragmento 4 é de 5,81 ha, onde foram locadas 27 parcelas. Todos os indivíduos com circunferência a altura do peito a 1,30m do solo (CAP)  $\geq 10$  cm foram plaqueados.

A família Fabaceae foi descrita quanto suas principais características morfológicas, sendo comparadas a artigos e trabalhos desenvolvidos no estado do Amapá.

Quanto à caracterização do potencial de uso econômico, algumas das espécies encontradas foram descritas, sendo distribuídas em madeireiro

e não madeireiro e quando possível discriminada com os seguintes usos: alimentícia, medicinal e ornamental.

Todas as espécies da família Fabaceae foram catalogadas no Herbário da Universidade Federal do Amapá- HUFAP e produzidas exsicatas e duplicatas para composição do acervo.

O padrão de distribuição espacial foi analisado com base no Índice de Morisita ( $I_m$ ) (ZAR, 1999). No método, valores menores que 1,0 indicam uma distribuição uniforme, valores iguais a 1,0 indicam distribuição aleatória e valores maiores que 1,0 indicam distribuição agregada. Optou-se pela utilização do Índice de Morisita para análise da distribuição espacial já que, segundo Barros et al. (1984), este é pouco influenciado pelo tamanho da unidade amostral. A significância estatística foi verificada através do valor de  $X^2$  (qui-quadrado), com significância de 5%.

O Índice de Morisita ( $I_m$ ) e Teste qui-quadrado ( $X^2$ ) foram obtidos por:

$$I = nx \frac{\sum x^2 - N}{Nx(n-1)} \quad \chi^2 = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^S X^2}{N} - N$$

Em que: n = número total de parcelas;  $\sum X^2$  = soma do quadrado do número de indivíduos por parcela; N = número de indivíduos encontrados em todas as parcelas.

A interpretação do valor do qui-quadrado foi baseada no seguinte critério: se o valor calculado for menor que o valor tabelado o  $I_d$  não difere significativamente de 1 e a espécie apresentara um padrão de distribuição aleatória. Porém, se o valor do qui-quadrado for maior que o tabelado, a espécie tendera a um padrão de distribuição agregada, se  $I_d > 1$ , ou uniforme, se  $I_d < 1$ . Os cálculos foram gerados pelo Excel 2007. O cálculo de variância foi gerado pelo programa estatístico BioEstat 5.0.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nas áreas estudadas foram encontrados 509 indivíduos, sendo que 160 são da subfamília Caesalpinioideae, 72 são da subfamília Faboideae e 277 são da subfamília Mimosoideae.

**Tabela 1.** Lista das espécies da Família Fabaceae encontradas nos quatro fragmentos localizados no campus marco zero do equador, Universidade Federal do Amapá, Macapá – AP.

Nome popular	Nome científico	Subfamília	Nº Ind.
Fava angico	<i>Enterolobium schomburgkii</i> (Benth.) Benth.	Mimosoideae	98
Ingá xixica	<i>Inga laurina</i> (SW.) Will	Mimosoideae	32
Taxi preto	<i>Tachigali myrmecophila</i> (Ducke) Ducke	Caesalpinioideae	113
Jutaí	<i>Hymenaea courbaril</i> L	Caesalpinioideae	17
Pacapeuá	<i>Swartzia racemosa</i> Benth.	Faboideae	18
Melancieiro	<i>Alexa grandiflora</i> Ducke	Mimosoideae	100
Taxi vermelho	<i>Stryphnodendron spruceana</i> Kleinh.	Caesalpinioideae	24
Parecida com Sucupira Amarela	<i>Diploptropis racemosa</i> (Hoehne) Amshoff.	Faboideae	4
Angira	<i>Andiraretusa</i> (Lam.) H.B.K.	Faboideae	1
Parecido com Pacapeuá	<i>Swartzia brachyrachis</i> Harms	Faboideae	5
Apá	<i>Eperua schomburgkiana</i> Benth.	Faboideae	3
Parecido com taxi	<i>Stryphnodendron paniculatum</i> Poepp. &Endl.	Caesalpinioideae	1
Parecido com Ingá-xixica	<i>Inga sp.</i>	Mimosoideae	1
Ingá peluda	<i>Inga rubiginosa</i> DC.	Mimosoideae	31
Ingá vermelho	<i>Inga paraensis</i> Ducke	Mimosoideae	10
Ingarana	<i>Zygia latifolia</i> Fawc. &Rendle.	Faboideae	38
Ingá branco	<i>Zygia latifolia</i> Fawc. &Rendle.	Faboideae	3
Paricá	<i>Acacia polyphylla</i> DC.	Mimosoideae	1
Parecido com Ingá Peluda	<i>Inga capitata</i> Desv.	Mimosoideae	4
Taxi	<i>Tachigali sp.</i>	Caesalpinioideae	5

A família da Fabaceae pode ser encontrada como ervas, arbustos, árvores ou lianas, as folhas são alternas, muito raramente opostas como *Platymiscium sp* e *Taralea sp.*

A família na área de estudo apresentou em sua maioria folhas compostas, com estípulas, às vezes transformadas em espinhos, frequentemente com nectários extraflorais, ocasionalmente com pontuações translúcidas. Inflorescência geralmente racemosa, flores vistosas ou não, geralmente bissexuadas, actinomorfas ou zigomorfas, ocasionalmente assimétricas, diclamídeas ou raramente monoclamídeas, geralmente com hipanto, cálice geralmente pentâmero, dialissépalo ou gamossépalo, prefloração imbricada ou valvar, corola geralmente pentâmera, dialipétala ou gamopétala, prefloração imbricada ou valvar, pétalas semelhantes entre si ou diferenciadas em carenas ou quilhas (inferiores), alas ou asas (medianas) e vexilo ou estandarte (a superior diferente de todas as outras), estames geralmente em número duplo ao das pétalas, mas ocasionalmente em número menor, igual ou numerosos, livres ou unidos entre si, anteras rimosas, disco nectarífico frequentemente presente, ovário súpero, unicarpelar, muito raramente 2-16-carpelar e dialicarpelar, placentação marginal, óvulos 1 a numerosos. O fruto geralmente do tipo legume, mas também de outros tipos, incluindo drupa, sâmara, folículo.

A circunscrição de Fabaceae e sua divisão em famílias ou subfamílias distintas têm sido alvos de diferentes autores. Tradicionalmente foi reconhecida como uma única família, com três subfamílias: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae (LORENZI, 1992).

Caesalpinioideae: folhas bipinadas, paripinadas ou bifolioladas, flores diclamídeas ou raramente monoclamídeas, corola com prefloração imbricada ascendente ou carenal (as carenas sobrepõem as alas que sobrepõem o vexilo), dialipétala, estames geralmente em número duplo ao das pétalas, raramente em menor número, geralmente livres entre si e não vistosos, sementes com pleurograma.

Faboideae (Papilionoideae): folhas imparipinadas, trifolioladas ou unifolioladas, flores diclamídeas, corola com prefloração imbricada descendente ou vexilar (as carenas são sobrepostas pelas alas que são sobrepostas pelo vexilo), dialipétala, estames geralmente em número duplo ao das pétalas, sendo frequentemente nove estames unidos entre si e um livre (androceu diadelfo) ou todos unidos (androceu monadelfo), não vistosos, sementes sem pleurograma, mas com hilo bem desenvolvido.

Mimosoideae: folhas geralmente bipinadas, exceto *Inga* (paripinada), flores acnomorfas, diclamídeas, corola com prefloração valvar, frequentemente gamopétala, estames em número igual, duplo ao das pétalas ou numerosos, vistosos, sementes com pleurograma.

Na subfamília Caesalpinioideae, o *Tachigali myrmecophila* Ducke, foi o mais representativo, tendo como característica uma madeira de densidade média e com trabalhabilidade boa, mas ainda pouco utilizado no setor moveleiro (ZERBINI, 2008).

Outra espécie muito frequente nos fragmentos foi a *Inga laurina* (S. W.). De acordo com Leão (2012) é uma espécie ideal para arborização urbana, porque tem uma excelente adaptação ao meio urbano e tem a característica de manter suas folhas durante o período da seca, além de fornecer saborosos frutos comestíveis por grande parte da fauna e pelo homem, ao comercializar em feiras. Entre as espécies com potencial para lenha, estão a *Inga rubiginosa* e *Inga paraenses*, além claro de servir como base para alimentação de diversas espécies.

O paricá (*Acacia polyphylla*) da família Fabaceae-Mimosoideae, é uma espécie heliófita, servindo para reflorestamento, em manejo de fragmentos florestais e paisagístico devido ao seu crescimento relativamente rápido (LORENZI, 1992). Além disso, seus frutos e a madeira é bastante apreciada pela população da região, sendo sua madeira utilizada em marcenaria, torno e obras internas (ARAÚJO-NETO et al, 2002).

Para área de estudo as espécies da família Fabaceae apresentaram como sendo agregada. Os dados obtidos pela distribuição espacial seguindo o Índice de Morisita, para todos os indivíduos das espécies amostradas, obtiveram resultados significativos de acordo com o nível de significância do Qui-quadrado. A maioria das fabáceas apresentam frutos em forma de legumes com dispersão barocórica, tal fato pode ter influenciado diretamente no processo de agregação da espécie.

O padrão de distribuição espacial de uma espécie é representado pela sua distribuição na área em estudo, em termos de frequência de ocorrência dentro das unidades amostrais coletadas (JANKAUSKIS, 1990).

## **CONCLUSÃO**

A família Fabaceae obteve uma alta representatividade de indivíduos nos fragmentos em estudo corroborando com resultados em outros locais no estado para a mesma tipologia florestal.

As características morfológicas da família foram confirmadas com as citadas pela literatura.

A maioria das espécies da família Fabaceae apresentaram potencial alimentício e forrageiro, tendo também usos para o reflorestamento, em manejo de fragmentos florestais e paisagístico devido ao seu crescimento relativamente.

Em relação ao padrão de distribuição espacial para a família nos fragmentos estudados a agregação da mesma pode ser determinante para a sua existência, tendo em vista que a área é antropizada e a mesma só ocorre em um local específico.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO-NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, V. M.; PAULA, R. C. **DESENVOLVIMENTO PÓS-SEMINAL DE MONJOLEIRO. Caracterização morfológica de frutos e sementes e desenvolvimento pós-seminal de monjoleiro** (*Acacia polyphylla* DC.). Revista Brasileira de Sementes, v. 24, n. 1, p. 203-211, 2002.

BARROS, P. L. C.; MACHADO, S. A. **Aplicação de índices de dispersão em espécies de florestas tropicais da Amazônia Brasileira**. Curitiba: FUPEF-UFPR, 1984. P. 42. (Série Científica, n. 1).

DRUMMOND, J.A. **Atlas das Unidades de Conservação do Estado do Amapá**. IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004.

JANKAUSKIS, J. **Avaliação de técnicas de manejo florestal**. Belem: SUDAM, 1990. 143p.

LEÃO, João RA et al. **Germinação de sementes e crescimento inicial de plântulas de Ingá-mirin (*Inga laurina* (S.W.) Willd–utilizada na arborização urbana de Rio Branco, Acre - REVSAU, Piracicaba – SP, v.7, n.3, p.11-19, 2012.**

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 382 p.

MENEZES, C. R.; NOBRE, F. R. **O paisagismo no Campus Marco Zero do Equador da UNIFAP: diagnóstico preliminar das espécies existentes**. In: 57º Congresso Nacional de Botânica, 2006, Gramado/RS. 2006.

SILVA. W. C; MARANGON. L. C; FERREIRA. R. L. C; FELICIANO. A. L. P; JUNIOR. R. F. C; **Estudo da regeneração natural de espécies arbóreas em fragmento de floresta ombrófila densa, matas das galinhas, no município de catende, zona da mata sul de Pernambuco;** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 17, n. 4, p. 321-331, 2004.

Zar, J. H. 1999. **Biostatistical Analysis**, 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.662 pp., plus appendices.

ZERBINI, N. J. **Madeiras tropicais com potencial comercial da região do rio Xingu (Pará, Brasil): propriedades tecnológicas e cadeia produtiva**. 2008.

---

## **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA *Myrcia splendens* (Sw.) DC. EM MACAPÁ-AP**

**Estigarribia, F. <sup>(1)</sup>; Aparício, W. C. S. <sup>(1)</sup>; Pereire, L. C. B. <sup>(1)</sup>; Galvão, F. G. <sup>(1)</sup>;  
Gama, R. C. <sup>(1)</sup> fabyestigarribia@gmail.com**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Amapá - UFAP, Macapá - AP, Brasil.

### **RESUMO**

A espécie *Myrcia splendens*(Sw.) pertence à família Myrtaceae possui uma grande importância econômica e ornamental no Brasil. Abrange aproximadamente 5.700 espécies distribuídas em 130 gêneros. Sendo, uma das famílias que representam o grande cenário fisionômico do Cerrado. O objetivo do trabalho foi realizar a caracterização morfológica da espécie *Myrcia splendens*, e conhecer a distribuição espacial da espécie na área em estudo. O estudo foi realizado em uma área de transição savana-floresta na zona sul de Macapá, Amapá, localizado na Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 02, Bairro Jardim Marco Zero, município de Macapá-AP. Para análise da espécie foi coletado ramos férteis e levado para o Herbário da Universidade Federal do Amapá - HUFAP e montadas as exsicatas e duplicatas conforme os procedimentos usuais de herborização. A espécie *Myrcia splendens* possui características marcantes da fitofisionomia apresentando folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes,

características essas que são importantes para sua identificação em campo. A espécie se encontra na área com distribuição agrupada, fato esse que pode estar relacionado com a área em estudo ser um fragmento localizado na área urbana de Macapá, o que gera a ausência de fatores disponibilizadores da espécie.

**Palavra-chave:** Myrtaceae, Macapá, Amazônico.

## INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos biomas mais ameaçados, devido à velocidade de conversão de áreas nativas em áreas antropizadas. Seus 240 milhões de hectares eram cobertos por fitofisionomias que variam em extensão, complexidade estrutural e biodiversidade. Em apenas quatro décadas esse bioma perdeu cerca de 50% de sua área nativa (KLINK ; MACHADO, 2005).

A família Myrtaceae é muito bem representada no Brasil, em diversos tipos vegetacionais apresentam ampla distribuição no globo terrestre, mais preferencialmente distribuída pelas zonas tropicais e subtropicais, sendo uma das famílias mais bem representadas, em trabalhos realizados no Cerrado Brasileiro mostra com 211 em numero de espécie e 14 em números de gêneros (MENDONÇA, et al 1998).

Apresenta uma rica diversidade de espécies, possui características específicas vegetais de uso econômicos múltiplos por fornecer frutos e sementes tanto para o homem como para a diversidade da fauna (PEREIRA, 1996).

O gênero *Myrcia*, *Eugenia* e *Calypttranthes* são os que se destacam com mais de centenas de espécies descritas, enquanto os restantes dos gêneros possuem apenas 60 espécies brasileiras (BARROSO; PERÓN, 1994, LANDRUM & KAWASAKI 1997).

O estudo da distribuição espacial das árvores é de grande interesse para o manejo florestal, uma vez que está relacionada ao crescimento dos indivíduos, à distribuição diamétrica, à densidade de árvores e, conseqüentemente, à produção volumétrica (SILVA et al., 2004).

Para estudos mais aprofundados em uma área há a necessidade de mostrar a utilidade das plantas de uma forma mais ampla, o que incentiva o uso de manejo adequados, visando a valorização da espécie em estudo (AQUINO et al, 2007).

A realização de caracterização morfológica de uma determinada espécie é de grande importância para estudos taxonômicos de determinada área e região, principalmente quando se encontra em área de transição de Cerrado sendo bastante antropizado. Contudo ainda exista uma grande carência em estudos em área de Cerrado principalmente em regiões como da Amazônia.

Outro fator de grande importância é o conhecimento da distribuição espacial de uma espécie, permite entender como a espécie se comporta na área de estudo, tendo em vista o conhecimento de padrões em comunidade vegetal e distribuição dos indivíduos e suas relações com

os fatores que influenciam a estrutura populacional (FORTIN et al., 2002). O objetivo da pesquisa foi realizar a caracterização morfológica da espécie *Myrcia splendens* e conhecer a distribuição espacial para assim contribuir com dados morfológicos e ecológicos da espécie da região de Cerrado Amazônico no estado do Amapá.

A espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC., conhecida popularmente como Murta, pertence a família Myrtaceae que é uma das famílias mais importante do Brasil com grande potencial econômico, possui aproximadamente 5.700 espécies e 130 gêneros (GOVAERTS et al. 2008). No Brasil, a família apresenta 927 espécies distribuídas em 24 gêneros (SOBRAL et al. 2010). Encontra-se bem representada nos diferentes fitofisionomias do Cerrado principalmente em campos rupestres, onde está representada entre as 10 famílias de maior riqueza (WERNECK et al. 2000; ZAPPI et al. 2003; HATSCHBACH et al. 2006; NERI et al. 2007; VIANA & LOMBARDI 2007; ALVES & KOLBEK 2009; FERREIRA & FORZZA 2009). Estudos realizados com essas espécimes mostram a grande diversidade e o alto índice de endemismo pelo tipo dessas fitofisionomia (HARLEY, 1995).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em uma área de Transição Savana-Floresta da zona sul de Macapá, Amapá, localizado na Rodovia Juscelino

Kubitschek, Km 02, Bairro Jardim Marco Zero, município de Macapá-AP. Possuindo as seguintes coordenadas geográficas, de 0°0'19.89"S e 51°5'6.38" O. Todas as áreas foram georreferenciadas com o auxílio do GPS Garmin GPS, o fragmento um possui 1 ha, o dois 1,65 ha, o três 1,38 e o quatro 5,81 ha. Segundo a classificação de Köppen, a região apresenta clima tipo Am possui um clima equatorial super-úmido (Am) com poucas variações de temperatura, o período mais frio apresenta elevados índices de pluviosidade com precipitação anual de cerca de 2.500mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004,).

Para análise da espécie foi coletada ramos (férteis) e prensados e submetidos a secagem em estufa do Herbário da Universidade Federal do Amapá – HUFAP, após montadas exsicatas e duplicatas conforme os procedimentos usuais de herborização. A identificação seguiu o sistema de classificação APG III (2009), a sinonímia foi confirmada pelo Mobot-Missouri Botanical Garden. Foram analisados três indivíduos da espécie, ressaltando suas características locais mais marcantes e anotados dados relativos à morfologia da folha, disposição dos ramos e características gerais do tronco, dados de frutificação foram descritos por literatura especializada.

Para amostragem da população de *Myrcia splendens* foram instaladas sistematicamente parcelas permanentes medindo 250m<sup>2</sup> (10 x 25), distando 25m uma da outra, posicionadas paralelamente ao rio

Amazonas, das quais cinco parcelas foram lançadas no fragmento um, oito parcelas no fragmento dois, sete parcelas no fragmento três e 27 parcelas no fragmento quatro, totalizando 47 parcelas como um todo. Para a medição arbórea utilizou-se a haste do podão, que apresenta uma seção modular de três metros e o restante estimado visualmente com altura comercial.

Foram analisados três indivíduos da espécie, ressaltando suas características locais mais marcantes e anotados dados relativos à morfologia da folha, disposição dos ramos e características gerais do tronco, dados de frutificação foram descritos por literatura especializada.

Para análise de distribuição espacial foi utilizadas o índice de Morisita (IM),  $(IM = \frac{q \sum n(n-1)}{N(N-1)})$ , onde q= número de indivíduos na vigésima sétima parcela e n= número total de indivíduos amostrados. Onde: o padrão espacial é considerado aleatório quando o ID = 1, uniforme se ID < 1 e agregado se ID > 1. Como os dados não seguem distribuição normal, o teste de Qui quadrado ( $\chi^2 = \frac{SS}{x}$ , onde SS= (n-1) (S<sup>2</sup>), n= número de parcelas estudadas, s<sup>2</sup>= Variância de indivíduos e x= a média do número de indivíduos), assim foi utilizado para saber se o valor encontrado difere estatisticamente de 1 (BROWER; ZAR, 1984).

A interpretação do valor do qui-quadrado foi baseada no seguinte critério: se o valor calculado for menor que o valor tabelado o I<sub>d</sub> não difere significativamente de 1 e a espécie apresentara um padrão de

distribuição aleatória. Os cálculos tabelados e gráficos foram gerado pelo Excel 2007.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC., é encontrada na área de estudo em formas de arbustos e árvores, com medida comercial de aproximadamente seis metros de altura, com tronco cilíndrico ereto e as vezes tortuoso, casca lisa que tem a característica de se renovar a cada estação de seu crescimento. Possuem folhas lanceoladas de ápice acuminado, margem não revoluta, base cuneada e, ambas as faces da folha glabrescentes, apresenta uma nervura principal bem marcante. As folhas são pequenas simples e de distribuição oposta cruzada, com pecíolo e estípulas pequenas.

Florescem, geralmente no segundo semestre entre agosto a setembro, flores brancas, pequenas, não aglomeradas no ápice da inflorescência, botões florais globosos, glabros, brácteas e bractéolas caducas, pétalas alvas, cálice aberto no botão. Hipanto tubular piloso, não prolongado acima do ovário, que possui dois lóculos, fruto em forma de baga, maduros com cores avermelhadas a rosados, globosos e pilosos externamente (MORAIS, 2006). Espécie com ampla distribuição, ocorrendo desde o México até o Brasil, Paraguai e Argentina (GOVAERTS et al. 2008).

A espécie ocorre em praticamente todas as fitofisionomias do Cerrado, sendo comumente encontrada em floresta ciliar, capões (KAWASAKI, 1989), campo rupestre, floresta semidecidual (MORAIS ; LOMBARDI, 2006), de galeria, cerrado e cerradão (ARANTES ; MONTEIRO 2002).

A *Myrcia splendens* possui características marcantes como suas folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes. O binômio *M. splendens* conta com ca. de 150 sinônimos, dentre os quais é importante citar *M. fallax* (Rich.) DC. e *M. rostrata* DC. como sendo as espécies mais conhecidas (ROSA; ROMERO, 2012).

Para área de estudo a espécie apresentou resultado agregada. Para a obtenção dos dados para a distribuição espacial seguindo o Índice de Morisita, foram analisadas 181 indivíduos distribuídos em 47 parcelas.

Quanto ao cálculo de distribuição espacial, a espécie apresentou um índice de dispersão de  $I_d > 1$ , o qual foi confirmado pelo teste do Qui-quadrado ( $X^2$ ) a um nível de significância de 0,05 para a probabilidade de erro, demonstrando um valor significativo para a espécie (Tabela 1).

**Tabela 1.** Demonstração dos valores encontrados no cálculo de distribuição espacial da espécie *Myrcia splendens*. Em área de transição cerrado da Amazônia.

Espécie	I.M.	X <sup>2</sup> cal	X <sup>2</sup> tab	PDE
<i>Myrcia splendens</i>	3,27	51	9,39	Agregado

Espécies que habitam locais alterados, como em grandes clareiras e bordas de florestas, apresentam o padrão de distribuição agregada o que reflete a alta densidade da espécie (NASCIMENTO et al., 2001). Segundo During (2003) cita que espécies que ocorrem de forma agregada mesmo tendo alta densidade, apresentam baixa frequência e que necessitaria de uma melhor amostragem para definição do seu tipo de distribuição. Porém, Odum (1988) afirma que há poucos motivos para as plantas apresentarem uma distribuição aleatória, considerando questões reprodutivas que tenderiam ao agrupamento e poucos fatores dominando (químicos, físicos e biológicos).

O estudo da distribuição espacial das árvores é de grande interesse para o manejo florestal, uma vez que está relacionada ao crescimento dos indivíduos, à distribuição diamétrica, à densidade de árvores e, conseqüentemente, à produção volumétrica (SILVA et al., 2004).

Trabalhando realizado em um fragmento florestal no planalto catarinense Negrini, (2012), observou que as espécies da área apresentaram um padrão de distribuição aleatória, diferentemente dos resultados obtidos neste estudo, no qual as espécies em sua maioria apresentam um padrão de distribuição agregado, como no caso da *Myrcia splendens*.

No entanto Negrini (2012) diz que para as espécies poderem ter este padrão de distribuição é necessário que a mesma possa ter um alto potencial energético para assim aumentar a quantidade de dispersores.

No fragmento estudado, o ambiente bastante antropizado com poucos registros sobre a fauna, diminuindo assim sua dispersão por animais. Contudo uma das possíveis causas para que a espécie *Myrcia splendens* ter apresentado uma distribuição agregada pode esta relacionada simplesmente com fatores ambientais que limitam sua distribuição.

## **CONCLUSÃO**

A espécie apresentou caracteres morfológicos na área que corroboram com os estudos citados pela literatura para áreas de transição de Cerrado no bioma Amazônico. A espécie possui características marcantes como suas folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes, de grande importância para seu reconhecimento em campo.

Os indivíduos da espécie *Myrcia splendens* analisadas na área apresentaram uma distribuição agregada o que pode estar relacionado pela área ser um fragmento próximo de área urbana.

A espécie pode ser encontrada em diversas fitofisionomia dos ecossistemas existentes, porém na área possui diversos fatores ambientais e antrópicos, esses que podem estar dificultando a mesma de obter melhor distribuição na área em estudo.

## **REFERÊNCIAS**

ARANTES, A.A. & MONTEIRO, R. 2002. **A Família Myrtaceae na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.** *Lundiana* 3: 111-127.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.161, p.105-121, 2009.

AQUINO, F.G.; WALTER, B.M.T. & RIBEIRO, J.F. Espécies Vegetais de Uso Múltiplo em Reservas Legais de Cerrado - Balsas, MA. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p.147-149. 2007.

BARROS, P.L.C., MACHADO, S.S. **Aplicação de índice de dispersão em espécies de floresta tropicais da Amazônia Brasileira.** Curitiba: FUPEF. 1984. 44 p. (Série Científica, 1).

BARROSO, G.M. & PERÓN, V. 1994. Myrtaceae. *In* Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo, RJ. **Aspectos florísticos das espécies vasculares.** (M.P.M. Lima & R.R. Guedes-Bruni, eds.). Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v.1, p.261-302.

DRUMMOND, J.A. **Atlas das unidades de conservação do Estado do Amapá.** IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004

DURIGAN, G. 2003. Métodos para análise de vegetação arbórea. *In*: Cullen Jr., L. (Org.). **Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre.** Ed. da UFPR & Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Curitiba, Brasil, p. 455-479.

FORTIN, M.J., DALE, M.R.T. & HOEF, J. **Spatial analysis in ecology.** *In*: A.H. El-Shaarawi & W.W. Piegorsch (eds.). *Encyclopedia of Environmetrics.* John Wiley & Sons, Chichester, pp. 2051-2058. 2002.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; LUGHADHA, N. E.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L.H.; WILSON, P.G. & L. E. 2008. **World checklist of Myrtaceae.** Royal Botanic Gardens, Kew. 455p.

HARLEY, R.M. 1995. Introdução. *In*: Stannard, B.L. (ed.). **Flora of Pico das Almas - Chapada Diamantina, Bahia, Brazil.** Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 43-78

KAWASAKI, M.L. 1989. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Myrtaceae.** *Boletim Botânico da Universidade de São Paulo* 11: 127-170.

- KAWASAKI, M.L. 1989. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Myrtaceae**. Boletim Botânico da Universidade de São Paulo 11: 127-170.
- KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. **Conservation of the brazilian Cerrado**. Conservation Biology. 19(3): 707-713. 2005.
- KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.
- LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997. **The genera of Myrtaceae in Brazil . an illustrated synoptic treatment and identification keys**. Brittonia 49:508-536.
- MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. **A Família Myrtaceae na Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil**. Lundiana 7(1): 3-32, 2006.
- MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E. 1998. **Flora vascular do cerrado**. In Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S. P. Almeida, Eds.). Embrapa – CPAC, Brasília, p.288-556.
- NEGRINI, M. **Dispersão, distribuição espacial e estratificação vertical da comunidade arbórea em um fragmento florestal no Planalto Catarinense**. Rev. Árvore, Viçosa, v. 36, n. 5, Oct. 2012.
- NASCIMENTO, A. R. T. et al. **Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de Floresta Ombrófila Mista em Nova Prata, RS**. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 105-119, 2001.
- ODUM, E. P. 1988. **Ecologia**. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil, 434 pp.
- PERRY J.N. e DIXON, P.M. 2002. **A new method to measure spatial association for ecological count data**. Ecoscience.9(2): 133-141.
- PEREIRA, B.A.S. Flora Nativa. In: **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis**. Fundação Pró-Natureza, Brasília. p. 52-57. 1996.
- ROSA, P. O.; & ROMERO. R. **O gênero Myrcia (Myrtaceae) nos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil**. Rodriguésia 63(3): 613-633. 201. Disponível em: <http://rodriguesia.jbrj.gov.br>

RODRIGUES, L.A.; CARVALHO, D.A.; GOMES, L.J.; BROTEL, R.T. Espécies vegetais nativas usadas pela população local em Luminárias – MG. **Boletim Agropecuário**. Universidade Federal de Lavras, p. 1-34, 2002.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F. & LUCAS, E. 2010. **Myrtaceae** In: Forzza, R.C. *et al.* (ed.). Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB010266>>. Acesso em 10 Dez 2010.

SILVA, J. A; LEITE, E. J; NASCIMENTO, A. R. T; REZENDE, J. M. Padrão de Distribuição espacial e diamétrica de indivíduos de *Aspidosperma* spp na reserva genética florestal tamanduá, DF. **Comunicado técnico EMBRAPA-DF**, Brasília-DF,2004.

WERNECK, M.S.; PEDRALLI, G.; KOENIG, R. & GISEKE, L.F. 2000. **Florística e estrutura de três trechos de uma floresta semidecídua na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG**. Revista Brasileira de Botânica 23: 97-106.

ZAR, J.H. 1999. **Statistical analysis**. 4 ed. Prentice Hall, New Jersey.

---

## DISLIPIDEMIAS: COMORBIDADE NOS DIFERENTES ESTÁGIOS DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

Fonseca, C.S.M.<sup>(1)</sup>; Oliveira, M.J.N.<sup>(1)</sup>; Pimenta Filho, A.A.<sup>(1)</sup>; Santos, B.S. dos<sup>(1)</sup>; Silva Júnior, J.G.<sup>(1)</sup>; Araújo, T.F.S.<sup>(1)</sup>; Gomes de Sá, F.I.<sup>(1)</sup>; Campos, J.K.L.<sup>(1)</sup>; Brito, T.G.S.<sup>(1)</sup>; Nascimento, W.M.<sup>(1)</sup>; Souza, P.G.V.D.<sup>(1)</sup>; Siqueira, T.F.<sup>(1)</sup>; Rocha, A.A.<sup>(1)</sup>; Passos, P.P.<sup>(1)</sup>; Oliveira, J.R.S.<sup>(1)</sup>; Silva, M.G.B.<sup>(1)</sup>; Vila Nova, M.X.<sup>(1)</sup>; Lima, V.L.M.<sup>(1)</sup> [caiquesmfonseca@gmail.com](mailto:caiquesmfonseca@gmail.com)

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, FACEPE, CNPq e CAPES.

### RESUMO

As infecções continuam apresentando, apesar dos avanços tecnológicos, elevada mortalidade. No caso das parasitoses, como a esquistossomose, destaca-se a elevada morbidade, com perda drástica da qualidade de vida dos

indivíduos afetados. Com o passar dos anos, a patologia tende a agravar-se, aliado ao aumento da idade e aos hábitos de vida, os indivíduos poderiam apresentar distúrbios metabólicos, como a dislipidemias, associados ao aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e diabetes. O objetivo deste trabalho foi investigar a existência de dislipidemias em indivíduos com esquistossomose nas diferentes fases da doença. Para tanto, foram obtidas amostras de plasma de 136 indivíduos com esquistossomose nas fases intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica e 90 indivíduos saudáveis para determinação dos níveis de colesterol total, HDL-c e triglicerídeos por métodos colorimétrico-enzimáticos e de LDL-c e VLDL-c pela equação de Friedewald. A esquistossomose provocou modificações do metabolismo lipídico independentes do estágio da doença, porém com progressiva diminuição dos níveis de colesterol das lipoproteínas. Bem como provocou aumento e posterior declínio até níveis próximos do controle dos níveis de triglicerídeos. O aumento nos níveis de triglicerídeos, bem como a diminuição dos níveis de HDL-c podem prever o aumento do risco de desenvolvimento de DCNTs nos indivíduos afetados.

**Palavras-chave:** Dislipidemias, Esquistossomose Mansônica.

## INTRODUÇÃO

A história nos mostra que ao invés de existir um processo linear e relativamente contínuo de transição epidemiológica das afecções humanas, no qual as chamadas doenças da pobreza são substituídas pelos males da modernidade, o que se observa é um quadro de interações complexas, com mudanças, adaptações e emergências típicas dos fenômenos vivos que muitas vezes se mostram diferentes do esperado. A relação entre as populações de homens, vetores e agentes etiológicos é bastante complexa e não parece estar no horizonte, para os próximos anos, a miragem de uma vida livre de infecções [1].

A esquistossomose é uma doença parasitária que afeta em torno de 200 milhões de pessoas no mundo todo. No Brasil, estima-se que 2,5 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *Schistosoma mansoni*, agente etiológico presente no país [2,3]. A esquistossomose é nitidamente uma doença causada por condições socioeconômicas adversas, associadas à falta de infraestrutura de armazenamento e distribuição adequada de água e eliminação de dejetos, permitindo às populações residentes em zonas endêmicas o contato direto com águas contaminadas por caramujos – hospedeiros intermediários desta verminose.

A fase crônica da doença é caracterizada pelo amplo comprometimento de órgãos e tecidos, principalmente o fígado, causado por reações granulomatosas que se iniciam pela deposição dos ovos do verme. Esta mesma fase pode ser subdividida em três formas ou estágios: Intestinal (EI), Hepatointestinal (EHI) ou Hepatoesplênica (EHE) [4,5].

Pesquisas utilizando camundongos infectados demonstraram existência de alterações no metabolismo lipídico e lipoproteico, tais como: reduções nos níveis de Colesterol Total (CT) e aumento dos níveis plasmáticos dos Triglicerídios (TG) e Lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) [6,7].

Estudos de nosso laboratório, utilizando *Callithrix jacchus* infectados, observaram redução da atividade da enzima lecitina-colesterol acil-transferase (LCAT), sugerindo alterações no transporte reverso do

colesterol [8]. Em humanos, foi observado aumento da peroxidação dos lipídios da membrana de eritrócitos e diminuição da atividade de LCAT [9].

Por outro lado, outros distúrbios hepáticos, como esteatose e esteatoepatite, também têm sido relacionados ao desenvolvimento de dislipidemias e à patogênese de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs).

As DCNTs foram responsáveis por 61% dos 58 milhões de óbitos ocorridos no mundo em 2005. No Brasil, as DCNTs corresponderam a cerca de 70% das causas de mortes em 2007, com destaque para as doenças cardiovasculares (DCVs) [10,11]. Em 2009, as DCVs ocasionaram 320 mil mortes no Brasil, 31% do total de óbitos ocorridos [12]. Além das DCVs individualmente, o Diabetes Mellitus (DM) é um dos componentes de maior causa de morte entre as DCNTs. A OMS estima que o número total de pessoas com diabetes no mundo crescerá, de 171 milhões em 2000 para 366 milhões em 2030; apenas no Brasil, de 4,5 milhões para 11,3 milhões, no mesmo período, tornando-se o oitavo país no mundo com o maior número de pessoas com diabetes [13].

As dislipidemias são fatores de risco para o desenvolvimento de DCVs e DM tipo 2 bem estabelecidos. Assim como na esquistossomose, o comprometimento do fígado é um componente central no estabelecimento destas associações.

Desta maneira, se faz necessária a investigação mais detalhada do metabolismo de maneira a contribuir para uma maior entendimento da esquistossomose e de suas co-morbidades, como a dislipidemia, e propiciar novas formas de prevenção e tratamento destas enfermidades, o que contribuirá para evitar a morte e melhorar a qualidade de vida de milhões de pessoas em todo o mundo.

Assim, o presente estudo objetivou avaliar a influência dos diferentes estágios da esquistossomose mansônica crônica sobre os níveis de lipídios plasmáticos em humanos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Considerações éticas*

Todo o estudo foi planejado e executado seguindo os princípios éticos da declaração de Helsinque. Um termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido por escrito de todos os participantes depois de uma explicação global à respeito do escopo do estudo, como os objetivos, procedimentos e potenciais riscos. A aprovação ética para os procedimentos foi obtida do Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo CEP/CCS/UFPE N° 359/08).

### *Indivíduos*

O presente estudo contou com a participação de 226 indivíduos, de ambos os sexos, 136 pacientes com esquistossomose crônica e 90 indivíduos saudáveis, os quais perfizeram o grupo controle. Os indivíduos participantes foram encaminhados pelo setor de gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), onde foram diagnosticados como portadores da esquistossomose mansônica e caracterizada o estágio da doença. O grupo controle proveio de áreas não-endêmicas do estado de Pernambuco – Brasil. Três amostras de fezes foram coletadas do grupo controle para análise pelo método de Kato-Katz, de forma a excluir a infecção.

Os critérios de exclusão foram a presença das seguintes características clínicas: infecção por vírus da hepatite B ou C, doença renal crônica, disfunção tireoideana, doenças hematológicas ou câncer. Ainda, caso fosse reportado etilismo (>60g de etanol/dia para homens e >40g de etanol por dia para mulheres) ou uso de fármacos hipolipidêmicos.

Os pacientes haviam sido previamente tratados com praziquantel (50mg/Kg).

### ***Processamento das amostras***

Amostras sanguíneas foram obtidas por punção venosa após jejum prévio de 12-14h utilizando material estéril e descartável em tubos contendo o anticoagulante ácido etileno diamino-tetracético (EDTA, 1

mg/mL). O plasma foi separado após centrifugação por 15 minutos à 1500 *xg* e utilizados para dosagem dos parâmetros lipídicos, que ocorreu no mesmo dia.

### ***Quantificação dos Parâmetros Lipídicos***

Concentrações plasmáticas de CT, TG e Colesterol da Lipoproteína de alta densidade (HDL-c) foram determinados por métodos enzimático-colorimétricos comerciais (LABTEST), segundo protocolo do fabricante. Os níveis de Colesterol da Lipoproteína da Baixa Densidade (LDL-c) e da VLDL-c foram calculados utilizando a equação de Friedwald ( $CT = HDL-c + LDL-c + TG/5$ ;  $VLDL-c = TG/5$ ).

### ***Análise Estatística***

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). As diferenças nas concentrações de lipídios e lipoproteínas entre os grupos foram avaliadas por Análise de Variância (ANOVA) *one-way*, seguido de pós-teste de Fisher PLSD (*protected least significant difference*). Significância para todos os grupos foi determinada como  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando o Statview SAS Inc. (1998, NC, EUA).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

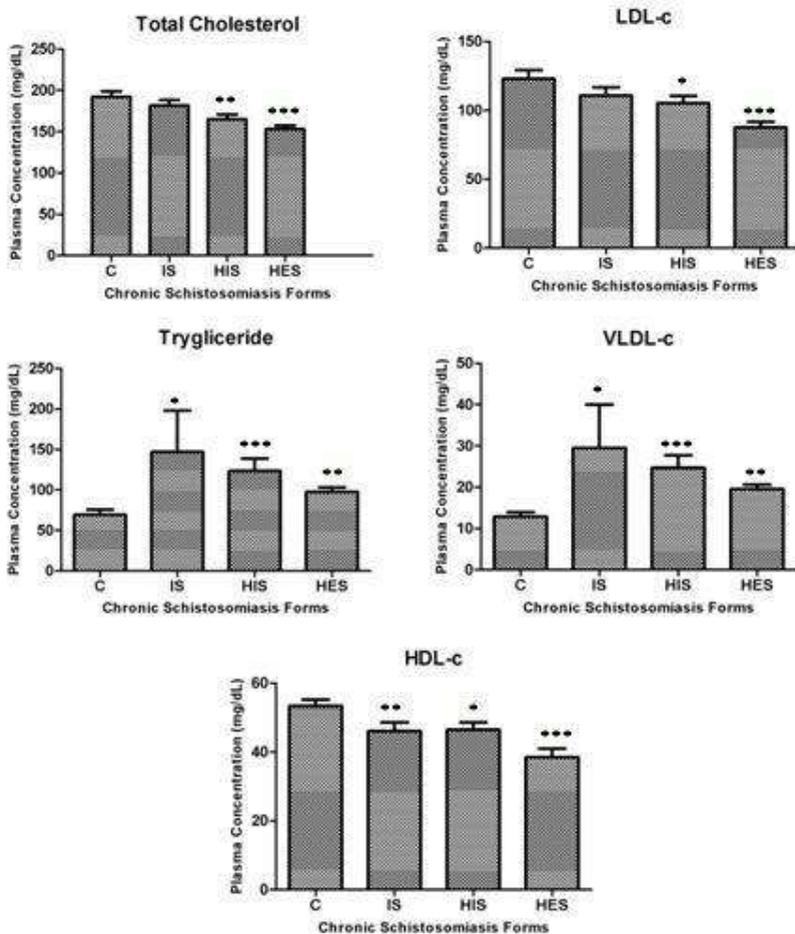
Entre os indivíduos infectados, 12 apresentaram o estágio intestinal, 42 a hepatointestinal e 82 a forma hepatoesplênica.

Nos indivíduos com EHI e EHE houve diminuição significativa dos níveis de CT, HDL-c e LDL-c em relação ao grupo controle.

Dentre os grupos infectados, o grupo EHE apresentou os menores níveis de CT e LDL-c. Somente o grupo EI apresentou níveis significativamente menores de HDL-c.

Por outro lado, os níveis de TG e VLDL-c foram significativamente mais elevados nos pacientes com EI, EHI e EHE quando comparados aos indivíduos controle. Os pacientes com EI e EHI apresentaram os maiores valores de TG e VLDL-c.

A Figura 1 mostra os níveis lipídicos de acordo com os estágios da doença.



**Figura 1.** Níveis Plasmáticos de Colesterol Total, LDL-c, VLDL-c, HDL-c e Triglicerídios de Indivíduos Infectados de acordo com o estágio da doença, comparados ao grupo controle. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p \leq 0.01$ ; \*\*\* $p \leq 0.001$ . C, controle; IS, Esquistossomose Intestinal; HIS, Esquistossomose Hepatointestinal; HES, Esquistossomose Hepatoesplênica.

Níveis diminuídos de CT e LDL-c também foram observados em pacientes EHE [14]. A diminuição dos níveis de CT e LDL-c nestes indivíduos pode ser justificada pelo fato do *S. mansoni* ser incapaz de

sintetizar colesterol obtendo-o por endocitose das moléculas de LDL-c, através de receptores de superfície expressos pelo parasito [15], a diminuição da atividade da enzima LCAT resultando numa diminuição na circulação dos lipídios [8] ou ainda pela síntese de anticorpos naturais para colesterol durante reações inflamatórias crônicas, que estariam relacionados com a metabolização do colesterol por opsonização [16].

Apesar de ter sido observado uma diminuição nos níveis de CT e LDL-c dos indivíduos infectados, trabalhos relatam que durante os estados infecciosos podem ocorrer modificações químicas e morfológicas nas moléculas de LDL [17]. Estas LDLs modificadas são mais susceptíveis a oxidação e possuem alta afinidade com o endotélio vascular podendo, desta forma, iniciar ou agravar a aterosclerose [18]. Inclusive, trabalho utilizando camundongos infectados por *S. mansoni*, observou que mesmo havendo uma redução significativa nos níveis de CT e LDL-c destes animais, não houve diminuição no desenvolvimento da lesão aterosclerótica [19].

Com relação aos níveis elevados de TG e VLDL-c observados nos indivíduos EI e EHI, alterações semelhantes foram encontradas em pacientes com doenças inflamatórias do intestino [20].

A hipertrigliceridemia tem sido reportada como um importante fator de risco para o surgimento de Doenças Cardiovasculares (DCVs) [21]. Estudos têm reportado o papel das VLDLs ricas em triglicerídeos na

patogênese da aterosclerose. Estas lipoproteínas podem interagir com receptores para LDL e Apolipoproteína B-48 encontrados nos monócitos/macrófagos, resultando na formação de células espumosas que são responsáveis pelo desencadeamento da aterosclerose [22].

Estudo utilizando primatas da espécie *C. jacchus* como modelo experimental de infecção por *S. mansoni* semelhante ao humano, também observou níveis diminuídos de HDL-c plasmáticos como aqueles observados nos pacientes com EHE. A diminuição dos níveis de HDL-c pode estar relacionada com uma redução da atividade da LCAT [8].

Estudos epidemiológicos reportam que níveis diminuídos de HDL-c são considerados um fator de risco independente para DCVs. Outros estudos também ressaltam que diminuições persistentes desta lipoproteína no decorrer de estados infecciosos representam um grande fator de risco para o desenvolvimento de DCVs. Este fato pode ser explicado pelo papel central da HDL no transporte reverso do colesterol [23].

Trabalhos reportam que a redução da atividade da LCAT, hipertrigliceridemia, diminuição dos níveis de HDL-c, elevações dos níveis de LDL-c e VLDL-c são alterações lipídicas e lipoprotéicas também encontradas em indivíduos portadores de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), tais como: diabetes mellitus, hipertensão arterial, cardiopatias e obesidade [24]. Dessa forma, percebe-se que as

alterações existentes no metabolismo lipídico dos pacientes esquistossomóticos podem ser comuns às alterações lipídicas encontradas nos indivíduos com DCDNTs. Portanto, estes resultados demonstram que essas alterações no metabolismo lipídico podem predispor os indivíduos portadores desta parasitose ao desenvolvimento de DCDNTs.

## **CONCLUSÃO**

A esquistossomose mansônica, independente do estágio, provoca modificação no metabolismo lipídico que são refletidas nos níveis de colesterol das lipoproteínas e triglicerídeos plasmáticos.

A infecção pelo *S. mansoni* provoca aumento dos níveis de triglicerídeos, os quais reduzem em razão da progressão da doença.

Estágios avançados da esquistossomose provocam diminuição dos níveis de lipídios plasmáticos de maneira progressiva.

O aumento nos níveis de Triglicerídeos, bem como a diminuição dos níveis de HDL-c podem predizer o aumento do risco de desenvolvimento de DCNTs nos indivíduos afetados.

## **REFERÊNCIAS**

BARATA, R. B. Cem Anos de Endemias e Epidemias. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 5, n. 2. p. 333-345. 2000.

ENGELS, D; CHITSULO, L, MONTRESOR, A; SAVIOLI, L. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. **Acta Tropica**, v. 82, p.139-146. 2002.

DOENHOFF, M. J.; STANLEY, R. G.; GRIFFITHS, K.; JACKSON, C. L. An anti-atherogenic effect of *S. mansoni* infections in mice associated with a parasite-induced lowering of blood total cholesterol. **Parasitology**, v. 125, p.415-421. 2002.

ABDALLAHI, O. M.; HANNA, S.; De REGGI, M.; GHARIB, B. Visualisation of Oxygen Radical Production in Mouse Liver Response to Infection with *S. Mansoni*. **Liver**, v. 19, n. 6, p.495-500. 1999.

GRYSEELS, B. Human Schistosomiasis. **Journal of Institute of Tropical Medicine**, v. 368, p. 1106-1118. 2006.

BLANCHARD, T. J. Schistosomiasis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 2, p. 5-11. 2004.

AMARAL, R. S; PORTO, M. A. S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 277, p.73-90. 1994.

FEINGOLD, K. R; SOUED, M. K; SERIO, A. H; MOSER, C. D; GRUNFELD, C. Multiple cytokines stimulate hepatic synthesis in vivo. **Endocrinology**, v. 125, n. 267-274. 1989.

LIMA, V. L. M.; SENA, V. L. M.; STEWART, B.; OWEN, J.S.; DOLPHIN, P. J. An evaluation of the marmoset *Callithrix jacchus* (*sagüi*) as an experimental model for the dyslipoproteinemia of human *Schistosomiasis mansoni*. **Biochemistry et Biophysic Acta**, v. 1393, n. 235-243. 1998.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Genebra, **WHO**. 2011.

SCHMIDT M. I.; DUNCAN B. B.; AZEVEDO E SILVA G.; MENEZES A. M.; MONTEIRO C. A.; BARRETO S. M.; CHOR, D; MENEZES, P. R. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Lancet**, v. 377, n. 9781, n. 1949-1961. 2011.

DATASUS (BR). **Indicadores e Dados Básicos – IDB 2010 Brasil**. Brasília; 2013. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2010/c08.def>. Acesso em 23 de maio de 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de procedimentos para vacinação**. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

DIMENSTEIN, R; CARVALHO, V. C; OLIVEIRA, D. N; GILLET, M. P. Alteration in the levels and lipids composition of plasma lipoprotein (VLDL, LDL and HDL) in Brazilian patients with hepatoesplenic schistosomiasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 25, p. 1091-1102. 1992.

SPRONG, H; SCHANEK, M; VAN DIJK, S. M. Aberrant receptor-mediated endocytosis of *S. mansoni* glycoproteins on host lipoproteins. **PLoS Medicine**, v. 3, p. 1360-1370. 2006.

ALVING, C. R; WASSEF, N. M. Naturally occurring antibodies to cholesterol: a new theory of LDL cholesterol metabolism. **Immunology Today**, v. 20, p. 362-366. 1999.

CHAPMAN, M. J; GUERIN, M; BRUCKET, E. Atherogenic, dense low-density lipoproteins. Pathology and new therapeutics approaches. **European Heart Journal**, v. 19(A), p. 24-30. 1998.

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M-S.; MEMON, R. A. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanism and consequences to the host. **Journal of Lipid Research**, v. 45, p. 1169-1196. 2004.

LA FLAMME, A. C.; HARVIE, M.; KENWRIGHT, D. Chronic exposure to *Shistosoma* eggs reduces serum cholesterol but has no effect on atherosclerotic lesion development. **Parasite Immunology**, v. 29, p. 259-266. 2007.

LEVY, E; RIZWAN, Y; THIBAUT, L. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 807-815. 2000.

SACKS, F. M; ALAUPOVIC, P; MOYE, L. A. VLDL, apolipoproteins B, CIII, and E, and risk of recurrent coronary events in the cholesterol and recurrent events (care) trial. **Circulation**, v. 102, p. 1886-1892. 2000.

GIANTURCO, S. H; RAMPRASAD, M. P; RAN-LI, R. S; BROWN, M. L; BRADLEY, W. A. Apolipoprotein B-48 or Its Apolipoprotein B-100 Equivalent Mediates the Binding of Triglyceride-Rich Lipoproteins to Their Unique Human

Monocyte-Macrophage Receptor. **Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 18, p. 968-976. 1998.

STEIN O, STEIN Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. **Atherosclerosis**, v. 144, p. 285-301. 1999.

POZZAN, R; MAGALHÃES, M. E. C; BRANDÃO, A. A; BRANDÃO, A. P. Dislipidemics, metabolic syndrome and cardiovascular risk. **Rev. SOCERJ**, v. 17, n. 2, p. 97-104. 2004.

---

## **DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA *Myrcia splendens* (SW.) DC. EM MACAPÁ-AP**

**Estigarribia, F.<sup>(1)</sup>; Aparício, W. C. S.<sup>(1)</sup>; Pereira, L. C. B.<sup>(1)</sup>; Galvão, F. G.<sup>(1)</sup>;  
Gama, R. C.<sup>(1)</sup> fabyestigarribia@gmail.com**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Amapá - UFAP, Macapá - AP, Brasil.

### **RESUMO**

A espécie *Myrcia splendens*(Sw.) pertence à família Myrtaceae possui uma grande importância econômica e ornamental no Brasil. Abrange aproximadamente 5.700 espécies distribuídas em 130 gêneros. Sendo, uma das famílias que representam o grande cenário fisionômico do Cerrado. O objetivo do trabalho foi realizar a caracterização morfológica da espécie *Myrcia splendens*, e conhecer a distribuição espacial da espécie na área em estudo. O estudo foi realizado em uma área de transição savana-floresta na zona sul de Macapá, Amapá, localizado na Rodovia Juscelino Kubitschek, Km 02, Bairro Jardim Marco Zero, município de Macapá-AP. Para análise da espécie foi coletado ramos férteis e levado para o Herbário da Universidade Federal do Amapá - HUFAP e montadas as exsicatas e duplicatas conforme os procedimentos usuais de herborização. A espécie *Myrcia splendens* possui características marcantes da fitofisionomia apresentando folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes, características essas que são importantes para sua identificação em campo. A espécie se encontra na área com distribuição agrupada, fato esse que pode

estar relacionado com a área em estudo ser um fragmento localizado na área urbana de Macapá, o que gera a ausência de fatores disponibilizadores da espécie.

**Palavra-chave:** Myrtaceae, Macapá, Amazônico.

## INTRODUÇÃO

Cerrado é um dos biomas mais ameaçados, devido à velocidade de conversão de áreas nativas em áreas antropizadas. Seus 240 milhões de hectares eram cobertos por fitofisionomias que variam em extensão, complexidade estrutural e biodiversidade. Em apenas quatro décadas esse bioma perdeu cerca de 50% de sua área nativa (KLINK ; MACHADO, 2005).

A família Myrtaceae é muito bem representada no Brasil, em diversos tipos vegetacionais apresentam ampla distribuição no globo terrestre, mais preferencialmente distribuída pelas zonas tropicais e subtropicais, sendo uma das famílias mais bem representadas, em trabalhos realizados no Cerrado Brasileiro mostra com 211 em número de espécie e 14 em números de gêneros (MENDONÇA, et al 1998).

Apresenta uma rica diversidade de espécies, possui características específicas vegetais de uso econômicos múltiplos por fornecer frutos e sementes tanto para o homem como para a diversidade da fauna (PEREIRA, 1996).

O gênero *Myrcia*, *Eugenia* e *Calypttranthes* são os que se destacam com mais de centenas de espécies descritas, enquanto os restantes dos gêneros possuem apenas 60 espécies brasileiras (BARROSO; PERÓN, 1994, LANDRUM & KAWASAKI 1997).

O estudo da distribuição espacial das árvores é de grande interesse para o manejo florestal, uma vez que está relacionada ao crescimento dos indivíduos, à distribuição diamétrica, à densidade de árvores e, conseqüentemente, à produção volumétrica (SILVA et al., 2004).

Para estudos mais aprofundados em uma área há a necessidade de mostrar a utilidade das plantas de uma forma mais ampla, o que incentiva o uso de manejo adequados, visando a valorização da espécie em estudo (AQUINO et al, 2007).

A realização de caracterização morfológica de uma determinada espécie é de grande importância para estudos taxonômicos de determinada área e região, principalmente quando se encontra em área de transição de Cerrado sendo bastante antropizado. Contudo ainda exista uma grande carência em estudos em área de Cerrado principalmente em regiões como da Amazônia.

Outro fator de grande importância é o conhecimento da distribuição espacial de uma espécie, permite entender como a espécie se comporta na área de estudo, tendo em vista o conhecimento de padrões em comunidade vegetal e distribuição dos indivíduos e suas relações com

os fatores que influenciam a estrutura populacional (FORTIN et al., 2002). O objetivo da pesquisa foi realizar a caracterização morfológica da espécie *Myrcia splendens* e conhecer a distribuição espacial para assim contribuir com dados morfológicos e ecológicos da espécie da região de Cerrado Amazônico no estado do Amapá.

A espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC., conhecida popularmente como Murta, pertence a família Myrtaceae que é uma das famílias mais importante do Brasil com grande potencial econômico, possui aproximadamente 5.700 espécies e 130 gêneros (GOVAERTS et al. 2008). No Brasil, a família apresenta 927 espécies distribuídas em 24 gêneros (SOBRAL et al. 2010). Encontra-se bem representada nos diferentes fitofisionomias do Cerrado principalmente em campos rupestres, onde está representada entre as 10 famílias de maior riqueza (WERNECK et al. 2000; ZAPPI et al. 2003; HATSCHBACH et al. 2006; NERI et al. 2007; VIANA & LOMBARDI 2007; ALVES & KOLBEK 2009; FERREIRA & FORZZA 2009). Estudos realizados com essas espécimes mostram a grande diversidade e o alto índice de endemismo pelo tipo dessas fitofisionomia (HARLEY, 1995).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em uma área de Transição Savana-Floresta da zona sul de Macapá, Amapá, localizado na Rodovia Juscelino

Kubitschek, Km 02, Bairro Jardim Marco Zero, município de Macapá-AP. Possuindo as seguintes coordenadas geográficas, de 0°0'19.89"S e 51°5'6.38" O. Todas as áreas foram georreferenciadas com o auxílio do GPS Garmin GPS, o fragmento um possui 1 ha, o dois 1,65 ha, o três 1,38 e o quatro 5,81 ha. Segundo a classificação de Köppen, a região apresenta clima tipo Am possui um clima equatorial super-úmido (Am) com poucas variações de temperatura, o período mais frio apresenta elevados índices de pluviosidade com precipitação anual de cerca de 2.500mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004,).

Para análise da espécie foi coletada ramos (férteis) e prensados e submetidos a secagem em estufa do Herbário da Universidade Federal do Amapá – HUFAP, após montadas exsicatas e duplicatas conforme os procedimentos usuais de herborização. A identificação seguiu o sistema de classificação APG III (2009), a sinonímia foi confirmada pelo Mobot-Missouri Botanical Garden. Foram analisados três indivíduos da espécie, ressaltando suas características locais mais marcantes e anotados dados relativos à morfologia da folha, disposição dos ramos e características gerais do tronco, dados de frutificação foram descritos por literatura especializada.

Para amostragem da população de *Myrcia splendens* foram instaladas sistematicamente parcelas permanentes medindo 250m<sup>2</sup> (10 x 25), distando 25m uma da outra, posicionadas paralelamente ao rio

Amazonas, das quais cinco parcelas foram lançadas no fragmento um, oito parcelas no fragmento dois, sete parcelas no fragmento três e 27 parcelas no fragmento quatro, totalizando 47 parcelas como um todo. Para a medição arbórea utilizou-se a haste do podão, que apresenta uma seção modular de três metros e o restante estimado visualmente com altura comercial.

Foram analisados três indivíduos da espécie, ressaltando suas características locais mais marcantes e anotados dados relativos à morfologia da folha, disposição dos ramos e características gerais do tronco, dados de frutificação foram descritos por literatura especializada.

Para análise de distribuição espacial foi utilizadas o índice de Morisita (IM),  $(IM = \frac{q \sum n(n-1)}{N(N-1)})$ , onde q= número de indivíduos na vigésima sétima parcela e n= número total de indivíduos amostrados. Onde: o padrão espacial é considerado aleatório quando o ID = 1, uniforme se ID < 1 e agregado se ID > 1. Como os dados não seguem distribuição normal, o teste de Qui quadrado ( $\chi^2 = \frac{SS}{x}$ , onde SS= (n-1) (S<sup>2</sup>), n= número de parcelas estudadas, s<sup>2</sup>= Variância de indivíduos e x= a média do número de indivíduos), assim foi utilizado para saber se o valor encontrado difere estatisticamente de 1 (BROWER; ZAR, 1984).

A interpretação do valor do qui-quadrado foi baseada no seguinte critério: se o valor calculado for menor que o valor tabelado o I<sub>d</sub> não difere significativamente de 1 e a espécie apresentara um padrão de

distribuição aleatória. Os cálculos tabelados e gráficos foram gerado pelo Excel 2007.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC., é encontrada na área de estudo em formas de arbustos e árvores, com medida comercial de aproximadamente seis metros de altura, com tronco cilíndrico ereto e as vezes tortuoso, casca lisa que tem a característica de se renovar a cada estação de seu crescimento. Possuem folhas lanceoladas de ápice acuminado, margem não revoluta, base cuneada e, ambas as faces da folha glabrescentes, apresenta uma nervura principal bem marcante. As folhas são pequenas simples e de distribuição oposta cruzada, com pecíolo e estípulas pequenas.

Florescem, geralmente no segundo semestre entre agosto a setembro, flores brancas, pequenas, não aglomeradas no ápice da inflorescência, botões florais globosos, glabros, brácteas e bractéolas caducas, pétalas alvas, cálice aberto no botão. Hipanto tubular piloso, não prolongado acima do ovário, que possui dois lóculos, fruto em forma de baga, maduros com cores avermelhadas a rosados, globosos e pilosos externamente (MORAIS, 2006). Espécie com ampla distribuição, ocorrendo desde o México até o Brasil, Paraguai e Argentina (GOVAERTS et al. 2008).

A espécie ocorre em praticamente todas as fitofisionomias do Cerrado, sendo comumente encontrada em floresta ciliar, capões (KAWASAKI, 1989), campo rupestre, floresta semidecidual (MORAIS ; LOMBARDI, 2006), de galeria, cerrado e cerradão (ARANTES ; MONTEIRO 2002).

A *Myrcia splendens* possui características marcantes como suas folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes. O binômio *M. splendens* conta com ca. de 150 sinônimos, dentre os quais é importante citar *M. fallax* (Rich.) DC. e *M. rostrata* DC. como sendo as espécies mais conhecidas (ROSA; ROMERO, 2012).

Para área de estudo a espécie apresentou resultado agregada. Para a obtenção dos dados para a distribuição espacial seguindo o Índice de Morisita, foram analisadas 181 indivíduos distribuídos em 47 parcelas.

Quanto ao cálculo de distribuição espacial, a espécie apresentou um índice de dispersão de  $I_d > 1$ , o qual foi confirmado pelo teste do Qui-quadrado ( $X^2$ ) a um nível de significância de 0,05 para a probabilidade de erro, demonstrando um valor significativo para a espécie (Tabela 1).

**Tabela 1.** Demonstração dos valores encontrados no cálculo de distribuição espacial da espécie *Myrcia splendens*. Em área de transição cerrado da Amazônia.

Espécie	I.M.	X <sup>2</sup> cal	X <sup>2</sup> tab	PDE
<i>Myrcia splendens</i>	3,27	51	9,39	Agregado

Espécies que habitam locais alterados, como em grandes clareiras e bordas de florestas, apresentam o padrão de distribuição agregada o que reflete a alta densidade da espécie (NASCIMENTO et al., 2001). Segundo During (2003) cita que espécies que ocorrem de forma agregada mesmo tendo alta densidade, apresentam baixa frequência e que necessitaria de uma melhor amostragem para definição do seu tipo de distribuição. Porém, Odum (1988) afirma que há poucos motivos para as plantas apresentarem uma distribuição aleatória, considerando questões reprodutivas que tenderiam ao agrupamento e poucos fatores dominando (químicos, físicos e biológicos).

O estudo da distribuição espacial das árvores é de grande interesse para o manejo florestal, uma vez que está relacionada ao crescimento dos indivíduos, à distribuição diamétrica, à densidade de árvores e, conseqüentemente, à produção volumétrica (SILVA et al., 2004).

Trabalhando realizado em um fragmento florestal no planalto catarinense Negrini, (2012), observou que as espécies da área apresentaram um padrão de distribuição aleatória, diferentemente dos resultados obtidos neste estudo, no qual as espécies em sua maioria apresentam um padrão de distribuição agregado, como no caso da *Myrcia splendens*.

No entanto Negrini (2012) diz que para as espécies poderem ter este padrão de distribuição é necessário que a mesma possa ter um alto potencial energético para assim aumentar a quantidade de dispersores.

No fragmento estudado, o ambiente bastante antropizado com poucos registros sobre a fauna, diminuindo assim sua dispersão por animais. Contudo uma das possíveis causas para que a espécie *Myrcia splendens* ter apresentado uma distribuição agregada pode esta relacionada simplesmente com fatores ambientais que limitam sua distribuição.

## CONCLUSÃO

A espécie apresentou caracteres morfológicos na área que corroboram com os estudos citados pela literatura para áreas de transição de Cerrado no bioma Amazônico.

A espécie possui características marcantes como suas folhas elípticas a lanceoladas, de ápices acuminados e ambas as faces da folha glabrescentes, de grande importância para seu reconhecimento em campo.

Os indivíduos da espécie *Myrcia splendens* analisadas na área apresentaram uma distribuição agregada o que pode estar relacionado pela área ser um fragmento próximo de área urbana.

A espécie pode ser encontrada em diversas fitofisionomia dos ecossistemas existentes, porém na área possui diversos fatores

ambientais e antrópicos, esses que podem estar dificultando a mesma de obter melhor distribuição na área em estudo.

## REFERÊNCIA

ARANTES, A.A. & MONTEIRO, R. 2002. **A Família Myrtaceae na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.** *Lundiana* 3: 111-127.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.161, p.105-121, 2009.

AQUINO, F.G.; WALTER, B.M.T. & RIBEIRO, J.F. Espécies Vegetais de Uso Múltiplo em Reservas Legais de Cerrado - Balsas, MA. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p.147-149. 2007.

BARROS, P.L.C., MACHADO, S.S. **Aplicação de índice de dispersão em espécies de floresta tropicais da Amazônia Brasileira.** Curitiba: FUPEF. 1984. 44 p. (Série Científica, 1).

BARROSO, G.M. & PERÓN, V. 1994. Myrtaceae. *In* Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo, RJ. **Aspectos florísticos das espécies vasculares.** (M.P.M. Lima & R.R. Guedes-Bruni, eds.). Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v.1, p.261-302.

DRUMMOND, J.A. **Atlas das unidades de conservação do Estado do Amapá.** IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004

DURIGAN, G. 2003. Métodos para análise de vegetação arbórea. *In*: Cullen Jr., L. (Org.). **Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre.** Ed. da UFPR & Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Curitiba, Brasil, p. 455-479.

FORTIN, M.J., DALE, M.R.T. & HOEF, J. **Spatial analysis in ecology.** *In*: A.H. El-Shaarawi & W.W. Piegorsch (eds.). *Encyclopedia of Environmetrics.* John Wiley & Sons, Chichester, pp. 2051-2058. 2002.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B.K.; LANDRUM, L.R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F.F.; LUGHADHA, N. E.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L.H.; WILSON, P.G. & L. E. 2008. **World checklist of Myrtaceae**. Royal Botanic Gardens, Kew. 455p.

HARLEY, R.M. 1995. Introdução. *In*: Stannard, B.L. (ed.). **Flora of Pico das Almas - Chapada Diamantina, Bahia, Brazil**. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 43-78

KAWASAKI, M.L. 1989. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Myrtaceae**. Boletim Botânico da Universidade de São Paulo 11: 127-170.

Kawasaki, M.L. 1989. **Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Myrtaceae**. Boletim Botânico da Universidade de São Paulo 11: 127-170.

KLINK, C.A. & MACHADO, R.B. **Conservation of the brazilian Cerrado**. Conservation Biology. 19(3): 707-713. 2005.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997. **The genera of Myrtaceae in Brazil . an illustrated synoptic treatment and identification keys**. Brittonia 49:508-536.

MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. **A Família Myrtaceae na Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil**. Lundiana 7(1): 3-32, 2006.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E. 1998. **Flora vascular do cerrado**. *In* Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S. P. Almeida, Eds.). Embrapa – CPAC, Brasília, p.288-556.

NEGRINI, M. **Dispersão, distribuição espacial e estratificação vertical da comunidade arbórea em um fragmento florestal no Planalto Catarinense**. Rev. Árvore, Viçosa,v. 36, n. 5, Oct. 2012.

NASCIMENTO, A. R. T. et al. **Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de Floresta Ombrófila Mista em Nova Prata, RS**. Ciência Florestal, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 105-119, 2001.

ODUM, E. P. 1988. **Ecologia**. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, Brasil, 434 pp.

PERRY J.N. e DIXON, P.M. 2002. **A new method to measure spatial association for ecological count data**. *Ecoscience*.9(2): 133-141.

PEREIRA, B.A.S. Flora Nativa. In: **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis**. Fundação Pró-Natureza, Brasília. p. 52-57. 1996.

ROSA, P. O.; & ROMERO. R. **O gênero *Myrcia* (Myrtaceae) nos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil**. *Rodriguesia* 63(3): 613-633. 201. Disponível em: <http://rodriguesia.jbrj.gov.br>

RODRIGUES, L.A.; CARVALHO, D.A.; GOMES, L.J.; BROTEL, R.T. Espécies vegetais nativas usadas pela população local em Luminárias – MG. **Boletim Agropecuário**. Universidade Federal de Lavras, p. 1-34, 2002.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F. & LUCAS, E. 2010. **Myrtaceae** In: Forzza, R.C. *et al.* (ed.). Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB010266>>. Acesso em 10 Dez 2010.

SILVA, J. A; LEITE, E. J; NASCIMENTO, A. R. T; REZENDE, J. M. Padrão de Distribuição espacial e diamétrica de indivíduos de *Aspidosperma* spp na reserva genética florestal tamanduá, DF. **Comunicado técnico EMBRAPA-DF**, Brasília-DF,2004.

WERNECK, M.S.; PEDRALLI, G.; KOENIG, R. & GISEKE, L.F. 2000. **Florística e estrutura de três trechos de uma floresta semidecídua na Estação Ecológica do Tripuí, Ouro Preto, MG**. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 97-106.

ZAR, J.H. 1999. **Statistical analysis**. 4 ed. Prentice Hall, New Jersey.

---

## DIVERSIDADE PARASITOLÓGICA CARREADOS EM DIPTEROS EM REGIÕES DO SEMIÁRIDO PERNAMBUCANO

Cruz, D.L.V.<sup>(1)</sup>; Vanderley, A.M.S.<sup>(1)</sup>; Almeida, C.V.F.<sup>(1)</sup>; Santos, L.H.A.<sup>(1)</sup>; Gomes-Júnior, P.P.<sup>(1)</sup>; Lima, M.M.<sup>(1)</sup> Daniel.lus@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Serra Talhada – PE, Brasil.

## RESUMO

Muitos dípteros são consumidores de carcaça, possuindo importância na entomologia forense e na saúde pública, pois são vetores mecânicos de agentes patogênicos. Este estudo objetivou avaliar a presença de parasitos em dípteros coletados em Serra Talhada e Triunfo – PE; analisar a maior prevalência dos insetos em diferentes pontos, identificar os dípteros e os parasitos carreados. No mês de setembro de 2013, realizaram-se coletas em quatro pontos distintos por meio de três armadilhas aéreas de garrafas “PET” em cada ponto com 25 metros de distância uma da outra. Usando três iscas diferentes: carne bovina, peixe e frango. Após quatro dias, coletaram-se os insetos. Nas análises parasitológicas, as amostras foram processadas pela técnica de Lutz e visto em microscópio estereoscópico. Foram coletados 296 insetos das Ordens Diptera, correspondendo a 97,63% e Hymenoptera a 2,37%. A isca de peixe apresentou maior abundância de insetos (45,96%), carne bovina (34,14%) e frango (19,90%). As principais famílias foram: Muscidae (67%), Sarcophagidae (22,31%) e Calliphoridae (5,07%). Das 22 lâminas observadas apenas quatro (18,18%) obtiveram positividade parasitária, sendo que (9,09%) foram obtidas do Lixão. Nos pontos de Triunfo e UFRPE – UAST ambas apresentaram (4,54%). Não evidenciou-se positividade parasitária nas lâminas do Bairro Mutirão.

**Palavras-chave:** Entomofauna, Necrófagos, Vetores.

## INTRODUÇÃO

Entomologia forense é a ciência que estuda insetos, representados em sua maioria pelos dípteros, importantes na saúde pública uma vez que se caracterizam como vetores mecânicos de agentes etiológicos de diversas doenças (BALTAZAR *et al.* 2011). As moscas mais adaptadas aos centros urbanos são das famílias Muscidae, Fanniidae,

Calliphoridae e Sarcophagidae, sendo os principais vetores de patógenos (SANTOS, 2006).

No Brasil, de modo geral, os helmintos são de ampla distribuição geográfica, sendo encontrados em zonas rurais ou urbanas. Sendo que sua prevalência varia segundo o ambiente e a espécie de parasita, apresentando geralmente, altos níveis de prevalência onde são mais precárias as condições socioeconômicas da população. Os helmintos podem ser transmitidos ao homem de várias maneiras, mas pouca ênfase é dada para a transmissão vetorial ou mecânica das formas infectantes por insetos (THYSSEN, *et al.* 2004).

Em Pernambuco, estes estudos são focados na Mata Atlântica, Zona da Mata e Agreste. Sendo que no sertão, que tem como vegetação típica a Caatinga, possuem poucos estudos, mesmo sendo uma ecorregião exclusiva do Brasil, com áreas de clima semiárido, permitindo supor que haja uma fauna riquíssima com várias espécies endêmicas de dípteros (MARQUES *et al.* 2010).

Sendo assim, o estudo teve como objetivo avaliar a presença de parasitos em insetos, com ênfase em dípteros coletados em Serra Talhada e Triunfo – PE. Além de analisar a maior prevalência dos insetos coletados em diferentes pontos e identificar os dípteros coletados e os parasitas carreados pelos mesmos.

## MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em quatro pontos distintos nos municípios de Serra Talhada e Triunfo - PE, os pontos de coleta foram escolhidos de acordo com o perfil de cada localidade, sendo que dois pontos foram locais de zona rural, um ponto em local próximo a área com residências e o outro ponto no Lixão da cidade de Serra Talhada.

Ponto 1: Lixão do município de Serra Talhada- PE, sendo marcado como coleta piloto. Isca de carne bovina: S – 08° 01'48,3"/ W – 034° 16' 27,8"; isca de peixe: S – 08° 01'49,1"/ W – 058° 16' 27,5"; isca de frango: S – 08° 01'48,6"/ W – 034° 16' 27,6".

Ponto 2: Bairro do Mutirão no município de Serra Talhada- PE, com condições sanitárias e socioeconômicas precárias. Isca de carne bovina: S – 07°58'19,7"/ W – 038°17'07,5"; isca de peixe: S – 07° 58'18,8"/ W – 038° 17'07,4"; isca de frango: S – 07° 58'19,5"/ W – 038° 17'06,9".

Ponto 3: Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UFRPE – UAST), que encontra-se em uma área de zona rural do município de Serra Talhada- PE. Isca de carne bovina: S – 07°57'17,1"/ W – 038°17'53,4", isca de peixe: S – 07°57'15,4"/ W – 038°17'52,8"; isca de frango: S – 07°57'16,4"/ W – 038°17'53,8".

Ponto 4: Brejo de altitude no município de Triunfo- PE, referente a uma área de zona rural. Isca de carne bovina: S – 07° 51'31,1"/ W – 038°

03'56,8"; isca de peixe: S – 07° 51'29,1"/W – 038° 03'56,8"; isca de frango: S – 07° 51'30,4"/W – 038° 03'56,4".

A coleta dos dípteros ocorreu no mês de Setembro de 2013, onde foram inseridas três armadilhas em cada ponto, com um total de 12 armadilhas. Cada armadilha foi confeccionada com duas garrafas "PET". As garrafas foram cortadas ao meio, utilizando-se a parte superior cônica. Mantiveram-se duas aberturas em forma de círculo, de maneira que os insetos atraídos pudessem entrar na armadilha. Posteriormente, uma das garrafas foi pintada com tinta esmalte sintético de cor preta. No interior de cada armadilha foi inserido um potinho de sorvete com tampa, que possuía pequenos furos, onde colocou-se a isca específica para cada tratamento.. Foram utilizados três tratamentos (tipos de iscas); carne bovina, peixe, frango.

As armadilhas foram instaladas no período da manhã (entre 8:30 e 9:00 horas), as quais foram dispostas de uma maneira equidistantes, distantes 25 m entre si formando um triângulo. Cada armadilha continha um tipo de isca e foi pendurado em árvores utilizando-se barbantes, de maneira que ficassem a aproximadamente 1,2 m de altura do solo. A coleta foi realizada quatro dias após a montagem dos experimentos, recolhendo-se os insetos presentes no interior de cada armadilha, acondicionando-os em coletores fisiológicos de 50 ml contendo álcool 70%. Em seguida, as amostras foram levadas ao laboratório de Biologia da UAST –

UFRPE, onde foram realizados procedimentos rotineiros de triagem, montagem e identificação dos espécimes.

Para a realização das análises parasitológicas, o material de cada coleta foi processado pela técnica de Lutz, que tem como fundamento a sedimentação espontânea em cálice de fundo cônico, por 24 horas em repouso. Com auxílio de pipeta foi desprezado o sobrenadante e o material de fundo disposto em duas lâminas e coradas com lugol, posteriormente as lâminas foram analisadas por meio de um microscópio estereoscópico. Os dípteros foram montados e identificados por meio de chave de identificação elaborada por Leite e Mendes de Sá (2010).

A análise estatística dos dados do experimento também foi feita pelo teste de qui-quadrado, com tabela de contingência 2x2, utilizando a correção de Yates, o nível de significância utilizado foi de 5%, sendo considerados significativos os valores de  $\chi^2$  maiores ou iguais a 3,84 (CENTENO, 1990).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foram coletados 296 insetos adultos distribuídos nas Ordens Diptera e Hymenoptera. Os dípteros corresponderam a 97,63% do total de insetos coletados nas armadilhas, seguidos dos hymenópteros 2,37%, tendo como único representante a família Chalcididae.

A coleta piloto foi realizada no Lixão, para averiguar a ocorrência de patógenos carreados por insetos, obteve-se o maior número de dípteros coletados pertencentes à família Muscidae somando 47,66% de moscas, seguido da família Sarcophagidae com 5,41%, Calliphoridae com 2,37% e Tephritidae e Drosophilidae com apenas 34% (Tabela 1), nestas coletas foram encontrados no material sedimentado a presença de ácaro em 50% das lâminas e nematoides em 50% das lâminas (Tabela 3).

A maior porcentagem de dípteros foi encontrada na isca de peixe, representando 45,96% dos insetos coletados, obtendo maior representatividade de indivíduos no Lixão com 33,46% e no Bairro do Mutirão, com 2,03%. A isca de carne bovina obteve a segunda maior porcentagem, 34,14% dos insetos coletados, obtendo maior representatividade na UFRPE – UAST com 7,77%, este resultado difere com Marques *et al.* (2010) que realizou estudo no mesmo local, no ano de 2008, cujo intuito foi analisar a dipterofauna necrófaga da região, em tal estudo verificou-se que a maior porcentagem de dípteros foi encontrada nas iscas de carne bovina, representando 31% dos insetos coletados. É importante ressaltar que no Bairro do Mutirão a armadilha contendo a isca de carne bovina foi extraviada, sendo assim, não se obteve resultado sobre esta isca neste ponto. A menor porcentagem foi encontrada na isca de peixe com 19,90% de indivíduos (Tabela 2).

A presença de representantes da família Tephritidae foi incomum, já que possuem o hábito de se alimentarem de frutas, sendo que algumas

destas espécies se alimentam na fase larval de botões florais, flores, brotos folhas, raízes e sementes (SABEDOT-BORDIN, *et al.* 2011). Da mesma forma os representantes da família Drosophilidae apresentam hábito alimentar bastante diverso, algumas espécies se alimentam e ovipõem em frutos, flores, exsudatos de caule, cladódios de cactos, fungos e bactérias (BIZZO, 2008). Dessa forma, a presença dos mesmos nas armadilhas pode se dar pela hipótese de que caíram acidentalmente; ficaram atraídos pela presença de outros dípteros na perspectiva de encontrar alimento naquele local ou se sentiram atraídos pela humidade das iscas, por meio das moléculas de água emitidas pela evaporação, uma vez que o atual período é de extensa estiagem, onde os recursos aos quais os mesmos costumam se alimentar encontram-se escassos.

Em Triunfo, obteve-se o maior número de insetos coletados pertencentes às famílias Muscidae e Sarcophagidae ambas somaram 8,11%, seguido da família Chalcididae com 1,69%, as famílias Calliphoridae e Tephritidae ambas somaram 1,35% e apenas 0,68% da família drosophilidae (Tabela 1). Neste ponto, evidenciou-se a maior diversidade de famílias e positividade parasitária em apenas uma lâmina, encontrando-se um ácaro (Tabela 3).

A única família de hymenopteros encontrados em algumas armadilhas foi a Chalcididae, cujas espécies são vespas parasitoides primários de Lepidoptera, Coleoptera e algumas parasitam Diptera, Hymenoptera e

Neuroptera (DALL'OGGIO *et al.* 2003). Desta forma acredita-se que tais vespas foram atraídas pela concentração de dípteros contidos dentro ou fora das armadilhas e acabaram caindo acidentalmente. Os mesmos foram encontrados somente em armadilhas que estavam em localidade rural.

Na UFRPE-UAST os insetos coletados representaram às famílias Muscidae somando 9,80%, seguido da família Sarcophagidae com 6,76%, a família Calliphoridae com 1,35%, a família Chalcididae com 0,68% e a família Fanniidae com apenas 0,34% de indivíduos (Tabela 1), os nematoides foram mais encontrados nesse ponto de coleta, evidenciou-se ovos solitários e em colônias (Figura 1).

O Bairro do Mutirão foi o local onde menos se capturou insetos, apenas os dipteros pertencentes à família Sarcophagidae somando 2,03%, Muscidae com 1% e Fanniidae com 0,34% dos indivíduos coletados (Tabela 1), não foi evidenciado positividade parasitária em nenhuma das lâminas analisadas.

Os indivíduos mais encontrados das famílias Muscidae (67%), Sarcophagidae (22,31%) e Calliphoridae (5,07%). Logo, diferem dos achados por Rosa, *et al.* (2009) que realizou estudo na vegetação de cerrado, no mesmo foram coletados 129.143 dípteros adultos pertencentes a 31 famílias representantes de Sarcophagidae (67,1%), Calliphoridae (6,2%) e Muscidae (5,9%) foram os mais abundantes. Assim, considera-se que há diferenças de representatividade entre

regiões, sendo conduzida por fatores físicos, ecológicos e comportamentais (TURCHETTO & VANIN, 2004).

Segundo Oliveira, *et al.* (2002), em estudo no Rio de Janeiro - RJ, no período de maio de 1996 a abril de 1998, foram capturados 41.080 dípteros, sendo os Calliphoridae mais abundantes com 83,44%, seguidos pelos Muscidae 13,48% e Fanniidae 3,07%. De acordo com os autores houve diferença significativa entre o número de ovos de helmintos encontrados nos dípteros, verificando uma maior presença de ovos no local menos higienizado.

O teste de qui-quadrado verificou que há diferença entre os pontos de coleta, pois algumas famílias encontravam-se mais presentes em determinados pontos de coleta ( $\chi^2$  cal = 298,32/  $\chi^2$  tab = 9,390). Também verificou que entre os diferentes tipos de iscas há maior preferência pela isca de peixe e de boi ( $\chi^2$  cal = 43,82/  $\chi^2$  tab = 5,226).

**Tabela 1.** Distribuição quanto à quantidade e porcentagem de indivíduos coletados em cada ponto de coleta por família, nos quatro pontos localizados em Serra Talhada- PE e Triunfo-PE, 2013.

Famílias	Triunfo		Mutirão		UAST		Lixão	
Sarcophagidae	24	8,11%	6	2,03%	20	6,76%	16	5,41%
Fanniidae	0	0%	1	0,34%	1	0,34%	0	0%
Muscidae	24	8,11%	4	1%	29	9,80%	141	47,66%
Calliphoridae	4	1,35%	0	0%	4	1,35%	7	2,37%

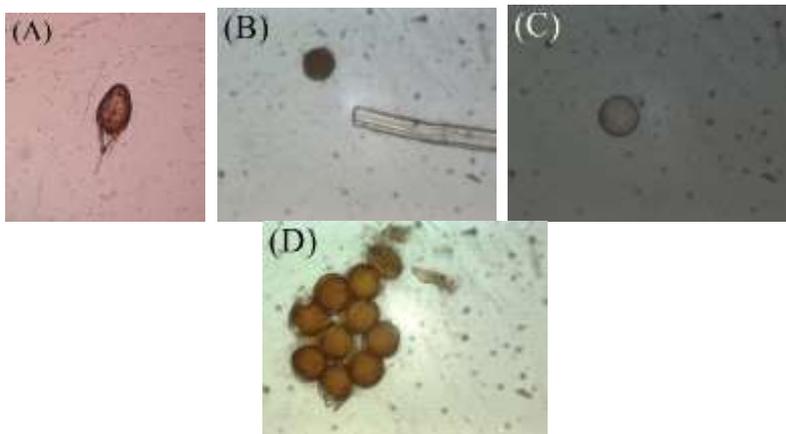
Tephritidae	4	1,35%	0	0%	0	0%	1	0,34%
Drosophilidae	2	0,68%	0	0%	0	0%	1	0,34%
Chalcididae	5	1,69%	0	0%	2	0,68%	0	0%
<b>TOTAL</b>	63	21,29%	11	3,72%	56	18,93%	166	56,11%

**Tabela 2.** Distribuição quanto à quantidade e porcentagem de indivíduos coletados por família em cada tipo de isca, nos quatro pontos localizados em Serra Talhada-PE e Triunfo- PE, 2013.

Famílias	Carne Bovina		Peixe		Frango		TOTAL	
Sarcophagidae	20	6,76%	21	7,10%	25	8,45%	66	22,31%
Fanniidae	1	0,34%	1	0,34%	0	0%	2	0,68%
Muscidae	72	24,34%	103	34,81%	23	7,77%	198	67%
Calliphoridae	3	1,01%	8	2,70%	4	1,35%	15	5,07%
Tephritidae	1	0,34%	2	0,68%	2	0,68%	5	1,69%
Drosophilidae	3	1,01%	0	0%	0	0%	3	1,01%
Chalcididae	1	0,34%	1	0,34%	5	1,69%	7	2,37%
<b>TOTAL</b>	101	34,14%	136	45,96%	59	19,90%	296	100%

**Tabela 3.** Distribuição dos parasitos encontrados por ponto de coleta e iscas utilizadas. Carne Bovina (B), Peixe (P) e Frango (F).

Parasitos encontrados	Triunfo			Mutirão			UAST			Lixão		
	B	P	F	B	P	F	B	P	F	B	P	F
Ácaro	-	-	x	-	-	-	-	-	-	-	x	-
Ovos de Nematoides	-	-	-	-	-	-	x	-	-	-	x	-



**Figura 1.** Parasitos carreadores por dípteros em Serra Talhada- PE e Triunfo- PE. A) Ácaro, B e C) Nematoide (ovos solitários), D) Nematoides (colônia).

## CONCLUSÃO

O ponto de coleta de Triunfo foi o que apresentou maior diversidade de famílias e do Lixão apresentou maior quantidade de indivíduos, predominando a família Muscidae.

As iscas de peixe e foram as mais atraentes para os dípteros independente dos pontos.

Os dípteros podem agir como vetores mecânicos de parasitos intestinais, encontrando-se nematoides, que são agentes patogênicos de importância a saúde pública.

## REFERÊNCIAS

BALTAZAR, F. N.; CAVALLARI, M. L.; CARVALHO, E.; TOLEZANO, J. E.; MUÑOZ, D. R. **Entomologia forense e saúde pública: relevância e aplicabilidade**, Bepa; 8 (87): 14-25. 2011.

BIZZO, L. E. M. **Contribuição à taxonomia e ecologia dos Drosophilidae (Diptera) micófgos neotropicais**. Diss. Universidade de São Paulo. 2008.

CENTENO, A. J. **Curso de estatística aplicada à biologia**. Goiânia. Cegraf-UFG. 1990.

DALL’OGLIO, O. T.; ZANUNCIO, J. C.; FREITAS, F. A.; PINTO, R. **Himenópteros parasitóides coletados em povoamento de Eucalyptus grandis e mata nativa em Ipaba, estado de Minas Gerais**. Ciência Florestal 13.1. 2003.

LEITE, G. L. D.; MENDES DE SÁ, V. G. Apostila: **Taxonomia, Nomenclatura e Identificação de Espécies**. Universidade Federal de Minas Gerais; Instituto de Ciências Agrárias. 2010.

MARQUES, C. C.; SILVA, M. L. L. S.; MATOS, C. H. C.; OLIVEIRA, C. R. F. **Dipterofauna Necrófaga em Áreas de Caatinga no Semiárido Pernambucano**. 2010.

OLIVEIRA, C. V.; MELLO, R. P.; D’ALMEIDA, J. M. **Dípteros muscóides como vetores mecânicos de ovos de helmintos em jardim zoológico, Brasil**. Rev. Saúde Pública. 36 (5): 614-620. 2002.

ROSA, T. A.; BABATA, M. L. Y.; SOUZA, C. M.; SOUSA, D. D.; MELLO-PATIU, C. A.; MENDES, J. **Dípteros de interesse forense em dois perfis de vegetação de cerrado em Uberlândia, MG**. Neotropical Entomology, v. 38, n. 6, p. 859-866. 2009.

SANTOS, A. M. M. **Gerenciamento ambiental para o controle de e Musca domestica L. (Diptera:Muscidae) e Chrysomya megacephala (Fabricus) (Diptera: Calliphoridae) em assentamentos urbanos no interior do Estado de São Paulo**. 268 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) – Campinas, SP. 2006.

SABEDOT-BORDIN, S. M.; BOGUS, G. M.; BAMPI, D.; GARCIA, F. R. M. **Tefritídeos endófgos (Diptera: Tephritidae) associados à Asteraceae em Chapecó, Santa Catarina**. Revista Biotemas, Florianópolis - SC, v. 24, n. 1, p. 15 - 20. 2011.

THYSSEN, P. J.; MORETTI, T. C.; UETA, M. T.; RIBEIRO, O. B. **O papel de insetos (Blattodea, Diptera e Hymenoptera) como possíveis vetores mecânicos de helmintos em ambiente domiciliar e peridomiciliar.** Cad. Saúde Pública [online].; 20(4): 1096-1102. 2004.

Turchetto, M.; Vanin, S. **Forensic entomology and climatic change.** Forensic Sci Int 146S: S207-S209. 2004.

---

**E**

## **EDUCAÇÃO AMBIENTAL A PARTIR DO LÚDICO NO ENSINO DE CIÊNCIAS**

**Oliveira, C.S.P.<sup>(1)</sup>; Barbosa, R.F.M.<sup>(1)</sup>; Maknamara, M.<sup>(1)</sup> sarinhac.s@hotmail.com**

<sup>(1)</sup>Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Caicó - RN, Brasil;

<sup>(2)</sup>Aluno do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Potiguar - UnP, Natal - RN, Brasil;

<sup>(3)</sup>Professor Adjunto I do Centro de Educação, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Caicó - RN, Brasil.

### **RESUMO**

O presente trabalho se fundamenta no emprego de uma prática lúdica de cidadania através da Educação Ambiental. Para produzir o conhecimento, foram realizadas tarefas de diferentes cunhos, tais como: vídeos, jogos e aulas expositivas. Utilizamos questionários, sendo um inicial e um final, para inferir uma estatística do que os alunos já tinham de conhecimento e do que

possivelmente foi aprendido. Através desta metodologia, buscamos uma melhoria na relação do ser humano e o meio ambiente, mostrando a importância na melhora da qualidade de vida da nossa sociedade e tendo em vista a preservação do mesmo para gerações futuras. Com a ajuda do ensino lúdico, que torna a prática mais prazerosa, houve uma maior facilidade no processo de ensino-aprendizagem.

**Palavras-chave:** Ensino-aprendizagem, Prática lúdica, Sociedade.

## INTRODUÇÃO

Um dos principais papéis reservados à educação consiste, antes de mais nada, em dotar a humanidade da capacidade de dominar o seu próprio desenvolvimento. Ela deve, de fato, fazer com que cada um tome o seu destino nas mãos e contribua para o progresso da sociedade em que vive, baseando o desenvolvimento na participação responsável dos indivíduos e das comunidades (DELORS, 2012).

Segundo COSTA (2008) “Mais do que uma época de crise, estamos vivendo a crise de uma época”. A relação do ser humano consigo mesmo, com os outros homens, com a natureza e com a dimensão transcendente da vida está passando por amplas e profundas modificações. A educação interdimensional, portanto, é a educação necessária. Parece que estamos diante de uma ideia cujo tempo chegou. Um tempo de construção de uma educação integradora das diversas dimensões do humano (COSTA, 2008).

Com isso a inclusão de formas lúdicas no ensino surgem como agentes facilitadores do processo de ensino-aprendizagem, onde o aluno seja criança ou adolescente, se sente mais estimulado a participar do processo e aprender o conteúdo de forma mais prazerosa. Com o ensino de Ciências progressivo, é possível fazer com o que o aluno se torne mais crítico, aprendendo a construir o conhecimento por si só, podendo observar as interações humanas e o meio em que vive. Com aulas mais planejadas é possível mediar o conhecimento com muitas ferramentas que podemos utilizar para que o educando possa construir o seu próprio papel em meio a sociedade.

O jogo, por exemplo, pode vir a ser um elemento a mais capaz de despertar o interesse do aluno pelo conteúdo. ARAÚJO (2000) analisa o jogo como elemento essencial no desenvolvimento da criança e do adolescente sob a perspectiva de Henri Wallon. Para ele o jogo, além funcionar como elemento motivacional, oferece a oportunidade do desenvolvimento integrado, abrangendo desde o sistema motor ao afetivo-social e intelectual.

Como bem sabemos, ensinar é mais que promover a fixação do conteúdo, é promover situações de aprendizagem que possibilitem ao aluno a formação de sua capacidade cognitiva. Desta forma, o lúdico vem como um meio auxiliar na perspectiva da externalização do seu próprio conhecimento.

SORRENTINO (1998) chama a atenção para a necessidade de se articularem ações de educação ambiental baseadas nos conceitos de ética e sustentabilidade, identidade cultural e diversidade, mobilização e participação e práticas interdisciplinares. A necessidade de abordar o tema da complexidade ambiental decorre da percepção sobre o incipiente processo de reflexão acerca das práticas existentes e das múltiplas possibilidades de, ao pensar a realidade de modo complexo, defini-la como uma nova racionalidade e um espaço onde se articulam natureza, técnica e cultura (JACOBI, 2003). O desafio é, pois, o de formular uma educação ambiental que seja crítica e inovadora, em dois níveis: formal e não formal. Assim a educação ambiental deve ser acima de tudo um ato político voltado para a transformação social. O seu enfoque deve buscar uma perspectiva holística de ação, que relaciona o homem, a natureza e o universo, tendo em conta que os recursos naturais se esgotam e que o principal responsável pela sua degradação é o homem (JACOBI, 2003). A educação ambiental assume, assim, de maneira crescente, a forma de um processo intelectual ativo, enquanto aprendizado social, baseado no diálogo e interação em constante processo de recriação e reinterpretação de informações, conceitos e significados, que se originam do aprendizado em sala de aula ou da experiência pessoal do aluno (JACOBI, 2005).

Sendo assim é necessário que se criem condições para disseminar as práticas ambientais a fim de que se tenha a capacidade de mudar seus

estilos de vida e culmine numa consciência ética por parte da população. De tal forma, a educação ambiental vem como um subsídio para destacar eventuais problemas ambientais que ocorrem na sociedade atual, sendo assim possível a conscientização para que não haja o decaimento da qualidade de vida dos indivíduos em diversas regiões.

O objetivo do presente trabalho foi aplicar uma aula de ciências com atividades voltadas à Educação Ambiental, associando conceitos básicos sobre Meio Ambiente e atividades lúdicas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A realização deste trabalho educacional ocorreu na Escola Municipal Professor Ulisses de Góis, situada na cidade de Natal no estado do Rio Grande do Norte. Foram utilizadas as três turmas de 6º anos do período da tarde para ministrar aulas expositivas e práticas. A escolha da série foi feita devido ao conteúdo dos materiais didáticos apresentarem como foco a relação entre ser humano e o restante da natureza. Depois de ministrada a aula, exploramos os questionários usados para inferir uma margem numérica do aprendizado destes alunos.

Para a realização do projeto foi utilizada a práticas de ensino formal. Na prática formal foi lecionada uma aula de ciências envolvendo a Educação Ambiental que ocorreu no primeiro dia, no qual abordamos

os seguintes assuntos: ecologia, recursos naturais, poluição, impactos ambientais e relação entre homem e meio ambiente. Logo após o final de cada assunto, mostramos um vídeo relacionado ao assunto abordado para ajudar na absorção do conteúdo. Já em um segundo momento, onde se deu posteriormente em um segundo dia, foi utilizado o meio de educação lúdica, no qual realizamos uma gincana (dividida em quatro atividades) e ao final de cada atividade o grupo vencedor teve a oportunidade de plantar mudas no terreno da escola. Por último, aplicamos o mesmo questionário com um intervalo de tempo de uma semana para verificar o conteúdo adquirido.

No início, foi aplicado o ‘Questionário sobre Cidadania e Educação Ambiental’, onde foram entregues aos alunos 10 questões de múltipla escolha acerca dos diversos temas envolvendo meio ambiente e cidadania, a fim de ver o conhecimento prévio dos alunos. Uma semana depois do encerramento das atividades, aplicamos o mesmo questionário (com o embaralho das mesmas questões) para observar o conhecimento produzido da aula.

Para a gincana no segundo dia utilizou-se um total de 70 alunos, os mesmo foram divididos em 04 grupos: Papel (Azul), Plástico (Vermelho), Vidro (verde) e Metal (amarelo), onde foram identificados através de crachás com as cores respectivas.

Na primeira atividade da mesma foi mostrado um vídeo musical com uma temática ambiental e logo em seguida foram feitas 05 (cinco)

perguntas relacionadas ao vídeo. O grupo que obteve a maior quantidade de questões corretas ganhou o ponto. Na segunda atividade, foi feito um teste de ‘Pegada Ecológica’. O grupo mais ecologicamente correto ganhou o ponto da rodada. Na penúltima atividade, os alunos estiveram sujeitos a uma atividade intitulada ‘Caça ao Tesouro’ com dicas que serão questionamentos sobre a relação da cidadania e meio ambiente. O grupo que chegou ao fim da procura, recebeu o ponto da rodada. A última atividade se deu através da confecção de caixas de Coleta Seletiva a partir de materiais que foram reutilizados, que depois teve sua implantação na escola, cujo grupo que possuiu a caixa mais bem elaborada, ganhou o ponto.

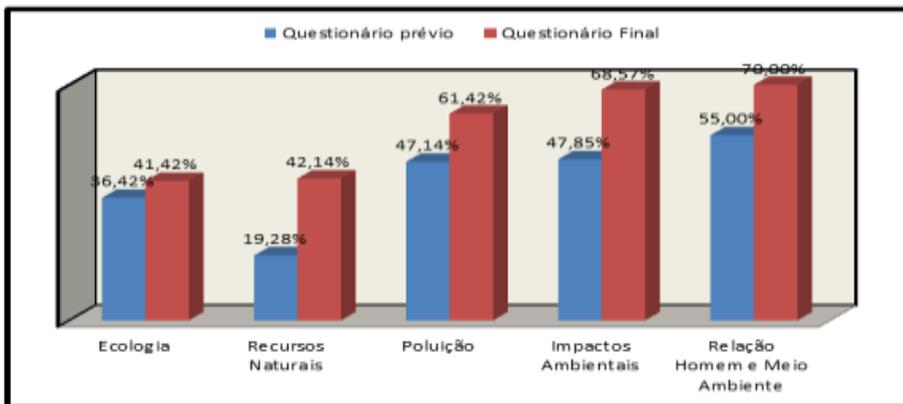
Ao final das atividades, logo após a entrega de um panfleto educativo sobre o Meio Ambiente do Ministério Público, foram contabilizados os pontos e o vencedor de cada atividade ganhou a oportunidade de plantar uma muda no espaço escolar.

Os materiais utilizados para o trabalho em si, foram: panfletos educativos, câmera fotográfica, retroprojetor, slides, vídeos (informativos e musical), questionários (no início e no final das atividades), teste ‘Pegada Ecológica’, cartolinas, hidrocor, barbante, tesoura, fita adesiva, quatro caixas de papelão, seis tintas, seis pincéis e mudas nativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo em vista as dificuldades que o sistema educacional do nosso país vem enfrentando, faz-se necessário repensar o modo de articular as aulas no ensino de Ciências. Modelos didáticos inovadores que possam vir a propiciar aulas mais prazerosas e ao mesmo tempo mais eficientes, se tornam fundamentais neste contexto, pois são capazes de tornar a aprendizagem dos alunos significativa.

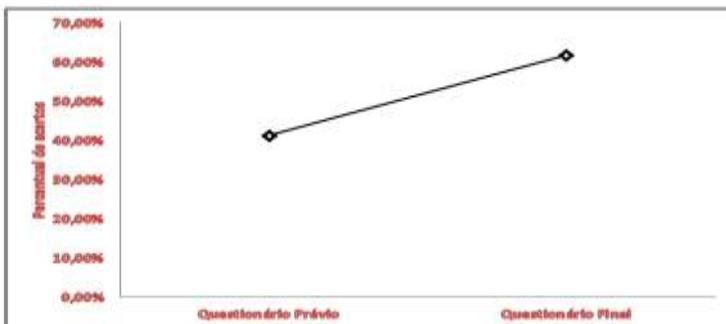
A partir dos resultados obtidos através do questionário aplicado envolvendo 10 questões, sendo duas de cada temática (ecologia, recursos naturais, poluição, impactos ambientais e relação entre homem e meio ambiente) antes e após as atividades aplicadas, pôde-se montar o gráfico a seguir:



**Figura 1.** Porcentagem de acertos dos alunos nas respectivas áreas temáticas no questionário antes (azul) e após (vermelho) a aula ser ministrada.

O percentual deste gráfico mostra o crescente e significativo melhoramento no numero de acertos após uma aula lúdica ministrada. A partir desses dados podemos notar que os alunos possuem mais dificuldades em assuntos que são voltados para a parte conceitual presente nos livros. Em oposição a isto, as questões voltadas para o seu cotidiano são entendidas com uma maior facilidade. Frente a isso, podemos atribuir às questões práticas um caráter facilitador que age a partir do meio em que eles estão inseridos, forçando-os a adquirir uma maior percepção das situações que estão ao seu redor. Essa interação também se faz necessária para questões que estão mais embasadas apenas na teoria, pois a partir do momento que os discentes se inserem em meio aquele contexto eles tentarão fazer a diferença.

Pensando em tais questões, é possível perceber a extrema significância de práticas inovadoras que tornem os alunos agentes detentores do seu próprio conhecimento. Observando isso, o gráfico abaixo mostra que os alunos obtiveram uma média de acertos entre 42% e 60% antes e após as atividades, respectivamente:



**Figura 2.** Porcentagem total de acertos nos questionários aplicados antes e após a aula ser ministrada.

Ao final desta aula teórico-prática observamos que há um agente motivador para os alunos se tornarem capazes de: ter um conhecimento mais amplo de cidadania e meio ambiente; cuidar melhor do meio em que vivem; utilizar de maneira mais adequada os recursos naturais; respeitar o espaço de cada ser vivo, sendo ele animal ou vegetal; e conseguir passar o seu conhecimento adquirido adiante. Levando em consideração o caráter lúdico da apresentação do conteúdo a compreensão dos alunos se tornou maior e imediata do mesmo modo que o aprendizado ocorreu de forma natural. Segue abaixo imagens ilustrativas do decorrer da atividade:



**Figura 3.** Plantio de muda no terreno da escola por alunos.



**Figura 4.** Muda plantada no terreno da escola por alunos.



**Figura 5.** Lixeiras seletivas confeccionadas por alunos.



**Figura 6.** Futuros docentes ministrando aulas para alunos na sala multiuso.

Por se tratar de alunos do segundo nível do ensino fundamental, esperamos que houvesse a colaboração e comprometimento da turma para que pudéssemos aplicar a atividade e a matéria de forma satisfatória a fim de atender o interesse de todos. Atentando a tais interesses, nossos objetivos foram cumpridos, uma vez que os alunos mostraram total motivação e participação nos temas propostos.

## CONCLUSÃO

Após terem sido analisados e discutidos os resultados obtidos a partir de questionários aplicados em alunos dos 6º anos da Escola Municipal Professor Ulisses de Góis do município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, podemos concluir que:

No primeiro questionário aplicado (antes da atividade lúdica ministrada) foi constatado que os 70 alunos obtiveram uma média de

42% de acertos, enquanto que no segundo questionário aplicado (uma semana após a atividade lúdica ministrada) essa média de acertos subiu para 60%;

Aulas práticas atuam como auxiliares às aulas teóricas, servindo para um maior embasamento e entendimento por parte dos alunos;

Os discentes possuem uma maior dificuldade em assuntos mais teóricos, ou seja, assuntos que eles não encontram comumente no seu cotidiano. Todavia, possuem uma maior facilidade em assuntos que estão ligados diretamente as suas rotinas diárias.

## **REFERÊNCIAS**

ARAÚJO, D.S. **As contribuições de Henri Wallon ao estudo do jogo no desenvolvimento da criança e do adolescente.** *Educativa*, v. 3, p.27-41, Goiânia, 2000.

COSTA, Antonio Carlos Gomes da. **EDUCAÇÃO.** São Paulo: Canção Nova, 2008.

DELORS, Jacques et al. **EDUCAÇÃO UM TESOURO A DESCOBRIR: RELATÓRIO PARA A UNESCO DA COMISSÃO INTERNACIONAL SOBRE EDUCAÇÃO PARA O SÉCULO XXI.** 7. ed. São Paulo: Cortez Editora, 2012.

JACOBI, Pedro. **Educação ambiental, cidadania e sustentabilidade.** *Cadernos de Pesquisa*, São Paulo, n. 118, p.189-205, mar. 2003.

JACOBI, Pedro. **Educação Ambiental: o desafio da construção de um pensamento crítico, complexo e reflexivo.** *Educação e Pesquisa*, São Paulo, v. 31, n. 118, p.233-250, ago. 2005.

SORRENTINO, M. De Tbilisi a Tessaloniki, a educação ambiental no Brasil. In: JACOBI, P. et al. (orgs.). **Educação, meio ambiente e cidadania: reflexões e experiências**. São Paulo: SMA.1998. p.27-32.

---

## **EFEITO CITOTÓXICO DE *Arrabidaea pulchra* (CHAM.) SANDWITH EM CÉLULAS PC-3**

**Silva, ML<sup>(1)</sup>; Oloris, SCS<sup>(2)</sup>** marioluan@oi.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil;

<sup>(2)</sup>Fundação Ezequiel Dias - FUNED, Belo Horizonte - MG, Brasil, CNPq e FAPERN.

### **RESUMO**

A *Arrabidaea pulchra* é uma liana que apresenta cálice membranáceo, sendo encontrada em boa parte do território brasileiro. Dela foi isolado ácido ursólico com atividade tripanosomicida. O estudo teve como objetivo analisar o efeito citotóxico do extrato etanólico da espécie *Arrabidaea pulchra* sob a linhagem PC-3, como também qualificar a presença de metabólitos secundários com o estudo fitoquímico. Para tanto, as folhas da planta foram coletadas na Floresta nacional de Açu/RN, Brasil, sendo então secas, trituradas e submersas em etanol absoluto por 48h e a solução evaporada. Já o efeito citotóxico foi realizado pelo teste de MTT, nas concentrações 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL. Sendo a análise fitoquímica realizada com o uso de processos químicos. A análise estatística pela ANOVA, seguida de pós-teste de Tukey,  $p \leq 0,05$ . Foi encontrado na análise fitoquímica a presença dos metabólitos: taninos e flavonoides. Já as concentrações 500 µg/mL e 100 µg/mL apresentaram maior efeito citotóxico sob as células de câncer de próstata, comparado com o controle positivo. Concluindo assim, que o extrato etanólico da espécie *Arrabidaea pulchra* nas concentrações de 500 µg/mL e 100 µg/mL, apresentou ação citotóxica sob a linhagem PC-3, como também a presença de taninos e flavonoides.

**Palavras-chave:** Bignoniaceae, Próstata, Citotoxicidade.

### **INTRODUÇÃO**

Os vegetais são uma das fontes mais promissoras de estudos de compostos químicos com efeito antitumoral. Os estudos a respeito de novas drogas provenientes deles representa uma alternativa para os agentes anticâncer, frequentemente melhorando a eficácia do medicamento e/ ou diminuindo os efeitos adversos (BRANDÃO et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012).

Com isso, podemos destacar a espécie *Arrabidaea pulchra* (Cham.) Sandwith, da família Bignoniaceae, a qual é uma liana que apresenta cálice membranáceo com tricomas multicelulares com ápice glandular avermelhado, distribuídos por toda a inflorescência, conferindo à essa espécie uma cor acastanhada (SILVA; QUEIROZ, 2003). No Brasil, plantas dessa família são encontradas desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, não possuindo um habitat único. Existem poucos trabalhos com relatos de estudos químicos do gênero *Arrabidaea*, sendo *Arrabidaea chica* a principal espécie estudada.

*A. chica* tem sido utilizada popularmente como planta medicinal por apresentar efeitos anti-inflamatórios em processos como inflamações uterinas, ovarianas e intestinais, bem como cólicas intestinais, conjuntivite, anemias e diabetes e na cicatrização de feridas (DUKE; VASQUEZ, 1994; MORS et al., 2000). Dela foram isolados: flavonoides, antocianinas, taninos, fitosteróis e pigmentos utilizados em cosméticos, tais como carajurona, carajurina e 3 deoxiantocianidina, e já foram demonstradas atividades tripanosomicidas, antifúngicas e

antitumorais *in vivo* para tumor sólido de Ehrlich (BARBOSA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2012; TAKEMURA et al., 1995).

Já em relação aos estudos químicos realizados da espécie *A. pulchra*, foi isolado ácido ursólico, a partir de folhas e caules, com atividade tripanosomicida, como também foi analisado o efeito tóxico de extrato hidroalcoólico formulado a partir de folhas demonstrando ausência de toxicidade em modelo experimental *in vivo* em ratos Wistar (LEITE et al., 2001; LIMA et al., 2012).

Diante do exposto, o estudo objetivou analisar em modelo experimental *in vitro* o efeito citotóxico do extrato etanólico de folhas da espécie *Arrabidaea pulchra* (Cham.) Sandwith sob a linhagem celular de adenocarcinoma de próstata humano, como também qualificar a presença de alguns metabólitos secundários com o estudo fitoquímico do mesmo extrato.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Obtenção do material vegetal***

As folhas de *Arrabidaea pulchra* (Cham.) Sandwith foram coletadas na Floresta Nacional de Açu do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (Estado do Rio Grande do Norte, Brasil) sob consentimento do Sistema de Autorização e Informação em

Biodiversidade (SISBIO processo 29755), sendo a espécie identificada pelo referido instituto.

### ***Preparação do extrato***

As folhas foram secas à temperatura ambiente (24-35° C) em local sombreado por 15 dias, sendo então trituradas obtendo-se o peso seco de 308 g, posteriormente fixado em etanol absoluto por 48 horas sendo a solução filtrada em papel de filtro, repetindo-se o processo por 4 vezes. Em seguida, toda a solução foi evaporada em evaporador rotatório a vácuo (QUIMIS) a uma temperatura de 55° C, obtendo-se o extrato etanólico (EE), o qual foi liofilizado (Liofilizador LS 42 300 – Terroni) e armazenado em freezer a -20° C.

### ***Análise fitoquímica***

Os testes químicos para a detecção dos diversos metabólitos secundários como: os taninos, os flavonóides, as saponinas, os fenóis, as antocianinas, as antocianidinas, as leucoantocianinas, as catequinas e as flavonas, foram realizados de acordo com Matos, 2009.

### ***Manutenção da linhagem PC-3***

A linhagem de câncer de próstata PC-3 foi doada pelo Laboratório de Biotecnologia de Polímeros Naturais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN. As células foram mantidas em incubadora (Revco®) a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>, em atmosfera umidificada, em garrafas de cultura de 25 cm<sup>2</sup> (TPP®) com meio RPMI 1640 (Gibco®) completo

suplementado com 5% de soro fetal bovino (FBS, Gibco®) e 1% de penicilina/estreptomicina (Invitrogen®).

### ***Teste de MTT***

A citotoxicidade das concentrações do extrato etanólico foi verificada em linhagem celular PC-3 (câncer de próstata) usando do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-íol)-2, difeniltetrazólio, Anresco®), ensaio descrito por Mosmann (1983), por 24 horas de incubação a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>, em atmosfera umidificada. Para tanto, 5 x 10<sup>4</sup> células/placa foram cultivadas em placas de cultura estéreis de poliestireno (35 x 10 mm) contendo meio de cultura RPMI-1640 e as concentrações de 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL do (EE). Ao término do período de incubação o meio foi retirado e acrescentado a solução de MTT, sendo as células incubadas por mais 3 horas. Em seguida, a solução total foi removida e um volume de 1 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) acrescentado. A leitura da absorbância realizou-se no espectrofotômetro UV-Mini 1240 (Shimadzu®) a 595nm. A doxorrubicina (5 µg/mL) foi utilizada como controle positivo e meio contendo somente a concentração de células como controle negativo.

### ***Análise Estatística***

As comparações entre os tratamentos foram avaliadas usando análise de variância (ANOVA) de duas vias nos ensaios com as células PC-3, seguida de pós-teste de comparação múltipla de Tukey. Valores de  $p \leq$

0.05 foram considerados significantes. Para as análises e elaboração dos gráficos, utilizou-se como ferramenta o software GraphPadPrism® versão 6 para Windows (San Diego, California, USA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Análise fitoquímica*

A prospecção fitoquímica dos produtos naturais de origem vegetal tem como objetivo verificar, de forma qualitativa, a presença dos metabólitos secundários na composição química do extrato elaborado (MATOS, 2009).

A análise fitoquímica do extrato etanólico de *Arrabidaea pulchra* (Cham.) Sandwith, mostrou a presença de taninos condensados e flavonoides do tipo flavonas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Análise Fitoquímica de extrato etanólico de *A. pulchra*.

<b>Constituintes</b>	<b>Presente/ Ausente</b>
Fenóis e Taninos	Presença de Taninos
Antocianinas e Antocianidinas	Ausente
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	Presença somente de Flavonas
Chaconas e Auronas	Ausente
Flavonóis	Presente
Leucoantocianidinas	Ausente
Catequinas	Ausente
Flavononas	Presente

Doenças como o câncer, esclerose múltipla, arteroesclerose estão relacionadas à presença excessiva de radicais livres. Nesse contexto, vários taninos possuem a ação de capturar radicais livres e transformá-los em radicais estáveis, promovendo assim um efeito quimiopreventivo no processo de carcinogênese, sendo esse efeito contrariado por alguns grupos de pesquisa (MONTEIRO et al., 2005).

Dos constituintes presentes no extrato analisado, os flavonoides apresentam atividade antitumoral, anti-oxidante, anti-inflamatória, citostática, anti-angiogênica, dentre outras de acordo com diversos estudos (CHEN et al., 2012; SALMELA et al., 2012).

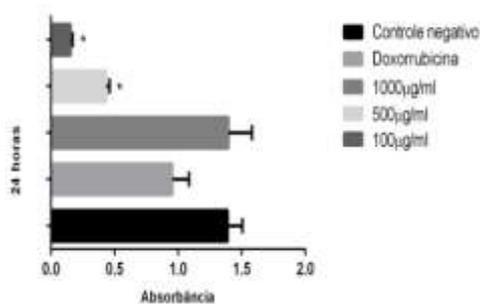
Os flavonoides, em dieta humana, reduzem os riscos de diversos cânceres, principalmente os que sofrem interferência hormonal, como o câncer de mama e o câncer de próstata, tendo sua estrutura química como uma fonte inspiradora para novos quimioterápicos (PARK et al., 2012).

O estudo da composição química dos vegetais é por muitas vezes interferida pela grande multiplicidade dos constituintes de ordem química, sendo a sua análise fitoquímica dificultada. A presença de componentes com propriedades físicas muito próximas, ou a quantidade de determinados compostos químicos, podem encobrir a efetivação da análise química (MATOS, 2009).

### ***Bioensaio de MTT***

Para as concentrações testadas do extrato etanólico de *Arrabidaea pulchra*, o bioensaio revelou que essa espécie apresenta compostos com efeito citotóxico sob células da linhagem PC-3 (câncer de próstata) *in vitro*, após 24 horas de incubação. A figura 1 mostra que as concentrações 500 µg/mL e 100 µg/mL possui efeito anti-proliferativo acima de 50% do efeito citotóxico da concentração de doxorrubicina (5 µg/mL ) utilizada como controle positivo, tendo efeito citotóxico superior ao da droga padrão.

Muito se discute sobre a importância da utilização de plantas medicinais na utilização de novos agentes terapêuticos, havendo assim uma grande ocorrência de agentes quimioterápicos agindo contra o câncer, provenientes de produtos naturais (CORDELL et al., 2001; REDDY et al., 2003). Esses novos compostos anticâncer devem desencadear diferentes mecanismos de ação no organismo a fim de serem capazes de atuar especificamente, na inibição da polimerização da tubulina (atuando no DNA), bloqueadores enzimáticos ou de microtúbulos celulares, entre outros (BRANDÃO et al., 2010).



**Figura 1.** Efeito citotóxico pelo método de MTT em linhagem PC-3 com as concentrações 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL do EE de *A. pulchra* incubados por 24 horas, além do grupo controle contendo somente células e a droga doxorubicina. \* $p \leq 0.05$ .

Nesse estudo, os compostos do extrato podem ter interferido na formação da integridade da membrana plasmática da célula impedindo a sua sobrevivência, ocorrendo uma associação à membrana pela polaridade apresentada pela composição total do extrato. Já a interação das concentrações do extrato com os diversos receptores na célula podem ter interferido diretamente na farmacodinâmica, já que ela depende tanto da concentração da substância administrada quanto da disponibilidade de receptores específicos para a mesma (RANG; DALE, 2007). Explicando assim o maior efeito citotóxico ter sido provocado pela menor concentração.

## CONCLUSÃO

O extrato etanólico obtido a partir das folhas da espécie *Arrabidaea pulchra* (Cham.) Sandwith nas concentrações de 500 µg/mL e 100 µg/mL, apresentou ação anti-proliferativa e citotóxico sob as células da linhagem PC-3 (câncer de próstata) nas condições experimentais testadas. Sendo indicada também a presença de metabólitos secundários taninos condensados e flavonoides. Nesse contexto, este estudo vem contribuindo na descoberta de novos composto bioativos com efeito

anticâncer para futuras aplicações terapêuticas no combate ao câncer.

## REFERÊNCIAS

Brandão HN, David JP, Couto RD, Nascimento JAP, David JM. **Química e Farmacologia de Quimioterápicos Antineoplásicos Derivados de Plantas**. Quim. Nova. 2010; Vol. 33, No. 6, 1359-1.

Barbosa WLR, Pinto LN, Quignard E, Vieira JMS, Silva Jr JOC, Albuquerque S. *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2008; v. 18, n. 4, p. 544-548.

Chen J, Li Y, Yang L-Q, Li Y-Z, Nan Z-B, Kun G. Biological activities of flavonoids from pathogenic-infected *Astragalus adsurgens*. **Food Chemistry**. 2012; Volume 131, Issue 2, 15 March, Pages 546–551.

Cordell GA, Quinn-Beattie ML, & Farnsworth NR. **The Potential of Alkaloids in Drug Discovery**. Phytother. Res. 2001; 15, 183 . 205.

Duke J, Vasquez R. **Amazonia ethnobotanical dictionary**, Boca Raton: CRC Pressa 215p, 1994.

Leite JPV, Lombardi JA, Chiari E, Oliveira AB. Isolamento biomonitorado de uma substância tripanossomicida de *Arrabidaea triplinervia* (Bignoniaceae), o ácido ursólico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2001; v. 11, n. 2, p. 77-87.

Lima JM, Silva ML, Blanco BS, Oloris SCS. **Estudo de Toxicidade de Extrato hidroalcoólico de *Arrabidaea pulchra***. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ÓRGÃO ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS, ANAIS 07-037, Natal, 2012.

Matos FJA. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3 Ed. – Fortaleza: Edições UFC, 2009.

Mors WB, Rizzini CT, Pereira NA. **Medicinal plants of Brazil**, De Filippis R.A. ed. Algonac: Reference Publications, 501p, 2000

Mosmann T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays**. J Immunol Methods. 1983; 16: 5

Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL, Amorim ELC. TANINOS: **UMA ABORDAGEM DA QUÍMICA À ECOLOGIA**. Quim. Nova. 2005; Vol. 28, No. 5, 892-896.

Park KI, Park HS, Nagappan A, Hong GE, Lee DH, Kang SR et al. Induction of the cell cycle arrest and apoptosis by flavonoids isolated from Korean *Citrus aurantium* L. in non-small-cell lung cancer cells. **Food Chemistry**. 2012; Volume 135, Issue 4, 15 December, Pages 2728–2735.

Ribeiro AFC, Telles TC, Ferraz VP, Fagundes SEM, Cassali GD, Andréa T. Carvalho AT et al. Effect of *Arrabidaea chica* extracts on the Ehrlich solid tumor development. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 2012; 22(2): Mar./Apr.364-373.

Reddy L, Odhav B, Bhoola KD. **Natural products for cancer prevention: a global perspective**. Pharmac. Therap. 2003; 99, 1 . 13.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. (tradução de Raimundo Rodrigues Santos e outros). Rang e Dale Farmacologia. 6ª. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2007.

Silva MM, Queiroz LP. A família **Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina**. Bahia, Brasil, Sitientibus série Ciências Biológicas. 2003; v. 3, n. ½, p. 3-21.

Salmela QL, Pouwels J, Macchi AK, Waris S, Toivonen P, Jaakkola K et al. The flavonoid eupatorin inactivates the mitotic checkpoint leading to polyploidy and apoptosis. **Experimental Cell Research**.2012; Volume 318, Issue 5, 10 March , Pages 578–592.

Takemura OS, Linuma M, Tosa H, Miguel OG, Moreira EA, Nozawa YA. Flavone from leaves of *Arrabidaea Chica* f. Cuprea. Phytochemistry. 1995; v. 38, n. 5, p. 1299-1300.

---

## **EFEITO CITOTÓXICO DE EXTRATO EXTRACELULAR OBTIDO DO GÊNERO *Bacillus* sp**

**Silva, M.L.<sup>(1)</sup>; Viana, W.C.M.<sup>(1)</sup>; Feijó, F.M.C.<sup>(2)</sup>; Batista, A.C.L.<sup>(1)</sup>**  
marioluan@oi.com.br

(1) Laboratório de Biotecnologia de Fármacos, Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil;

(2) Laboratório de Microbiologia Veterinária, Universidade Federal rural do Semi-Árido - UFERSA, Mossoró - RN, Brasil.

## RESUMO

Os micro-organismos halófilos são considerados com um forte potencial de metabólitos secundários de interesse em diversos setores industriais. A existência óbvia do grande potencial de aplicações de interesse biotecnológico referente aos micro-organismos halófilos evidencia a grande importância de projetos de investigação destinada à busca de biomoléculas. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo analisar *in vitro* a atividade citotóxica de extrato extracelular de bactéria halófila *Bacillus sp.* em células de câncer de rins. Para tal fim, utilizou-se do método de MTT. As células foram cultivadas em placas de 96 poços, 100  $\mu\text{L}$ / poço ( $5 \times 10^3$  e  $1 \times 10^4$  células/poço) com as diferentes concentrações do extrato por um período de incubação de 24 h. As concentrações de 75 e 100  $\mu\text{g/mL}$  obtiveram os maiores efeitos de ação antiproliferativa a frente da linhagem 786.0. Concluindo assim que o extrato extracelular da espécie *Bacillus sp.* nas condições experimentais exercidas obteve severa atividade citotóxica.

**Palavras-chave:** Anticâncer, Produto Natural, Micro-organismo Halotolerante.

## INTRODUÇÃO

Os estudos dos micro-organismos halófilos tiveram início há cerca de um século, tendo um maior impulso nos últimos 25 anos. O termo halófilo vem do grego “halo” sal e “filo” amante de, assim sendo amante de sal (SORIA, 2004). Existindo uma diversidade ampla tanto no filo procaríoto como no eucarioto, sendo capazes de balancear a sua pressão osmótica em relação ao meio resistindo aos efeitos nocivos do sal, como inibidor do crescimento microbiano (GONZÁLEZ-

HERNÁNDEZ & PEÑA, 2002; SORIA, 2004). Esses podem ser isolados de salinas terrestres, sendo essas úteis para a realização de estudos sobre a diversidade microbiana por apresentar uma grande distribuição de salinidade (DASSARMA & ARORA, 2002; SORIA, 2004).

Os micro-organismos halófilos são considerados com um forte potencial de metabólitos secundários de interesse em diversos setores industriais, como: alimentar, farmacêutico, cosmético, químico, dentre outros (SORIA, 2004). Esses metabólitos de interesse farmacêutico são extensamente isolados de micro-organismos terrestres tendo fornecido importante contribuição para a formulação de novos agentes antibacterianos, imunossuppressores, agentes redutores de colesterol, agentes anti-helmínticos, antidiabéticos e agentes anticâncer (BIONDI et al., 2008; CHIN et al., 2006; DEMAINE & VAISHNAV, 2011).

Algumas das aplicações que podem ser destacadas são a das bacteriorrodopsinas, devido as suas propriedades fotocromicas, sendo utilizada na elaboração de materiais ópticos, holografia, moduladores especiais de luz, dentre outros; a dos solutos orgânicos, os quais tem a função de agir estabilizando biomoléculas e células, como antagonistas de sais e protetor de estresse; a dos biopolímeros, como exemplos os exopolissacarídeos, lipossomas, polihidroxicanoatos; a das enzimas, aqui citamos as hidrolases e as isomerases; a das halocinas, que protegem contra o infarto do miocárdio; a dos pigmentos carotenóides

( $\beta$  caroteno) e a dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia larga, usados como complementos na dieta humana (SORIA, 2004).

A existência óbvia do grande potencial de aplicações de interesse biotecnológico referente aos micro-organismos halófilos evidencia a grande importância de projetos de investigação destinada à busca de biomoléculas. Esperando-se um futuro muito promissor no campo da aplicação biotecnológica desses micro-organismos (SORIA, 2004).

Nesse contexto, esse estudo pioneiro sobre o potencial biotecnológico da microbiota do solo da salina São Camilo (Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil), objetivou analisar *in vitro* a bioatividade citotóxica do extrato extracelular da bactéria *Bacillus sp.* sob células tumorais. Portanto, a área de pesquisa de produtos naturais produzidos por micro-organismos deve ser expandida significativamente à medida que são ampliados os estudos de descoberta de novos micro-organismos e dos seus bioprodutos (NEWMAN & CRAGG, 2012).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta e Isolamento da Bactéria***

Sedimentos de 100 g de solo foram coletados na salina São Camilo (S 05° 03.947'; N 37° 16.318') Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, com o auxílio de sacos plásticos estéreis e técnicas assépticas. Para o isolamento, as amostras foram suspensas em erlenmeyer com 90 mL de

solução de enriquecimento ( $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  2%) e agitadas em shaker por 30 minutos, seguido de igual período para permanecer estático para decantação. Posteriormente, 10 mL da solução foram suspensas em 90 mL de solução de diluição ( $\text{NaCl}$  2,25g;  $\text{KCl}$  0,1 g;  $\text{CaCl}_2$  0,04g;  $\text{NaHCO}_2$  0,05 g), sendo a solução diluída em forma de série a partir de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ . Alíquotas de 1 mL foram semeadas em placas de Petri contendo meio BDA (batata dextrose ágar) com diferentes concentrações de  $\text{NaCl}$  (5%, 15% e 30%) e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h até o aparecimento de pequenas colônias. Estrias de esgotamento foram realizadas para garantir a pureza das colônias, que foi confirmada por coloração de Gram e o uso de microscopia de luz. Linhagens puras foram inoculadas em meio líquido BHI (Brain Heart Infusion) contendo 5% de  $\text{NaCl}$  para a escala de crescimento.

### ***Estudo Morfológico e Bioquímico***

Morfologia celular e pigmentação foram observadas com o cultivo da bactéria em placas de Petri contendo meio BHI, a coloração de Gram também foi examinada. Catalase, DNase, urease, oxidase, como descrito por Bergey's (1985) com algumas modificações, para a verificação do gênero. Crescimento em diferentes pH (5, 7 e 9), em concentrações de  $\text{NaCl}$  de 5 a 30 % e em diferentes temperaturas (5, 28, 37 e  $45^\circ\text{C}$ ) foram investigados. Também foi investigado o crescimento das colônias em diferentes carboidratos como substrato (sacarose, glucose, lactose, maltose, galactose). Para os testes acima, utilizou-se

tubos de ensaio contendo as soluções já citadas nas condições estabelecidas pelos testes.

### ***Escala de Crescimento e Extração***

Esse procedimento seguiu Thomas e colaboradores (2011) com modificações. Inicialmente, a cultura foi incubada em 10 mL de meio líquido BHI em tubos de ensaio por 24 h. Para o crescimento em escala foi utilizado 50 mL de caldo nutritivo (extrato de carne 3%; peptona 5%; NaCl 5%) em erlenmeyer com um inóculo bacteriano de 500 µL, incubadas a 37° C por 24 h em 150 rpm. A cultura resultante foi centrifugada à 2000 rpm por 15 min e o sobrenadante suspenso em um mesmo volume de acetato de etila (AcOEt) 1:1. A solução foi evaporada à vácuo (evaporador rotativo BT 351, BIOTHEC<sup>®</sup>) e liofilizada (Liofilizador LS 3000, TERRONI<sup>®</sup>). O extrato foi ressuspenso em água destilada contendo DMSO 0,1% e filtrado em poros de 0,22 µm (syringe filters K18-230 KASVI). Neste momento, o extrato seguiu para o ensaio biológico.

### ***Bioensaio de MTT***

Todo o bioensaio foi realizado no Laboratório de Biotecnologia de Polímeros Naturais, no Departamento de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN. Para o bioensaio de citotoxicidade foi utilizada a linhagem de câncer de rins 786.0. As células foram cultivadas em placas de 96 poços, 100 µL/ poço (1x 10<sup>4</sup>

células/poço) contendo meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina e incubadas em incubadora (LABOVEN<sup>®</sup>) de CO<sub>2</sub> 5% por 12 h a 37° C para adesão celular. Posteriormente, o meio suplementado foi removido e somente o meio sem suplemento foi plaqueado, e as placas incubadas por mais 24 h. Após esse período, poços foram estabelecidos como controle negativo, contendo somente meio de cultura, e tratamento nas concentrações de 10, 25, 50, 75 e 100 µg/mL, incubados por 24 h. O meio foi removido e 100 µg contendo 0,5 mg/mL de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-íol)-2,difeniltetrazólio, Anresco<sup>®</sup>) diluído em meio sem soro foi adicionado em cada poço por 4 h. Após esse período a solução foi removida e 100 µL de álcool etílico foram adicionados nos poços para a solubilização do formazan formado. As placas foram agitadas por 10 minutos e a absorbância foi verificada em espectrofotômetro (EPOCH, BIOTEK<sup>®</sup>) a 570 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### ***Análise Estatística***

A análise estatística foi realizada pelas diferenças entre os grupos experimentais utilizando ANOVA de uma via, seguida pelo teste Student Newman Keul's usando o programa GRAPHPAD PRISM 5.0. O nível de significância de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Isolamento, Morfologia e Bioquímica*

Foi isolada a espécie do gênero *Bacillus sp.* de habitat salino, sendo a espécie caracterizada por apresentar pigmentação creme, forma de bacilo curto, coloração de Gram +. A espécie apresentou crescimento ótimo na temperatura de 37° C, em pH de 7, na concentração de NaCl de 5%. Também produziu catalase e oxidou maltose e sacarose. O espécime apresenta características morfológicas e bioquímicas, as quais auxiliaram para a confirmação do gênero *Bacillus sp.* (Tabela 1).

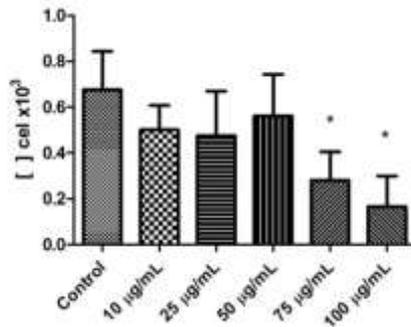
**Tabela 1.** Características gerais da espécie *Bacillus sp.*

Características fisiológicas, morfológicas e bioquímicas			
Crescimento pH 5	+	Catalase	+
Crescimento pH 7	+	Oxidase	-
Crescimento pH 9	-	DNase	-
Crescimento T 28° C	+	Lactose	-
Crescimento T 37° C	+	Maltose	o
Crescimento T 45° C	+	Glucose	-
Crescimento T ≤ 5° C	-	Galactose	-
Idol	-	Sacarose	f/o
Motilidade	+	[ ] NaCl 5 a 13%	+
Pigmentação	Creme	[ ] NaCl 14 a 30%	-
Gram	+	Habitat	Solo salino
Forma	Bacilo curto		

(+) positivo para o teste, (-) negativo pra o teste, (o) oxidou, (o/f) oxidou e fermentou.

### Bioensaio de MTT

O extrato extracelular da espécie *Bacillus sp.* obtida pela incorporação com o solvente AcOEt apresentou efeito citotóxico pelo método de MTT nas concentrações de 75 e 100  $\mu\text{g/mL}$  sob a linhagem 786.0 (Figura 1).



**Figura 1.** Efeito citotóxico sob a linhagem 786.0 determinado pelo método MTT. Tempo de incubação de 24 h. ANOVA seguido do teste Student Newman Keul's \*  $p < 0,05$ .

Sendo esse efeito classificado como severamente citotóxico para as concentrações de 75 e 100  $\mu\text{g/mL}$  (Tabela 2).

**Tabela 2.** Classificação da citotoxicidade celular do extrato extracelular sob a linhagem 786.0 de acordo com a ISO 10993-5: 1999.

<b>citotoxicidade</b>	<b>faixa de viabilidade %</b>	<b>[ ] <math>\mu\text{g/mL}</math></b>
não-citotóxico	> 90	Controle
levemente citotóxico	80 a 89	-
moderadamente citotóxico	50 a 79	25 e 50
severamente citotóxico	< 50	75 e 100

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, 2009.

O gênero *Bacillus* é conhecido por produzir diversos compostos químicos com características peptídicas complexas. Porém, quando se destaca a ação de bioprodutos isolados do mesmo gênero com atividade anticâncer *in vitro* pouco se sabe. Mesmo assim, o pouco mostrou que, metabólitos secundários extraídos do gênero *Bacillus* apresentou uma extensa atividade citotóxica em linhagem de câncer de colón em análises realizadas *in vitro*. Além desse efeito, muitos compostos apresentaram mecanismos de morte celular programada, característicos de apoptose (JEONG et al., 2007).

De micro-organismos, em especial bactérias, muitos compostos químicos bioativos já foram isolados. Mostrando assim o grande potencial sustentável de se obter processos biotecnológicos para a produção de bioprodutos com diversas aplicações, em especial com novos mecanismos de ação para o combate ao câncer. Esses bioprodutos podem ser largamente isolados de micro-organismos e analisados *in vitro* em programas de *screening* potencializando os achados de atividade antitumoral (BARREIRO & BOLZANI, 2009; DAS et al., 2007; DEMAIN & VAISHNAV, 2011; HAYASHIDA-SOIZA et al., 2008; KWAKYE-AWUAH et al., 2007; NASCIMENTO et al., 2012; NEWMAN & CRAGG, 2012).

Estudos realizados com bactérias halotolerantes e halófilas apresentaram resultados animadores para a produção de bioprodutos com características específicas superiores a produtos químicos

utilizados pelas grandes indústrias. Esse fato aumenta a relevância de se extrair metabólitos secundários de bactérias extremas, como é o caso das halófilas do gênero *Bacillus*, com o intuito de se aplicar em processos biofarmacêuticos (ADRIO & DEMAIN, 2005; AUSTIN, 1989; DODIA et al., 2006; ESSGHAIER et al., 2008).

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no experimento mostraram que o extrato extracelular da espécie *Bacillus sp.* isolada de salina no Rio Grande do Norte, apresentou atividade citotóxica *in vitro* severa nas concentrações de 75 e 100 µg/mL sob a linhagem de câncer de rins (786.0). Como também, efeito nefrotóxico sob a linhagem HEK nas mesmas condições experimentais, evidenciando que o complexo químico, componente do extrato extracelular possui atividade antiproliferativa em células cancerígenas e tóxicas em células normais.

## REFERÊNCIAS

- ADRIO, J. L. e DEMAIN, A. L. Genetic improvement of processes yielding microbial products. **FEMS Microbiol Rev** 30,187–214, 2006.
- AUSTIN, B. Novel pharmaceutical compounds from marine bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, 67,461-470, 1989.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. D. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, p. 679-688, 2009.

BERGEY'S Manual of Systematic Bacteriology. **Book Review Int. J. of Syst. Bact.**; July, p. 408, 1985.

BIONDI, N. et al. Cyanobacteria from benthic mats of Antarctic lakes as a source of new bioactivities. **Journal of Applied Microbiology**, 105, 105–115, 2008.

CHIN, Y.-W. et al. Drug discovery from natural sources. **The AAPS Journal**, v. 8, n. 2, p. E239-E253, 2006.

DASSARMA, S.; ARORA. P. Halophiles. **Encyclopedia of life sciences**, 1-9, 2002.

DAS, P.; MUKHERJEE, S.; SEN, R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. **Journal of Applied Microbiology**. 104, 1675–1684, 2008.

DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, P. Natural products for cancer chemotherapy. **Microbial Biotechnology**, 4(6), 687–699, 2011.

DODIA, M. S.; JOSHI, R. H.; PATEL, R. K.; SINGH, S. P. Characterization and Stability of Extracellular Alkaline Proteases from Halophilic and Alkaliphilic Bacteria Isolated from Saline Habitat of Coastal Gujarat, India. **Brazilian Journal of Microbiology**, 37:276-282, 2006.

ESSGHAIER, B.; FARDEAU, M. L.; CAYOL, J. L.; HAJLAOUI, M. R.; BOUDABOUS, A.; JIJAKLI, H.; SADFI-ZOUAOU, N. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**. 106, 833–846, 2009.

FLORES, M. L. et al. Bacterias halófilas moderadas productoras de hidrolasas de interés biotecnológico. **Ciencia e Investigación**, 13.1: 42-46, 2010.

GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ. J. C.; PEÑA, A. Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila). **Rev Latinoam Microbiol**; 44 (3-4): 137-156, 2002.

HAYASHIDA-SOIZA, G.; UCHIDA, A.; MORI, N.; KUWAHARA, Y.; ISHIDA, Y. Purification and characterization of antibacterial substances produced by a marine bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis* strain. **Journal of Applied Microbiology**. 105, 1672–1677, 2008.

JEONG, S-Y.; PARK, S-Y.; KIM, Y-H.; KIM, M.; LEE, S-J. Cytotoxicity and apoptosis induction of *Bacillus vallismortis* BIT-33 metabolites on colon cancer carcinoma cells. **Journal of Applied Microbiology**. 104 , 796–807, 2008.

KWAKYE-AWUAH, B.; WILLIAMS, C.; KENWARD, M. A.; RADECKA, I. Antimicrobial action and efficiency of silver-loaded zeolite X. **Journal of Applied Microbiology**. 104, 1516–1524, 2008.

MONTANARI C. A e BOLZANI V. S. Planejamento Racional de Fármacos Baseado em Produtos Naturais. **Quim. Nova**. 2001; Vol. 24, No. 1, 105-111.

NASCIMENTO, A. M. D. et al. Bioactive extracts and chemical constituents of two endophytic strains of *Fusarium oxysporum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 0-0, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2013/03/19 2012.

OLIVEIRA, M. P. Análise *in vitro* da citotoxicidade e proliferação celular em equivalentes de pele humana. Porto Alegre: PUCRS, 2009.

SORIA, I. M. Los Microorganismos Halófilos y su Potencial Aplicado en Biotecnología. **Ciencia e Investigación**, VII(2), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM, 2004.

THOMAS, A. T. et al. In vitro anticancer activity of microbial isolates from diverse habitats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. vol. 47, n. 2, apr./jun., 2011.

---

## EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO NA ESPÉCIE *PROTIUM* *GUACAYANUN* CUATREC NO AMAPÁ

Galvão, F. G.<sup>(1)</sup>; Aparício, W. C. S.<sup>(1)</sup>; Estigarribia, F.<sup>(1)</sup>; Gama, R. C.<sup>(1)</sup>; Pereira,  
L. C. B.<sup>(1)</sup> fernandagalvao95@gmail.com

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

## RESUMO

O *Protium guacayanum* Cuatrec alcança em torno de 20m de altura. Possui casca cinzenta, folhas compostas, alterna, imparipinadas. Flores verdes, pequenas, amareladas, frutos drupa vermelho, contendo polpa resinosa. O objetivo do trabalho foi caracterizar os parâmetros estruturais da espécie *Protium guacayanum* em um fragmento florestal com área de 1,02 ha. pertencente à Universidade Federal do Amapá, próximo à rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, em Macapá. Para o estudo foram lançadas 5 parcelas permanentes sistemáticas, medindo 10 x 25 m e equidistante em 25 m, cujo critério de inclusão foi a mensuração de todos os indivíduos da espécie com CAP  $\geq$  10 cm. O padrão de distribuição espacial foi estimado com base no Índice de Morisita. Foram analisadas as estruturas diamétrica e hipsométrica. No levantamento foram encontrados 59 indivíduos de *Protium guacayanum* pertencentes a 10 classes diamétricas e 5 classes hipsométricas. O diâmetro variou entre 3,57 cm e 18,21 cm e a altura comercial entre 1,5 e 8,0 m. O Índice de Morisita foi de 1,57 caracterizando a espécie na área como agregada, demonstrando que a área apresenta bastante indivíduos jovens, bem adaptados ao ambiente e com provável dispersão zoocórica.

**Palavras-chave:** Breu Manga, Fragmento Florestal, Amazônia.

## INTRODUÇÃO

Segundo Corrêa (1984) o *Protium guacayanum* também conhecido popularmente como breu manga é uma árvore que pode alcançar em torno de 20 m de altura. Casca cinzenta, pouco espessa com folhas alternas imparipinadas. Flores verdes amareladas e pequenas; frutos drupa vermelho ovoide, contendo polpa resinosa e amarelada envolvendo uma semente, raras vezes mais, até quatro.

A espécie vem se destacando ultimamente por apresentar um grande potencial econômico, pertencente à família Burseraceae, é caracterizado por exsudar resinas, que se encontram armazenado em ductos ou cavidades. Quase sempre têm traços de látex branco em seus ramos, como dispersos em formas de gotículas em talhos feitos na casca (SIANI et al., 2004).

Possui diversos aproveitamentos econômicos, como a utilização pela população para os mais variados fins, sendo valorizada economicamente em alguns setores. É usada na calafetagem de embarcações (LE COINTE, 1939). A resina é bastante utilizada na fabricação de cosméticos (BANDEIRA et al., 2000). Seu potencial econômico tem ampla utilização, suas folhas podem ser usadas como incenso natural, pelo fato de serem muito aromatizadas, também é uma espécie que por meio de sua resina pode ser usada na produção de repelentes.

Muitos estudos em ecologia vegetal têm usado as análises estruturais para detectar padrões em comunidades vegetais e entender a distribuição dos indivíduos e sua relação com fatores que influenciam no arranjo populacional (FORTIN et al, 2002). Os indivíduos em uma população podem apresentar três padrões básicos de distribuição espacial: aleatório, agrupado e uniforme (LUDWIG; REYNOLDS, 1988). A distribuição diamétrica, também bastante estudada, permite uma análise momentânea das condições dinâmicas da floresta

possibilitando previsões futuras quanto ao desenvolvimento da comunidade vegetal, atrelados à relação hipsométrica que é influenciada pela idade, sítio, densidade e posição sociológica (FINGER, 1992; SCOLFORO, 1999).

A área em estudo passa por perturbações antrópicas além do efeito de borda, ainda assim apresenta grande número de indivíduos da espécie demonstrando ser bastante adaptada a área. O presente trabalho pretende verificar se os parâmetros estruturais estão balanceados ou não, e se sua distribuição espacial está de acordo com a apresentada pela espécie em outras áreas. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi caracterizar os parâmetros estruturais da espécie *Protium guacayanum* Cuatrec no campus da Universidade Federal do Amapá.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

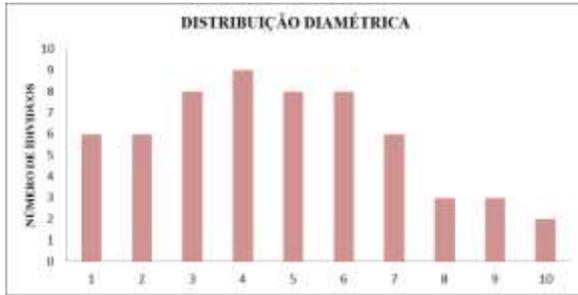
O estudo foi desenvolvido em um fragmento com uma área de 1,02 ha, pertencente à área da Universidade Federal do Amapá, próximo à rodovia Juscelino Kubitschek, km 02, na cidade de Macapá. Possui um clima equatorial super-úmido (Am) segundo Köppen; Geiger (1928), com poucas variações de temperatura, precipitação média anual de 2.500 mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004). O fragmento está situado em uma área de transição Cerrado-Floresta. Para o estudo foram lançadas 5 parcelas

permanentes sistemáticas, medindo 10 x 25 m, equidistante em 25 m. Das árvores inventariadas foram coletadas as seguintes variáveis: nome vulgar, CAP (circunferência a Altura do Peito, medida a 1,30 m do solo) e altura. A espécie foi identificada no Herbário da Universidade Federal do Amapá- HUFAP e o material seguiu o sistema de classificação APG III (2009). De posse dos dados dendrométricos da espécie, foi realizada a construção do histograma de estrutura diamétrica, divididas em dez classes com intervalo de 1,46 cm de amplitude, no qual o diâmetro inicial foi de 3,57 cm e a última classe correspondeu a  $> 16,75$  cm. A área basal (G) para cada indivíduo foi calculada para todas as classes diamétricas propostas. Para os dados de altura das árvores, as espécies foram divididas em seis classes de altura, onde: classe 1 contemplou indivíduos  $1,5 < h < 2,8$  m; classe 2, com indivíduos  $2,8 < h < 4,1$  m; classe 3, indivíduos com  $4,1 < h < 5,4$  m; classe 4, com indivíduos  $5,4 < h < 6,7$  m; classe 5, com indivíduos  $h > 6,7$  m. Foi estimado o padrão de distribuição espacial com base no Índice de Morisita. Os cálculos, tabelas e gráficos foram gerados por meio do software Excel 2010.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

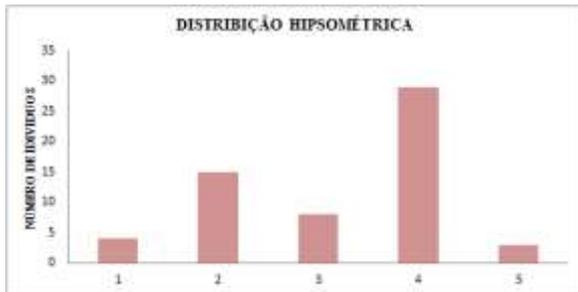
No levantamento foram encontrados 59 indivíduos de *Protium guacayanum* Cuatrec. com  $CAP \geq 10$  cm, pertencentes a 10 classes diamétricas e 5 classes hipsométricas. O diâmetro variou entre 3,57 cm e 18,21 cm e a altura comercial entre 1,5 e 8 m. A área basal total foi de 4.966,29 m<sup>2</sup> e média de 84,17 m<sup>2</sup>, a densidade foi de 57,84 ind./ha. O índice de Morisita encontrado foi de 1,57 caracterizando a espécie na área como agregada. O Qui- quadrado calculado foi de 30,48 confirmando o padrão.

A espécie demonstrou uma maior quantidade de indivíduos concentrados no centro do gráfico, diminuindo significativamente nas classes iniciais e finais (Figura 1). O resultado obtido neste trabalho contrasta com os encontrados por Vasconcelos et al (2011) em uma floresta de Terra Firme na Resex Cajari- Amapá, onde uma espécie do mesmo gênero apresentou o gráfico em forma de “J” invertido, comuns em áreas de florestas maduras heterogêneas, onde a maior quantidade de indivíduos se concentram nas classes menores. Verificou-se ainda, que não há presença de indivíduos em idade de corte ( $DAP \geq 50$  cm), o que pode inferir que esteja havendo alguma influência antrópica ou até mesmo, fatores ambientais que diminuam a capacidade desses indivíduos conseguirem chegar à fase adulta.



**Figura 1.** Distribuição das classes diamétricas da espécie *Protium guacayanum* em um fragmento florestal na Universidade Federal do Amapá.

Quanto à distribuição hipsométrica o mesmo corrobora com o gráfico de distribuição diamétrica, verificando uma distribuição irregular, onde os maiores números de indivíduos encontram-se com alturas maiores que 6 metros, havendo uma queda significativa observada na última classe (Figura 2). Evidenciando que a espécie passa por um processo natural de competição, interespecífica a intraespecífica, por incidência de luz solar, alimento ou até mesmo por questões antrópicas predatórias.



**Figura 2.** Distribuição hipsométrica da espécie *Protium guacayanum* em um fragmento florestal na Universidade Federal do Amapá.

Analisando o índice, foi observado que a espécie apresentou um padrão espacial agrupado, demonstrando uma maior preferência por áreas com maior luminosidade, próximo às bordas do fragmento.

Em relação aos estudos sobre o arranjo espacial, espécies vegetais frequentemente apresentam uma distribuição agrupada, ou seja, os indivíduos formam grupos em que uma das possíveis causas pode estar relacionada com a dispersão zoocórica, reprodução, presença de distúrbios ou fatores ambientais que limitam sua distribuição ou até mesmo por interações entre membros da comunidade (BORCARD et al., 1992; PERRY; DIXON, 2002). A fragmentação pode ser o fator principal que influenciou diretamente na espécie demonstrar na área indivíduos muito jovem e uma distribuição espacial agrupada, por meio do efeito de borda da área. No qual a mesma comumente é encontrada no Estado distribuído uniformemente e com indivíduos adultos de grandes diâmetros.

## CONCLUSÃO

A distribuição diamétrica da espécie *Protium guacayanum* corrobora com o gráfico de distribuição hipsométrica onde os maiores números de

indivíduos encontram-se nas classes iniciais, havendo uma queda significativa nos seus extremos. Evidenciando que a área apresenta em sua maioria indivíduos jovem que passam por pressões naturais e antrópicas.

A espécie *P. guacayanum* apresentou um padrão de distribuição espacial agrupado, provavelmente influenciado pela dispersão zoocórica e pela fragmentação.

## REFERÊNCIAS

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.

BANDEIRA, P.N.; LEMOS, T.L.G. de; PESSOA, O.D.L.; BRAZ-FILHO, R. Estudo dos constituintes fixos e voláteis da resina de *Protium heptaphyllum*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas. Resumos. Disponível em: <http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/1447-2/>. Acesso em: 8/10/2003.

BORCARD, D.; LEGENDRE, P. & DRAPEAU, P. Partialling out the spatial component of ecological variation. *Ecology* 73(3): 1045-1055, 1992.

CORRÊA, M. P.; PENNA, L. de A. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.6, 1926

DRUMMOND, J.A. **Atlas das Unidades de Conservação do Estado do Amapá**. IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004.

FINGER, C.A.G. Fundamentos de Biometria Florestal. Santa Maria: UFSM/CEPEF/FATEC, 269p, 1992.

FORTIN, M.J.; DALE, M.R.T.; HOEF, J. Spatial analysis in ecology. In: EL-SHAARAWI, A.H.; PIEGORSCH, W.W. (eds) Encyclopedia of Environmetrics. Chichester: John Wiley e Sons, v.4, Pp. 2051–2058, 2002.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LE COINTE, P. Apontamentos sobre as sementes oleaginosas, bálsamos, resinas, essências, borrachas, gutas e balatas da floresta amazônica. 5.ed. Belém: Instituto Lauro Sodré, 1939. (Exposição Nacional de Pernambuco).

LUDWIG, J. A.; REYNOLDS, J. F. Statistical ecology: a primer on methods and computing. New York: John Wiley e Sons, 1988.

SCOLFORO J.R.S.; PULZ, F.; MELLO, J.M.de et al. Modelagem da estrutura diamétrica de uma floresta inequianêa pelo método de Wahlenberg. Revista *Árvore*, Viçosa, 19p, 1999.

SIANI, A. C.; GARRIDO, I. S.; MONTEIRO, S. S.; CARVALHO, E. S.; RAMOS, M. F. S. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 32, p. 477-489, 2004.

PERRY, J.N. & DIXON, P.M. A new method to measure spatial association for ecological count data. *Ecoscience* 9(2): 133-141, 2002

VASCONCELOS, C. C.; NICACIO, M. A.; ISACKSSON, J. G. L.; APARÍCIO, W. C. S.; GUEDES, M. C.; APARÍCIO, P. S. Padrão de distribuição espacial e estrutura diamétrica da espécie *Protium pallidum* Cuatrec. em uma floresta de terra firme na Resex Cajari, Amapá-Brasil. In: 5º SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 2011.

---

## **EFEITO DA HIPOXIA NO METABOLISMO E SOBREVIVÊNCIA EM *NEOHELICE GRANULATA***

Ayres, B.S.<sup>(1)</sup>; Silva, B.H.P.<sup>(1)</sup>; Falcão, C.S.<sup>(1)</sup>; Geihs, M.A.<sup>(1)</sup>; Nery, L.E.M.<sup>(1)</sup>;  
Maciel, F.E.<sup>(1)</sup> [buba.ayres.bio@gmail.com](mailto:buba.ayres.bio@gmail.com)

<sup>(1)</sup>Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande - RS, Brasil.

## RESUMO

O caranguejo *Neohelice granulata* encontra-se naturalmente exposto em seu habitat a condições variadas de concentração de oxigênio dissolvido na água. Contudo, pouco se sabe sobre o tempo mínimo de aclimação em uma hipoxia moderada para resistência deste animal em condições de hipoxia severa, bem como suas adaptações para este evento. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar qual o tempo mínimo de aclimação em uma hipoxia moderada ( $3\text{mgO}_2/\text{L}$ ) e quais são as alterações no metabolismo do caranguejo *N. granulata*. Em relação ao tempo de sobrevivência, os grupos previamente expostos a uma hipoxia moderada por um, três e dez dias e posteriormente expostos a uma hipoxia severa ( $0,5\text{mgO}_2/\text{L}$ ) não se diferenciaram entre si, porém os três grupos apresentaram um maior tempo de sobrevivência em comparação ao grupo controle. Os níveis de lactato e glicose presente na hemolinfa, no grupo controle ( $6\text{mgO}_2/\text{L}$  por 24 horas) aumentaram gradativamente conforme a exposição a hipoxia severa, enquanto o grupo aclimatado ( $3\text{mgO}_2/\text{L}$  por 24 horas) manteve o alto nível de lactato e glicose tanto na hipoxia moderada quanto na hipoxia severa. Em conclusão a aclimação a uma hipoxia moderada aumenta o tempo de sobrevivência em uma hipoxia severa a partir de ajustes no metabolismo energético de *N. granulata*.

**Palavras-chave:** Aclimação, Crustáceos, Oxigênio.

## INTRODUÇÃO

O caranguejo *Neohelice granulata*, da família Varunidae (Decapoda, Crustacea) é abundante em marismas de estuários e pântanos salgados, a partir do litoral do Rio de Janeiro, no Brasil até o Golfo de San Martin, na Argentina (Botto e Irigoyen, 1980) onde constrói suas tocas de mesolitoral (D’Incao e Domunt, 2010).

Os estuários são ecossistemas caracterizados por períodos irregulares de total cobertura de água e períodos de completa exposição do solo, sofrendo influência de fatores oceanográficos e meteorológicos, expondo os organismos a um alto estresse ambiental, devido a variações de salinidade, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido na água (Odum, 1985). Condições de hipoxia nos ambientes aquáticos são relativamente comuns, o que implica em importantes adaptações bioquímicas aos organismos que ali habitam, tais como depressão da taxa metabólica, manutenção de altos níveis de combustíveis energéticos como glicogênio para produção de ATP por vias fermentativas (Storey e Storey 1990; Childress e Seidel 1998; Hochachka e Lutz, 2001).

Existem muitas espécies de crustáceos que são tolerantes à variação de oxigênio, se valendo de várias estratégias que permitem que elas suportem estes ambientes hipóxicos/anóxicos, como por exemplo, a obtenção de energia através de processos anaeróbicos (Uriche, 1994). O *N. granulata* pode suportar longos períodos fora d'água (Mañe-Gazon *et al.*, 1974) por ter adaptações como a manutenção de uma corrente de circulação de água através da superfície corpórea para reoxigenação do ar (Hartnol, 1988). Adicionalmente, vários estudos verificaram que durante a respiração anaeróbica o principal produto, em crustáceos, é o lactato (Gäde, 1984; Henry *et al.*, 1994).

Geihs e colaboradores (2013) verificaram os efeitos no metabolismo em *Neohelice granulata* em diferentes tempos de hipoxia ( $0,5\text{mgO}_2/\text{l}$ ) e reoxigenação. Porém o processo de aclimação em hipoxia moderada ( $3,0\text{mgO}_2/\text{l}$ ) antes de uma hipoxia severa é um processo pouco estudado. Com o intuito de compreender melhor os efeitos da hipoxia moderada prévia a hipoxia severa em crustáceos, o objetivo deste estudo foi investigar o tempo mínimo de aclimação em hipoxia moderada de *Neohelice granulata* e as possíveis estratégias fisiológicas para um maior tempo de sobrevivência em hipoxia severa.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Manutenção dos animais***

Caranguejos machos e adultos ( $11,2 \pm 2\text{g}$ ) foram coletados na cidade do Rio Grande-RS e aclimatados em laboratório (15 dias,  $20^\circ\text{C}$ , 20%, 12C:12E,  $6\text{mgO}_2/\text{L}$ ).

### ***Tempo mínimo de sobrevivência e metabolismo energético***

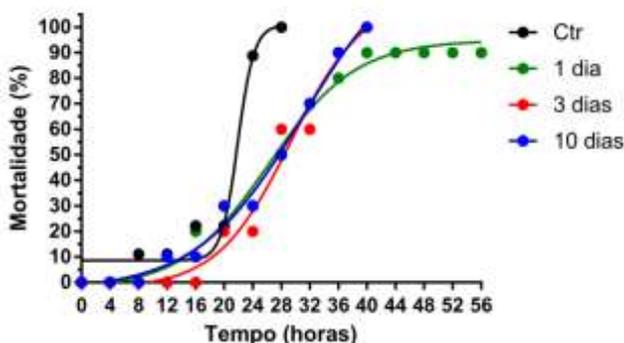
Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: controle (CTR), aclimatados por 01 dia (AC01), aclimatados por 03 dias (AC03) e aclimatados por 10 dias (AC10). O grupo CTR foi mantido à  $6\text{mgO}_2/\text{L}$ , ao passo que os grupos AC01, AC03 e AC10 foram expostos a condições de hipoxia moderada de  $3\text{mgO}_2/\text{L}$  por 01, 03 e 10 dias, respectivamente. A medição da concentração de oxigênio dissolvido na

água foi realizada com um oxímetro portátil e a redução do nível de oxigênio na água foi obtida com o borbulhamento de gás nitrogênio. Após estes períodos os animais foram expostos a  $0,5\text{mgO}_2/\text{L}$  sendo realizado a contagem da mortalidade de 4 em 4 horas. Os dados foram ajustados a uma regressão não linear e submetidos à análise de curvas de sobrevivência.

Após o período de aclimatação, 40 animais foram divididos em dois grupos experimentais: controle (CTR) e aclimatados (AC). O grupo CTR foi mantido à  $6\text{mgO}_2/\text{L}$  por 24 horas, ao passo que o grupo AC foi exposto a condições de hipoxia moderada de  $3\text{mgO}_2/\text{L}$  por 24 horas. Salinidade e temperatura foram mantidas constantes. Ao final das 24 horas em experimento, os animais foram expostos à hipoxia severa de  $0,5\text{mgO}_2/\text{L}$  por 12 horas. Amostras de hemolinfa foram retiradas com agulha estéril e seringa da base do 4° ou 5° par de pereiópodes dos caranguejos de ambos os grupos (CTR e AC) ao final da hipoxia moderada ( $n=5$ ), 04, 08 e 12 horas após o início da hipoxia severa ( $n=5$  em cada tempo e grupo). Adicionalmente, a hemolinfa de 5 animais foram retirada previamente ao início do experimento (tempo zero). As amostras foram congeladas para posterior análise de glicose e lactato com a utilização de kits enzimáticos específicos. Os dados foram submetidos à ANOVA de duas vias com teste *a posteriori* de Newman-Keuls ( $\alpha=0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grupos previamente expostos a uma hipoxia moderada AC01, AC03 e AC10 não se diferenciaram entre si ( $TL_{50}=29,3h$  e  $IC_{0,95}=24,3 - 34,3$ ;  $TL_{50}=31h$  e  $IC_{0,95}=24,4 - 37,6$ ;  $TL_{50}=26,2h$  e  $IC_{0,95}=24,1 - 28,9$ ; respectivamente) porém os três grupos se diferenciaram significativamente ( $p<0,05$ ) do controle ( $TL_{50}=21,9h$  e  $IC_{0,95}=19,6 - 24,2$ ). Estes resultados estão representados na Figura 1.

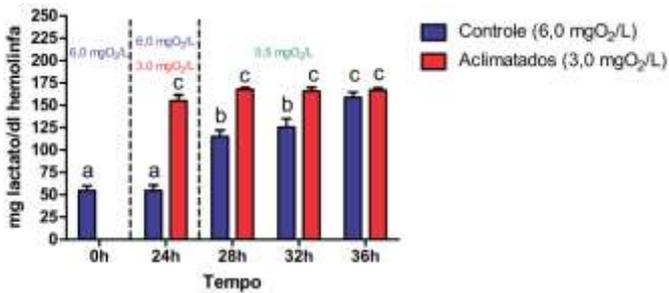


**Figura 1:** Efeito do tempo de aclimação em hipoxia moderada ( $3,0mgO_2/L$ ) na mortalidade de *N. granulata* quando expostos a uma hipoxia severa ( $0,5mgO_2/L$ ). O grupo controle foi aclimatado em normoxia ( $6,0mgO_2/L$ ).

Estes resultados indicam que o caranguejo *N. granulata* mantido por pelo menos por 24 horas a uma hipoxia moderada, apresenta um maior tempo de sobrevivência quando expostos a uma hipoxia severa.

Com relação à concentração de lactato (Figura 2), os animais do grupo CTR quando em normoxia, apresentam níveis de lactato bem mais

baixo ( $54,5 \pm 12,2$  mg/dl) em comparação quando exposto à hipoxia severa ( $158,8 \pm 11,5$  mg/dl) . Entretanto, os animais do grupo AC já apresentam um alto nível de lactato circulante ao final das 24 horas de hipoxia moderada ( $155 \pm 14,4$  mg/dl) e permanece alta durante a hipoxia severa ( $166,9 \pm 5,3$  mg/dl).

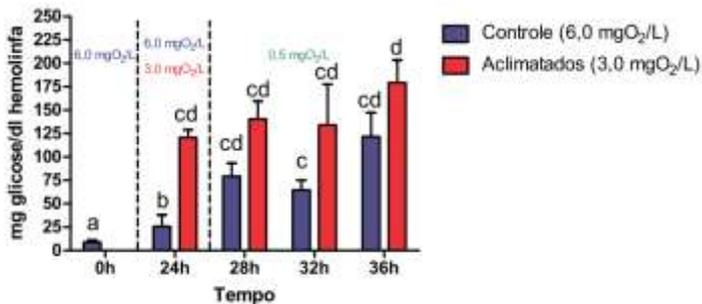


**Figura 2:** Níveis de concentração de lactato em normoxia ( $6,0\text{mgO}_2/\text{L}$ ), aclimatados por 24 horas ( $6,0\text{mgO}_2/\text{L}$ ) e aclimatados em hipoxia moderada por 24 horas ( $3,0\text{mgO}_2/\text{L}$ ) e posteriormente submetidos à hipoxia severa ( $0,5\text{mgO}_2/\text{L}$ ).

Interessantemente, quando analisado os níveis de glicose circulante, verificou-se que nos animais do grupo CTR houve um aumento gradativo na glicose circulante de ( $25,7 \pm 24,4$  mg/dl) para ( $121,7 \pm 51,3$  mg/dl), enquanto no grupo AC, já nas primeiras 24h exposto à  $3,0$  mgO<sub>2</sub>/L um maior nível de glicose circulante foi verificado ( $120,7 \pm 16,5$  mg/dl), permanecendo alta até o final do experimento ( $179,2 \pm 54,3$  mg/dl).

Em crustáceos, a hemolinfa está em contato com todos os órgãos e tecidos do animal, podendo dar informações do estado metabólico geral

deste organismo. A concentração de glicose permanece em uma faixa estrita, sendo finamente regulada (Verria *et al.*, 2001). A glicose hemolinfática pode ter duas origens, uma vinda da absorção da dieta no hepatopâncreas ou nas células epiteliais intestinais (Gibson e Barker 1979; Loret, 1993) e músculo (Nery *et al.*, 1993), ou mesmo sintetizada através de vias gliconeogênicas (Verria *et al.*, 2001).



**Figura 3.** Níveis de concentração de glicose em normoxia (6,0mgO<sub>2</sub>/L), aclimatados por 24 horas (6,0 mgO<sub>2</sub>/L) e aclimatados em hipoxia moderada por 24 horas (3,0mgO<sub>2</sub>/L) e posteriormente submetidos à hipoxia severa (0,5mgO<sub>2</sub>/L).

Em alguns estudos, a concentração de glicose hemolinfática tem sido analisada diante de situações imposta ao animal em seu ambiente natural como imersão e emersão (Speed *et al.*, 2001) e hipoxia (Silva-Castiglioni *et al.*, 2010).

A mobilização de glicose dos tecidos para hemolinfa é fundamental para a realização dos processos fisiológicos quando uma maior demanda energética é necessária. O neurohormônio CHH (hormônio hiperglicemiante de crustáceo) tem como principal efeito aumentar a

glicose circulante em crustáceos. (Abromowitz, 1944). Provavelmente este hormônio esteja envolvido no aumento da glicose circulante nos caranguejos expostos a hipoxia como verificado neste trabalho, porém como ele atua ainda necessita maiores investigações.

A utilização do metabolismo anaeróbico e a diminuição da demanda de energia pela depressão metabólica são considerados os dois principais vias bioquímicas (Paschke *et al.*, 2010), para sobrevivência do caranguejo. O aumento do lactato durante a hipoxia, visto neste trabalho, sugere o acionamento da via anaeróbica, e de maneira mais intensa nos animais aclimatados previamente a hipoxia moderada. Possivelmente perdurando o tempo de hipoxia severa, estes animais devem adotar uma depressão metabólica de modo que seus estoques energéticos não se esgotem rapidamente.

## **CONCLUSÃO**

O tempo mínimo de aclimação a uma hipoxia moderada anterior a uma exposição à hipoxia severa é de 24 horas para haver um maior tempo de sobrevivência;

A grande quantidade de lactato presente na hemolinfa com poucas horas de aclimação surge da ativação do metabolismo anaeróbico em uma hipoxia moderada que é provavelmente uma estratégia usada para resistir à queda de oxigênio dissolvido;

Uma hiperglicemia foi também observada durante o tempo de hipoxia moderada e severa, o que demonstra que os estoques de carboidratos estão sendo mobilizados para fornecer substrato energético para os diferentes tecidos.

## REFERÊNCIAS

ANBRAMOWITZ, A.A.; HISAW, F.Z.; PANPADREA, D.V. The occurrence of diabetogenic factor in the eyestalks of crustaceans. *Biol. Bull.* 86, 1–4, 1944.

BOTTO, L.; IRYGOYEN, H.P. Bioecología de la comunidad del cangrejal I. contribución al conocimiento biológico del cangrejo de estuario *Chasmagnathus granulata* Dana (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) em la desemboadura del rio Salado, provincia de Buenos Aires. In: *Continental de Atlántico Sur*. UNESCO, Montevideo, Uruguay, 161-169, 1980.

CHILDRESS, J.J.; SEIDEL, B.A. Life at stable low oxygen levels: adaptations of animals to oceanic oxygen minimum layers. *J. Exp. Biol.* 201, 1223–1232, 1998.

D' INCAO, F; DUMONT L.F. O estuário da Lagoa dos Patos: um século de transformações; A comunidade de crustáceos decápoda. *Rio Grande /FURG*, 10, 117-120, 2010.

GADE, G. Energy metabolism arthropods and mollusks during environmental and functional anaerobiosis. *J. Exp. Zool.* 228, 415-429, 1983.

GEIHS, M.A.; MACIEL, F.E.; VARGAS, M.A.; CRUZ, B.P.; NERY, L.E.M.; Effects of hypoxia and reoxygenation on the energetic metabolism of the crab *Neohelice Granulata* (Decapoda, Varunidae). *J. Exp. Mar. Bio. Eco.* 445, 69-78, 2013.

GIBSON, R.; BARKER, P.L. The decapod hepatopancreas. *Oceanogr. Mar. Biol.* 17, 285–346, 1979.

HARTNOL, R.G. Evolution, systematic and geographical distribution. In BURGGREN, W.; MACMAHON, B. (eds) Biology of land crabs. New York: Cambridge University Press, 6-54, 1988.

HENRY, R.P.; BOOTH, C.E.; LALLIER, F.H.; WALSH, P.J. Post-exercise lactate production and metabolism in three species of aquatic and terrestrial decapods crustaceans. J. Exp. Biol. 86, 215-234, 1994.

HOCHACHKA, P.W.; LUTZ, P.L. Mechanism, origin, and evolution of anoxia tolerance in animals. Comp. Biochem. Physiol. 130 B, 435-459, 2001.

LORET, S.M. Hemocyte differentiation in the shore crab *Carcinus maenas* could be accompanied by a loss of glycogenosynthesis capability. J. Exp. Zool. 167, 548-555. 1993.

MAÑE-GAZON, F.; DEI-CAS, E.; ESPECTOR, B.H.; LEYMONTE, J. Estudios sobre la biología del cangrejo de estuário *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851: I osmorregulación frente a câmbios de salinidad. Physis. Secc. 33 A, 163-171, 1974.

NERY, L.E.M.; SANTOS, E.A.; BIANCHINI, A.; GONÇALVEZ, A.A. Effects of crustacean hyperglycemic hormones from *Carcinus maenas* and *Orconectes limosus* on blood and, 1993.

ODUM, E.P. Ecologia. Rio de Janeiro: Ed. Interamericana, 1985.

PESCHKE, E. Melatonin, endocrine pancreas and diabetes. J. Pineal. Res. 44, 26-40, 2008.

SILVA- CASTIGLIONI, D.; OLIVEIRA, G.T; BUCKUP, L. Metabolic responses of *Parastacus defossus* and *Parastacus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) to hypoxia. Comp. Biochem. Physiol. 156 A, 436-444, 2010.

SPEED, S.R.; BALDWIN, J.; WONG R.J.; WELLS, R.M.G Metabolic characteristics of muscles in the spiny lobster *Jasus adwrdsii* and responses to emersion during simulated live transport. Comp. biochem. Physiol. 128, 435-444, 2001.

STOREY K.B. Oxidative stress: animal adaptations in nature. Braz. J. Med. Biol. Res. 29 ,1715 – 1733, 1996.

STOREY, K.B., STOREY, J.M. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation, estivation. Quart. Rev. Biol. 65, 145-174, 1990.

URICH, K. Comparative Animal Biochemistry. New York: Springer- Verlag, 1994.

VERRIA, T.; MANDAL, A.; ZILLI, L.; BOSSAA, D.; MANDAL, P.K.; INGROSSOB, L.; ZONNOA, V.; VILELLAB, S.; AHERNAC, G. A.; STORELLI, C. D-Glucose transport in decapod crustacean hepatopancreas. Comp. Biochem. Physiol. 130A, 585-606, 2001.

---

## **EFEITO DE DIFERENTES FORMAS DE PREPARO DO INÓCULO E DE CONCENTRAÇÕES DOS NUTRIENTES NA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Saccharomyces cerevisiae* UFPEDA 1238**

**Lima, D. A.<sup>(1)</sup>, Luna, R. L. N.<sup>(1)</sup>, Rocha, J. M. T. S.<sup>(1)</sup>, Silva, P. M.**

**P.<sup>(1)</sup>, Gouveia, E. R.<sup>(1)</sup> estergouveia@gmail.com**

<sup>(1)</sup> Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi comparar duas formas de preparação de inóculo para a fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae* UFPEDA 1238, assim como avaliar o efeito da variação da concentração dos nutrientes do meio de cultura para a produção de etanol. Inicialmente foi preparado o inóculo de duas formas diferentes. Na fermentação 1 o inóculo foi adicionando diretamente aos meios de fermentação e na fermentação 2 houve uma filtração e ressuspensão microbiana para depois ser adicionada aos cinco meios de fermentação, todos com glicose como fonte de carbono e os seguintes sais:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Também foram adicionados extrato de levedura e peptona. As fermentações foram realizadas

em erlenmeyer de 250 mL, sendo a fermentação 1 com um volume total de 250 mL à 34 °C e sem agitação e a fermentação 2 com volume total de 50 mL à 34 °C e 80 rpm. Foi utilizado como parâmetro a produtividade em etanol. A análise da variância mostrou que as produtividades obtidas nos ensaios da fermentação 1 foram significativamente diferentes das produtividades dos ensaios da fermentação 2.

**Palavras-chaves:** Meios de cultura, Fermentação, Produção de Etanol.

## INTRODUÇÃO

*Saccharomyces cerevisiae* é uma levedura aeróbia facultativa, onde os produtos finais do metabolismo do açúcar irão depender das condições ambientais em que o micro-organismo se encontra. Assim, em aerobiose, o açúcar é metabolizado em CO<sub>2</sub> e água, acompanhado de um grande crescimento em biomassa, enquanto que, em anaerobiose, a maior parte da fonte de carbono, é convertida em etanol e CO<sub>2</sub>, processo denominado de fermentação alcoólica (Lima et al., 2001). Esta espécie de levedura tem sido utilizada industrialmente devido à alta tolerância ao etanol, quando comparada com outros microrganismos (LEGRAS et al., 2007). Nas fermentações, uma parte dos açúcares é utilizada para biossíntese de glicerol e ácido acético e para o crescimento celular, o que não permite que o rendimento em etanol seja 100 % (VARGA et al., 2004).

Segundo Lima et al. (2001), *S. cerevisiae* utiliza o nitrogênio nas formas amoniacal, amídica ou amínica e o fósforo é absorvido na forma de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Por outro lado, o enxofre pode ser assimilado do sulfato. O

meio de cultura para produção de etanol deve, portanto, conter todos os nutrientes necessários.

O objetivo deste trabalho foi comparar duas formas de preparação de inóculo para a fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae* UFPEDA 1238. Também foi possível avaliar o efeito da variação da concentração dos nutrientes do meio de cultura para a produção de etanol.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Micro-organismo***

A linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae* UFPEDA 1238 foi utilizada na fermentação. A levedura foi cedida pela Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil. O meio de manutenção utilizado continha (em g/L): glicose (20), extrato de levedura (5), peptona (3) e ágar (15), em pH 7,0.

### ***Fermentações***

O inóculo foi preparado através da transferência da linhagem para erlenmeyer de 500 mL com 50 mL de meio de cultura contendo (em g/L): 20 glicose, 3 peptona, 4 extrato de levedura. Os frascos foram

incubados em mesa agitadora à 30 °C e 250 rpm durante 12 horas. Após esse período, o inóculo foi preparado de duas formas diferentes. Na fermentação 1, o inóculo foi transferido para um único frasco de 1 litro para ser distribuído de forma homogênea nos frascos contendo os meios de cultura para a produção de etanol. As fermentações foram realizadas em erlenmeyer de 250 mL, com um volume total de 250 mL à 34 °C e sem agitação. As amostras foram coletadas no início e após 36 horas. Na fermentação 2, a suspensão de células foi filtrada em membrana de diâmetro de poro igual a 0,45 µm. O filtrado foi descartado e a biomassa microbiana foi ressuspensa em 10 mL de água estéril, a qual foi transferida para um erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio de fermentação. A fermentação foi realizada à 34 °C e 80 rpm. As amostras foram coletadas no início e após 12 horas. Para ambos as fermentações foram utilizados cinco meios, todos com glicose como fonte de carbono e os seguintes sais:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Também foram adicionados extrato de levedura e peptona. A Tabela 1 apresenta a composição dos oito meios de cultura utilizados na fermentação.

**Tabela 1.** Composição dos meios de cultura utilizados nas fermentações.

Meio (g/L)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Extrato de levedura	Peptona
1	2	2	0,25	4	0
2	0,25	0,25	2	4	0
3	2	0,25	2	2	0

4	0,25	2	2	2	2
5	2	2	2	4	2

### ***Métodos analíticos***

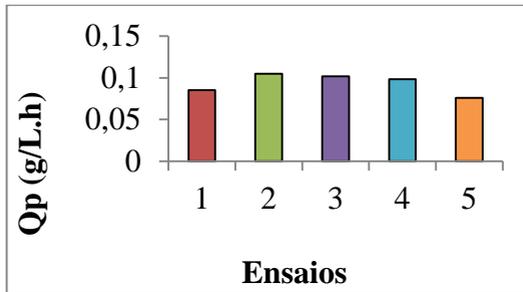
Glicose, glicerol, ácido acético e etanol foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando um cromatógrafo da Agilent (HP 1100, Germany), coluna Aminex HPX-87H<sup>+</sup> (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), 60 °C, 0,6 mL/min de fase móvel (5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e detecção por índice de refração (Gouveia et al., 2009).

### ***Análise estatística***

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) utilizando o programa Microcal Origin 6.0.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

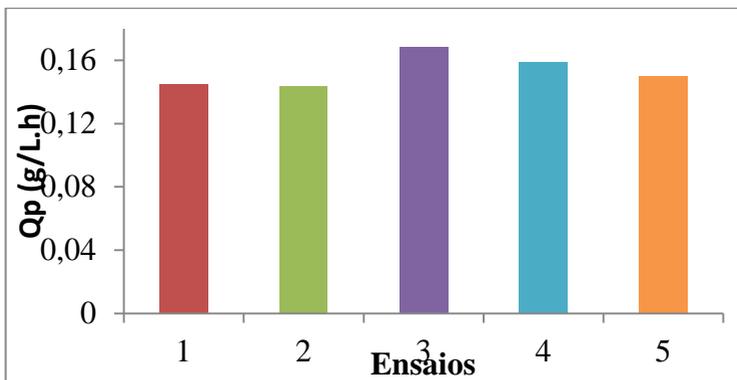
A produtividade volumétrica é um parâmetro cinético onde é analisada a concentração de etanol (g/L) pelo tempo de fermentação. A Figura 1 mostra a produtividade volumétrica em 36 horas dos cinco ensaios durante a fermentação 1 à 34 °C e sem agitação, onde houve uma variação de 0,075 a 0,104 g/L.h.



**Figura 1.** Produtividade volumétrica em 36h da fermentação 1.

Foi realizada uma análise de variância com os cinco ensaios, sendo esses significativamente diferentes ( $F = 11,53$  ;  $\alpha = 0,05$ ). Entretanto, a análise dos ensaios 1, 2, 3 e 4 não foram significativamente diferentes ( $F = 4,64$ ;  $\alpha = 0,05$ ), caracterizando o 5 como o ensaio com menor produtividade em 36 horas de fermentação, apesar deste ensaio conter extrato de levedura e peptona. Provavelmente o meio mais rico proporcionou um maior crescimento.

A produtividade entre os ensaios da fermentação 2 é apresentada na Figura 2, onde é possível verificar uma variação entre os cinco ensaios que vão de 0,144 a 0,166 g/L.h.



**Figura 2.** Produtividade volumétrica em 12h da fermentação 2.

Para a fermentação 2 também foi feita uma análise de variância entre os cinco ensaios, onde os resultados não foram significativamente diferentes ( $F = 4,06$ ;  $\alpha = 0,05$ ). Por outro lado, uma análise de variância foi feita entre os ensaios 1, 2, 3, 4 e 5 das duas fermentações, onde todos os resultados mostraram-se significativamente diferentes. Entretanto, a fermentação 2 apresentou-se como a melhor condição, dentre as testadas neste trabalho, para produção de etanol, visto que sua produtividade é superior às obtidas na fermentação 1 em todos os ensaios.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho conclui-se que o preparo do inóculo com a ressuspensão das células foi mais adequado, uma vez que a concentração inicial de biomassa foi provavelmente

maior e isto contribuiu para uma maior produtividade, independente das condições do meio de cultura.

## REFERÊNCIAS

Legras, J. L., Merdinoglu, D., Cornuet, J-M., Karst, F. 2007. Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. *Molecular Ecology* 16, 2091–2102.

Lima, U.A.; Basso, L.C.; Amorim, H.V. 2001. *Biotecnologia Industrial*. Vol. III. São Paulo, Edgard Blücher LTDA, Cap. 1 “Produção de etanol”, p. 12.

Varga, E., Klinke, H. B., Réczey, K., Thomsen, A. B. 2004. High solid simultaneous saccharification and fermentation of wet oxidized corn stover to ethanol. *Biotechnology and Bioengineering* 88 (5): 567-574.

Gouveia, E.R.; Nascimento, R.T.; Souto-Maior, A.M.; Rocha, G.J.M. 2009. Validation of methodology for the chemical characterization of sugar cane bagasse. *Quim. Nova*. 32 (6), 1500-1503.

---

## EFEITO DE DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO DA PALMA NA BIOMASSA MICROBIANA DO SOLO

Teti, L.M.E.H.<sup>(1)</sup>; Santos, V.M.<sup>(1)</sup>; Escobar, I.E.C.<sup>(1)</sup>; Maia, L.C.<sup>(1)</sup>

lyssandra\_teti@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Laboratório de Micorrizas, Departamento de Micologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

Os microrganismos possuem elevado potencial para a avaliação da qualidade do solo em sistemas agrícolas, pois respondem rapidamente a mudanças no ambiente derivadas do manejo e uso do solo. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes sistemas de cultivo da palma na biomassa microbiana do solo. Coletas foram realizadas em novembro/2012 e abril/2013, no município de Serra Talhada na Estação do Instituto Agrônomo de Pernambuco. Amostras foram coletadas em plantios de palma conduzidos em condição de sequeiro, irrigação com cobertura (palhada) e irrigação sem cobertura. Em cada tratamento foram coletadas 12 amostras compostas na profundidade de 0-10 cm. Avaliaram-se a partir dessas amostras: carbono da biomassa microbiana (CBM), quociente microbiano ( $qMIC$ ), respiração basal (RB) e quociente metabólico ( $qCO_2$ ). Os maiores valores de CBM foram observados no tratamento irrigado com utilização de palhada, porém para o  $qCO_2$  foi superior no solo sob sequeiro e irrigado sem cobertura nos períodos de amostragem. O  $qMIC$  e a RB não variam entre os sistemas de cultivo e os períodos avaliados. A adoção do sistema de irrigação e utilização de cobertura favorece a biomassa microbiana e o CBM e o  $qCO_2$  são propriedades microbianas sensíveis as mudanças no manejo do solo.

**Palavras - chave:** Micro-organismos, Qualidade do Solo, Carbono da Biomassa

## INTRODUÇÃO

O manejo adequado dos solos é o principal fator a ser considerado quando se busca a produção agrícola sustentável, uma vez que os sistemas de preparo e cultivo interferem diretamente nas condições físicas, químicas e na diversidade e atividade microbiana do solo (HUNGRIA et al., 2010; LISBOA et al., 2012).

Os microrganismos e os processos microbiológicos possuem elevado potencial para a avaliação da qualidade do solo em sistemas agrícolas, por apresentarem capacidade de responder rapidamente a mudanças no ambiente derivadas do manejo e uso do solo (TÓTOLA & CHAER, 2002). Nesse contexto, a quantificação do carbono da biomassa microbiana, respiração basal e suas relações como, quociente metabólico, tem sido utilizada para estudar os processos de ciclagem e transformação de nutrientes (PRAGANA et al., 2012), bem como para avaliar a dinâmica da matéria orgânica do solo e a qualidade ambiental.

Apesar do crescente interesse em aspectos relacionados ao funcionamento microbiano do solo sob sistemas naturais e agrícolas, estudos sobre o impacto de diferentes práticas agrícolas na biomassa microbiana em solos cultivados com plantas adaptadas às condições adversas do semiárido, como a palma, ainda são escassos.

Em Pernambuco a palma é cultivada principalmente por agricultores familiares servindo como alternativa para a alimentação do gado na época de seca prolongada (Santos, 2006). Além do uso como forragem, a palma vem sendo utilizada na produção de bebidas, remédios, cosméticos (ALMEIDA, 2008) e também como matéria prima para processos biológicos, visando à produção de compostos orgânicos tais como enzimas (ARAÚJO et al., 2007). Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes sistemas de cultivo da palma na biomassa microbiana do solo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Área de estudo e coleta das amostras***

A área de estudo está localizada no município de Serra Talhada na parte setentrional da microrregião Pajeú, semiárido de Pernambuco. O clima é do tipo Tropical Semi-Árido (BswH da classificação de Köppen) com chuvas escassas e mal distribuídas, a precipitação média anual é da ordem de 431,8mm.

Coletas de solo foram realizadas em novembro/2012 (período seco) e abril/2013 (período chuvoso) na Estação Experimental Lauro Ramos Bezerra do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA). As amostras foram coletadas em três plantios de palma clone Orelha de Elefante mexicano (*Opuntia*), os quais foram conduzidos em condição de sequeiro, irrigação com cobertura (palhada) e irrigação sem cobertura. Em cada área/tratamento foram coletadas 12 amostras compostas, sendo cada amostra formada por 6 subamostras retiradas na rizosfera das plantas na profundidade de 0-10 cm. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Micorrizas da UFPE. O solo destinado à avaliação das características microbiológicas foi mantido sob refrigeração, durante o transporte e posteriormente armazenado a 4°C.

### ***Avaliações***

### ***Carbono da biomassa e quociente microbiano***

O carbono da biomassa microbiana (CBM) foi estimado pelo método de fumigação-extração (VANCE et al., 1987). O C extraído das amostras fumigadas e não fumigadas foi convertido em carbono microbiano aplicando-se um fator de correção (Kc) de 0,38. A partir dos valores de CBM e do carbono orgânico (C.O.) total foi calculado o quociente microbiano (SPARLING, 1997).

### ***Respiração basal e quociente metabólico***

A respiração basal do solo foi mensurada pela quantificação do CO<sub>2</sub> liberado durante sete dias de incubação do solo em sistema fechado. O CO<sub>2</sub> produzido foi capturado em solução de NaOH e posteriormente titulado com HCL (ALEF & NANNIPIERI, 1995). O quociente metabólico ( $q_{CO_2}$ ) foi determinado pela relação entre a respiração basal e o CBM (ANDERSON E DOMSCH, 1985).

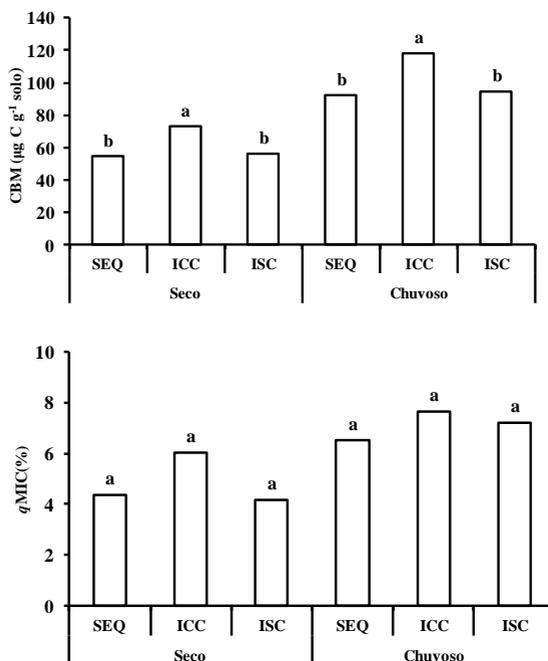
### ***Análise estatística***

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. As análises foram realizadas com o auxílio do Assistat 7.6 Beta (2012).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os maiores valores de carbono da biomassa microbiana (CBM) foram observados no tratamento de irrigação com utilização de palhada (Figura 1). Esse resultado pode ser atribuído ao fato da palhada criar um ambiente favorável proporcionando aumento da matéria orgânica no perfil do solo e a capacidade de infiltração da água. Além disso, reduz as perdas de solo por erosão e a evaporação. Esse conjunto de fatores favorece os microrganismos e contribuindo para transformação do material orgânico em C da biomassa (PRAGANA et al., 2012).

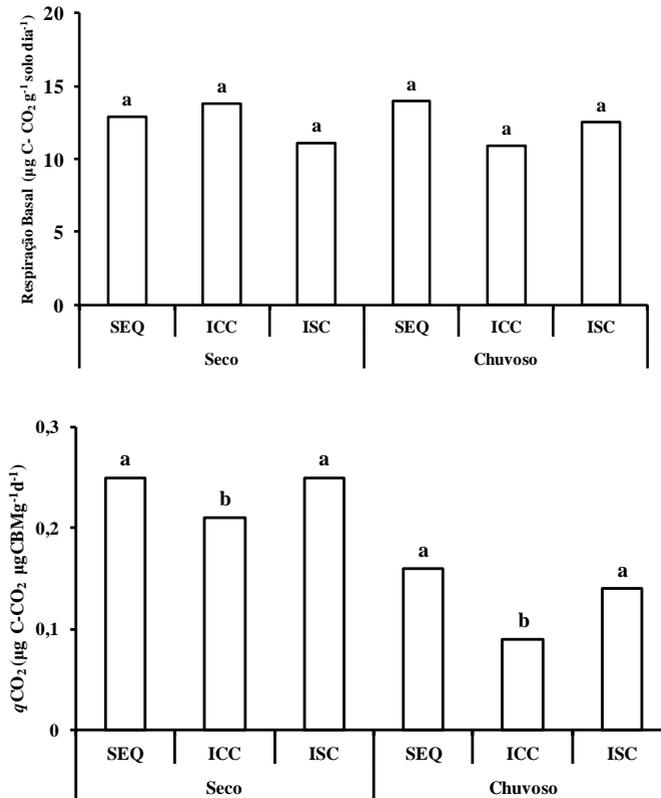
A biomassa microbiana tem grande significado ecológico, participando de importantes processos como a decomposição e a acumulação da matéria orgânica e transformações envolvendo os nutrientes (BARRETO et al., 2008). Por isso, práticas de manejo que possam favorecer o acúmulo de biomassa são eficientes em promover a recuperação da qualidade do solo em áreas cultivadas (CARNEIRO et al., 2008).



**Figura 1.** Carbono da biomassa microbiana (CBM) e quociente microbiano (qMIC) em plantios de palma sob diferentes condições de cultivo, Serra Talhada-PE. As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Neste estudo, os valores do quociente microbiano (qMIC) não variaram entre os sistemas de cultivo avaliados (Figura 1). Essa relação reflete quanto do C orgânico está imobilizado na biomassa microbiana e mostra o potencial de reserva desse elemento no solo (JAKELAITIS et al., 2008; PRAGANA et al., 2012). Assim, há ausência de diferença significativa sugere o restabelecimento da relação entre o CBM e

carbono orgânico. Nesse sentido, as áreas apresentaram valores similares que indicam reserva de energia e nutrientes imobilizados na biomassa microbiana.



**Figura 2.** Respiração basal e quociente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ) em plantios de palma sob diferentes condições de cultivo, Serra Talhada-PE. As médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A atividade respiratória basal da biomassa microbiana não apresentou diferença significativa entre os sistemas de cultivo da palma nos dois períodos amostrados (Figura 2). Em muitos casos, a interpretação dos resultados da avaliação da respiração basal torna-se difícil, devendo por isso ser realizada com cautela (TÓTOLA & CHAER, 2002). Dessa forma, é necessária a associação de outras medidas da atividade microbiológica do solo para obtenção de resultados mais completos da condição do sistema em estudo. Assim, uma variável de interpretação mais adequada é a taxa de respiração por unidade de biomassa ( $q\text{CO}_2$ ).

No presente estudo, o  $q\text{CO}_2$  foi superior no solo sob sequeiro e irrigado sem cobertura nos dois períodos de amostragem (Figura 2) demonstrando ambientes com maior grau de distúrbio, ou que apresentam comunidades microbianas sob condições desfavoráveis (JAKELAITIS et al., 2008). Por outro lado, o declínio do quociente metabólico observado nos solos que receberam irrigação e aplicação de palhada (Figura 2d) reflete o aumento da eficiência da utilização de C pela biomassa microbiana do solo (TÓTOLA & CHAER, 2002; JAKELAITIS et al., 2008).

## CONCLUSÃO

A adoção do sistema de irrigação com utilização de cobertura (palhada) aumenta o carbono da biomassa microbiana e reduz o quociente metabólico mostrando benefícios para esse sistema agrícola.

O carbono da biomassa e o quociente metabólico são propriedades microbianas sensíveis às mudanças no manejo do solo.

## **REFERÊNCIAS**

ALEF, K., NANNIPIERI, P. **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1995.

ALMEIDA, J. **A Palma forrageira na região semiárida do estado da Bahia: diagnóstico, crescimento e produtividade**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2011.

ALMEIDA, J. **A Palma forrageira na região semiárida do estado da Bahia: diagnóstico, crescimento e produtividade**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Agrárias). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 2008.

ANDERSON, T. H; DOMSCH, K. H. **Determination of eco physiological maintenance carbon requirements of soil microorganisms in a dormant state**. Biology Fertility Soils, n. 1, p. 81-89, 1985.

ARAUJO, L. F. et al. **Bioconversão da palma forrageira alternativa alimentar para pequenos ruminantes**. Tecnologia e Ciência Agropecuária n. 1, p. 59-61, 2007.

ARAUJO, L. F. et al. **Equilíbrio higroscópico da palma forrageira: Relação com a umidade ótima para fermentação sólida**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental n. 9, p. 379-384, 2005.

BARRETO, P. A. B. et al. **Atividade microbiana, carbono e nitrogênio da biomassa microbiana em plantações de eucalipto, em seqüência de idades**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, n. 32, p. 611-619, 2008.

CARNEIRO, M. A. C. et al. **Atributos bioquímicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo e uso.** Pesquisa Agropecuária Tropical, n. 38, p. 276-283, 2008.

HUNGRIA, M. et al. **Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short and long-term experiments in Brazil.** Field Crops Research, n. 119, p. 20–26, 2010.

JAKELAITIS, A; SILVA, A. A; SANTOS, J. B; VIVIAN, R. **Qualidade da camada superficial de solo sob mata, pastagens e áreas cultivadas.** Pesquisa Agropecuária Tropical, n. 38, p. 118-127, 2008.

LISBOA, B. B. et al. **Indicadores Microbianos de Qualidade do Solo em Diferentes Sistemas de Manejo.** Revista Brasileira Ciência do Solo, n. 36, p. 45-55, 2012.

PRAGANA, R. B; NÓBRETGA, R. S. A; RIBEIRO, M. R; FILHO, J. F. L. **Atributos biológicos e dinâmica da matéria orgânica em Latossolos Amarelos na região do Cerrado Piauiense sob sistema plantio direto.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, n. 36, p. 851-858, 2012.

SANTOS, D. C. dos. et al. **Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco.** Recife: IPA, 2006. 48 f. (IPA. Documentos, 30).

SPARLING, G. P. **Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health.** In: PANKHURST, C; Doube, B. M; Gupta, V. V. S. R. Ed(s). Biological indicators of soil health. Cambridge: CAB International, 1997. p. 97-120.

TÓTOLA, M. R., CHAER, G. M. **Microrganismos e processos microbiológicos como indicadores da qualidade do solo.** In: ALVAREZ V., V. H., SCHAEFER, C. E. G. R., BARROS, N. F., MELO, J. W. V., COSTA, L. M. Ed(s). Tópicos em ciência do solo. Viçosa, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002, p. 195-276.

VANCE, E.D; BROOKES, P.C; JENKINSON, D.S. **An extraction method for measuring soil microbial biomass C.** Soil Biology Biochemistry, v. 19, n. 7, p. 03-707, 1987.

---

# EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE *AVICENIA* *SCHAUERIANA* SOBRE *Aedes aegypti*

Santana, M.A.N.<sup>(1)</sup>; Araújo, J.G.<sup>(1)</sup>; Neto, P.P.M.<sup>(1)</sup>; Rodrigues, C.F.C.<sup>(1)</sup>; Barbosa, J.A.P.<sup>(1)</sup>; Oliveira, T. B.<sup>(1)</sup>; Pinto, I.M.A.<sup>(1)</sup>; Lima, F.T.<sup>(2)</sup>; Bezerra, H.M.S.<sup>(2)</sup>; Gomes-Júnior, P.P.<sup>(2)</sup>; Vieira, J.R.C.<sup>(1)</sup> Marllon\_gb@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>(2)</sup> Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Serra Talhada - PE, Brasil.

## RESUMO

*Avicenia schaueriana* (Avicenniaceae), popularmente conhecida como mangue-preto, é uma das espécies mais comuns do mangue brasileiro. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana* sobre a eclosão de larvas de *Aedes aegypti*. O pneumatóforo (200g) foi triturado, extraído por infusão em água destilada (80°C) e liofilizado. Ovos de *A. aegypti* (n=200) foram expostos às concentrações de 250, 500, 750 e 1000 µg/mL do extrato aquoso por um período de 0 -7 dias em temperatura de 27-29 °C. Como controle negativo, foi utilizado água mineral. Os ovos foram observados e contados em esteomicroscópio (1.2x) e os dados estatísticos foram analisados no software SigmaStat 3.5 através do teste de Tukey com valor de  $p < 0,05$ . O controle negativo eclodiu 60%, assim como na concentração de 1.000 µg/mL que não mostrou diferença significativa em relação ao controle. Nas concentrações de 250, 500 e 750 µg/mL o percentual de eclosão foi 22,5%, 35% e 22,5% respectivamente, logo apresentaram valores estatisticamente significativos tanto em relação ao controle quanto à concentração de 1.000 µg/mL. O extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana* mostrou efeito inibitório na eclosão de larvas para as concentrações de 250, 500 e 750 µg/mL.

**Palavras-chave:** Mangue-preto, Pneumatóforo, Dengue.

## INTRODUÇÃO

*Avicennia schaueriana* é uma planta cuja alocação ao nível de família foi por vezes alterada, ora como membro da Verbenaceae ora como da família Avicenniaceae, mas que após estudos filogenéticos foi finalmente situada na família das Acanthaceae, listado como um gênero nativo do Brasil (SOUZA e LORENZI, 2008). É uma espécie endêmica da vegetação de manguezal popularmente conhecida como mangue-preto ou siriúba, tendo abrangência em áreas que vão desde as Pequenas Antilhas e ao longo da Costa do Atlântico da América do Sul ao Uruguai. Espécies do gênero *Avicennia* têm importância como estabilizadoras do solo da costa, produção de mel, curtimento do couro, além de sua madeira ter utilidade na construção e como combustível (SMITH et al., 2004).

Avaliando a atividade antibacteriana de extratos hidro-alcoólicos de folhas, casca e raiz de *A. schaueriana* Santos et al. (2010) encontrou maiores halos testando os extratos das raízes contra *Staphylococcus aureus* ATTC 6835, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. Os extratos da casca também exibiram atividade inibitória, mas com menores halos. Apresentou atividade antifúngica contra *Cladosporium cladosporioides* e *C. sphaerospermum*, onde o extrato bruto do caule teve destaque nesta inibição e as principais substâncias responsáveis por esta atividade foram o lupeol (triterpeno) e a naftoquinona (lapachol) (FARDIN e YOUNG, 2011). Em estudos de fitorremediação, a *A. schaueriana* alcançou uma

eficiência na remoção de frações de hidrocarbonetos do petróleo de 87% e este mesmo estudo demonstrou a capacidade de bioestimulação desta planta quando no crescimento microbiano no meio que reproduzia as características do mangue (MOREIRA et al., 2013).

Apesar de se tratar de uma planta pouco estudada, *A. schaueriana* já revela que possui ações farmacológicas importantes e é preciso então conhecer os efeitos toxicológicos desta planta para dar suporte a posteriores estudos de suas ações biológicas e conhecimento de seus metabólitos bioativos.

A família Rhizophoraceae e a antiga Avicenniaceae, que compreende o gênero *Avicennia* (Acanthaceae), são produtoras de compostos químicos pertencentes a grupos de importante aplicabilidade biológica, incluindo, assim, compostos que estão entre os produtos do metabolismo primário e secundário, possuindo importância ecológica, toxicológica e farmacológica. Constituem uma rica fonte de taninos, compostos utilizados nas indústrias de plásticos, tintas e cerâmica; compostos orgânicos contendo enxofre, os alcalóides (BANDARANAYAKE, 2002).

Compostos polifenólicos diversos são produzidos nas folhas de *R. mangle* cujos níveis são dinâmicos de acordo com o desenvolvimento e a senescência das folhas e altamente influenciados pelos fatores abióticos como salinidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes, sobretudo em condições extremas e desfavoráveis destes fatores

(KANDIL et al., 2004). Esta classe de compostos extraídos da casca de *R. mangle* exibiram significativo efeito antiinflamatório através da inibição da atividade da ciclooxigenase 2 (COX-2) e da fosfolipase A<sub>2</sub> *in vitro* (MARRERO et al., 2006). Dos extratos etanólicos da casca de *R. mangle* avaliados por cromatografia gasosa e espectrometria de massas também obteve-se uma constituição de 4% de ácidos graxos saturados e insaturados (PERERA et al., 2010).

Em geral, os estudos envolvendo o gênero *Avicennia* avaliam a espécie *A. marina* e, assim, pouco é conhecido sobre a fitoquímica de *A. schaueriana* (SHARAF et al., 2000). Estudos químicos utilizando cromatografia a gás e espectrometria de massas em *A. schaueriana* demonstraram a presença de naftaleno, hexadecanoato de etila, naftoquinona (lapachol), esqualeno e lupeol, este último com maior representatividade (FARDIN e YOUNG, 2011). Por esta carência e pela importância que estas espécies demonstram possuir, um estudo fitoquímico orientado a conhecer os componentes dos extratos aquosos foliares de *R. mangle* e *A. schaueriana* deve ser desempenhado para agregar valor a estas espécies naturais de manguezais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material vegetal***

Pneumatóforo de *Avicennia schaueriana* foi coletado em março de 2012 em Itamaracá, Estado de Pernambuco, Brasil e autenticado pela bióloga Marlene Barbosa do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### ***Ovos de mosquitos***

Ovos de *A. aegypti* foram originalmente obtidos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Serra Talhada, Pernambuco - Brasil. Os ovos de mosquitos foram mantidos em uma sala à 29 ° C em copos plásticos descartáveis umedecidos. Os ovos foram contados usando um microscópio estereoscópico e utilizados no ensaio *in vitro*.

### ***Preparação dos extratos***

Pneumatóforo (200 g) foi pesado e triturado. O material foi extraído por infusão com água destilada (80 °C), resultando no extrato aquoso. Após liofilização, os materiais vegetais secos em pó renderam 6,6% e foram armazenadas a 20 ° C. Este resíduo seco de extrato aquoso foi homogeneizado em 100 µL de água destilada em tubos de microcentrífuga e diluído em água para as concentrações de 250, 500, 750, e 1000 µg/ml.

### ***Bioensaio***

Os ovos *A. aegypti* foram expostos ao extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana* nas concentrações de 250, 500, 750, e 1000 µg / mL. O bioensaio foi realizado em duplicata durante sete dias consecutivos, utilizando 20 ovos para cada concentração que foram incubados em água mineral (200 mL) a 27 – 29°C . A eclosão das larvas foi observada em microscópio estereoscópico (1,2 x).

### ***Análise Estatística***

Os dados foram analisados no software SigmaStat 3.5 através do teste de Tukey com valor de  $p < 0,05$ .

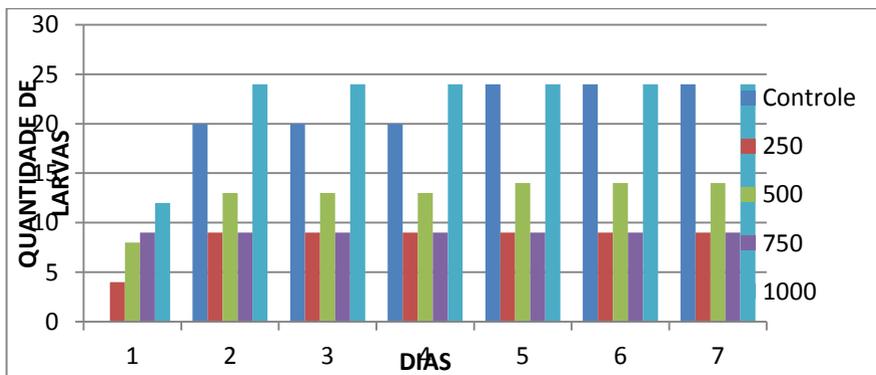
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após sete dias de exposição ao extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana*, houve eclosão em 60% para o controle negativo, assim como na concentração de 1.000 µg/mL que não mostrou diferença significativa em relação ao controle. Nas concentrações de 250, 500 e 750 µg/mL o percentual de eclosão foi 22,5%, 35% e 22,5% respectivamente, apresentando valores estatisticamente significativos tanto em relação ao controle quanto à concentração de 1.000 µg/mL (Tabela 1) (Figura 1). Altas incidências de embriotoxicidade específica foram encontradas em concentrações que causaram retardo no crescimento de larvas de *A. aegypti* (WHO, 2009).

**Tabela 1.** Efeito do extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana* em diferentes concentrações na eclosão de larvas de *A. aegypti*.

Larvas <sup>a</sup>	Dias	Tratado <sup>b</sup>				Controle <sup>c</sup>
		Concentração de extrato (µg/mL)				
		250	500	750	1000	
Eclosão (%)	0 – 7	22,5 <sup>d</sup>	35 <sup>d</sup>	22,5 <sup>d</sup>	60 <sup>d</sup>	60 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Nº de larvas = 200; <sup>b</sup> extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana*; <sup>c</sup> água mineral; <sup>d</sup> Percentual de eclosões.



**Figura 1.** Quantidade de larvas de *A. aegypti* eclodidas em sete dias sobre diferentes concentrações do extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana*.

Estudos relatando efeitos de extrato de plantas de mangue na eclosão de larvas de *A. aegypti* não foram encontrados na literatura, mas muitas plantas vêm sendo estudadas com diversos efeitos embriotóxicos.

De acordo com Vieira et al. (2012), *Indigofera suffruticosa*, planta comum do agreste e sertão pernambucano, mostrou atividade

embriotóxica em relação à eclosão das larvas de *A. aegypti*, bem como ação repelente na atividade de oviposição.

Estudo realizado por Kabarú e Gichia (2001) utilizando casca de *Rhizophora mucronata*, planta de mangue encontrada na costa africana, relatou que existem atividades repelente e inseticida frente a possíveis pragas da planta.

## CONCLUSÃO

O extrato aquoso de pneumatóforo de *A. schaueriana* mostrou efeito inibitório na eclosão de larvas para as concentrações de 250, 500 e 750 µg/mL.

Na concentração de 1000 µg/mL não houve diferença significativa em relação ao controle negativo.

## REFERÊNCIAS

FARDIN, K. M.; YOUNG, M. C.M. Estudo químico e avaliação da atividade antifúngica em *Avicennia schaueriana* Stapf. & Leech. Anais da 18<sup>ª</sup> Reunião Anual do Instituto de Botânica, ISSN 2238-5088, 2011. Disponível em: <http://www.ibot.sp.gov.br/publicacoes/raibt/2012/17.pdf>, acesso em 27 ago 2013.

KANDIL, F. E.; GRACE, M. H.; SEIGLER, D. S.; CHEESEMAN, J. M. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. **Trees**, v.18, p.518-528, 2004.

HUMAN PROMYELOCYTIC LEUKAEMIA HL-60 cells. **Science Asia**, v.38, p.349-355, 2012.

MARRERO, E.; SÁNCHEZ, J.; ARMAS, E.; ESCOBAR, A.; MELCHOR, G.; ABAD, M. J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A. M.; MEGÍAS, J. ALCARAZ, M. J. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). **Fitoterapia**, Short report v.77, p.313-315, 2006.

MARKHAN, K. R. Techniques of flavonoid identification. **London: Acad. Pres.**, p.52-61, 1982.

MOREIRA, I. T. A.; OLIVEIRA, O. M. C.; TRIGUIS, J. A.; QUEIROZ, A. F. S.; FERREIRA, S. L.C.; MARTINS, C. M. S.; SILVA, A. C.M.; FALÇÃO, B. A. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's) using *Avicennia schaueriana*. **Marine Pollution Bulletin**, v.67, n.1-2, p.130-136, 2013.

PERERA, L. M. S.; ESCOBAR, A.; SOUCCAR, C.; REMIGIO, M. A.; MANCEBO, B. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v.2(4), p.56-63, 2010.

RAMOS, M. G. M.; GERALDO, L. P. Avaliação das espécies de plantas *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* como bioindicadores de poluição por metais pesados em ambientes de mangue. **Eng. Sanit. Ambient.**, v.12, n.4, p.440-445.

SANTOS, S. C.; FERREIRA, F.S.; DAMIÃO, A. O.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, Verbenaceae. **Rev. bras. farmacogn.**, v.20, n.1, p.124-129, 2010.

SHARAF, M.; EL-ENSARI, M. A.; SALEH, N. A.M. New flavonoids from *Avicennia marina*. **Fitoterapia**, v.71, n.3, p.274-277, 2000.

SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. Flowering plants of the neotropics. United Kingdom: Princeton University Press, 2004, 594p.

KABARU, J.M. AND GICHIA, L. Insecticidal activity of extracts derived from different parts of the mangrove tree *Rhizophora mucronata* (rhizophoraceae) lam.

Against three arthropods. African Journal of Science and Technology (AJST) Science and Engineering Series Vol. 2, No. 2, pp. 44-49,2001.

VIEIRA, J.R.C.; LEITE, R.M.P.; LIMA I. R.; NAVARRO, D.A.F.; BIANCO,E.M.; LEITE, S.P. Oviposition and Embryotoxicity of *Indigoferasuffruticosa* on Early Development of *Aedesaegypti* (Diptera: Culicidae). Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 741638, 5 pages doi:10.1155/2012/741638,2012.

---

## **EFEITO DO NaCl NO CRESCIMENTO DA *Blutaparon portulacoides* MEARS**

**Costa, I.S.C.<sup>(1)</sup>; Reis, A. T.<sup>(1)</sup>; Araújo, J.P.<sup>(1)</sup>; Sousa, L. A.<sup>(1)</sup>; Bonilla, O.H.<sup>(1)</sup>; Silva, R. L.<sup>(1)</sup>** isabela.costa@aluno.uece.br

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Ceará - UECE, Fortaleza - CE, Brasil.

### **RESUMO**

Solos salinizados contêm sais solúveis em quantidade suficiente para prejudicar o crescimento das plantas e são consequências do clima e da ação antrópica. Desse modo, buscam estudar a capacidade de utilização de plantas adaptadas a ambientes salinos, as halófitas. *Blutaparon portulacoides* (St-hil) Mears é uma halófito psamófila que possuem mecanismos metabólicos e fisiológicos para retirar o excesso de sais do meio. O objetivo da pesquisa é avaliar os efeitos da salinidade sobre a *Blutaparon portulacoides*. As plantas foram coletadas e através de propagação vegetativa, foram obtidas mudas que cresceram em bandejas de isopor compartimentalizadas contendo húmus. Seguidamente após enraizamento, estas foram transferidas para vasos e

submetidas a dois substratos: areia e vermiculita. Nesta transferência avaliou-se a altura de cada planta e foram registrados. Foram submetidas a cinco tratamentos salinos (0mM; 50mM; 100mM; 150mM e 200mM de NaCl), com seis repetições cada. Durante sessenta dias, as amostras foram submetidas as suas respectivas concentrações salinas e a cada seis dias foram avaliados as alturas. Os resultados mostraram que a espécie estudada apresentou um melhor crescimento no substrato vermiculita. Nos substratos de vermiculita e areia houve maior TCR em 0mM. Já o maior TCA em areia foi em 0mM e 50mM em vermiculita.

**Palavras-chave:** Halófito Costeira, Taxa de Crescimento, Salinização.

## INTRODUÇÃO

Os solos são considerados salinos quando a concentração de sais é igual ou excede a 0,5%, e correspondem a aproximadamente 6% da superfície dos continentes (LARCHER 1995, STREET & ÖPIK 1984). Solos salinizados são aqueles que contêm sais solúveis em quantidade suficiente para prejudicar o crescimento das plantas (RENGASAMY, 2006). A salinização é um fenômeno crescente em todo o mundo, principalmente em regiões áridas e semiáridas, decorrente de condições climáticas e da ação antrópica, sendo que no Nordeste brasileiro os solos afetados por sais ocupam uma área de aproximadamente 9,1

milhões de hectares (BRASILEIRO, 2009). No Nordeste, aproximadamente 25% das áreas irrigadas foram salinizadas (GHEYI, 2000). Acredita-se que cerca de bilhões de hectares de solos sejam alterados por sais, com grande parte de todas as áreas irrigadas do mundo sofrendo com a redução da produção em decorrência do excesso de sais (KEIFFER & UNGAR, 2002; HORNEY et al., 2005). Estes problemas são consequências do uso de terras marginais e do manejo inadequado da irrigação (RIBEIRO et al., 2003). Apesar da expansão de áreas com esses problemas, procedimentos de recuperação ainda são pouco utilizados (QADIR et al., 1998). As plantas capazes de tolerar ambientes salinos são denominadas halófitas e ocupam, em geral, locais pobres em nutrientes e submetidos à forte luminosidade (DICKISON, 2000). As halófitas têm sido investigadas tendo em vista que a intensificação da agricultura, o uso indevido da água, combinado com a alta evapotranspiração, têm contribuído fortemente para salinização dos solos (KOYRO 2006; FLOWERS & FLOWERS 2005). Essas plantas apresentam tolerância ao sal devido à sua capacidade de compartimentalização dos íons no vacúolo da célula. Esta resistência se deve à habilidade de evitar que elevadas quantidades de sal, provenientes do substrato, alcancem o protoplasma e, por meio de regulação salina, de tolerar os efeitos tóxicos e osmóticos associados ao aumento na concentração de sais (LARCHER, 2000). As plantas halófitas desenvolvem-se naturalmente em ambientes com elevadas

concentrações salinas (tipicamente Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>), que podem variar de 4,5 a 14,0 dS/m (WILLADINO; CAMARA, 2005). A *Blutaparon portulacoides* (St - hil) Mears é conhecida popularmente como pixirri ou capotiragua. É uma vegetação halófito-psamófito. Halófito pela tolerância ao sal e psamófito pela tolerância da alta mobilidade do substrato devido ao solo arenoso. Além disso, os ambientes onde estas plantas ocorrem podem apresentar baixa disponibilidade de matéria orgânica, drenagem rápida da água, luz solar direta e intensa causando superaquecimento durante algumas horas do dia, principalmente nos meses mais quentes (ANDRADE, 1966). O objetivo do trabalho foi testar o efeito do NaCl no crescimento da *Blutaparon portulacoides* em dois substratos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

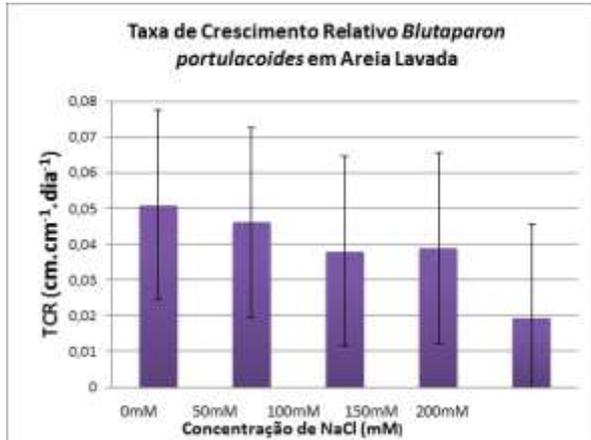
O experimento foi iniciado no mês de Julho de 2012, realizado no Laboratório de Ecologia da Universidade Estadual do Ceará - UECE (campus Itaperi) em Fortaleza-Ce, no período de Julho a Outubro de 2012. A espécie *Blutaparon portulacoides* foi coletada no manguezal da Sabiaguaba (Fortaleza/CE) e em seguida foi feito o processo de propagação vegetativa. Foram realizados cortes transversais, com tesoura e as amostras colocadas para enraizar em duas bandejas de

isopor com 200 células cada, contendo húmus e foram regadas com água corrente. As bandejas permaneceram em sombra e foram regadas diariamente por 30 dias com água corrente, no período da manhã até às 10h ou no período da tarde das 16h às 18h. Após os 30 dias as plantas já estavam enraizadas. Assim, foram selecionadas 80 amostras levando em consideração o padrão de altura. As amostras selecionadas foram retiradas das bandejas e pesadas em uma balança de precisão semi-analítica com capacidade de 310g e resolução 0,001G – L303 e depois transferidas para vasos que possuem 300ml. No experimento foram usados dois tipos de substratos (vermiculita e areia lavada). Quando passadas para os vasos, todas as plantas foram regadas com água corrente num período de sete dias e depois foram submetidas a cinco concentrações de NaCl diferentes (0mM, 50mM, 100mM, 150mM e 200mM) onde foram divididos em 5 grupos, que corresponde a cada concentração de NaCl utilizada no experimento. Cada concentração com 6 repetições. Totalizando 60 amostras. Os vasos foram etiquetados com de acordo com o substrato, com a concentração da solução salina de NaCl e com a numeração que cada vaso recebeu. As amostras contidas nos vasos foram regadas ao longo do experimento com solução nutritiva seguindo o protocolo de Breckle (1976). Cada grupo foi regado com uma piseta correspondente a solução que foi submetida e regadas no período da manhã até às 10h ou no período da tarde as 16h às 18h, durante 60 dias. As medições de alturas das amostras eram feitas

de 6 em 6 dias, totalizando 11 medições. As taxas de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR) foram calculadas para a espécie, com base nas médias de altura em cada tratamento salino, através das seguintes fórmulas:  $TCA = W2 - W1/\Delta T$ ,  $TCR = \ln W2 - \ln W1/\Delta T$ , onde  $W2$  = Mensuração 2 da altura na fase 2;  $W1$  = Mensuração 1 da altura na fase 1;  $\Delta T$  = Diferença de tempo decorrido entre as fases 1 e 2.

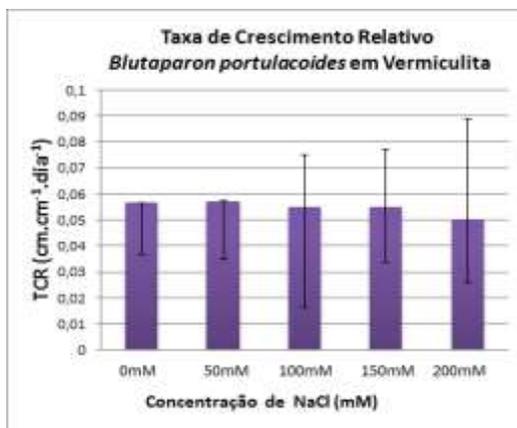
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise de crescimento é um método que descreve as condições morfofisiológicas da planta em diferentes intervalos de tempo entre duas amostragens sucessivas (MAGALHÃES, 1986). Na figura 1 foi verificado que o TCR no substrato areia lavada foi maior no controle 0mM ( $TCR=0,050\text{cm.cm}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ) e que decresceu com o aumento da concentração de NaCl. O mais baixo TCR foi em 200 mM ( $TCR=0,019\text{cm.cm}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ).



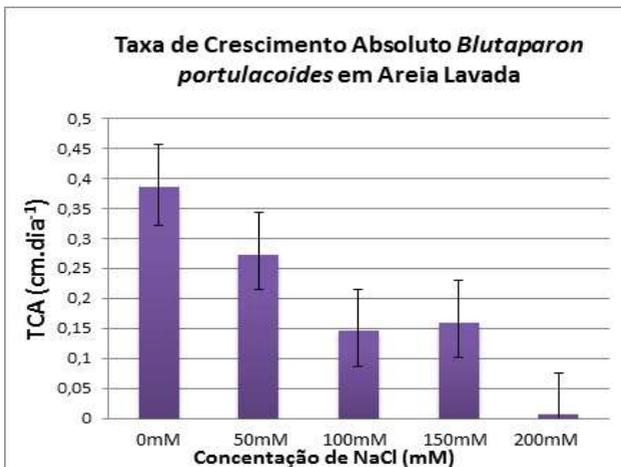
**Figura 1.** TCR no substrato areia lavada.

Desse modo, a taxa de crescimento relativo em 200 mM foi 62% menor que no controle. Já no substrato vermiculita (Figura 2) ocorreu também um maior crescimento na concentração de 0mM (TCR=0,056cm.cm<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>) e menor em 200mM (TCR=0,050cm.cm<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>).



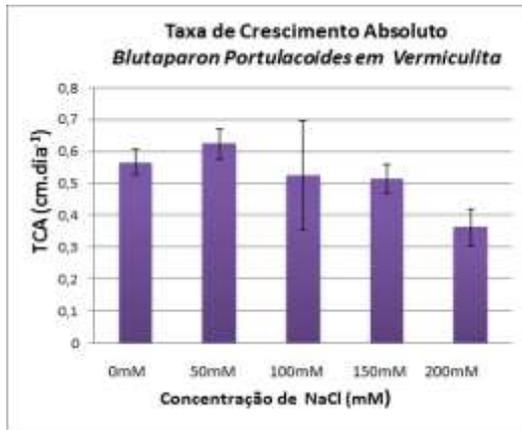
**Figura 2.** TCR no substrato vermiculita.

Assim, afirma-se que a concentração em 0mM foi 10,7% maior que na concentração de 200mM. O TCR do substrato vermiculita é 10,7% maior em comparação a areia lavada. Tratando-se de TCA foi observado que no substrato areia lavada (Figura 3) houve melhor crescimento no grupo de 0mM ( $TCA=0,386\text{cm.dia}^{-1}$ ) e menor em 200mM ( $TCA=0,006\text{cm.dia}^{-1}$ ). O TCA em 200mM em areia lavada foi 98,4% maior que em 0mM.



**Figura 3.** TCA no substrato areia lavada.

Já no substrato vermiculita (Figura 4) apresentou maior crescimento em 50mM ( $TCA=0,625\text{ cm.dia}^{-1}$ ) e menor no controle ( $TCA=0,565\text{ cm.dia}^{-1}$ ). O TCA em 50mM no substrato vermiculita foi 9,6% maior que o controle no mesmo substrato. O menor crescimento nesse substrato foi em 200mM ( $0,362\text{ cm.dia}^{-1}$ ).



**Figura 4.** TCA no substrato vermiculita.

O TCA em vermiculita é 38,2% maior que em areia lavada. Desse modo, verificamos que o substrato vermiculita possuiu um maior crescimento em relação ao substrato areia. Segundo Larcher (2000), os processos de crescimento são particularmente sensíveis ao efeito do sal, de forma que a taxa de crescimento e a produção de biomassa são bons critérios para avaliação do grau de estresse e da capacidade da planta em superar a salinidade.

## CONCLUSÃO

O efeito do NaCl nas plantas não exerceu grande influencia sobre elas, pois todas sobreviveram;

Houve um melhor desenvolvimento no substrato vermiculita;

A *Blutaparon portulacoides* não apresentou crescimento compatível com os padrões obtidos por halófitas, isto talvez se deva a sua grande plasticidade fenotípica;

Há necessidade de se repetir o experimento para conferir os resultados obtidos.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, M.A. 1966. Anatomia foliar de algumas plantas frequentes nas praias arenosas do Estado de São Paulo. Ciência e Cultura, São Paulo, v. 28, n. 11, p. 1297-1305.

DICKISON, W. C. 2000. Integrative plant anatomy. Harcourt Academic Press, San Diego, 533p.

FLOWERS, T. J. & FLOWERS, S. A. 2005. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? Agriculture Water Management 78(1): 15-24.

GHEYI, H.R. Problemas de salinidade na agricultura irrigada. In: OLIVEIRA, T.; ASSIS, R.N.; ROMERO, R.E. & SILVA, J.R.C., eds. Agricultura, sustentabilidade e o semi-árido. Fortaleza, Universidade Federal do Ceará, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2000. p.329-345.

HORNEY, R.D.; TAYLOR, B.; MUNK, D.S.; ROBERTS, B.A.; LESCH, S.M. & PLANT, R.E. Development of practical site-specific management methods for reclaiming saltaffected soil. Comp. Electr. Agric., 46:379-397, 2005.

KEIFFER, C.H. & UNGAR, I.A. Germination and establishment of halophytes on brine-affected soils. J. Appl. Ecol., 39:402-415, 2002.

KOYRO, H. W. 2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potencial cash crop halophyte *Plantago coronopus* L. Environmental and Experimental Botany 56: 136-146.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RiMa, 2000. 531p.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Paulo, Rima, 2000. 529p.

MAGALHÃES, A.C.N. Análise quantitativa de crescimento. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EDUSP, 1986. V.1, p.331-350.

QADIR, M.; QURESSHI, R.H. & AHMAD, N. Horizontal flushing: A promising ameliorative technology for hard saline-sodic and sodic soils. *Soil Till. Res.*, 45:119-131, 1998.

RIBEIRO, M.R.; FREIRE, F.J. & MONTENEGRO, A.A.A. Solos halomórficos no Brasil: Ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: CURTI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, L.R.G.; LIMA, J.M.; LOPES, A.S. & ALVAREZ V., V.H., eds. Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. v.3. p.165-208.

WILLADINO, L.; CAMARA, T.R. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L.; WILLADINO, L. Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Recife, 2005. p.118-126.

---

## **EFEITO DO SPL NO CRESCIMENTO RADICULAR DE *Lactuca sativa***

**Galter, I. N.<sup>(1)</sup>; Barbosa, R. M.<sup>(1)</sup>; Aragão, F. B.<sup>(1)</sup>; Andrade-Vieira, L. F.<sup>(1)</sup>**  
iasminicoligalter@hotmail.com

<sup>(1)</sup> Departamento de Biologia, Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Guararema Alegre - ES, Brasil.

### **RESUMO**

O SPL (Spent Pot Liner) é um resíduo sólido gerado pela indústria de alumínio com alto grau de toxicidade. Em sua composição apresenta sais de fluoreto e cianeto que contribuem para sua classificação como agente perigoso, sendo um importante contaminante ambiental. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de SPL, que

simulou a lixiviação do resíduo para o meio ambiente, no modelo *Lactuca sativa*. Para tanto, foram realizados bioensaios vegetais envolvendo testes de crescimento radicular. Esses bioensaios têm sido considerados ótimas ferramentas para auxiliar na prospecção de efeitos tóxicos de poluentes ambientais, bem como encontrar soluções que sejam ecologicamente corretas para contornar os problemas associados a esse agente tóxico. Os resultados do teste de crescimento radicular demonstram que houve uma diminuição do crescimento radicular quando os bioensaios foram expostos ao SPL, caracterizando assim o seu potencial fitotóxico.

**Palavras-chave:** Resíduo, Alumínio, Lixiviação.

## INTRODUÇÃO

Atualmente um dos principais problemas da poluição ambiental no mundo são os resíduos gerados pelas indústrias. Infelizmente para o aumento do desenvolvimento econômico é indispensável à presença cada vez maior dessas. Esses resíduos podem estar nos estados líquido, sólido e gasoso, poluindo tanto a água como o solo e o ar, dependendo das atividades de cada indústria, visto que hoje se tem uma grande diversidade delas (PEREIRA, acesso em: 06 jan. 2013).

Uma das indústrias que vem crescendo muito nos últimos anos é a indústria de alumínio, que chegou a uma taxa de crescimento média mundial de 3% por ano. O alumínio não é encontrado na natureza em sua forma livre. Ele precisa ser extraído da bauxita, sua matéria prima. O processo de produção é muito complexo e gera um resíduo sólido chamado de Spent Pot Liner (SPL), quando as células eletrolíticas para redução da alumina encontram-se desgastadas. O SPL é considerado um

agente tóxico perigoso principalmente por apresentar cianetos e sais de fluoreto solúveis em sua composição (SILVEIRA et al., 2003).

A quantidade de SPL produzido no mundo diariamente é de aproximadamente duas mil toneladas, o que corresponde entre 20 e 30 kg de SPL por cada tonelada de alumínio fabricado (PRADO, BRESSIANI, 2007). Apesar da grande quantidade de SPL gerado, ainda não existe um método adequado para a eliminação deste resíduo no ambiente, sendo este eliminado em sua grande maioria em aterros sanitários aumentando assim a possibilidade de sua lixiviação para o meio ambiente (EL-FADEL et al., 1997).

A lixiviação do SPL para o meio ambiente pode contaminar cursos d'água e causar uma variedade de efeitos tóxicos nos organismos. Como consequência do efeito do SPL em células meristemáticas de espécies modelos, mutações genéticas e aberrações cromossômicas podem ser observadas. Com isso, para entender o que o SPL pode causar no organismo e no meio ambiente é necessário estudar seu efeito. Neste sentido alguns testes como o de crescimento radicular e germinação e os testes de citogenética, avaliando o ciclo celular, são utilizados para ajudar a determinar os mecanismos de ação deste resíduo (ANDRADE et al, 2008).

O objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito de diferentes concentrações de SPL, um resíduo sólido da indústria de alumínio,

através de testes de crescimento radicular, utilizando como bioindicador vegetal o modelo *Lactuca sativa*.

## **MATÉRIAL E MÉTODOS**

Para a análise da toxicidade do SPL foi realizada avaliações no crescimento radicular de *Lactuca sativa L.*, utilizando como material vegetal a cultivar comercial Boston Branca (Isla Sementes). As sementes foram tratadas com soluções de SPL simulando a lixiviação natural do resíduo no ambiente.

Para tanto três concentrações de SPL (0%, 10% e 25%) foram testadas. Estas concentrações representam a quantidade de SPL (mg) misturada ao solo (mg) e adicionadas a solução de  $\text{CaCl}_2$  0,01M a fim de preparar os lixiviados. Cada 20g de solo+SPL foram misturados a 200mL de  $\text{CaCl}_2$  0,01M, de forma que a parte sólida de cada concentração foi representada por 10% (m/v) do volume final da solução. O  $\text{CaCl}_2$  foi utilizado como veículo solúvel a fim de simular as forças iônicas presente naturalmente no solo (Andrade et al, 2010).

Estas misturas foram incubadas em um agitador durante 12h e em seguida foram mantidas em repouso por 12h, este procedimento foi repetido mais duas vezes, completando três ciclos. Após as repetições as soluções foram centrifugadas e o sobrenadante foi filtrado e recolhido. Esse lixiviado foi utilizado durante todo o estudo.

Para o teste de crescimento radicular as sementes foram dispostas em 20 placas de Petri sobre papel de germinação, onde cada placa continha 50 sementes. A *Lactuca sativa* primeiramente foi pré-exposta a água destilada por 20 horas, para germinação com protusão radicular de aproximadamente 0,3 a 0,5 cm. As sementes germinadas foram então tratadas com 10 ml das diferentes concentrações do lixiviado de SPL (0, 10 e 25%) e conservadas em uma temperatura de 24°C na BOD.

Os tratamentos foram dispostos ao acaso, com cinco repetições por tratamento, sendo que cada repetição representou uma placa de Petri com 50 sementes. As soluções de SPL 0% foram usadas como controle negativo.

O crescimento radicular foi avaliado após a exposição em água destilada e após 4h, 8h, 12h, 24h e 36h de exposição aos tratamentos com o auxílio de um paquímetro.

Para os testes estatísticos foi utilizado o software livre “R” (R Development Core Team, 2011) empregando a análise de variância e testes de média de Tukey a 5% de probabilidade a fim de comparar as soluções estudadas.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As médias do tamanho das raízes expostas ao SPL de 4h a 36h estão apresentadas na Tabela 1. Foi observado uma redução significativa no

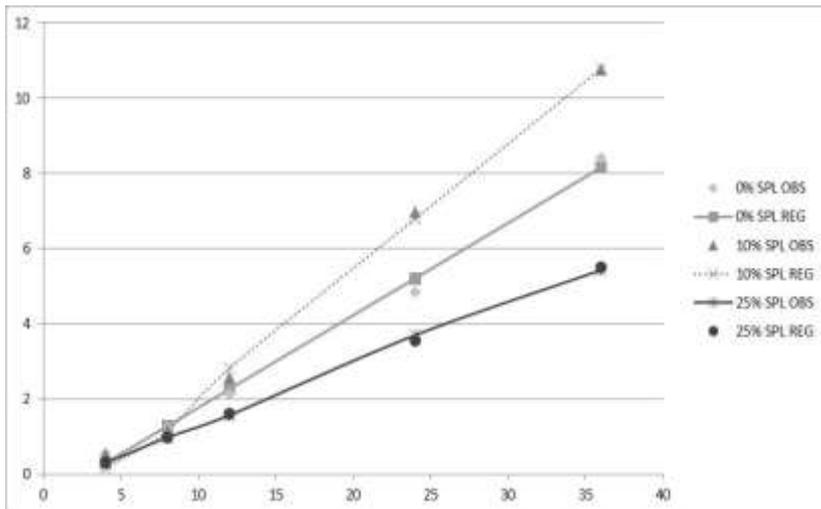
crescimento radicular, de *Lactuca sativa* a partir de 24 horas de exposição ao SPL, em comparação com o controle (0% de SPL). Conforme o aumento na exposição e nas concentrações do tratamento houve uma queda progressiva no crescimento das raízes, chegando a uma redução de 35,51% no tempo de 36h para as raízes que estavam expostas ao tratamento com 25% de SPL. No tratamento com 10% de SPL não houve uma diminuição e sim um aumento no crescimento, pois nesse tratamento estão disponíveis moléculas que são micronutrientes para as plantas e que estão em quantidade não tóxica. A equação de regressão linear obtida para cada tratamento está apresentada na Tabela 1 e as curvas referentes aos valores observados e esperados estão plotadas na Figura 1.

**Tabela 1.** Crescimento médio das raízes (cm) de *Lactuca sativa* após exposição a diferentes tratamentos em determinados tempos.

<i>Lactuca sativa</i>						
Tratamentos	4h	8h	12h	24h	36h	Equação de regressão
SPL 0%	0,552	1,254	2,15	4,848	8,42	$y = 0,24x - 0,68$
SPL 10%	0,534	1,184	2,568	6,982	10,772	$y = 0,33x - 1,17$
SPL 25%	0,3	0,982	1,572	3,7 *	5,43*	$y = 0,16x - 0,32$

As curvas de regressão linear demonstram que a redução do crescimento foi constante e que os resultados observados foram próximos ao resultado esperado, apresentando coeficiente de correlação (R) de

0,998295; 0,9966; 0, 997843 e 0, 999234 para o tratamento controle e concentrações de 10 e 25% de SPL, respectivamente.



**Figura 1.** Regressão linear demonstrando a queda no crescimento radicular e os valores observados e esperados. O eixo X representa o crescimento radicular e o eixo Y o tempo de exposição.

Com base nos resultados encontrados fica evidente que o SPL exerce um efeito tóxico sobre o crescimento das raízes. Através da avaliação macroscópica foi observado uma diminuição significativa no crescimento das raízes a partir de 24 horas de exposição ao tratamento com 25% de SPL, comprovando essa capacidade do SPL em retardar o desenvolvimento das raízes.

O alumínio, que constitui um dos elementos presente na composição do SPL, está relacionado diretamente com a inibição do crescimento radicular. Isto ocorre, pois quando o alumínio se concentra na região

meristemática da raiz no espaço interior a membrana plasmática, chamado de simplasto, tem-se uma redução na proliferação celular (MATSUMOTO, 2000).

Além do alumínio o SPL apresenta em sua composição alguns metais pesados como o cobre, cádmio, ferro, chumbo, manganês e zinco. Destes metais o cádmio e o chumbo são elementos que não apresentam função no organismo das plantas, sendo causador de estresse em qualquer quantidade. Todos esses metais apresentam efeito fitotóxico nas plantas, o que potencializa a diminuição das raízes (LIU et al., 1992; OUZOUNIDOU et al., 1995).

A medida que aumentamos a concentrações de SPL o crescimento radicular vai diminuindo. Segundo Palmieri (2012) quando aumentamos a concentração ocorre um aumento de todas as substâncias, o ocasiona um saturamento do solvente, fazendo com que algumas substâncias como os sais de fluoretos e cianetos se dissociem facilmente. Essas substâncias são muito tóxicas diminuindo assim o crescimento radicular. Palmieri (2012) ainda cita que durante esse processo o alumínio acaba precipitando e não dissolvendo, demonstrando que este componente acarreta um menor risco ecológico.

Um trabalho realizado por Andrade et al. (2011) com *Allium cepa* demonstra que o efeito do SPL pode influenciar ainda na morfologia da raiz, causando algumas alterações na região da coifa das raízes, vistas através de microscopia eletrônica de varredura.

A redução no crescimento radicular de *Lactuca sativa* deve estar relacionado diretamente com alguma modificação no ciclo celular mitótico, assim como o observado no trabalho de Andrade (2010). Nesse trabalho o crescimento radicular diminuiu em consequência de alterações nucleares e aberrações cromossômicas no ciclo celular.

Com a comprovação do efeito tóxico do SPL é importante salientar a importância do descarte correto deste, pois seu efeito pode levar a problemas ao ecossistema e colocar em risco a saúde humana.

## CONCLUSÃO

De acordo com o estudo realizado fica evidente que o SPL exerce um efeito fitotóxico sobre o modelo *Lactuca sativa*.

Além disso, podemos inferir que o teste de crescimento radicular e o bioensaio de *Lactuca sativa* são ótimas ferramentas para determinar o potencial tóxico de resíduo presente no meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, L.F. et al. Cytogenetic alterations induced by SPL (Spent Pot Liner) in meristematic cells of plant bioassays. **Ecotoxicology Environmental Safety**, San Diego, 2008. In Press. Doi:10.1016/j.ecoenv.2008.02.018.

ANDRADE, L F; DAVIDE, L C; GEDRAITE, L S. The effect of cyanide compounds, fluorides and inorganic oxides present in spent pot Linner on germination

and root tip cells of *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, n. 73, p.626-631, 25 jan. 2010.

ANDRADE-VIEIRA, L.F.; et al. Spent Pot Linner (SPL) Induced DNA Damage and nuclear alterations in root tip cells of *Allium cepa* as a consequence of programmed cell death. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, n. 74, p.822-828, 12 jan. 2011.

EL-FADEL, M., FINDIKAKIS, A.N., LECKIE, J.O. Environmental impacts of solid waste landfilling. **Journal of Environmental Management**, v.50, p.1–25, 1997.

LIU, S. H. et al. Cell death in response to osmotic and salt stresses in two rice (*Oryza sativa* L.) ecotypes. **Plant Science**, v. 172, n. , p.897-902, 2007.

- MATSUMOTO, H. Cell biology of aluminum toxicity and tolerance in higher plants. **International Review of Cytology**, v. 200, p. 1-46, 2000.

OUZOUNIDOU, G. CIAMPOROVA, M. MOUSTAKAS, M. KARATAGLIS, S. Responses of maize *Zea mays* L. plants to copper stress—I. Growth mineral content and ultra structure of roots. **Environ.Exp.Bot.** 35(1995) 167–176.

PALMIEIRI, M.J., **Análise Comparativa do Efeito Citotóxico do SPL e seus Principais Componentes Fracionais**, Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG\*,2012.

PEREIRA, J. A. R. **GERAÇÃO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS E CONTROLE AMBIENTAL**. Pará. Disponível em:<<http://www.desenvolvimento.gov.br/arquivo/secex/sti/indbrasopodesafios/saber/josealmirfinal.pdf>>. Acesso em: 06 de jan. de 2013.

PRADO, U.S.; BRESSIANI, J. C. Utilização de resíduo gerado na demolição de cubas eletrolíticas de produção de alumínio na fabricação de vidros: (I) Tratamento e caracterização do resíduo. In: 51º Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2007, Salvador - BA. **Anais do 51º Congresso Brasileiro de Cerâmica - Ref.: 14-17**. São Paulo: Associação Brasileira de Cerâmica, 2007. p. 1-12.

SILVEIRA, B.I. et al. Effectiveness of cement-based for stabilization and solidification of spent pot Linner inorganic fraction. **Journal of Hazardous Materials**,v. 98, n. 1/3, 183-190, mar. 2003.

# **EFEITO SINÉRGICO DE PROTEÍNA DE *INDIGOFERA SUFFRUTICOSA* COM ANTIBIÓTICOS SOBRE *Staphylococcus aureus***

**Nascimento, W.M.<sup>(1)</sup>; Pereira, D.R.<sup>(1)</sup>; Oliveira, J.R.S.<sup>(1)</sup>; Silva Júnior, J.G.<sup>(1)</sup>; Brito, T.G.S.<sup>(1)</sup>; Oliveira, M.J.N.<sup>(1)</sup>; Siqueira, T.F.<sup>(1)</sup>; Correia, M.T.S.<sup>(1)</sup>; Coelho, L.C.B.B.<sup>(1)</sup>; Ximenes, E.C.P.A.<sup>(1)</sup>; Paiva, P.M.G.<sup>(1)</sup>; Lima, V.L.M.<sup>(1)</sup>**  
weber.biologia@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil, CNPq.

## **RESUMO**

*Indigofera suffruticosa* é uma planta da família Fabaceae comumente encontrada na região do Semi-Árido e Agreste do Estado de Pernambuco e é utilizada popularmente como medicamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito sinérgico entre antibióticos e proteína de folhas de *I. suffruticosa* sobre *Staphylococcus aureus*. O extrato aquoso foi submetido à cromatografia de afinidade para isolar compostos proteicos. Foi utilizada eletroforese em gel de poliacrilamida com sulfato dodecil de sódio (SDS-PAGE) para confirmação da purificação do material. A atividade antimicrobiana foi realizada pelo teste de susceptibilidade para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI). As avaliações dos efeitos sinérgicos foram realizadas a partir de soluções estoque proteico de *I. suffruticosa* com os antibióticos cefoxitina (Cf) e ciprofloxacina (Cp). A proteína isolada de *I. suffruticosa* associada aos antibiótico cefoxitina reduziu os valores da CMI deste antibiótico em diferentes proporções. O sinergismo foi demonstrado pelo índice da concentração inibitória fracional (ICIF) entre o antibiótico cefoxitina e a proteína isolada de *I. suffruticosa* contra a cepa *S. aureus* 27. Esses resultados sugerem que a proteína isolada de *I. suffruticosa* combinadas a

antibióticos convencionais, podem auxiliar no tratamento de infecções bacterianas.

**Palavras-chave:** Sinergismo; Proteína Ligante de Carboidrato; Bactéria Gram Positiva.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Indigofera* é constituído por cerca de 700 espécies, sendo na maior parte representadas por plantas herbáceas e subarborescentes (LACKEY, 1981; LEWIS *et al.*, 2005) fitogeograficamente distribuídas na África tropical, Ásia, Austrália e América do Norte e Sul (HASSEN *et al.*, 2007), regiões de clima tropical e sub-tropical.

*Indigofera suffruticosa* é uma planta arbustiva da família Fabaceae conhecida popularmente como anileira, com ramos pubescentes, propagando-se por sementes e folhas pinadas com 7-15 folíolos oblongos ou ovais, glabros na face e no verso (BRAGA, 1976) e esta distribuída em quase todo o território brasileiro (MOREIRA *et al.*, 1997) e é comumente encontrada na região do Semi-Árido e Agreste do Estado de Pernambuco

*I. suffruticosa* é popularmente usada em diferentes países contra diversos problemas de saúde. Suas folhas têm propriedades medicinais antiespasmódicas, sedativas e diuréticas (BRAGA, 1985). Recentes estudos demonstraram que o extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa*

possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Microsporium canis* e *Trichophyton rubrum* (LEITE *et al.*, 2006). Outros estudos demonstraram atividade antiinflamatória na redução de edema de pata de camundongos (LEITE *et al.*, 2003).

Com o intuito de conhecer ações biológicas de plantas, proteínas têm sido isoladas de várias espécies de plantas, especificamente, proteínas ligantes de carboidratos (PLC) (DEBRAY *et al.*, 1981). Estas proteínas têm a propriedade particular de interagir específica e reversivelmente com carboidratos e glicoconjugados, sem promover modificações químicas na estrutura covalente dos mesmos (CHRISPEELS *et al.*, 1991).

*S. aureus* é um coco Gram-positivo grande que cresce em cachos e é uma das mais resistentes bactérias não formadoras de esporos (SCHAECHTER *et al.*, 2002). Este é um patógeno que pode provocar endocardite, osteomielite hematogênica aguda, meningite ou infecção pulmonar, entre outras (TRABULSI *et al.*, 2000).

O efeito de antibióticos associado ao uso de plantas, na forma de macerados, infusões, chás, extratos, conhecido como sinergismo, surgiu em consequência da automedicação associada ao uso ervas (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

As plantas medicinais são popularmente utilizadas junto com medicamentos convencionais (AMORIM *et al.*, 1999). Nestas

associações, as plantas e/ou seus subprodutos podem atuar inibindo ou intensificando o efeito terapêutico dos medicamentos convencionais, podendo interferir na resposta esperada (NASCIMENTO *et al.*, 2000).

Embora existam muitos estudos de efeitos sinérgicos entre extratos vegetais e drogas convencionais há poucos estudos sobre sinergismo entre proteínas isoladas e antibióticos. Sendo assim o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito sinérgico entre antibióticos e proteína isolada de folhas de *I. suffruticosa* sobre *S. aureus*. Esta avaliação é importante devido a crescente resistência bacteriana frente a antibióticos e ao uso frequente de plantas com potenciais agentes farmacológicos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As folhas de *I. suffruticosa* foram coletadas no município de São Caetano, região agreste do estado de Pernambuco. Estas foram secas em estufa á 38 °C durante o período de 72 horas. O material seco foi separado e triturado e utilizado para preparo de extratos aquosos. Cerca de 50 g de folhas da *I. suffruticosa* foram misturadas com 300 mL de água destilada e deixados sob agitação constante durante 16 horas. Os extratos brutos obtidos, após filtração com papel de filtro, foram concentrados por liofilização.

As proteínas presentes no extrato foram quantificadas segundo o método de LOWRY (1951). O extrato aquoso foi submetido à cromatografia de afinidade para purificação de compostos proteicos. Foi utilizada eletroforese em gel de poliacrilamida com sulfato dodecil de sódio (SDS-PAGE) descrita por LAEMMLI (1970) em gel 12% com amostra de proteína purificada.

Para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) foi utilizado o teste de susceptibilidade segundo normas descritas pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards. A glicoproteína (concentração protéica inicial de 1mg/ml) juntamente com caldo seletivo bacteriano (Müeller-Hinton) foi diluída seriadamente em placas de 96 furos (ELISA). Para esta placa foram transferidas (5 µl) de diferentes cepas de isolados clínicos de *S. aureus*, obtidos no Departamento de Antibióticos da UFPE, com concentração ajustada frente a tubo 0,5 McFarland de turbidez padrão. Após incubação a 32 °C por 24 h foi investigada atividade antibacteriana de PLC pelo ensaio de medida de turbidez para avaliação do crescimento bacteriano.

Foram realizadas avaliações dos efeitos sinérgicos a partir de soluções estoque da glicoproteína com os antibióticos cefoxitina (Cf) e ciprofloxacina (Cp) que foram preparadas em proporções variáveis de antibiótico/proteína (v/v). A interação foi avaliada algebricamente pela determinação do Índice da Concentração Inibitória Fracional (ICIF). Valores do índice CIF < 0,5 são considerados como sinergismo. Valores

do Índice  $0,5 < CIF < 2$  representam efeito indiferente, enquanto os valores maiores que 2 representa antagonismo (CHUSRI & VORAVUTHIKUNCHAI, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No isolamento da PLC do extrato aquoso de *I. suffruticosa* foi observado na cromatografia a presença de um pico único após eluição com ácido acético 1 M. A eletroforese por SDS-PAGE confirmou a pureza do material proteico.

A proteína isolada do extrato de *I. suffruticosa* demonstrou ação antimicrobiana contra diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* (Tabela 1). Estudo com proteína isolada de cerne de *Myracrodruon urundeuva* também demonstrou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (SÁ *et al.*, 2009).

**Tabela 1.** Concentração mínima inibitória - CMI, de PLC.

Micro-organismo	Cepas	CMI ( $\mu\text{gml}^{-1}$ )
<i>S. aureus</i>	13	250
	14	500
	15	31,25
	17	1000
	27	15,62
	138	1000
	311	1000

Os resultados do sinergismo demonstram que na presença da PLC de *I. suffruticosa* houve diminuição da CMI da cefoxitina em diferentes

proporções (antibiótico/proteína) para a cepa *S. aureus* 27, porém o mesmo não ocorreu para ciprofloxacina (Tabela 2). A CMI do antibiótico cefoxitina reduziu a CMI contra a cepa 27 em diferentes proporções havendo maior significância, 70% de redução, para a proporção de 6:4 (6,25 µg da PLC).

Estudos in vitro relatam a utilização de produtos vegetais em combinação com antibióticos com redução significativa nos CMIs dos antibióticos contra algumas cepas resistentes (AL-HEBSHI *ET AL.*, 2006; DARWISH *ET. AL.*, 2002;. BETONI *et al.*, 2006).

A avaliação da ICIF entre a proteína isolada de *I. suffruticosa* e o antibiótico cefoxitina demonstrou que houve sinergismo entre estes componentes na proporção 6:4 contra a cepa *S. aureus* 27 (Tabela 3).

**Tabela 2.** CMI de cefoxitina (Cf) e de ciprofloxacina (Cp) na ausência e presença da proteína ligante de carboidrato (PLC) em diferentes proporções contra diferentes cepas de *S. aureus*

Cepas	CMI (µgml <sup>-1</sup> )			
	Cf	Cf +PLC (v/v)	Cp (v/v)	Cp+PLC (v/v)
<i>S. aureus</i> 15	2	2 (6:4)	0,125	0,35 (7:3)
		5,6 (7:3)		0,4 (8:2)
<i>S. aureus</i> 27	2	0,6* (6:4)	0,25	0,7 (7:3)
		1,4 (7:3)		0,4 (8:2)
		1,6 (8:2)		0,45 (9:1)

CMI: Concentração mínima inibitória; PLC: Proteína ligante de carboidratos; Cf: cefoxitina; Cp: ciprofloxacina.

Cefoxitina e ciprofloxacina enquadram-se na classe de antibióticos β-lactâmicos que possuem estrutura anelar β-lactâmica e agem

interferindo na síntese da parede celular bacteriana (BRODY *et al.*, 2006).

**Tabela 3.** ICIF de cefoxitina e de ciprofloxacina com PLC de *I. suffruticosa* em diferentes proporções contra diferentes cepas de *S. aureus*.

Cepas	ICIF	
	Cf+PLC (v/v)	Cp+PLC (v/v)
<i>S. aureus</i> 15	1,5 (6:4)	2,95 (7:3)
	2,6 (7:3)	3,3 (8:2)
<i>S. aureus</i> 27	0,5*(6:4)	3,4 (7:3)
	1,3 (7:3)	1,8 (8:2)
	1,2 (8:2)	1,9 (9:1)

\*Sinergismo quando CIF < 0,5; ICIF: Concentração inibitória fracional; PLC: Proteína ligante de carboidratos; Cf: cefoxitina.

A capacidade de produtos vegetais de potencializarem antibióticos ainda não está bem explicada. Sugere-se que a inibição do efluxo da droga da célula microbiana pode ser responsável pelas interações sinérgicas entre produtos de plantas e antibióticos (LEWIS E AUSUBEL, 2006; ZHAO *et al.*, 2001).

Os resultados indicam uma potencialização da ação da cefoxitina contra o *S. aureus* provocado pela PLC da *I. suffruticosa*, o que viabilizaria o uso deste produto vegetal contra infecções bacterianas e reduziria a resistência à antibióticos.

## CONCLUSÃO

A glicoproteína de *I. suffruticosa* reduziu a CMI da cefoxitina quando associada com este antibiótico e potencializou o efeito sinérgico contra o *S. aureus* 27 .

Os resultados sugerem que proteínas isoladas de *I. suffruticosa* combinadas a antibióticos convencionais, podem auxiliar no tratamento de infecções bacterianas.

## REFERÊNCIAS

AL-HEBSHI, N.; AL-HARONI, M.; SKAUG, N. In vitro antimicrobial and resistance-modifying activities of aqueous crude khat extracts against oral microorganisms. **Archives of Oral Biology**, v. 51, p. 183-188, 2006.

BETONI, J.E.C.; MANTOVANI, R.P.; BARBOSA, L.N.; DI-STASI, L.C.; FERNANDES, A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 4. 2006.

BRAGA, R.. **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará**. Editora Universitária da UFRN. Natal. 1985

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará**. Mossoró Escola Superior de Agricultura. 1976

BRODY, T.M.; WECKER, L.; MINNEMAN, K.P. **Farmacologia Humana** 4ª edição editora: Elsevier 2006

CHRISPEELS, M.J.; RAIKHE, N.V. Lectins, Lectin Genes, and Their Role in Plant Defense. **The Plant Cell**, p. 1-9, 1991.

CHUSRI, S.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. Detailed studies on *Quercus infectoria* Olivier (nutgalls) as an alternative treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 89–96, 2009.

DARWISH, R.M.; ABURJAI, T.; AL-KHALIL, S.; MAHAFZAH, A. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 359- 364, 2002.

DEBRAY, H.; DECOU, D.; STRECKER, G.; SPIK, G.; MONTREUIL, J. Specificity of twelve lectins towards oligosaccharides and glycoproteins related to N-glycoproteins. **European Journal of Biochemistry**, v. 117, p. 41-55, 1981.

HASSEN, A.; RETHMAN, N.F.G.; NIEKERK, W.A.; TIEJELE, T.J. Influence of season/year and species on chemical composition and in vitro digestibility of five *Indigofera* accessions. **Animal Feed science and Technology**, v. 136, p. 312-322, 2007.

LACKEY, J.A. Phaseoleae. Pp. 301-327. In: R.M. Polhill & P.H.Raven (eds.). **Advances in Legume Systematics**. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981.

LAEMMI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LEITE, S.P.; VIEIRA, J.R.C.; MEDEIROS, P.L.; LEITE, R.M.P.; LIMA, V.L.M.; XAVIER, H.S. LIMA, E.O. Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa*. **Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 261-265, 2006.

LEITE, S.P.; SILVA, L.L.S.; CATANHO, M.T.J.A.; LIMA, E.O.; LIMA, V.L.M. Atividade antiinflamatória do extrato de *Indigofera suffruticosa*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 7, p. 47-52, 2003.

LEWIS, G. **Legumes of the World**. Kew, Royal Botanic Gardens. 2005.

LEWIS, K.; AUSUBEL, F.M. Prospects for plant-derived antibacterials. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1504-1507, 2006.

LOWRY, O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-75, 1951.

MOREIRA, J.L.A.; TOZZI A.M.G.A.. *Indigofera L.*(Leguminosae,Papilinoideae) no estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 20, p. 97-117, 1997.

SÁ, R.A.; GOMES, F.S.; NAPOLEÃO, T.H.; SANTOS, N.D.L.; MELO, C.M.L.; GUSMÃO, N.B.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G.; BIEBER, L.W.

Antibacterial and antifungal activities of Myracrodruon urundeuva heartwood. **Wood Science Technology**, v. 43, p. 85–95, 2009.

NASCIMENTO, G.G.F.; LUCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p. 247-256, 2000.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENSTEIN, B.I.; MEDOFF, G. **Microbiologia: Mecanismos das doenças infecciosas** 3ª ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan,2002.

TRABULSI, R.. **Microbiologia**. Editora Guanabara Koogan .Rio de Janeiro. 2000

ZHAO, W.H.; HU, Z.Q.; OKUBO, S.; HARA, Y.; SHIMAMURA, T. Mechanism of synergy between Epigallochatechin gallate and Lactams against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 6, p. 1737-1742, 2001.

---

## **EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA DO <sup>60</sup>CO SOBRE A AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS DE CASCAS E FOLHAS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI**

**Santos, G. H. F.<sup>(1)</sup>; Silva, E.B.<sup>(2)</sup>; Silva, H. A. M. F.<sup>(4)</sup>; Lima, J. M.S.<sup>(4)</sup>; Sena, K. X. F. R.<sup>(3)</sup>; Araújo, R.O.<sup>(3)</sup>; Lima, C. S. A.<sup>(4)</sup> Santosghf@hotmail.com**

<sup>1</sup>Departamento de Energia Nuclear/Grupo de Radioproteção e Radioecologia, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>2</sup>Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>3</sup>Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil;

<sup>4</sup>Departamento de Biofísica, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

## RESUMO

A aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) possui diversas aplicações medicinais, apresentando ação antiinflamatória e antimicrobiana, tendo sido demonstrada, *in vitro*, sua atividade contra diversas espécies de bactérias e fungos. A utilização da radiação contra contaminação por microrganismos em fitoterápicos, já é comumente conhecida. O estudo avaliou a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos (70%) de cascas e folhas de *S. terebinthifolius* expostos à radiação gama de  $^{60}\text{Co}$  nas doses de 5.0; 7.5 e 10 KGy. Para a determinação da atividade antimicrobiana foi aplicada a técnica de difusão em disco, sendo considerados significativos halos  $\geq 15$  mm, que permitiu avaliar os diâmetros dos halos de inibição contra bactérias gram-positiva, gram-negativas, álcool-ácido-resistentes e levedura. Posteriormente, determinou-se a CIM e CMB de extratos de cascas, frente a oito isolados clínicos de *S. aureus*. O estudo confirma que os extratos bruto de *Schinus terebinthifolius* Raddi, em especial extratos de cascas, pode ser utilizado como matéria prima na obtenção de agentes antimicrobianos e bacteriostáticos. O processo de irradiação gama por  $^{60}\text{Co}$  em cascas de *S. terebinthifolius*, nas doses entre 0 e 5 kGy, pode ser visto como uma importante alternativa na conservação e/ou potencialização da atividade antimicrobiana, em especial na potencialização contra *Staphylococcus aureus*.

**Palavras Chaves:** Atividade Antibacteriana, Radiação Ionizante, Aroeira.

## INTRODUÇÃO

O uso de antimicrobianos sintéticos em demasia levou ao surgimento e à disseminação de microrganismos resistentes aos compostos antimicrobianos disponíveis no mercado<sup>1,2</sup>. Isto incentivou a busca por novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas, tais como as plantas utilizadas na medicina tradicional, que se apresentam como potenciais fontes de agentes de novas moléculas bioativas, as quais permitem a eficiência do tratamento a bacterioses e são combatentes de doenças consequentes da ação microbiana<sup>3, 4</sup>. Assim, os estudos científicos experimentais são essenciais para confirmar as possíveis

propriedades antibióticas de um grande número de plantas e de seus produtos derivados<sup>5</sup>.

A aroeira, *Schinus terebinthifolius* Raddi, se destaca por suas estruturas possuírem comprovadas ações antiinflamatória e antiulcerogênica, utilizadas como antisséptico, no tratamento de estomatites, úlcera gastroduodenal, doenças venéreas, inflamação do útero, infecções do aparelho urinário, feridas na pele, diarreia, etc<sup>6,7,8</sup>. Suas cascas e folhas são utilizadas na forma de decocto com fins expectorante, anti-séptico, antidiarréico e cicatrizante. Além isto, suas principais características morfo-histológicas e químicas levam ao seu reconhecimento laboratorial como uma droga antimicrobiana<sup>9</sup>.

Degáspari e colaboradores<sup>10</sup> analisou a atividade antimicrobiana de extratos aquoso e alcoólico obtidos de frutos da *Schinus terebinthifolius*, diretamente ligados à quantidade de compostos fenólicos existentes nesses extratos. Pelos testes, verificou-se que o extrato alcoólico apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, já o extrato aquoso não apresentou efeito inibitório sobre os crescimentos dos microrganismos testados.

A radiação é um excelente método de conservação de materiais vegetais e alimentos, com a finalidade de esterilizá-los ou preservá-los com a inativação de microrganismos . Porém, sabe-se que a radiação gama, com doses entre 0.5 a 10 kGy, pode desencadear mudanças físico-

químicas em materiais de origem vegetal, sendo estas mudanças peculiares a cada espécie. Diversos autores<sup>11,12,13,14,15</sup> observaram que a radiação provocou o aumento de teores de flavonas, fenóis totais e taninos sem associação dose-dependente; já outro estudo, observou que a radiação gama pode não influenciar os teores de fenóis e taninos, mesmo na dose de 10 kGy<sup>16</sup>. Estas alterações podem também afetar as atividades biológicas dos vegetais, provocando uma acentuada potencialização da ação antimicrobiana de alguns extratos vegetais<sup>15,17,18</sup>.

Contudo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da radiação gama do <sup>60</sup>Co sobre os extratos brutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, analisando a sua influência na atividade antimicrobiana de extratos obtidos de cascas e folhas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta, preparo do material botânico e obtenção dos extratos***

Cascas e folhas de *S. terebinthifolius* foram coletadas no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), no Recife. Em laboratório, cascas e folhas foram separadas, e submetidas à secagem à sombra e em ambiente ventilado. Para uniformizar e acelerar o processo de secagem, todo o material foi periodicamente revolvido visando expor as áreas mais úmidas propensas ao desenvolvimento de fungos. Após secagem,

as amostras foram trituradas em uma forrageira, para obter um material de menor granulometria. E os extratos brutos foram obtidos segundo o procedimento da maceração estática.

### ***Irradiação dos extratos vegetais***

O experimento consistiu do formado 40 x 4 x 3 (20 alíquotas de extrato seco de cascas, 20 alíquotas de extrato seco de folhas, irradiados nas doses 5; 7,5 e 10 kGy, além do controle, e 3 repetições, totalizando 480 amostras). Para a irradiação foi utilizado um irradiador com uma fonte de  $^{60}\text{Co}$ , com taxa de dose de  $10 \text{ Gy}\cdot\text{h}^{-1}$  (Cobalt Irradiator Radionics Laboratory, Scotch Plains, New Jersey, USA), pertencente ao Departamento de Energia Nuclear da UFPE.

### ***Testes Antimicrobianos***

A determinação da atividade antimicrobiana de extratos brutos hidroalcoólicos a seco de cascas e folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi foi realizada através de experimentos, divididos em duas etapas: difusão em disco (testes qualitativos) e técnica de diluição para determinar a CIM e CMB (testes quantitativos). Os testes foram realizados em triplicata.

### ***Método de difusão em Agar com disco de papel***

A atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos de *S. terebinthifolius* foi aplicada a técnica de difusão em disco em meio gelosado, de acordo com Bauer e colaboradores<sup>19</sup>. Utilizando-se micro-organismos de importância patogênica para animais e humanos pertencentes à Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da UFPE, representantes de Gram-positivos: *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 01), *Micrococcus luteus* (UFPEDA 06), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 16), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138). Gram-negativas: *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Serratia marcescens* (UFPEDA 398), *Pseudomonas auruginosa* (UFPEDA 39). Álcool-ácido-resistente: *Mycobacterium smegmatis* (UFPEDA 71) e levedura *Candida albicans* (UFPEDA 1007).

Para a padronização do inóculo, utilizou-se suspensões microbianas de acordo com a turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, que corresponde a aproximadamente  $10^8$  UFC/ mL para bactérias e  $10^6$  UFC/mL para leveduras. Os meios de cultura utilizados foram: Ágar Mueller Hilton, para *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas auruginosa*, e Ágar glicose extrato de levedura, para *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans*.

### **Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima**

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CMB) foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com CLSI<sup>20</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos pelo método de difusão em disco para as atividades antimicrobianas de cascas e folhas de *S. terebinthifolius*.

No geral, os extratos de cascas e folhas de *S. terebinthifolius* apresentaram atividade antimicrobiana pronunciada contra Gram-positivas (*S. aureus* e *M. luteus*). Sobretudo, os extratos de cascas destacam-se apresentando médias e desvios padrões maiores sobre estirpes de *S. aureus*.

**Tabela1.** Atividade antimicrobiana de cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira)

Microorganismos	Cascas				Folhas			
	0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy	0 kGy	5 kGy	7,5 kGy	10 kGy
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,00± 0,00	14,67 ± 0,58	15,33 ± 0,58	12,67 ± 0,58	12,33 ± 0,58	8,33 ± 0,58	10,67 ± 0,58	11,33 ± 0,58
<i>Micrococcus luteus</i>	11,00 ± 1,00	12,33 ± 0,58	11,67 ± 0,58	11,33 ± 0,58	10,00	9,33 ± 0,58	10,33 ± 0,58	13,67 ± 0,58
<i>Bacillus subtilis</i>	9,67 ± 0,58	10,00	10,00 ± 1,00	8,00	7,33 ± 0,58	8,67 ± 0,58	8,33 ± 0,58	10,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	7,67 ± 0,58	7,67 ± 0,58	7,33 ± 0,58	7,67 ± 0,58	0	9,67 ± 0,58	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mycobacterium mageritii</i>	10,33 ± 0,58	11,33 ± 0,58	9,67 ± 0,58	8,33 ± 0,58	12,33 ± 0,58	0	0	0

A radiação gama influenciou os extratos de cascas e folhas de *S. terebinthifolius* a ponto de aumentar os potenciais antimicrobianos principalmente, sobre extratos de cascas na dose de 7.5 kGy frente a *S. aureus* (Tabela 2).

**Tabela 2.** CIM e CMB de extrato etanólico de cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. oriundas de oito isolados clínicos de *Staphylococcus aureus*.

Microorganismo	0kGy		5kGy		7.5 kGy		10 kGy	
	CMI µg/mL	CMB µg/mL	CMI µg/mL	CMB µg/mL	CMI µg/mL	CMB µg/mL	CMI µg/mL	CMB µg/mL
629UPEDA	500	>2000	500	>2000	1000	>2000	1000	>2000
670UPEDA	2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
691 UPEDA	500	2000	500	>2000	500	>2000	500	>2000
705 UPEDA	500	>2000	1000	>2000	250	>2000	500	>2000
709 UPEDA	500	2000	500	>2000	500	>2000	500	>2000
718 UPEDA	250	2000	500	2000	1000	>2000	1000	>2000
725 UPEDA	500	2000	125	2000	1000	>2000	1000	>2000
726 UPEDA	500	1000	500	>2000	500	>2000	1000	>2000

O extrato e micro-organismo que apresentaram melhores resultados pelo método de difusão em disco foram escolhidos para realização da CMI e CBM. Utilizaram isolados clínicos obtidos de diferentes sítios de infecção, depositados na Coleção de Culturas do Departamento de Antibióticos com os seguintes registros: *Staphylococcus sp. Coagulase*

*negativa* (UFPEDA 629); *Staphylococcus aureus* ORSA (UFPEDA 670); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 691); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 705); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 709); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 718); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 725); *Staphylococcus aureus* ORSA(UFPEDA 726) (Tabela 2).

A Tabela 2 demonstra que a radiação gama interagiu em extratos de cascas de *S. terebinthifolius* a ponto de promover atividade antimicrobiana, observada na CMI das 8 estirpes de *S. aureus*, com concentrações de: 500 µg/mL (6/8); 500 µg/mL (5/8); entre 500 µg/mL (3/8) e 1000 µg/mL (3/8) e 1000 µg/mL(4/8), respectivamente, para 0, 5, 7.5 e 10 kGy . A análise individual permitiu observar que os isolados que apresentaram melhores resultados foram: 705 UPEDA (250µg/mL), 718 UPEDA (250µg/mL) e 725 UPEDA (125 µg/mL), respectivamente, nas doses de 7.5, 0 e 5.0 kGy.

Vale salientar que a melhor resposta a CMI de extratos de cascas de *S. terebinthifolius* ocorreu na dose de 7.5 kGy: 250 µg/mL (1/8 das estirpes de *S. aureus*). No geral, a CMI ficou entre 500 e 1000 µg/mL (3/4). Em contrapartida a pior CMI de extratos de cascas de *S. terebinthifolius* ocorreu na dose de 10 kGy, demonstrando que doses elevadas não promovem alterações em extratos de cascas de *S. terebinthifolius*, que potencializasse a atividade antimicrobiana dos mesmos. A CBM de extrato de cascas de *S. terebinthifolius*,

confirmaram a CIM, atingindo a 0kGy: 1000 µg/mL (1/8) e 2000 µg/mL (1/4) e 5 kGy (2000 µg/mL (2/8) (Tabela 2).

Costerton e colaboradores<sup>21</sup> abordam pontos relevantes como à procedência e sensibilidade dos isolados clínicos pode influenciar na inibição dos mesmos frente a extratos vegetais. Sendo observado que a produção de biofilmes pela bactéria *S. aureus* que dificulta a atuação do antimicrobiano sobre o microrganismo.

As técnicas utilizadas no trabalho não obtiveram uniformidade de resultados. A difusão em disco apresentou melhor resposta com 7.5 kGy, em contrapartida a microdiluição, foi melhor com 0 kGy (75%) e 5.0 kGy (62.5%). Segundo Rios; Recio<sup>22</sup> em estudo sobre atividade antimicrobiana de materiais vegetais, permitem afirmar que é comum acarretar em relevantes contradições entre os resultados obtidos por diferentes grupos e até para o mesmo autor estudando a mesma amostra, atribuindo a diferentes métodos e/ou falta de uniformidade nos critérios.

Nesse contexto, método da microdiluição em placa foi escolhido para determinação da atividade antimicrobiana dos extratos como padrão ouro, por ser mais sensível. Assim, a atividade antimicrobiana de extrato de *S. terebinthifolius* demonstrou destaque na ação contra isolados clínicos de *S. aureus*, principalmente nas doses de 0 e 5.0 kGy.

Os resultados corroboram com os estudos de Santos e colaboradores<sup>15</sup> que reconhecem a radiação gama como um processo que interage com

materiais vegetais, confirmados através de bioensaios, inclusive antimicrobiano, porém não se pode padronizar uma dose que conserve e/ ou aumente a atividade antimicrobiana. Visto que a radiação gama atua peculiar a cada espécie vegetal, conforme a sua composição química.

## CONCLUSÃO

O estudo confirma que os extratos bruto de *Schinus terebinthifolius* Raddi, em especial extratos de cascas, como matéria prima na obtenção de agentes antimicrobianos e caracteriza o processo da radiação gama do  $^{60}\text{Co}$ , nas doses entre 0 e 5 kGy, como sendo uma importante alternativa na conservação e/ou potencialização da atividade antimicrobiana caracterizada para extrato de cascas de *S. terebinthifolius*.

## REFERÊNCIAS

LOPES, C. A.; MORENO, G.; CURI, P. R.; GOTTSCHALK, A.F.; MODOLO, J. R.; HORACIO, A.; CORRÊA, A.; PAVAN, C. Characteristics of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Brazil. *British Veterinary Journal*, London. 146 (5): 443-448 (1990).

NORRBY, S. R.; NORD, C. E. Lack of development of new drugs: a potential serious threat to public health. *Lancet Infectious Diseases*, Solna. 5: 115-119 (2005).

COHEN, M. L. Epidemiology of drug resistance: implications for apost-antimicrobial era. *Science*, Washington. 257(11): 1050-1055 (1992).

RIBEIRO, A. Q.; LEITE, J. P. V.; DANTAS-BARROS, A. M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba. 15 (1): 65-70 (2005).

LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L.; SANTOS, B.H.C. Propriedades antibacterianas de óleos essenciais de plantas medicinais. *Rev Bras Cienc Saúde*. 7: 251-258 (2003).

DUARTE, M. R.; TOLEDO, M. G.; OLIVEIRA, R. B. Diagnóstico morfoanatómico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). *Visão Acadêmica*, Paraná. 7(2): 5-13 (2006).

LUCENA, P.L.H.; RIBAS-FILHO, J.M.; NASCIMENTO, M.M.; CZECZKO, N.G.; DIETZ, U.A.; CORREA-NETO, M.A.; HENRIQUES, G.S.; SANTOS, O.J.; CESCHIN, A.P.; THIELE, E.S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. *Acta Cir Bras*. [periódico na Internet]; Suppl 2: 46-51. Disponível em URL: <http://www.scielo.acb> (2006).

SOARES, D.G.S.; OLIVEIRA, C.B.; LEAL, C.; DRUMOND, M.R.S.; PADILHA, W.W.N. Atividade Antibacteriana in vitro da Tintura de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na Descontaminação de Escovas Dentais Contaminadas pelo *S. mutans*. *Pesq Bras Odonto ped Clin Integr*, João Pessoa. 7 (3):253-257 (2007).

MEDEIROS, K. C. P. et al. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: Eucalyptus globulus Labill, Peltodonradicans pohl and *Schinus terebinthifolius* Raddi in inflammatory models. *Rev Bras Farmacogn*. 17(1): 23-28. (2007).

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi Antimicrobial activity of *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciênc. agrotec. Lavras*. 29(3): 617-622 (2005).

MOUSSAID, M.; LACROIX, M.; NKETSIA-TABINI, J.; BOUBEKRI, C. Phenolic compounds and the colour of oranges subjected to a combination treatment of waxing and irradiation. *Radiation Physics Chemistry*. 57: 273-275 (2000).

MIRANDA, M. B.; HORIL, J.; ALCARDE, A. R. Estudo do efeito da irradiação gama ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, 26(4): 772-778 (2006).

BHAT, R.; SRIDHAR, K. R.; TOMITA-YOKOTANI, K. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*). *Food Chemistry*. 103: 860-866 (2007).

STAJNER, D.; MILOSEVIC, M.; POPOVIC, B. M. Irradiation Effects on Phenolic Content, Lipid and Protein Oxidation and Scavenger Ability of Soybean Seeds. *International Journal of Molecular Sciences*. 8: 618-627 (2007).

SANTOS, G. H. F; SILVA, E. B.; SILVA, B. L.; SENA, K. X. F. R.; LIMA, C. S. A. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extracts of *Anacardium occidentale* rich in tannins', *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 21 (3): 444-449 (2011)

KOSEKI, P. M.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BRITO, M. S.; NAHME, L. C.; SEBASTIÃO, K. I.; RELA, P. R.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; MANCINI-FILHO, J.; FREITAS, P. C. D. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. *Radiation Physics and Chemistry*. 63: 681-684 (2002).

AZIZ, N. H.; EL-FOULY, M. Z.; ABU-SHADY, M. R; MOUSSA, L. A. A. Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal florae contaminating medicinal plants. *Applied Radiation Isotopes*, Oxford. 48 (1):71-76 (1997).

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA S.G.; ARTHUR, V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*L.) irradiado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 25(1) (2005).

BAUER, A. M.; KIRBY, M. N.; SHERRIS, J. C. Antibiotics susceptibility test by a standardized single disk methods. *American Journal of Clinical Pathology*. 45: 493-494 (1966).

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Document: M100 – S20 Vol. 30 (1). Replaces M100 – S19. 19 (3) (2010).

COSTERTON, J. W.; STEWART, PHILIP S.; et al. Bacterial Biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*. 284: 1318-1322 (1999).

RIOS, J. L.; RECIO, M.C. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 100 (1-2): 80-84, 2005.

---

## EFICIÊNCIA DO PEPINO COMO MODELO EM BIOENSAIOS DE FITOTOXICIDADE

Barbosa, R.M.<sup>(1)</sup>; Galter, I.N.<sup>(1)</sup>; Pereira, C.L.<sup>(1)</sup>; Martins, L.A.R.<sup>(1)</sup>; Silva, K.S.<sup>(1)</sup>; Andrade-Vieira, L.F.<sup>(1)</sup> rodrigo\_mb@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Vitória - ES, Brasil.

### RESUMO

A utilização de biotestes de fitotoxicidade é uma importante ferramenta no estudo da relação entre os seres vivos e os componentes químicos do meio ambiente em que estão inseridos. Neste trabalho foi testada a viabilidade da utilização do pepino (*Cucumis sativus*) como modelo em biotestes de fitotoxicidade, observando características macroscópicas como germinação e crescimento radicular. Para tanto, foram usados dois compostos tóxicos, Sulfato de Alumínio ( $Al_2SO_4$ ) e solução de Metil Metano Sulfonato (MMS) e como controle negativo foi utilizado água destilada. Foram usadas 15 placas de petri com 25 sementes cada para cada tratamento e testados 3 tempos de exposição, 48, 72 e 96 horas. Não houve diferença na taxa de germinação e o tempo de 96 horas foi o mais eficaz para caracterizar toxicidade.

**Palavras-chave:** Germinação, Crescimento Radicular, Biotestes.

### INTRODUÇÃO

A caracterização de um composto como tóxico e compreensão de sua ação nos sistemas orgânicos é de extrema importância para estudos de poluição ambiental. A toxicidade de uma substância química significa sua capacidade de produzir um efeito nocivo e está relacionada com a quantidade administrada ou absorvida (WESTMAN, 1985). Neste

contexto a utilização de bioensaios para a avaliação da atividade de extratos, frações e compostos químicos isolados tem sido amplamente empregada na identificação e monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas (NOLDIN et al., 2003).

A utilização de biotestes de fitotoxicidade é uma importante ferramenta no estudo da relação entre os seres vivos e os componentes químicos do meio ambiente em que estão inseridos e as consequências genótípicas e fisiológicas dessa interação. Estes testes podem ser usados para monitoramento ambiental (DE SERES, 1978, apud FISKEJO, 1985), estudos da contaminação de ecossistemas, alelopatia, entre outros.

Em sua maioria, os biotestes objetivam determinar se agentes específicos podem afetar aos aspectos fisiológicos e moleculares do organismo exposto a tais agentes. Se eles causarem danos ao DNA apresentam também potencial genotóxico em qualquer tipo de células (animal, vegetal ou de microrganismos) tendo-se em vista a universalidade do código genético. Neste sentido é muito importante o estudo e proposição de diversos modelos compostos de testes eficientes que se enquadrem nas estratégias de avaliação de risco que atendam às necessidades da vida contemporânea (SILVA et al., 2003).

Biotestes com plantas se mostram vantajosos, pois são sensíveis a diversos compostos químicos, tais como pesticidas, amostras de solo e substâncias orgânicas (STEINKELLNER et al., 1998), apresentando também sensibilidade para detecção de aberrações cromossômicas e

mutagenicidade (GRANT, 1978). Outras vantagens são a facilidade de armazenamento e manipulação das plantas, boas condições cromossômicas, boa correlação com outros tipos de testes (FISKESJÖ, 1985), metodologias relativamente simples, boa reprodutibilidade e repetição, desfechos rápidos e baixos custos (LOPEZ et al., 2008).

Neste sentido esse trabalho tem como objetivo testar a viabilidade da utilização do pepino (*Cucumis sativus*) como modelo em biotestes de fitotoxicidade, observando características macroscópicas como germinação e crescimento radicular.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a elaboração deste experimento foi utilizada a espécie vegetal *Cucumis sativus* (pepino), listada pela EPA como importante modelo para estudos de prospecção de mutagênese ambiental (GRANT, 1998). O experimento foi montado em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Foram utilizados compostos químicos com ação conhecidamente citotóxica e mutagênica, sendo respectivamente solução de Sulfato de Alumínio  $\text{Al}_2\text{SO}_4$  ( $10^{-3}$  mol/L, pH 4:0) e solução de Metil Metano Sulfonato (MMS) ( $4 \times 10^{-4}$  mol/L) e água destilada como controle negativo.

Foram usadas quinze placas de petri para cada tratamento e controle, somando quarenta e cinco placas no total. Vinte e cinco sementes, de cada espécie, foram manualmente separadas e posicionadas em cada placa de petri contendo papel filtro e aproximadamente 6mL de solução de seu respectivo tratamento e seguidamente lacrada com filme plástico. As placas foram armazenadas à temperatura constante de 24°C em uma Estufa Incubadora B.O.D. (demanda bioquímica de Oxigênio), na ausência de luz.

Em um espaço de tempo de 96 horas as placas foram avaliadas a cada 8 horas e o número de sementes germinadas foram anotados. Ao final de 48, 72 e 96 horas todas as sementes com raízes tiveram seu comprimento radicular medido com um paquímetro digital. Os dados obtidos foram avaliados segundo o teste de Tukey a 5%.

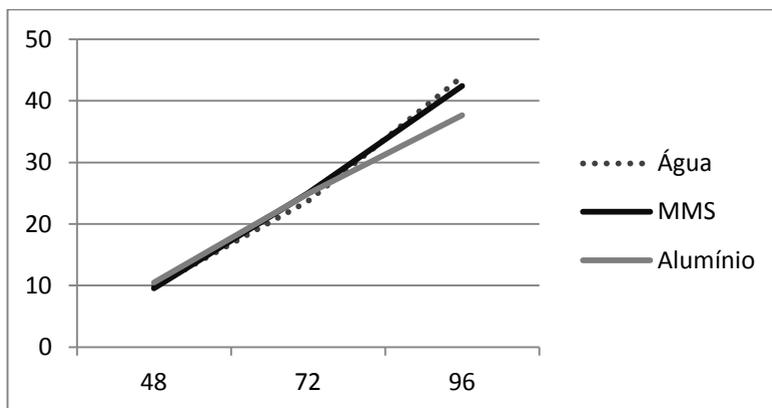
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O índice de germinação não apresentou diferença estatística entre o controle e os tratamentos, sendo superior a 90% de sementes germinadas. A Tabela 1 apresenta as médias de crescimento radicular após os três tempos de exposição, 48, 72 e 96 horas (Figura 1).

**Tabela 1.** Médias do crescimento radicular (mm) do pepino após 48, 72 e 96 horas de exposição.

Tratamento	48 h	72 h	96 h
Água	9,801a	23,714 a	43,926 a
MMS	9,55 a	25,004 a	42,401 ab

<b>Alumínio</b>	10,49 a	24,90 a	37,674 b
-----------------	---------	---------	----------



**Figura 1.** Linhas representando o crescimento radicular dos três tratamentos. Eixo Y representa o tamanho em milímetros e o eixo X o tempo em horas.

No tempo de exposição de 48 horas ambos, MMS e Alumínio, não apresentaram redução significativa em relação ao controle. No intervalo de exposição de 72 horas novamente as médias de crescimento não diferiram do controle para os dois tratamentos.

Já no período de 96 horas houve redução no crescimento radicular nos dois tratamentos em relação ao controle. No entanto, o tratamento com Al apresentou a maior taxa de redução de crescimento, de 14,23%.

Segundo Kochian et al. (2004) o principal e primeiro efeito do Al nos vegetais é na diminuição do crescimento radicular, inibindo o alongamento e a expansão celular e posteriormente a divisão celular. Tal efeito do Al pode ser causado pelo acúmulo de lignina nas raízes, enrijecendo as paredes celulares e impedindo o alongamento da raiz

(PEIXOTO et al., 2007). Esse efeito só começou a ser atingido com 96 horas de exposição para o pepino, indicando esse como tempo mínimo de exposição para caracterização de sensibilidade a essa toxicidade.

Por sua vez o MMS apresenta ação mutagênica, sendo muito usado como agente genotóxico que, segundo Campos e Menk (2000), lesa o DNA por inserção de um grupo metila nas bases nitrogenadas dessa molécula, podendo causar mutações e aberrações cromossômicas e, por consequência, diminuir o crescimento radicular. O pepino também se mostrou sensível a este agente no tempo de exposição de 96 horas, porém apresentou redução bem menor se comparado ao Al.

Era esperada que o vegetal apresentasse maior diminuição do crescimento radicular no tratamento com  $Al_2SO_4$ , se comparado ao controle e MMS, visto que essa é sua principal característica, entretanto ambos os tratamentos apresentaram resultados estatisticamente próximos para MMS e  $Al_2SO_4$ .

## **CONCLUSÃO**

É viável a utilização do pepino como espécie modelo em biotestes de fitotoxicidade.

O pepino apresentou redução no crescimento radicular mais significativo, para os dois agentes tóxicos, no tempo de exposição de 96 horas. O pepino mostrou-se mais sensível à toxicidade por Alumínio.

Em futuros experimentos o aumento no tempo de exposição aos agentes tóxicos pode auxiliar na obtenção de resultados mais significativos para esta espécie vegetal.

## REFERÊNCIAS

- CAMPOS, R. M. A.; MENK, C. F.M. Biomonitoramento de Mutagênese Ambiental. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento. Vol 12, p. 24, 2000.
- FISKESJÖ, G. The Allium test – An alternative in environmental-studies – The relative toxicity of metal-ions. *Mutat Res* 197:243-260, 1988.
- FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102: 99-112, 1985.
- GRANT, W. F. Chromosome Aberrations in Plants as a Monitoring System. *Environmental Health Perspectives* Vol. 27, pp. 37-43, 1978.
- GRANT, W, F. Chromosome aberration assays in *Crepis* for the study of environmental mutagens. *Mutation Research*, p. 291–307, 1998.
- KOCHIAN, L. V.; HOCKENGA, O. A.; PINEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annual Review of Plant Biology* 55:459-493, 2004.
- LOPEZ, G. D.; CAMBERO, J. P. G.; CALVO, A. C. Germination of *Lactuca sativa* seeds as pre-screening in toxicology studies in higher plants. *Toxicology Letters* 180S, S32–S246, 2008.
- NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. *Química Nova*, São Paulo. v.26, n.3, p.331-334, 2003.
- PEIXOTO, P. H. P.; PIMENTA, D. S.; CAMBRAIA, J. Alterações morfológicas e acúmulo de compostos fenólicos em plantas de Sorgo sob estresse de Alumínio. *Bragantia*, Campinas. V.66, n.1, p. 17 – 25, 2007.

SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J.A.P.; *Genética Toxicologia*. Porto Alegre, Alcance, 2003. 422p.

STEINKELLNER, H.; MUN-SIK, K.; HELMA, C.; ECKER, S.; MA, T. H.; HORAK, O.; KUNDI, M.; KNASMUËLLER, S. *Genotoxic Effects of Heavy Metals: Comparative Investigation With Plant Bioassays*. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 31:183±191, 1998.

WESTMAN, W. E. *Ecology, Impact Assessment and Environmental Planning*. John Wiley and Sons, Inc. (USA), 1985.

---

## **ELABORAÇÃO DE UM GLOSSÁRIO ILUSTRADO DE EMBRIOLOGIA ANIMAL COMPARADA**

**Oliveira, M.S.<sup>(1)</sup>; Vasconcelos, Y.A.G<sup>(1)</sup>; Melo-Maciel, M.A.P.<sup>(1)</sup>;  
Leite, L.V.<sup>(1)</sup>; Linhares, F.R.A.<sup>(1)</sup>; Nunes, L.T.<sup>(1)</sup>;  
Salmito-Vanderley, C.S.B.<sup>(1)</sup>; Pinheiro, J.P.S.<sup>(1)</sup> maysetubal31@gmail.com**

<sup>(1)</sup> Universidade Estadual do Ceará - UFCE, Fortaleza - CE, Brasil.

### **RESUMO**

Os conteúdos de Embriologia Animal são sinônimos de ciência difícil já que a mesma é uma das que mais exige da capacidade de abstrair e de imaginar do aluno. Devido a isso, tal trabalho teve o objetivo de produzir um glossário ilustrado para os alunos da disciplina de Histologia e Embriologia Animal Comparada do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Ceará, no campus Itaperi. Para isso, foi feita a seleção dos conteúdos através da análise da ementa e a leitura de capítulos dos livros que são utilizados na bibliografia da disciplina. Os conceitos e as imagens foram então elencados e organizados em um arquivo de texto e posteriormente formatados utilizando o *software* da Microsoft Power Point<sup>®</sup>. Com isso, foi obtido o glossário em duas versões: uma salva em PDF e outra versão salva em modo de apresentações de slides. Ambas as versões possuem vários conceitos e imagens que foram utilizadas com intuito de facilitar a assimilação dos conteúdos pelos alunos.

Portanto, espera-se que esse material enriqueça o ensino de Embriologia Animal Comparada através da discussão sobre o uso de novas metodologias que sejam atrativas e estimulem a percepção dos alunos.

**Palavras-chave:** Material didático; Ensino-aprendizagem; Assimilação.

## INTRODUÇÃO

Com o avanço tecnológico e conseqüentemente do conhecimento científico, as áreas das ciências acabam por estar em constante renovação, sendo a Biologia uma destas. A cada dia surgem novas pesquisas e novas descobertas, o que origina novos conceitos e novos nomes científicos, e estas constantes atualizações fazem da Biologia uma ciência de difícil entendimento para os alunos do Ensino Fundamental e Médio, assim como para os que se encontram no Ensino Superior.

No curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Ceará, a disciplina de Histologia e Embriologia Animal Comparada, é uma das que mais requer dos alunos uma grande capacidade de abstração, de usar a imaginação e conseguir obter uma visão tridimensional, para que dessa forma ocorra uma melhor compreensão dos conceitos microscópicos e dos processos desencadeados durante o desenvolvimento embrionário.

Segundo Casas e Azevedo (2011) quando se trata do ensino de Embriologia, tanto na graduação quanto na educação básica, são

percebidas inúmeras dificuldades na compreensão deste assunto, tais como: grande quantidade de termos técnicos, falta de materiais didáticos para uma melhor visualização das primeiras fases do desenvolvimento embrionário, entre outros.

Para Rodrigues et al., (2004) esse grande obstáculo existente entre o docente e o discente no ensino de Embriologia Humana e Animal é devido à escassez de material didático relativo a disciplina. Um exemplo de material didático que pode ser utilizado como auxílio no processo de ensino-aprendizagem dos conteúdos de Embriologia Animal Comparada, é o glossário. Segundo o site de informações Significados (2011) diz que:

“O glossário é uma lista, geralmente em ordem alfabética, que dá o significado das palavras. O glossário aparece geralmente no final dos livros, com o objetivo de explicar palavras que foram utilizadas durante a obra, e que não são todas as pessoas que conhecem seu significado.”

Com isso, tal trabalho teve como objetivo produzir um Glossário Ilustrado de Embriologia Animal para os alunos da disciplina de Histologia e Embriologia Animal Comparada do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Ceará.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A triagem dos conteúdos que foram abordados no Glossário Ilustrado foi feita através da análise da ementa da disciplina de Histologia e Embriologia Animal Comparada. Para efeito de seleção dos conceitos, consideraram-se aqueles que eram mais relevantes diante dos interesses, e, além disso, buscou-se atender as dificuldades observadas por Lopes (2012), em pesquisa realizada na mesma disciplina que lista as principais dificuldades encontradas pelos alunos relacionados aos conteúdos de Histologia e Embriologia. Os conteúdos que estão presentes no Glossário são: Gametogênese; Ciclo menstrual, estral e ovariano; Fecundação; Introdução à Embriologia, Tipos de ovos e segmentação, Desenvolvimento e anexos embrionários, Desenvolvimento embrionário de ouriço-do-mar, anfioxo, anfíbios, mamíferos, peixes e aves.

A triagem dos conteúdos foi realizada com o auxílio dos livros que são utilizados na disciplina e outros que são sugeridos na ementa da mesma e sites de pesquisa da internet (Tabela 1). Após esta etapa foi realizada a leitura de tais capítulos, com o objetivo de se extrair o máximo de conceitos. Depois dos conceitos serem elencados, foi feita a seleção e organização das imagens, para facilitar o entendimento dos termos apresentados através da visualização. As imagens foram selecionadas de acordo com a sua qualidade e capacidade de retratar o conceito.

Como última etapa, foi feita a montagem do material, com a formatação do mesmo visando melhorar a aparência do produto e corrigir possíveis

erros de escrita. O glossário ilustrado foi elaborado em duas versões: uma em PDF ("Portable Document Format": Formato de Documentos Portável) e outra em modo de apresentação de slides, e ambas as versões foram feitas utilizando o software Power Point<sup>®</sup> da Microsoft. O material didático na versão de apresentação de slides apresenta um *layout* com diferentes tipos de planos de fundo, contendo ainda várias animações e hiperlinks. Um hiperlink consiste em uma palavra, frase ou imagem, que quando clicada, lhe redireciona para um novo documento ou para uma seção diferente do mesmo documento sendo amplamente utilizado em páginas na internet permitindo aos usuários navegar através de páginas usando esses atalhos (TECHTERMS, 2013).

**Tabela 1.** Livros utilizados para compor o glossário ilustrado.

<b>Livro</b>	<b>Autor (es)</b>	<b>Ano</b>
Histologia e Embriologia Animal Comparada	Carmina Sandra Brito Salmito-Vandelely	2010
Histologia Comparada	Luiz Ludovico George, Carlos Elvas Rodrigues e Rodrigo Lesqueves de Castro	1998
Embriologia Humana Prática	Aprígio Mendes Filho, Gerly Anne de Castro Brito e Reinaldo Barreto Oriá	2007
Embriologia Básica	Keith L. Moore	2007

Os hiperlinks presentes no glossário foram configurados de forma a interligar as letras do alfabeto presentes no sumário às iniciais dos inúmeros conceitos presentes no material, proporcionando um estudo

mais dinâmico e interativo. As duas versões foram gravadas em CD e disponibilizadas ao professor(a) da disciplina de Histologia e Embriologia Animal Comparada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

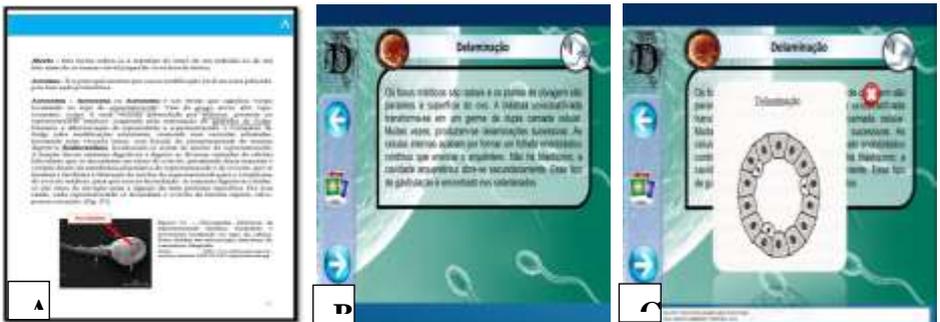
O glossário foi elaborado em duas versões visando atender da melhor forma as necessidades dos alunos. Tanto na versão PDF e quanto no modo de apresentação de slides temos como produto final um glossário com cores vivas e atrativas, com imagens que tentam retratar ao máximo o conceito na qual está sendo remetido, como é possível observar na capa do material (Figura 1).



**Figura 1.** Capas do glossário ilustrado nas duas versões. A) versão salva em PDF; B) versão em modo de apresentação de slides

O material na versão PDF apresenta um sumário com paginação indicativa com as letras em ordem alfabética. Ao final do material é possível se consultar as referências bibliográficas que foram utilizadas para compor todo o material didático.

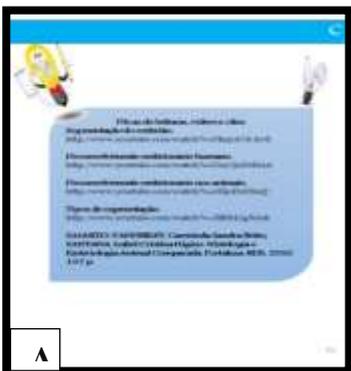
O material em ambas as versões é composto por vários termos científicos (Figura 2) que fazem parte dos conteúdos de Embriologia Animal Comparada, por conta disso, ele serve como auxílio para a fixação do assunto pelo aluno, pois ao não compreender a explicação do professor por falta de conhecimento dos termos utilizados por ele, o aluno cria um bloqueio para a aprendizagem de novos conteúdos. Noronha, Colatto e Araújo (2011), em seu trabalho sobre a alfabetização científica nas aulas de biologia, destacaram que os alunos têm grandes dificuldades em aceitar termos científicos utilizados pelo professor para expor o conteúdo, com isto a assimilação e o aprendizado do significado dessas palavras ficam prejudicados.



**Figura 2.** A) Pagina da seção A da versão PDF; B) e C) Tela referente ao conceito de Delaminação na versão em modo de apresentação de slides.

Ao final de cada seção na versão PDF, o glossário ilustrado conta com uma caixa de sugestões (Figura 3). Esta caixinha contém dicas de sites, vídeos, livros e textos para leitura. Oliveira e Dias Júnior (2012) observaram que quando o conteúdo de biologia celular era estudado com o auxílio de vídeos disponíveis na internet, os alunos absorviam melhor o assunto de transporte de moléculas, permitindo assim, entender como a membrana plasmática pode ser fluída. Ainda afirmam que:

“Estas imagens na maioria das vezes ficavam no imaginário do aluno durante as aulas, e nem sempre elas correspondiam às que o professor desejava transmitir. Assim o uso de vídeos dá significado a esses conceitos e permite a percepção de que eles realmente são reais, deixando de ser apenas mais um conteúdo do livro didático” (OLIVEIRA; DIAS JUNIOR, 2012, p.1789).



**Figura 3.** A) Caixa de dicas de leitura presente no final de cada seção; B) Sumário do glossário ilustrado na versão em modo de apresentação de slides.

Na versão em modo de apresentação de slides, o sumário contém características especiais, onde as letras iniciais dos termos mencionadas no glossário encontram-se dispostas lado-a-lado como podemos observar na Figura 3. Para acessar os conceitos referentes às tais letras, basta apenas clicar na letra inicial do termo científico o qual se busca e o usuário será redirecionado a outra tela que contém todos os significados dos conceitos presentes no material que possuem tal letra em seu início.

Diante disso, buscou-se no processo de elaboração do glossário ilustrado associar o material didático a aprendizagem significativa do aluno, pois ao se buscar compreender o significado dos termos científicos este está inconscientemente aprendendo a formular seus próprios conceitos. O uso da imagem associada ao conceito foi pensado desta forma, pois já foi constatado que a sua utilização facilita ao aluno compreender da forma correta o significado deste conceito, principalmente quando o professor não conta com recursos didáticos como projetores de slides, lousa digital, entre outros, no momento da explanação dos conteúdos na sala de aula. É o que afirma Duchastel (1983, p.3) *apud* Jotta (2005), onde este comprova que as imagens tornam o documento mais atrativo, incrementando o seu poder comunicativo, por explicar e amplificar a mensagem contida no texto.

Reichmann e Shimin (2008) também afirmam que a biologia é quase completamente imagem, o mundo é trazido para dentro da sala de aula através dela. Com isso, durante a produção do glossário ilustrado, procurou-se buscar imagens claras e fiéis aos conceitos nas quais as mesmas representavam.

Ambas as versões do material didático tiveram seus *layouts* criados utilizando-se o Power Point® que é um dos softwares mais conhecidos e utilizados em todo o planeta, que a princípio foi destinado ao desenvolvimento de apresentações e multimídias, mas que gradativamente conceberam espaço a alternativas viáveis, como a elaboração de banners, folders, pôsteres, murais eletrônicos, softwares educacionais, devido a existência de recursos de fácil manuseio (TEIXEIRA; BRANDÃO, 2003).

Mas é necessário que haja atenção na elaboração de tais materiais, principalmente nas escolhas das animações e recursos que são utilizados para compor o produto, para que não ocorra a perda do foco principal que é a transmissão do conhecimento.

A partir das seções propostas nesse glossário ilustrado, os alunos podem trabalhar as suas habilidades subsunções e utilizar o conhecimento novo adquirido durante as aulas, auxiliando a eles utilizarem a capacidade de abstrair e interpretar as imagens e os conceitos.

## **CONCLUSÃO**

Trabalhos que visam à produção de materiais didáticos, como o glossário ilustrado, é raro na literatura, logo, a produção do mesmo são de suma importância para auxiliar o professor e o aluno durante a transmissão dos conteúdos favorecendo ao processo de ensino-aprendizagem.

Com isso, configura-se como uma ferramenta para consulta dos alunos mesmo após a aula, pois, aborda de maneira bem ilustrativa os vários termos científicos que são utilizados para se explicar o desenvolvimento embrionário.

É importante destacar que o glossário ilustrado deve ser encarado como um recurso didático a mais, ou seja, como um ponto de partida, e não como uma atividade final. O intuito dessa abordagem é que o processo de socialização do conhecimento a respeito do tema seja acompanhado por outras atividades complementares, como participação nas aulas e leitura dos capítulos dos livros recomendados.

Por fim, espera-se que esse material enriqueça o ensino de Embriologia Animal Comparada através da discussão sobre o uso de novas metodologias que sejam atrativas e estimulem a percepção dos alunos do Ensino Superior.

## **REFERÊNCIAS**

CASAS, L. L.; AZEVEDO, R. O. M.. Contribuições do jogo didático no ensino de embriologia. **Areté (Manaus)**, v. 4, p. 80-91, 2011.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. de. **Histologia Comparada**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1998.

JOTTA, L. de A. C. V. **Embriologia animal: uma análise dos livros didáticos de Biologia do Ensino Médio**. 2005. 244 f. Dissertação (Mestre) - Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

LOPES, J. T. **Avaliação do ensino-aprendizagem em histologia e embriologia animal comparada sob o olhar discente**. 2012. 53 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012.

MENDES FILHO, Aprígio; BRITO, Gerly Anne de Castro; ORIÁ, Reinaldo Barreto. **Embriologia Humana Prática**. 9. ed. Fortaleza: UFC, 2007. 83 p.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T.V.N. Embriologia Clínica. 5 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1994.

NORONHA, C. L. A.; COLATTO, E.; ARAÚJO, M. C. P. Uso da tecnologia para a alfabetização científica nas aulas de biologia. Ensino de Ciências e Tecnologia em Revista Vol. 1, n. 1. jan./jun. 2011.

OLIVEIRA, N. M. de; DIAS JUNIOR, W. O uso do vídeo como ferramenta de ensino aplicada em biologia celular. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, p. 1788, 2012. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/humanas/o%20uso.pdf>>. Acesso em: 24 maio 2013.

RODRIGUES, A.L.M.; FIEDLER, P.T.; SANTOS, S. H. P.D.; PEROTTA, B.; HIROSE, T. E.; OLIVEIRA, S. A. D.; SATO, M. H.; ÁVILA, H. S.; MORAES, T. C. D.; FERREIRA, F. D. F. I. Embriologia prática – uma lição diferente. **Arq. Apadec**, Maringá, v. 8, supl. 2, p. 11, out. 2004.

REICHMANN, D. R. X. T.; SCHIMIN, E. S. Imagens: Contribuição para o ensino-aprendizagem em Biologia. **Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Artigo**. 2008. Disponível em: <<http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/1083-4.pdf>>. Acesso em: 25 maio 2013.

SALMITO-VANDERLEY, C. S. B.; SANTANA, I. C. H. **Histologia e Embriologia Animal Comparada**. Fortaleza: RDS, 2010. 157 p.

**SIGNIFICADOS.** Disponível em: <<http://www.significados.com.br/glossario/>>. Acesso em: 30 mai. 2013.

TEIXEIRA, A. C. e BRADÃO, E. J. R. Software educacional: o difícil começo. **CINTED.** v.1 n°1, 2003. Disponível em: <[http://www.cinted.ufrgs.br/renote/fev2003/artigos/adriano\\_software.pdf](http://www.cinted.ufrgs.br/renote/fev2003/artigos/adriano_software.pdf)> Acesso em 25 maio 2013.

---

## **EMBRIOTOXICIDADE DE EXTRATO AQUOSO DE *CONOCARPUS ERECTUS* SOBRE *Aedes aegypti***

**Santana, M.A.N.<sup>(1)</sup>; de Araújo, J.G.<sup>(1)</sup>; Rodrigues, C.F.C.<sup>(1)</sup>; Oliveira, C.K.S.<sup>(2)</sup>;  
Neto, P.P.M.<sup>(1)</sup>; Barbosa, J.A.P.<sup>(1)</sup>; Oliveira, T.B.<sup>(1)</sup>; Pinto, I.M.A.<sup>(1)</sup>; Lima,  
F.T.<sup>(2)</sup>; Bezerra, H.M.S.<sup>(2)</sup>; Gomes-Júnior, P.P.<sup>(2)</sup>; Vieira, J.R.C.<sup>(1)</sup>**  
marllon\_gb@hotmail.com

<sup>(1)</sup>Departamento de Histologia e Embriologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife - PE, Brasil.

<sup>(2)</sup>Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco UFRPE- Serra Talhada - PE, Brasil.

### **RESUMO**

*Conocarpus erectus* é também conhecido como mangue-botão, esta denominação deve-se à ocorrência próxima de manguezais e aos frutos arredondados. O objetivo do estudo foi avaliar a embriotoxicidade do extrato aquoso de folhas de *Conocarpus erectus* sobre a eclosão de larvas de *Aedes aegypti*. As folhas foram trituradas e extraídas por infusão em água destilada (80°C) e o extrato liofilizado. Ovos de *A. aegypti* (n=200) foram expostos às concentrações de 250, 500, 750 e 1000 µg/mL do extrato aquoso por um período de 0 -5 dias em temperatura de 27-29 °C. Como controle negativo, foi utilizado água mineral. Os ovos foram observados e contados em esteomicroscópio (1.2x) e os dados estatísticos foram analisados no software

SigmaStat 3.5 através do teste de Tukey com valor de  $p < 0,05$ . O controle negativo eclodiu 55% e nas concentrações de 250, 500, 750 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  os percentuais de eclosão foram 5%, 7,5%, 0% e 5% respectivamente, logo apresentaram valores estatisticamente significativos em relação ao controle. O extrato aquoso de folhas de *C. erectus* mostrou efeito inibitório na eclosão de larvas para todas as concentrações testadas.

**Palavras-chave:** Mangue-botão, Folhas, Dengue.

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são produtos naturais que se apresentam como compostos biologicamente ativos. O desenvolvimento de fitoterápicos tem sido alvo de interesse por parte da comunidade científica e indústrias farmacêuticas. As plantas e seus extratos podem possibilitar o desenvolvimento de protótipos para o tratamento e prevenção de doenças (VERPOORTE , 2000; NEWMAN et al , 2003; KVIECINSKI et al, 2008).

*Conocarpus erectus* é membro da família Combretaceae, sendo encontrada em regiões costeiras tropicais e subtropicais do mundo. Essa planta, também conhecida como mangue de botão, é uma árvore de 6 m de altura, com casca de cor cinza ou marrom, flores esverdeadas. Ela é usada em alguns países para anemia, conjuntivite, diabetes, diarreia e febre. No estudo de Shohayeb et al. (2013) investigaram a atividade

antimicrobiana do extrato de diferentes partes de *Conocarpus* contra *Staphylococcus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium phlei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, e *Klebsiella pneumonia*. O extrato de *C. erectus* evidenciou atividade antimicrobiana atribuída ao seu conteúdo de taninos. Foi avaliado o efeito protetor de extratos *C. erectus* em relação à doença hepática em camundongos, evidenciando uma alta atividade antioxidante e hepatoprotetora monitorado por dois métodos de antioxidantes *in vitro*; fosfomolibdênio e reduzindo a atividade de alimentação e teste *in vivo* (HAMEED et al., 2013). No estudo de Hameed et al. (2012) avaliaram as atividades antioxidante, propriedades anticancerígenas e antimicrobianas de *C. erectus*. Os resultados deste estudo fornecem evidência de que as diferentes partes, as folhas, caules, frutos e flores têm propriedades antioxidante, anti-cancerígena e antimicrobiana. Além disso, os compostos fenólicos especialmente taninos são os principais componentes desta espécie.

Apesar de existirem estudos recentes referentes às atividades biológicas dessa planta, ainda pouco se sabe sobre o conteúdo fotoquímico e propriedades farmacognósticas de *C. erectus* (NaHLA, 2010; JAGESSAR; COX, 2010).

Abdel-Hameed et al. (2012) realizaram estudos fitoquímicos envolvendo a espécie *C. erectus* através de cromatografia de camada delgada (placas pré-revestidas de alumínio de sílica gel, GF254, Merck)

e detectaram a presença de metabólitos secundários. Os resultados obtidos mostraram que os compostos fenólicos especialmente taninos e flavonóides são o constituinte principal em todas as frações.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Material vegetal***

Folhas de *C. erectus* foram coletadas em março de 2012 em Itamaracá, Estado de Pernambuco, Brasil e autenticadas pela bióloga Marlene Barbosa do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

### ***Ovos de mosquitos***

Ovos de *A. aegypti* foram originalmente obtidos da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Serra Talhada, Pernambuco - Brasil. Os ovos de mosquitos foram mantidos em uma sala à 29 ° C em copos plásticos descartáveis umedecidos. Os ovos foram contados usando um microscópio estereoscópico e utilizados no ensaio *in vitro*.

### ***Preparação dos extratos***

Folhas (200 g) foram pesadas e trituradas. O material foi extraído por infusão com água destilada (80 °C), resultando no extrato aquoso. Após liofilização, o material foi armazenado a 20 ° C sendo o resíduo seco de extrato aquoso homogeneizado em 100 µL de água destilada em tubos

de microcentrífuga e diluído em água para as concentrações de 250, 500, 750, e 1000 µg/ml.

### ***Bioensaio***

Os ovos *A. aegypti* foram expostos ao extrato aquoso de folhas de *C. erectus* nas concentrações de 250, 500, 750, e 1000 µg / mL. O bioensaio foi realizado em duplicata durante cinco dias consecutivos, utilizando 20 ovos para cada concentração que foram incubados em água mineral (200 mL) a 27 – 29°C . A eclosão das larvas foi observada em microscópio estereoscópico (1,2 x).

### ***Análise Estatística***

Os dados foram analisados no software SigmaStat 3.5 através do teste de Tukey com valor de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

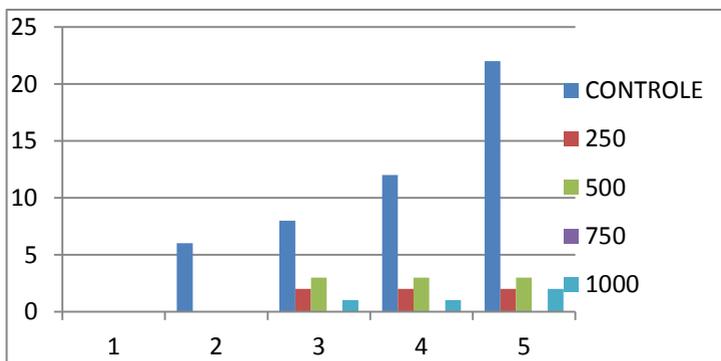
Após cinco dias de exposição ao extrato aquoso de folhas de *C. erectus*, houve eclosão de larvas em 55% para o controle negativo, e nas concentrações de 250, 500, 750 e 1000 µg/mL os percentuais de eclosão foram 5%, 7,5%, 0% e 5% respectivamente, logo apresentaram valores estatisticamente significativos em relação ao controle (Tabela 1 e Figura 1). Altas incidências de embriotoxicidade específica foram encontradas em todas as concentrações testadas causando retardo na eclosão e morte

de larvas de *A. aegypti*, especialmente na concentração de 750 µg/mL, onde 100% das larvas não eclodiram, apresentando maior índice embriotóxico.

**Tabela 1.** Efeito do extrato aquoso de folhas de *C. erectus* em diferentes concentrações na eclosão e mortalidade de larvas de *A. aegypti*.

Dias	Controle <sup>a</sup>		250 µg/mL		500 µg/mL		750 µg/mL		1000 µg/mL	
	Ecl. <sup>b</sup>	Mort. <sup>c</sup>	Ecl. <sup>b</sup>	Mort. <sup>c</sup>	Ecl. <sup>b</sup>	Mort. <sup>c</sup>	Ecl. <sup>b</sup>	Mort. <sup>c</sup>	Ecl. <sup>b</sup>	Mort. <sup>c</sup>
1	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
2	6	-	0	-	0	-	0	-	0	-
3	2	-	2	-	3	-	0	-	1	-
4	4	-	0	1	0	2	0	-	0	1
5	10	-	0	1	0	1	0	-	1	-
Total	22	-	2	2	3	3	0	-	2	1

<sup>a</sup>Água mineral; <sup>b</sup>Nº de larvas eclodidas para cada concentração; <sup>c</sup> Mortalidade de larvas pós eclosão para cada concentração.



**Figura 1.** Quantidade acumulada de larvas de *A. aegypti* eclodidas em cinco dias sobre diferentes concentrações do extrato aquoso de folhas de *C. erectus*.

Estudos relatando efeitos de extrato de plantas de mangue na eclosão de larvas de *A. aegypti* não foram encontrados na literatura, mas muitas plantas vêm sendo estudadas com diversos efeitos biológicos.

Shohayeb et al. (2013), testaram extratos brutos de flores, caule, folhas e frutos e taninos purificados de *C. erectus* em três espécies de fungos e sete espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, demonstrando um amplo espectro antimicrobiano contra as espécies testadas. Esta atividade foi atribuída à grande quantidade de taninos encontrados na espécie. Taninos são polifenóis solúveis em água que são comumente encontrados em plantas herbáceas e lenhosas (Scalbert, 1991). Estudos mostram que taninos possuem atividades bacteriostática e bactericida (Akyiama et al., 2001).

Foi demonstrado que extrato metanólico de diferentes partes da planta *C. erectus* apresentou atividades antioxidante e citotóxica em células Hep-2 e antimicrobiana em seis tipos diferentes de bactérias. Os resultados da pesquisa foram atribuídos à alta concentração de compostos fenólicos encontrados nesta planta (Abdel-Hameed et al., 2012).

Abdel-Hameed et al. (2013), comprovaram as atividades antioxidante e hepatoprotetora de extratos metanólico de folhas, caule, flores e frutos de *C. erectus* em camundongos albinos suíços.

Nossos resultados mostraram atividade embriotóxica de extrato aquoso de *C. erectus* frente a ovos e larvas de *A. aegypti*, corroborando com as atividades demonstradas por Shohayeb et al. (2013) e Abdel-Hameed et al., (2012, 2013) sugerindo, assim, atribuição da atividade aos compostos fenólicos existentes na planta.

## CONCLUSÃO

O extrato aquoso de folhas de *C. erectus* mostrou embriotoxicidade sobre ovos e larvas de *A. aegypti* para todas as concentrações testadas;

Na concentração de 750 µg/mL não houve eclosão de larvas, apresentando maior índice embriotóxico.

## REFERÊNCIAS

EL-SAYED S. ABDEL-HAMEED.; SALIH A. BAZAID.; ABDEL NASSER A. SABRA. Protective Effect of *Conocarpus erectus* Extracts on CCl<sub>4</sub>-Induced Chronic Liver Injury in Mice. **Global Journal of Pharmacology** 7 (1): 52-60, 2013,ISSN19920075,IDOSIPublications2013,DOI:10.5829/idosi.gjp.2013.7.1.7188.

EL-SAYED S. ABDEL-HAMEED.; SALIH A. BAZAID.; MOHAMED M. SHOHAYEB.; MORTADA M. EL-SAYED.; EMAN A. EL-WAKIL. Phytochemical Studies and Evaluation of Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Properties of *Conocarpus erectus* L. Growing in Taif, Saudi Arabia. **European Journal of Medicinal Plants** 2(2): 93-112, 2012 SCIENCEDOMAIN international [www.sciencedomain.org](http://www.sciencedomain.org).

FARDIN, K. M.; YOUNG, M. C.M. Estudo químico e avaliação da atividade antifúngica em *Avicennia schaueriana* Stapf. & Leech. **Anais da 18<sup>o</sup> Reunião Anual do Instituto de Botânica**, ISSN 2238-5088, 2011. Disponível em: <http://www.ibot.sp.gov.br/publicacoes/raibt/2012/17.pdf>, acesso em 27 ago 2013.

KANDIL, F. E.; GRACE, M. H.; SEIGLER, D. S.; CHEESEMAN, J. M. Polyphenolics in *Rhizophora mangle* L. leaves and their changes during leaf development and senescence. **Trees**, v.18, p.518-528, 2004.

KVIECINSKI MR, FELIPE KB, SCHOENFELDER T, DE LEMOS LP, ROSSI, MH, GONÇALEZE (2008). Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa*(Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. **J Ethnopharm** 2008; 117: 69–75.

M. Shohayeb.; E.Abdel-Hameed.; S.Bazaid. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TANNINS AND EXTRACTS OF DIFFERENT PARTS OF CONOCARPUS ERECTUS L. **IJPBS** |Volume 3| Issue 2 |APR-JUN |2013|544-553.

MARRERO, E.; SÁNCHEZ, J.; ARMAS, E.; ESCOBAR, A.; MELCHOR, G.; ABAD, M. J.; BERMEJO,P.; VILLAR, A. M.; MEGÍAS, J.; ALCARAZ, M. J. COX-2 AND SPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). **Fitoterapia**, Short report v.77, p.313-315, 2006.

MARKHAN, K. R. Techniques of flavonoid identification. **London: Acad. Pres.**, p.52-61, 1982.

MOREIRA, I. T. A.; OLIVEIRA, O. M. C.; TRIGUIS, J. A.; QUEIROZ, A. F. S.; FERREIRA, S. L.C.; MARTINS, C. M. S.; SILVA, A. C.M.; FALCÃO, B. A. Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's) using *Avicennia schaueriana*. **Marine Pollution Bulletin**, v.67, n.1-2, p.130-136, 2013.

NEWMAN DJ, CRAGG GM, SNADER KM (2003). Natural products as sources of new drugsover the period 1981–2002. **J Nat Prod** 2003; 66: 1022-1037.

PERERA, L. M. S.; ESCOBAR, A.; SOUCCAR, C.; REMIGIO, M. A.; MANCEBO, B. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v.2(4), p.56-63, 2010.

R. VERPOORTE.; R. VAN DER HEIJDEN.; J. MEMELINK. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. **Transgenic Research** 9: 323–343, 2000.© 2000 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

RAMOS, M. G. M.; GERALDO, L. P. Avaliação das espécies de plantas *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* como bioindicadores de poluição por metais pesados em ambientes de mangue. **Eng. Sanit. Ambient.**, v.12, n.4, p.440-445,2007.

SANTOS, S. C.; FERREIRA, F.S.; DAMIÃO, A. O.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke, Verbenaceae. **Rev. bras. farmacogn.**, v.20, n.1, p.124-129, 2010.

SHARAF, M.; EL-ENSARI, M. A.; SALEH, N. A.M. New flavonoids from *Avicennia marina*. **Fitoterapia**, v.71, n.3, p.274-277, 2000.

SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. Flowering plants of the neotropics. **United Kingdom: Princeton University Press**, 2004, 594p.

VERPOORTE R. Pharmacognosy in the new millennium: lead finding and biotechnology. **J Pharm Pharmacol** 2000; 52: 253-262.

---

## **ENVIRONMENTAL EDUCATION: VALIDATION OF A 16-ITEM QUESTIONNAIRE ABOUT SOLID WASTE**

**Silva, E.<sup>(1)</sup>; Oliveira, H.M.<sup>(1)</sup>; Lima, J.R.<sup>(1)</sup>** edevaldos@yahoo.com.br

<sup>(1)</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos - PB, Brasil.

### **ABSTRACT**

One of the main instruments of data collection for diagnosis and measurement of environmental attitude scale is the questionnaire. To ensure its accuracy it is important that the items are developed and statistically validated in order to have reliability of the information reported by its application. This study aims at validating a questionnaire regarding solid waste and environmental practices applied to public school students in the city of Patos, Paraíba – Brasil. The questionnaire was developed initially with 16 items grouped into two dimensions: D1: Social and Environmental Practices and D2: Solid waste. The validation was performed using the  $\alpha$ -conbrach reliability test. The questionnaire was applied to 31 high school students from a public school.

The choice of interviewed students followed the criteria of randomness and chance. The questionnaire was designed on the model of the Likert scale, with a scale of five levels of response for each question. After validation of questionnaire, the overall value of  $\alpha$ -Cronbach also increased from 0.82 to 0.86 and good  $\alpha$ -Cronbach for two dimension (D1 = 0.81 e D2 = 0.70). In addition, there was a significant correlation between dimensions ( $r = 0.78$ ,  $R^2 = 0.58$ ;  $p < 0.01$ ). The final validated questionnaire was comprised for thirteen questions.

**Keywords:**  $\alpha$ -Cronbach, Likert Scale, High School.

## RESUMO

Um dos instrumentos de coletas de dados mais utilizado para diagnóstico e medida de escala de atitude é o questionário. Para garantir sua acurácia é importante que seus itens sejam bem elaborados e validados estatisticamente para que se tenha certeza na confiabilidade das informações reportadas por meio de sua aplicação. Esse trabalho tem como objetivo validar um questionário com questões sobre a temática resíduos sólidos e práticas socioambientais aplicado para alunos do ensino médio público da cidade de Patos, Paraíba – Brasil. O questionário foi elaborado, inicialmente, com 16 ítems agrupadas em duas dimensões: Práticas Socioambientais e Resíduos sólidos. O questionário foi elaborado no modelo da Escala de Likert, apresentando uma escala de cinco níveis de resposta para cada pergunta, sendo aplicado para 31 alunos do ensino médio de uma escola pública. A validação do questionário foi realizada estatisticamente pelo teste de confiabilidade interna alfa de Cronbach. O questionário foi validado com a otimização da confiabilidade das dimensões, rejeitando-se 3 itens e aumentando o valor de  $\alpha$ -Cronbach geral (0.82 para 0.86) e de ambas as dimensões (D1 = 0.81 e D2 = 0.70), apresentando correlação significativa entre as dimensões ( $r = 0.78$ ;  $R^2 = 0.58$ ;  $p < 0.01$ ).

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -Cronbach, Escala de Likert, Ensino Médio.

## INTRODUCTION

Environmental education has been an essential mechanism to provide favorable conditions for a sustainable society since the 70s (STOREY e OLIVEIRA, 2004). It is a continuous learning process and seeks to consolidate values and actions that contribute to the transformation of socially just and ecologically balanced societies that have interdependent relationship (FORUM INTERNACIONAL DAS ONG's, 2005).

Among the many ecological problems, there is the rapid growth of the volume of solid waste, caused by population growth and the increasing consumption of durables and non-durable goods (JÚNIOR et al., 2010).

One of the main instruments of data collection for diagnosis and measurement of environmental attitude scale is the questionnaire. To ensure its accuracy it is important that the items are developed and statistical validated in order to have reliability of the information reported by its application.

This study aims at validating a questionnaire regarding solid waste and environmental practices applied to public school students in the city of Patos, Paraíba – Brasil.

## **MATERIALS AND METHODS**

The questionnaire was developed initially with 16 items grouped into two dimensions: D1 - Social and Environmental Practices - Composed

of nine questions about attitudes relating the issue of solid waste with consumption and socio-environmental attitudes of students (Table 1); D2 - Solid waste - composed of seven questions on the knowledge and attitudes related to solid waste and recycling (Table 2).

**Table 1.** Items of Dimension 1: Social and Environmental Practices.

<b>Questions - Dimension 1</b>
Q1. How do you feel in relation to their knowledge of current environmental problems?
Q2. How often do you seek to inform about the environment and environmental problems?
Q3. See if the company that buys the product has environmental commitment?
Q4. Stop buying a cheaper product for a more expensive and environmental commitment?
Q5. Usually check the package brings environmental information?
Q6. Do some practice at home, focused on consumer awareness?
Q7. Like reading news on the environment?

**Table 2.** Items of Dimension 2: Solid waste.

<b>Questions - Dimension 2</b>
Q8. Importance of selective collection of waste.
Q9. What makes organic waste in your home?
Q10. Today, you know how to do selective collection?
Q11. As understands the symbols on recycling present in packaging?
Q12. Reuses the grocery bags?
Q13. Know the environmental problems of using plastic bags?
Q14. Aware of the use of reusable bags?
Q15. Knows has knowledge about the problem of oil dumped in effluent?
Q16. Cares for the garbage it produces?

The validation was performed using the  $\alpha$ -conbrach reliability test. The questionnaire was applied to 31 high school students from a public

school (Patos, Paraíba – Brasil). The choice of interviewed students followed the criteria of randomness and chance, choosing students from various groups having the high-school last year at the school researched.

The questionnaire was designed on the model of the Likert scale, with a scale of five levels of response for each question. The questionnaire validation was performed statistically by testing the internal reliability of alpha Cronbach (Equation 1) and analysis of the correlation values of items for each dimension, determined by Equation 1 where:  $\sigma_i^2$  is the variance of items and  $\sigma_x^2$  is the variance of the sum of items and  $n$  is the number of items. From the values of Cronbach's alpha and the analysis of the correlation values of the items for each dimension, there was the need for rejecting questionnaire items to validate it with both dimensions presenting an acceptable reliability level.

$$\alpha = \frac{n}{n-1} \left( 1 - \frac{\sum \sigma_i^2}{\sigma_x^2} \right)$$

Equation 1

Any measure to be valid now, should be trusted. Alpha measures how reliable a questionnaire as a measure of a given construct (MAROCO and GARCIA-MARQUES. 2006; HORA et al., 2010).

The Ethics Committee of the Universidade Federal de Campina Grande – (CEP HUAC) under the CAAE N ° 15725013.4.0000.5182 approved this study.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the statistical parameters of each questionnaire dimension (D1 and D2) are in Table 3. The Cronbach- $\alpha$  for the overall questionnaire, considering all the 16 items was equal to 0.82. However, it seems that both dimensions, taken individually, showed lower values. The Cronbach  $\alpha$ - value for D1 is on acceptable range for a reliable questionnaire ( $> 0.70$ ), while the D2 showed undesirable value, demonstrating that there is low reliability and consistency, which is confirmed by the low value of the correlation between items (.15).

**Table 3.** Statistical validation parameters before and after deleting items.

Parameter Statistical	Dimension 1		Dimension 2	
	Total	Exclusion	Total	Exclusion
	7 items	6 items	9 items	7 items
Mean	20.26	16.84	30.68	24.84
Sum	628	522	951	770
Standard Desviation	5.96	5.60	5.08	5.08
Variance	35.53	31.34	25.76	22.07

Inter-item Correlation	0.35	0.43	0.15	0.26
$\alpha$ -Cronbach	0.78	0.81	0.59	0.70

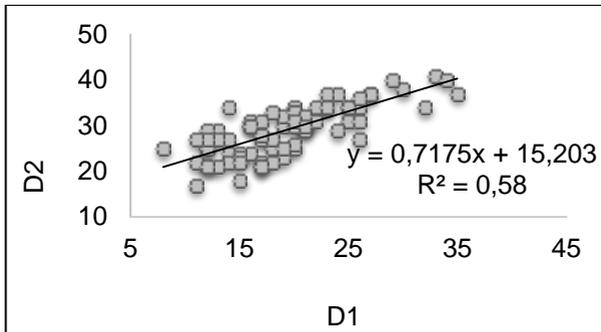
The item-total correlation values composing each dimension were analyzed to optimize the reliability of dimensions (Table 4). Three items were rejected (D1 - Q4; D2 - Q9 and Q15) in this analysis, which reported very low correlation values, thus showing low inconsistency of this item with others.

**Table 4.** Values of item-total correlation of items Dimensions D1 and D2.

Dimension 1		Dimension 2	
Item	Inter-item Correlation	Item	Inter-item Correlation
Q1	0.424	Q8	0.263
Q2	0.607	Q9	-0.124
Q3	0.671	Q10	0.365
Q4	0.177	Q11	0.484
Q5	0.575	Q12	0.260
Q6	0.543	Q13	0.732
Q7	0.569	Q14	0.213
		Q15	0.196
		Q16	0.301

After rejection, the partial Cronbach's  $\alpha$  coefficient (in each dimension) increased to appropriate values to consider them independently consistent. The overall Cronbach's  $\alpha$  value (all questions D1 and D2)

also increased from 0.82 to 0.86. In addition, there was a significant correlation between dimensions ( $r = 0.78$ ,  $R^2 = 0.58$  at  $p < 0.01$ , Figure 1). Thus, the final validated questionnaire was comprised of a total of thirteen questions.



**Figure 1.** Correlation between the responses of dimensions D1 and D2 ( $N = 92$ )

## CONCLUSION

After validation of questionnaire, the overall Cronbach's  $\alpha$  value (all questions D1 and D2) also increased from 0.82 to 0.86.

In addition, there was a significant correlation between dimensions ( $r = 0.78$ ).

The final validated questionnaire was comprised of a total of thirteen questions.

## REFERENCES

FORUM INTERNACIONAL DAS ONGs. **Tratado de educação ambiental para sociedade sustentáveis e responsabilidade global.** Rio de Janeiro. 1995.

HORA, H. R. M.; MONTEIRO, G. T. R.; ARICA, J. Confiabilidade em Questionários para Qualidade: Um Estudo com o Coeficiente Alfa de Cronbach. **Produto & Produção**. v. 11, n. 2, p. 85-103. 2010.

JÚNIOR, F. S. S.; SILVA. N. F.; SOUZA. L.; EVANGELISTA. J. P. C.; CAMACHO. R. G. V. Associação comunitária reciclando para a vida (ACREVI) e suas experiências de educação ambiental para minimizar os impactos ambientais em Mssoró/RN. **Informativo Técnico do Semiárido (INTESA)**. v.3. n.1. p.01-06 jan/dez. 2010.

MAROCO, J.; GARCIA-MARQUES, T. G. **Qual a fiabilidade do alfa de Cronbach? Questões antigas e soluções modernas?** Laboratório de Psicologia. v.4, n.1, p. 65-90. 2006.

STOREY. C.; OLIVEIRA. H. T. Social representations and environmental education with a women's group in Manaus. Amazonas-Brazil. **Environmental Conservation**, v.31, n.4. p. 299–308. 2004.

CROMBACH. L. J. **Fundamentos da testagem psicológica**. Trad. Silveira Neto e Veronese. M.A.V. 5 ed. Porto Alegre: Artes Médicas. 1996.

---

## **ESCORPIOFAUNA EM MATA DE GALERIA NA AMAZÔNIA ORIENTAL**

**Moutinho, C. S.<sup>(1,2)</sup>; Peniche, T. S.<sup>(1,2)</sup>; Sidônio, I. A. P.<sup>(1,2)</sup>; Nascimento, F. A.<sup>(1,2)</sup>; Ferreira, R. M. A.<sup>(1,2)</sup>; Caldas, E. M.<sup>(1,2)</sup>; Souto, R.N.P.<sup>(1,2)</sup>**

camilasmoutinho@gmail.com

<sup>(1)</sup>Laboratório de Arthropoda, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil;

<sup>(2)</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

## RESUMO

Os escorpiões pertencem ao filo Artropoda, sub-filo Chelicerata, classe Arachnida e a ordem Scorpiones. Na ordem existem 18 famílias às quais pertencem cerca de 1500 espécies e subespécies localizadas em todo o mundo, predominantemente em regiões tropicas e subtropicais. Na ordem Scorpiones, a família Buthidae tem distribuição mundial e nela está presente o gênero *Tityus*, com três espécies encontradas no Brasil causador de acidentes humanos. Este estudo objetivou conhecer a composição de espécies de Scorpiones em ambiente de mata de galeria, na Amazônia oriental. As coletas de espécimes de Scorpiones foram levadas a efeito no período de Maio a agosto de 2013 em um ambiente de mata de galeria. Em uma parcela de 30mx50m, utilizando-se as técnicas de busca ativa no período diurno, nos horários de 9 às 12h e 15 às 18h e com o uso de Pitfalls distribuídas em transectos de 20m em forma de Y com um esforço de três dias mensalmente. Foram coletados 101 exemplares, classificados em duas famílias Buthidae e Chathidae. Foram assinaladas as espécies *Tityus paraensis*, *Tityus silvestris* e *Brotheas gervaisii* consideradas de importância médica.

**Palavras-Chave:** Cerrado amazônico, Diversidade, Escorpionismo.

## INTRODUÇÃO

A ordem Scorpiones compreende 16 famílias, 150 gêneros e 1500 espécies, representando 1,5% dos aracnídeos (FET et. al, 2000). No Brasil estão presentes quatro famílias, 17 gêneros e 86 espécies, distribuídas por todas as regiões (LOURENÇO, EICKSTEAD, 2003). A região com maior diversidade em escorpiões compreende o Equador, sul da Colômbia, norte do Peru e oeste do Brasil (CARDOSO et. al,

2003). No Brasil, as regiões Norte e Nordeste são as que apresentam a maior riqueza de espécies, com 68, perfazendo 52% dos escorpiões da fauna brasileira e 34 com 26% da escorpiofauna brasileira, respectivamente (PORTO, BRAZIL, SOUZA, 2010).

No estado do Amapá, raros foram os estudos sobre a escorpiofauna. Porto, Brazil e Souza (2010) relatam a ocorrência de cinco espécies de Chactidae, sendo *Auyantepuia amapensis*, *Brotheas gervaisii*, *B. granulatus*, *Hadrurorochactas schaumii* e *Neochactas delicatus*. Vitor (2010) em inventário em onze mesorregiões, em áreas de mata de terra firme, assinalou as famílias Buthidae, com as espécies *Tityus obscurus*, *T. metuendus*, *T. silvestris* e *T. raquela* e Chactidae, com os gêneros *Brotheas*, espécie *Brotheas amazonicus*, *Brotheas gervaisii* e *Brotheochactas* com *Brotheochactas delicatus*. Rodrigues e Souto (2012) em um estudo desenvolvido em fragmentos de mata de terra firme no estado do Amapá registraram a ocorrência das famílias Buthidae com as espécies *Tityus paraensis*, *T. silvestris* e *Ananteris alzanne* e Chactidae com *Brotheas gervaisii*.

Entre os taxade escorpiões de importância médica, somente a família Buthidae com o gênero *Tityus* com cerca de 60% das espécies da escorpiofauna neotropical causam o escorpionismo no Brasil (BRASIL 2001). Os registros de casos graves estão relacionados a três espécies, *Tityus bahiensis* (Perty 1834), *Tityus serrulatus* (Lutz & Mello 1922) e *Tityus stigmurus* (Thorell 1876) (CUPO et. al., 2003).

O conhecimento da diversidade biológica da Amazônia é ainda escasso, concentrando-se, principalmente, ao redor dos centros urbanos e nas margens dos grandes rios da região, os quais historicamente constituem a via de acesso ao interior da bacia amazônica. A utilização de inventários estruturados para a avaliação dos padrões de riqueza e diversidade de espécies tem se tornado cada vez mais constante nos estudos de fauna, principalmente porque permite a comparação entre ambientes (CODDINGTON et al., 1996). Além disso, essas avaliações aperfeiçoam o tempo despendido em campo, uma vez que aumentam a quantidade e a qualidade da informação obtida sobre os padrões de diversidade e distribuição das espécies.

É necessário se realizar inventários padronizados, para levantar de forma sistemática as espécies de invertebrados em grupos focais específicos com ocorrência na Amazônia, para melhorar o conhecimento taxonômico, fortalecer coleções de referência, apontar os melhores indicadores de qualidade ambiental, e, principalmente, os táxons mais apropriados para inventários rápidos. Ter conhecimento e reconhecer quais organismos ocorre em um local, e sobre quantas espécies podem ocorrer nele, é uma condição para o desenvolvimento de projetos visando à conservação da área.

Este estudo teve como objetivo conhecer a composição de espécies de Scorpiones em ambiente de mata de galeria, na Amazônia oriental.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi realizado na Amazônia oriental, no estado do Amapá, município de Macapá, em uma comunidade remanescente de quilombo, denominada Ressaca da Pedreira em um ambiente de mata de galeria, domínio morfoclimático de Cerrado amazônico.

As coletas de espécimes de *Scorpiones* foram levadas a efeito no período de maio a agosto de 2013, compreendendo o período mais chuvoso e o início do período menos chuvoso, em um ambiente de mata de galeria, em uma parcela de 30mx50m (UTM 0504267 0028277), utilizando-se as técnicas de busca ativa focando nos micro-hábitats mais prováveis para a ocorrência destes aracnídeos, como embaixo de pedras e troncos, sob cascas de árvore e dentro de tocas e buracos no período diurno, nos horários de 9 às 12h e de 15 as18h e com o uso de 10 armadilhas de queda do tipo Pitfall traps, feitas com copos plásticos de 500mL, com 7 cm de diâmetros, com um volume de 150 mL de formol a 1%, distribuídas em 03 transectos de 20m cada, dispostos em forma de Y, com um esforço de três dias em cada mês.

Os espécimes amostrados foram acondicionados em frascos com álcool a 70% e levados ao Laboratório de Arthropoda da Universidade Federal do Amapá onde foram identificados até espécies, utilizando-se as chaves de espécies (LOURENÇO; FÉ, 2003; LOURENÇO, 2004; LOURENÇO; MACHADO, 2004; LOURENÇO; RAMOS, 2004;

LOURENÇO; ARAÚJO, 2004; LOURENÇO, 2005; LOURENÇO *et al.*, 2005a; LOURENÇO *et al.*, 2005b).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados 101 exemplares de escorpiões, sendo 8 (0,79%) da família Buthidae, com as espécies *Tityus paraensis* (Kraepelin, 1896), *Tityus silvestris* (Pocock, 1897) e 93 (92,1%) de indivíduos pertencentes à família Chactidae, todos da espécie *Brotheas gervaisii* (Pocock, 1893) (Tabela 1). Todas as espécies amostradas já haviam sido assinaladas para a Amazônia oriental.

O Amapá é um dos estados da Amazônia brasileira, onde há uma maior lacuna amostral, sendo relatada a ocorrência de duas famílias, sete gêneros e treze espécies de Scorpiones, provenientes de levantamentos rápidos (PORTO, BRAZIL e SOUZA, 2010; VITOR, 2010; RODRIGUES e SOUTO 2012).

Na Amazônia Ocidental, na reserva Ducke em Manaus, Araújo (2007) relata a ocorrência das famílias Buthidae, com os gêneros *Ananteris* e *Tityus* de três espécies, *Ananteris dekeyseri* Lourenço, 1982, *A. pydanieli* Lourenço, 1982 e *Tityus metuendus* Pocock, 1897. Chactidae, com os gêneros *Brotheas amazonicus* Lourenço, 1988 e *Chactopsis amazonica* Lourenço & Francke, 1986. Brazil, et al (2009) registraram

a ocorrência de *Tityus serrulatus* Lutz & Mello, 1922, *T. stigmurus* e *T. braziliae* Lourenço & Eickstedt, 1984, para o estado da Bahia.

Em relação importância médica destaca-se o gênero *Tityus* pertencente à família Buthidae. Segundo Lourenço e Eickstedt (2003) as espécies do gênero *Tityus* apresentam alta plasticidade ecológica aliada a uma razoável capacidade de dispersão, e, por isso podem ser encontradas em ambientes perturbados ou modificados pela ação do homem como espécies oportunistas ou generalistas. Neto e Pardal (1996) e Pardal, et al. (2006) em estudos voltados ao escorpionismo, encontraram no estado do Pará somente as famílias Buthidae e Chactidae.

O escorpionismo tornou-se um problema de saúde pública em alguns países pela alta incidência e/ou gravidade dos casos e dificuldade de gestão pelos serviços de saúde, ultrapassando 1.200.000 casos anuais com mais de 3.250 mortes no mundo (CHIPPAUX; GOYFFON, 2008). São registrados aproximadamente 100.000 acidentes e 200 óbitos por animais peçonhentos anualmente no Brasil, e os escorpiões se destacam por serem responsáveis por aproximadamente 30% dos casos, superando em números absolutos os casos de ofidismo (BRASIL, 2009). A gravidade destes acidentes varia conforme a quantidade de veneno injetada, toxicidade, espécie e tamanho do escorpião, local da picada, idade e sensibilidade da pessoa ao veneno, além de fatores relacionados ao tratamento, como diagnóstico precoce e tempo decorrido desde o acidente até a soroterapia (BRAZIL, 2009).

**Tabela 1.** Riqueza e abundância de Scorpiones amostrados no ambiente de mata de galeria, Amazônia oriental na localidade de Ressaca da Pedreira, Macapá.

<b>Família</b>	<b>Gênero</b>	<b>Espécie</b>	<b>Abundancia</b>
Buthidae	<i>Tityus</i>	<i>Tityus paraensis</i>	6 (5,94%)
		<i>Tityus silvestris</i>	2 (1,98%)
Chactidae	<i>Brotheas</i>	<i>Brotheas gervaisii</i>	93 (92,07%)

## CONCLUSÃO

Este estudo contribuiu para a expansão do conhecimento da distribuição de taxa de Scorpiones na Amazônia brasileira.

Os registros de espécies de Scorpiones com importância na causa do escorpionismo serão socializados aos órgãos responsáveis da Secretaria de Saúde do Amapá, para o estabelecimento de medidas de prevenção.

## REFERENCIAS

ARAUJO, S. J. **Métodos de amostragem, influência dos fatores ambientais e guia de identificação dos escorpiões (chelicerata: escorpiones) da reserva Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil.** Dissertação para o Título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em entomologia, Coordenação de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas. 2007.

BRASIL. **Ministério da saúde. Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos.** 2ª ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de controle e manejo de escorpiões.** Tiragem: 1ed. Brasília/DF. Série B. Textos Básicos de Saúde. 2009.

BRAZIL, T. K.; et al. **Escorpiões de importância médica do estado da Bahia, Brasil.** *Gazeta Médica da Bahia*, 79 (Supl.1):38-42.2009.

BROWNELL P.; POLIS G. **Scorpion Biology and Research.** Oxford University Press, New York, 2001.

CARDOSO J.L.C.; FRANÇA F.O.S.; FAN H.W.; MALAQUE C.M.S.; HADDAD, J. V. **Animais peçonhentos no Brasil. biologia, clínica e terapêutica dos acidentes.** 1ª ed. São Paulo: Sarvier fapesp, 2003

CHIPPAUX, J. P.; GOYFFON, M. **Epidemiology of scorpionism: a global appraisal.** *Acta Tropical*, v. 107, n. 2, p. 71-79, 2008.

CODDINGTON, J. A.; YOUNG, L. H.; COYLE, F. A. Estimating spider species richness in a southern appalachian cove hardwood forest. **The Journal of Arachnology.** 24(2):111-128, 1996.

CUPO, P. A.; MARQUES, M. M.; HERING, S.E. Escorpionismo In: CARDOSO JLC, FRANÇA FOS, WEN FH, MÁLAQUE CMS, HADDAD V. **Animais Peçonhentos no Brasil. Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes.** 1ª ed. São Paulo: Sarvier fapesp, 2003

LOURENÇO W.R.; EICKSTEAD V.R.D. **Escorpiões de importância médica.** In: Cardoso JLC, França FOS, Wen FH, MálaqueCMS, Haddad V **Animais Peçonhentos no Brasil: Biologia, Clínica e Terapêutica dos Acidentes.** 1ª ed. São Paulo: Sarvier, FAPESP, 2003.

NETO, H. F.; PARDAL, P. P. O. **Escorpiões e escorpionismo na área metropolitana de belém e arredores, estado do Pará, Brasil (Chelicerata Scorpiones).** *Na. Acad. Med. Pará.* Belém, v.7. P.31-35, 1996.

PARDAL, P. P. O.; et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos do escorpionismo na região de Santarém, estado do Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 36(3): 349-353.2003.

RODRIGUES, J. A. R.; SOUTO, R.N.P. **Diversidade de Escorpiões (Arachnida: Scorpiones) Inventariados na ilha de Santana, Santana, Amapá.** Relatório de pesquisa apresentado a Secretaria de Estado da Ciência e Tecnologia – SETEC. 2012.

VITOR, J. C. **Levantamento de Escorpiões (Arachnida: Escorpiones) na Mesorregião Sul do Estado do Amapá com ênfase aos de Importância Médica.**

## **ESTRUTURA DA *Sacoglottis guianensis* BENTH. NA UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ**

**Estigarribia, F.<sup>(1)</sup>; Aparício, W. C. S.<sup>(1)</sup>; Pereire, L. C. B.<sup>(1)</sup>; Galvão, F. G.<sup>(1)</sup>;  
Gama, R. C.<sup>(1)</sup>; Lobato, C. M.<sup>(1)</sup> fabyestigarribia@gmail.com**

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

### **RESUMO**

A espécie *Sacoglottis guianensis* Benth. pertencente a família Humiriaceae, é uma planta característica das formações semi-abertas da região Amazônica. O objetivo da pesquisa foi conhecer a estrutura fitossociológica da espécie arbórea *Sacoglottis guianensis* Benth., em quatro fragmentos de área de Transição Cerrado Floresta. O estudo foi realizado em quatro fragmentos florestais, possuindo a seguintes coordenada geográfica, de 0°0'19.89"S e 51°5'6.38" O. A área de estudo localizam-se no Campus da Universidade Federal do Amapá, na rodovia Juscelino Kubitschek, Km 02, bairro Jardim Marco Zero. Para amostragem da população de *Sacoglottis guianensis*, foram instaladas sistematicamente 47 parcelas permanentes medindo 250m<sup>2</sup> (10 x 25), distando 25m uma da outra, posicionadas paralelamente ao rio Amazonas. No levantamento florístico efetuado foram amostrados 2431 indivíduos de 90 espécies, das quais *Sacoglottis guianensis* Benth apresentou 190 indivíduos uma das mais representativas na área de estudo, também apresentou alto valor de frequência Relativa de 3,67%, e Densidade Relativa de 4,02% e com distribuição espacial agregada na área. Os fragmentos de Transição-Cerrado-Floresta apesar de estarem bastante antropizados apresentam altos valores de densidade e frequência da espécie de *Sacoglottis guianensis* Benth, demonstrando que a área ainda é propícia ao estabelecimento de espécies de grande importância econômica.

**Palavras-chave:** Cerrado, Frequência, Amazonas.

## **INTRODUÇÃO**

A Amazônia é formada por diferentes ecossistemas, com diversos conjuntos de espécies vegetais que ocorrem em áreas adjacentes sobre diversos e diferentes substratos, o que se observa que nos vegetais existem a preferencia por habitat ou a variação na história evolutiva das mesmas. Porém o impacto das ações antrópicas sobre os ambientes tem feito com que importantes ecossistemas sejam descaracterizados sem que se tenha conhecimento da sua estrutura fitossociológica e composição florística das espécies nos diferentes ambientes (PITMAN et al., 2001).

Estudos realizados na Amazônia mostram que os ambientes florestais de terra firme apresentam alta diversidade, representada por poucos indivíduos de cada espécie (PRANCE et al., 1976; LIMA FILHO et al., 2001). O acelerado desmatamento de extensas áreas, na Amazônia tem provocado grandes perdas de recursos genéticos de espécies vegetais raras e distintas (NOBRE et al., 1991; HOUGHTON et al., 2000). Diversos fatores contribui a complexidade nas pesquisas científicas, de espécies existentes do potencial de uso de recursos naturais da floresta Amazônica. Entre outros fatores podem ser citados a

grande dificuldade dos ecossistemas com as enormes extensões geográficas, a ampla variação ambiental bióticos, abióticos e as muitas interferências antrópicas nas fitofisionomia, a falta de apoio à pesquisa básica e principalmente o desmatamento irracional (LIMA FILHO, et al 2001).

Contudo a espécie *Sacoglottis guianensis* pertencente a família Humiriaceae, é uma planta característica das formações semi-aberta da região Amazônica como Campos úmidos, Campinas, restingas arenosas, cerrados intermediário, várzeas e mata alta de terra firme. Possui potencial Alimentício, medicinal e ornamental, sua madeira é utilizada em construção civil e em obras externas como postes, dormentes e pontes (LORENZI, 1998).

O conhecimento florístico e fitossociológico das florestas de terra firme são condições essenciais para a conservação de sua elevada diversidade, onde a obtenção e a padronização dos atributos florísticos e fisionômicos de diferentes ambientes são de extrema importância (OLIVEIRA et al, 2004).

Diante de tais informações o objetivo da pesquisa foi conhecer a estrutura fitossociológica da espécie arbórea *Sacoglottis guianensis* Benth, que possui um grande potencial econômico, encontrada em um fragmento de área de transição Cerrado Floresta, localizado no campus da Universidade Federal do Amapá, afim de se obter informações sobre a atual situação dos fragmentos florestais, para assim contribuir com

informações que visem a disseminação do conhecimento científico e a conservação da espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado em quatro fragmentos florestais possuindo a seguinte coordenada geográfica Central, de 0°0'19.89"S e 51°5'6.38"O. A área apresenta fitofisionomia de Transição Cerrado-Floresta. Localiza-se no Leste do Amapá, no Campus da Universidade Federal do Amapá, na rodovia Juscelino Kubitschek, Km 02, bairro Jardim Marco Zero. Todas as áreas foram georreferenciadas com o auxílio do GPS Garmin GPS, o fragmento um possui 1 ha, o dois 1,65 ha, o três 1,38 e o quatro 5,81 ha.

Segundo a classificação de Köppen, a região apresenta clima tipo Am possui um clima equatorial super-úmido (Am) com poucas variações de temperatura, o período mais frio apresenta elevados índices de pluviosidade com precipitação anual de cerca de 2.500mm e temperatura média anual variando de 25 a 27°C (DRUMMOND, 2004).

Para análise da espécie foi coletada ramos (férteis) e prensados e submetidos a secagem em estufa do Herbário da Universidade Federal do Amapá – HUFAP, após montadas exsiccatas e duplicatas conforme os

procedimentos usuais de herborização. A identificação seguiu o sistema de classificação APG III (2009), a sinonímia foi confirmada pelo Mobot-Missouri Botanical Garden. Foram analisados três indivíduos da espécie, ressaltando suas características locais mais marcantes e anotados dados relativos à morfologia da folha, disposição dos ramos e características gerais do tronco, dados de frutificação foram descritos por literatura especializada.

Para amostragem da população de *Sacoglottis guianensis* Benth, foram instaladas sistematicamente parcelas permanentes medindo 250m<sup>2</sup> (10 x 25), distando 25m uma da outra, posicionadas paralelamente ao rio Amazonas, das quais cinco parcelas foram lançadas no fragmento um, oito parcelas no fragmento dois, sete parcelas no fragmento três e 27 parcelas no fragmento quatro, totalizando 47 parcelas como um todo. Para a medição arbórea utilizou-se a haste do podão, que apresenta uma seção modular de três metros e o restante estimado visualmente com altura comercial.

Para análise fitossociológica da área todos os indivíduos arbóreos foram mensurados, com auxílio de fita métrica, as Circunferências à Altura do Peito (CAP)  $\geq 10$  cm. e receberam placa de alumínio com numeração, foram coletadas amostras e depositadas no herbário da universidade Federal do Amapá – HUFAP, seguindo o sistema de classificação Angiosperm Phylogeny Group versão III (APG, 2009). O gráfico foi gerado por meio do “Software Microsoft EXCEL for Windows™

2000”, que considera o número de pontos mínimos a serem amostrados e o ponto onde há a intersecção da parte linear crescente com a parte em forma de platô.

Para análise dos Parâmetros Fitossociológicos de frequência absoluta e relativa, densidade absoluta e relativa, dominância absoluta e relativa e valor de importância (Quadro 1), utilizou-se cálculos segundo a metodologia proposta por Felfili e Rezende (2003).

**Quadro 1.** Fórmulas utilizadas para cálculos dos parâmetros fitossociológicos da espécie *Sacoglottis guianensis*, no fragmento de mata da Universidade Federal do Amapá.

<b>FÓRMULAS DOS PARÂMETROS FITOSSOCIOLOGÍCOS</b>	
Densidade Absoluta = $DR_i = \left(\frac{n_i}{N}\right) \cdot 100$	Densidade Relativa $DA_i = \frac{n_i}{A} =$
Frequência Absoluta = $FA_i = \left(\frac{U_i}{U_t}\right) \cdot 100$	Frequência Relativa = $FR_i = \left(\frac{FA_i}{\sum_{i=1}^n FA_i}\right) \cdot 100$
Dominância Absoluta = $DoA_i = \frac{\sum_{i=1}^n G_i}{A}$	Dominância Relativa = $DoR_i = \frac{DoA_i}{\sum_{i=1}^n DoA_i}$
Valor de importância = $VI_i = DR_i + FR_i + DoR_i$	

Em que: ni= número de indivíduos amostrados da i-ésima espécie, N= número de indivíduos amostrados, A= número de indivíduos amostrados, A= área amostrada, em hectares, Ui= número de unidades amostrais com a ocorrência da i-ésima espécie; UT= número total de unidades amostrais; FAi= Frequência absoluta de i-ésima espécie; Gi= área basal da i-ésima espécie, em metro quadrado por hectare; GT= área total, em metro quadrado por hectare.

O padrão de distribuição espacial foi analisado com base no Índice de Morisita (Im) (ZAR, 1999). No método, valores menores que 1,0 indicam uma distribuição uniforme, valores iguais a 1,0 indicam distribuição aleatória e valores maiores que 1,0 indicam distribuição agregada. Optou-se pela utilização do Índice de Morisita para análise da distribuição espacial já que, segundo Barros (1984), este é pouco influenciado pelo tamanho da unidade amostral. A significância estatística foi verificada através do valor de X<sup>2</sup> (qui-quadrado), com significância de 5%.

O Índice de Morisita (Im) e Teste qui-quadrado (X<sup>2</sup>) foram obtidos por:

$$I = nx \frac{\sum x^2 - N}{Nx(n-1)} \quad \chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^s X^2}{N} - N$$

Em que Id: índice de Morisita; n: número total de parcelas amostradas; N: número total de indivíduos por espécies, contidos em n parcelas; X<sup>2</sup>: quadrado do número dos indivíduos por parcela; s: número de espécies amostradas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No levantamento florístico efetuado foram amostrados um total de 2431 indivíduos, 90 espécies, pertencentes em 40 famílias, das quais a família Humiriaceae ficou em terceiro lugar com 225 indivíduos abaixo apenas das famílias Fabaceae e Burseraceae. A espécie *Sacoglottis*

*guianensis* Benth da família Humiriaceae apresentou 190 indivíduos uma das mais representativas na área de estudo, também apresentou alto valor de Frequência e Densidade, representando os seguintes parâmetros fitossociológicos, conforme a Tabela 1.

**Tabela 1.** Parâmetros Fitossociológicos da espécie *Sacoglottis guianensis* Benth. Inventariada numa floresta de transição cerrado-floresta de terra firme, Macapá, Amapá, Brasil. Onde: N – numero total de indivíduos; FRA – frequência absoluta; FR – frequência relativa; DRA – densidade absoluta; DR – densidade relativa.

<b>Descriminação</b>	<b>N</b>	<b>FRA</b>	<b>FR</b>	<b>DRA</b>	<b>DR</b>	<b>Distribuição Espacial</b>
<i>Sacoglottis guianensis</i> Benth	190	59,57	3,67%	834,04	4,02%	Agregada
<b>Total dos fragmentos</b>	2.431	1623,40	100%	20757,45	100%	-

Os altos valores em números de frequência relativa, frequência absoluta, densidade relativa e densidade absoluta, demonstrou que a espécie *Sacoglottis guianensis* possui uma boa adaptação e preferências a áreas de fitofisionomias de Transição de Cerrado-Floresta, indicando que a espécie não é muito exigente quanto as condições do meio em que vive. A área é localizada em um perímetro urbano isso torna o local bastante antropizado com interferência humana como construções civis, o que vem causando o desaparecimento da fauna no local.

A quantidade de indivíduos da espécie *Sacoglottis guianensis* Benth. encontrada mostra que a área está propícia para seu desenvolvimento mesmo levando em consideração de ser um ambiente bastante antropizado.

As espécies se distribuem conforme a uniformidade de seus parâmetros fitossociológicos (MATOS; AMARAL, 1999). O que pode se dizer que os resultados da densidade, frequência e dominância adotam valores significativos, que relata a importância ecológica que a espécie ocupa dentro da comunidade amostrada.

A baixa densidade de uma espécie tem tendência a apresentar um padrão de distribuição espacial aleatória. Enquanto que em muitos casos, espécies com maiores densidades como apresentou a *Sacoglottis guianensis* apresentou distribuição agregada. Segundo Aparício (2011) os padrões espaciais são próprios de cada espécie dependendo muitas vezes do lugar em que ela se encontra, o que determina sua dispersão dos frutos e sementes edáficos do sítio.

A espécie apresentou um padrão de distribuição agregada, com um Índice de Morisita superior a 1, confirmada com o valor do Qui-quadrado calculado  $>$  que o Qui-quadrado tabelado.

A distribuição espacial de uma espécie em estudo oferece informações sobre ecologia, subsidia a definição de estratégia de manejo e/ou conservação, auxiliando no processo de amostragens ou simplesmente

esclarecer a estrutura de uma espécie no local em que a mesma se encontra (ANJOS, 2004 apud VASCONCELOS, 2011).

## CONCLUSÃO

Os fragmentos de Transição-Cerrado-Floresta apesar de estarem bastante antropizados apresentam altos valores de densidade e frequência da espécie de *Sacoglottis guianensis* Benth. demonstrando que a área ainda é propícia ao estabelecimento de espécies de grande importância econômica.

A espécie se encontra distribuída de forma agregada o que pode estar ligada ao seu processo de dispersão.

A espécie apresenta uma grande quantidade de indivíduos jovens em desenvolvimento e em processo de regeneração.

Estudos sobre a estrutura são importantes para o local, uma vez que são subsídios para compreender a dinâmica de uma floresta.

## REFERÊNCIAS

APG III, 2009. An update of the Angiosperm. **Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants.** APG III Botanical journal of the Linnean Society. 161: 105-121.

APARÍCIO, W. C. DA S.. **Estrutura da Vegetação em Diferentes Ambientes na Resex do Rio Cajari: Interações Solo-Floresta e Relações com a Produção de**

**Castanha.** 2011. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais na Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 150f.

APARICIO, P. da S. **Subsídios para o manejo sustentável na floresta estadual do Amapá: estrutura e dinâmica.** Macapá, 2013. 138 f. Tese apresentada ao programa de Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Amapá, Macapá/AP.

BARROS, P. L. C. **Estudo Fitossociológico de uma floresta tropical úmida no Planalto de Curuá-una, Amazônia Brasileira.** 147p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 1984.

DRUMMOND, J.A. **Atlas das unidades de conservação do Estado do Amapá.** IBAMA; SEMA-AP, Macapá, 2004.

HOUGHTON, R. A.; SKOLE, D.L.; NOBRE, C.A.; HACKLER, J.L.; LAWRENCE, K.T.; CHOMENTOWSKI, W.H. 2000. **Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon.** *Nature*, 403:301-304.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde.** Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928.

LIMA-FILHO, D. A.; MATOS, F. D. A.; AMARAL, I. L.; REVILLA, J.; COELHO, L. S.; RAMOS, J. F.; SANTOS, J. L. **Inventário florístico de floresta ombrófila densa de terra firme, na região do rio Urucu - Amazonas, Brasil.** *Acta Amazônica*. 31(1): 565-579 (2001).

LIMA F, D.A.; MATOS, F.D.A.; AMARAL, I.L.; REVILLA, J.; COELHO, L.S.; RAMOS, J.F.; SANTOS, J.L. 2001. **Inventário florístico de floresta ombrófila densa de terra firme, na região do Rio Urucu-Amazonas, Brasil.** *Acta Amazonica*, 31:565-579.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.2.

MATOS, F.D.A. & AMARAL, I.L. **Análise ecológica de um hectare em floresta ombrófila densa de terra-firme, estrada da várzea, Amazonas, Brasil.** *Acta Amazonica*, 29: 1999.

NOBRE, C. A.; SELLERS, P.; SHUKLA, J. 1991. **Amazonian deforestation and regional climate change.** *Journal of Climate*, 4: 957-988.

OLIVEIRA, A. N.; AMARAL, I. L. **Florística e fitossociologia de uma floresta de Vertente na Amazônia Central, Amazonas, Brasil.** *Acta Amazonica*. 34(1): 21-34 (2004).

PITMAN, N.C.A.; TERBORG, J.W.; SILVAN, S.R.; NUNES, P.V.; NEIL, D.A.; CERON, C.E. 2001; PALÁCIOS, W.A.; AULESTIA, M. **Dominance and distribution of tree species in upper Amazonia terra firme.** *Ecology* 82(8):2101-2117.

PRANCE, G.T.; RODRIGUES, W.A.; SILVA, M.F. 1976. **Inventário florestal de um hectare de mata de terra firme, km 30 da estrada Manaus-Itacoatiara.** *Acta Amazonica*, 6(1):9-35.

VASCONCELOS, C. da C.; NICACIO, M. A.; ISACKSSON, G. L.; APARÍCIO, W. C. da S.; GUEDES, M. C.; APARÍCIO, P. da S. **Padrão de distribuição espacial e estrutura diamétrica da espécie *Protium pallidum* Cuatrec, em uma floresta de terra firme na Resex Calari, Amapá-Brasil.** In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 5., 2011, Santa Maria. Sustentabilidade florestal: [anais]. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2011. p. 821-827.

---

## **ESTRUTURA POPULACIONAL DE *Auchenipterus nuchalis* DO RESERVATÓRIO COARACY NUNES**

**Barros, I. F.A.<sup>(1)</sup>; Sá-Oliveira, J.C.<sup>(2)</sup>; Vasconcelos, H.C.G.<sup>(3)</sup>; Souza, N.S.<sup>(2)</sup>**

huannvasconcelos@unifap.br

<sup>(1)</sup>Aluno do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil;

<sup>(2)</sup> Laboratório de Ictiologia e Limnologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, Macapá - AP, Brasil.

### **RESUMO**

A espécie *Auchenipterus nuchalis* é um Siluriforme com distribuição para o rio Araguari, onde está Usina Hidrelétrica (UHE) Coaracy Nunes. O estudo da

estrutura populacional contribui para elucidar questões relacionadas à ecologia desta espécie. O objetivo deste estudo foi determinar alguns aspectos biológicos de *A. nuchalis* através da análise da estrutura populacional. Foram utilizadas redes de espera de 20, 30, 40, 50 e 60mm entre nós, organizadas em baterias com 100 metros de comprimento, permanecendo na água por 24 horas. Ao todo, foram amostrados 206 exemplares (83 machos e 123 fêmeas) de *A. nuchalis* entre Junho/2012 a Junho/2013 no reservatório da UHE Coaracy Nunes, rio Araguari, Ferreira Gomes-AP. Considerando o teste qui-quadrado ( $\chi^2=3,76$ ), não houve diferença significativa na proporção dos sexos ( $p>0.05$ ). A estrutura populacional evidenciou que a maior parte dos machos e fêmeas apresentou comprimento total entre 10 e 20cm e peso total entre 20 e 40g. A relação peso/comprimento para os sexos agrupados foi estabelecida através da equação  $Pt=0.0728Ct^{2.1156}$ . Os resultados mostram que *A. nuchalis* apresentou crescimento alométrico negativo, o que indica que alguns fatores, como densidade populacional, disponibilidade de alimento e o represamento podem estar influenciando para um aumento desproporcional do comprimento em relação ao peso.

**Palavras-chave:** Siluriformes, Araguari, Ecologia.

## INTRODUÇÃO

A pesca é uma das atividades humanas mais importantes na Amazônia, constituindo-se em fonte de alimento, comércio, renda e lazer para grande parte da população (SANTOS; SANTOS, 2005). Desse modo, considerando que os recursos naturais não são inesgotáveis, principalmente pelo aumento da pressão de captura, é importante desenvolver programas de cultivo (ASSIS; BRAZ; SANTOS, 2010; CAMPECHE et al., 2011).

Os reservatórios de água foram construídos com a finalidade de suprir diversas necessidades, como o abastecimento de água potável e geração

de energia (STRASKRABA; TUNDISI, 2000). A fauna de peixes é afetada significativamente com a construção de reservatórios, pois fragmenta ambientes aquáticos, interrompendo o fluxo gênico, acarretando perda de variabilidade gênica e redução da capacidade adaptativa ao novo ambiente (KUBECKA, 1993; STRASKRABA; TUNDISI, 2000).

O mapará, *Auchenipterus nuchalis*, peixe da ordem Siluriformes, família Auchenipteridae, é uma espécie com baixo valor econômico na região amazônica. Tem pequeno porte, com comprimento chegando até 20 cm. É uma espécie carnívora, que alimenta-se principalmente de microcrustáceos e insetos. A desova ocorre no início da enchente, com fecundidade média de 15 mil ovócitos por postura. Esta espécie tem ampla distribuição na bacia amazônica (REIS; KULLANDER; FERRARIS-JR, 2003; SANTOS; FERREIRA; ZUANON, 2006).

A estrutura de populações diz respeito à densidade e à distribuição de indivíduos em cada classe etária (RICKLEFS, 2003). Estudos sobre a estrutura populacional de peixes são importantes, uma vez que podem fornecer informações sobre a ecologia, hábitos e funções da espécie no seu ambiente natural, gerando dados que permitem o manejo eficiente dentro do ecossistema (BENEDITO-CECÍLIO, 1994; BENEDITO-CECÍLIO; AGOSTINHO, 1997).

O presente trabalho teve por objetivo contribuir para o conhecimento dos aspectos biológicos de *A. nuchalis* através da análise da estrutura

populacional no que se refere à proporção sexual, estrutura em comprimento e relação peso/comprimento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Durante o período de Junho de 2012 a Junho de 2013 foram coletados exemplares de *A. nuchalis* Spix; Agassiz, 1829, através de quatro pescas experimentais, em seis pontos distintos (ponto 1: 0°56'40.15"N / 51°14'55.51"O; ponto 2: 0°56'27.82"N / 51°15'06.62"O; ponto 3: 0°56'17.51"N / 51°15'25.83"O; ponto 4: 0°55'11.65"N / 51°16'28.20"O; ponto 5: 0°55'08.02"N / 51°16'06.33"O e ponto 6: 0°54'49.06"N / 51°16'21.38"O), realizadas no Reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, localizado no município de Ferreira Gomes, Amapá. Para cada ponto amostral, foram utilizadas redes de espera simples (20, 30, 40, 50 e 60 mm entre nós opostos), organizadas em baterias totalizando 100 metros de comprimento. As baterias permaneceram na água por 24 horas, sendo revisadas a cada 4 horas.

Os peixes foram numerados, fixados com solução de formalina 10%, transportados para o Laboratório de Ictiologia e Limnologia - UNIFAP e depois conservados em álcool 70%. De cada exemplar, antes da fixação, foram mensurados comprimento total (cm) e peso total (g). A identificação do sexo foi feita através de inspeção macroscópica da gônada (VAZOLLER, 1996).

Para testar se houve diferença significativa na proporção sexual da espécie, foi utilizado o teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), sendo que, para G.L=1, valores de  $\chi^2 > 3.84$  foram considerados significativamente diferentes (VAZZOLER, 1996). A abundância relativa em classes de tamanho e peso foi comparada através do teste não paramétrico Kolmogorov-Smirnov.

A relação peso/comprimento respeitou a fórmula  $Pt = aCt^b$ , onde  $Pt$  corresponde ao peso total (variável dependente),  $Ct$  ao comprimento total (variável independente),  $a$ , ao fator relacionado com o grau de engorda dos indivíduos e  $b$  ao coeficiente de alometria, relacionado com a forma do crescimento dos indivíduos, onde  $b=3$  indica crescimento isométrico,  $b > 3$  alométrico positivo e  $b < 3$  alométrico negativo.

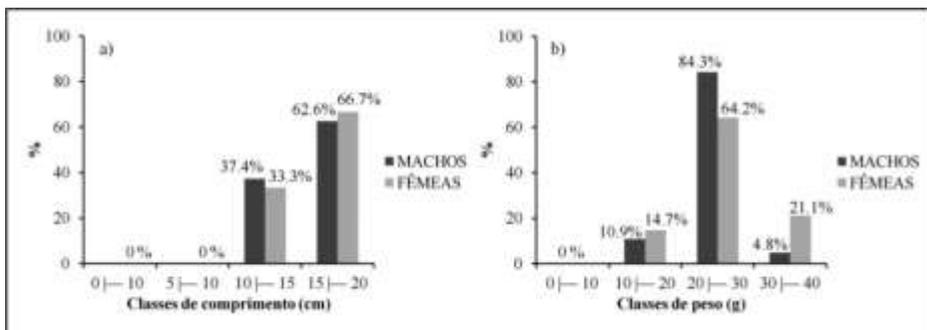
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram capturados 206 exemplares de *A. nuchalis*, sendo 83 machos e 123 fêmeas. Para os machos, o comprimento total variou entre 12 e 18 cm (média=15.2 ± 1.1 cm) e o peso total entre 14 e 38 g (média=22.5 ± 3.9 g). Para as fêmeas, o comprimento total esteve entre 11.7 e 17.8 cm (média=15.4 ± 1.3 cm) e o peso total entre 12 e 38 g (média=24.6 ± 5.7 g).

A proporção sexual, submetida ao teste qui-quadrado, apresentou um valor inferior a 3,84 ( $\chi^2=3,76$ ) não havendo diferença significativa entre

os sexos ( $p > 0.05$ ), mesmo o número de fêmeas sendo maior que o número de machos. O resultado do teste sugere que as condições ambientais no reservatório da UHE Coaracy Nunes encontram-se adequadas para o desenvolvimento proporcional entre os sexos desta espécie. Nikolskii (1969) avalia variável a proporção entre os sexos nas várias idades, refletindo a interação das espécies com o ambiente. O autor ressalta que a estrutura em sexo pode estar associada com o estoque alimentar, que pode levar a maior abundância de fêmeas em condições ideais.

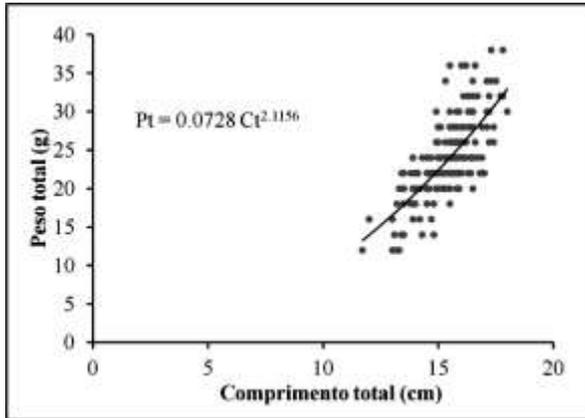
A estrutura populacional para machos e fêmeas em peso e comprimento foi construída por meio de distribuições de frequência de exemplares e foram comparadas com o auxílio do teste não paramétrico Kolmogorov-Smirnov ( $p > 0.05$ ), não evidenciando diferença entre os sexos. Mais da metade dos indivíduos, tanto para machos quanto para fêmeas, encontravam-se nas duas últimas classes de comprimento (entre 10 e 20 cm). O mesmo ocorreu com a distribuição por peso, onde a maior parte de machos e fêmeas encontravam-se entre 20 e 40 gramas (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição de indivíduos de *A. nuchalis*, com sexos agrupados, em classes de comprimento (a) e peso (b) de *A. nuchalis* capturados no reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, Ferreira Gomes, Amapá.

Agostinho (1985) relata que a estrutura de uma espécie relaciona-se mais com a seletividade das capturas do que com a real estrutura da população. Ainda segundo o autor, a composição em classes de comprimento representa as condições ambientais passadas e atuais nas quais a população se desenvolveu, e a fecundidade e a mortalidade são os meios pelos quais o ambiente atua sobre a estrutura.

Os valores das variáveis peso total (Pt) e comprimento total (Ct), dos sexos agrupados, durante o período considerado, foram lançados em gráfico, sendo posteriormente, obtida a equação da relação de acordo com a Figura 2, observando-se  $Pt=0.0728Ct^{2.1156}$  (Figura 2). Obteve-se para o coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) um valor estimado de 0.7447.



**Figura 2.** Relação peso-comprimento de *A. nuchalis*, para os sexos agrupados, do reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes, Ferreira Gomes, Amapá.

Esta relação é empregada para dar informações importantes sobre determinada espécie, por meio desta relação é possível estabelecer o peso através do comprimento e vice-versa (LE CREN, 1951). O coeficiente de alometria para os sexos agrupados foi de 2.1156, caracterizando crescimento alométrico negativo para *A. nuchalis*. Le Cren (1951) afirma que esses valores normalmente oscilam entre 2 e 4, adotando o valor 3 para peixes que mantém a mesma forma durante o crescimento ontogenético. O coeficiente de alometria, assim como as variáveis peso/comprimento, pode variar também em peixes da mesma espécie, mas dentro de limites, de acordo com a localidade, comprimento médio da população e idade (GURGEL; MENDONÇA, 2001).

## CONCLUSÃO

As fêmeas apresentam valores médios de peso e comprimento maiores em relação aos machos.

O teste do qui-quadrado não evidenciou diferenças significativas na proporção sexual de *A. nuchalis*, na área do reservatório da Usina Hidrelétrica Coaracy Nunes.

A espécie *A. nuchalis* apresentou crescimento alométrico negativo, considerando os sexos agrupados, o que indica que alguns fatores, dentre estes a densidade populacional, a disponibilidade de alimento e o represamento do rio Araguari, podem estar influenciando para um aumento desproporcional do comprimento em relação ao peso.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, A. A. **Estrutura da população, idade, crescimento e reprodução de *Rhinelepis aspera* (Agassiz, 1829) (Osteichthyes, Loricariidae) do rio Paranapanema, PR.** 1985. 231 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1985.

ASSIS, P. R. P.; BRAZ, E. M. Q.; SANTOS, C. L. Contabilidade Ambiental. **Revista Ceciliana**, v. 3, n. 1, p. 13-16, 2010.

BENEDITO-CECÍLIO, E. **Dominância, uso do ambiente e associações interespecíficas na ictiofauna do Reservatório de Itaipu e alterações decorrentes do represamento.** 1994. 173 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1994.

BENEDITO-CECÍLIO, E.; AGOSTINHO, A. A. Estrutura de populações de peixes do Reservatório Segredo. In: AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C. (Ed.).

**Reservatório Segredo: bases ecológicas para o manejo.** 1 ed. Maringá: Eduem, 1997, p. 113-139.

CAMPECHE, D. F. B.; BALZANA, L.; FIGUEIREDO, R. C. R.; BARBALHO, M. R. S.; REIS, F. J. S.; MELO, J. F. B. **Peixes nativos do Rio São Francisco adaptados para cultivo.** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2011. 20 p.

GURGEL, H. C. B.; MENDONÇA, V. A. Estrutura populacional de *Astyanax bimaculatus vittatus* (Castelnau, 1855) (Characidae, Tetragonopterinae) do rio Ceará-Mirim, Poço Branco, RN. **Revista Ceres**, v. 48, n. 276, p. 159-168, 2001.

LE CREN, E. D. The length-weight of barracouta (Teleostei:Gemphylidae) and condition in the perch *Perca fluviatilis*. **Journal of Animal Ecology**, London, v. 20, p. 201-219, 1951.

NIKOLSKII, G. V. **Theory of fish population dynamics: as the biological background for rational exploitation and management of fishery resources.** Edinburgh: Oliver & Boyd, 1969. 323 p.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, EFREM J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes comerciais de Manaus.** Manaus: IBAMA/AM, ProVárzea, 2006.

SANTOS, G. M.; SANTOS, A. C. M. Sustentabilidade da Pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, n. 54, p. 165-182, 2005.

REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS-JR, C. J. (Org.) **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America.** EDIPUCRS: Porto Alegre-RS. 2003.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza.** 5 ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2003, 503 p.

VAZZOLER, A. E. A. M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.** Maringá/PR: EDUEM, 1996, 169 p.