



**Stricto
ensu**
Editora

BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA NO BRASIL 2

ISBN:978-65-86283-29-7

Organizadores:
Marcos Silveira
Edson da Silva
Renato Abreu Lima

2020

Marcos Silveira
Edson da Silva
Renato Abreu Lima
(Organizadores)

Biodiversidade e Biotecnologia no Brasil 2

Rio Branco, Acre

Stricto Sensu Editora

CNPJ: 32.249.055/001-26

Prefixos Editorial: ISBN: 80261 – 86283 / DOI: 10.35170

Editora Geral: Profa. Dra. Naila Fernanda Sbsczk Pereira Meneguetti

Editor Científico: Prof. Dr. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti

Bibliotecária: Tábata Nunes Tavares Bonin – CRB 11/935

Foto da Capa: Marcos Silveira

Capa: Elaborada por Led Camargo dos Santos (ledcamargo.s@gmail.com)

Avaliação: Foi realizada avaliação por pares, por pareceristas *ad hoc*

Revisão: Realizada pelos autores e organizadores

Conselho Editorial

Prof^a. Dr^a. Ageane Mota da Silva (Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Acre)

Prof. Dr. Amilton José Freire de Queiroz (Universidade Federal do Acre)

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto (Universidade Federal de Goiás – UFG)

Prof. Dr. Edson da Silva (Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri)

Prof^a. Dr^a. Denise Jovê Cesar (Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Santa Catarina)

Prof. Dr. Francisco Carlos da Silva (Centro Universitário São Lucas)

Prof. Dr. Humberto Hissashi Takeda (Universidade Federal de Rondônia)

Prof. Msc. Herley da Luz Brasil (Juiz Federal – Acre)

Prof. Dr. Jader de Oliveira (Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP - Araraquara)

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos (Universidade Federal do Piauí – UFPI)

Prof. Dr. Leandro José Ramos (Universidade Federal do Acre – UFAC)

Prof. Dr. Luís Eduardo Maggi (Universidade Federal do Acre – UFAC)

Prof. Msc. Marco Aurélio de Jesus (Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia)

Prof^a. Dr^a. Mariluce Paes de Souza (Universidade Federal de Rondônia)

Prof. Dr. Paulo Sérgio Bernarde (Universidade Federal do Acre)

Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva (Universidade Federal de Goiás)

Prof. Dr. Renato Abreu Lima (Universidade Federal do Amazonas)

Prof. Msc. Renato André Zan (Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Rondônia)

Prof. Dr. Rodrigo de Jesus Silva (Universidade Federal Rural da Amazônia)

Ficha Catalográfica

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

B615

Biodiversidade e biotecnologia no Brasil 2 / Marcos Silveira,
Edson da Silva, Renato Abreu Lima (org.). – Rio Branco :
Stricto Sensu, 2020.

312 p.:il.

ISBN: 978-65-86283-29-7

10.35170/ss.ed.9786586283297

1. Biodiversidade. 2. Biotecnologia. 3. Biologia. I. Silveira,
Marco. II. Silva, Edson da. III. Lima, Renato Abreu. IV. Título.

CDD 22. ed. 577.9181

Bibliotecária Responsável: Tábata Nunes Tavares Bonin / CRB 11-935

O conteúdo dos capítulos do presente livro, correções e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

É permitido o download deste livro e o compartilhamento do mesmo, desde que sejam atribuídos créditos aos autores e a editora, não sendo permitido à alteração em nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.sseditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A Biotecnologia é o ramo da Ciência que estuda o desenvolvimento de seres vivos modificados em laboratório com o intuito de promover o aprimoramento de técnicas em vários setores da sociedade, seja ela na indústria, saúde e meio ambiente. Acredita-se que os povos da antiguidade já utilizavam microrganismos na preparação de bebidas e alimentos e com o avanço das tecnologias e da Ciência, o uso de mecanismos biológicos no combate à fome, doenças e na produção de energia sustentável tornaram-se cada vez mais comuns.

A importância da Biotecnologia para os seres humanos nas diferentes áreas de produção está relacionada aos grandiosos avanços tecnológicos operados no campo da Biologia, Química, Farmácia, dentre outras, principalmente àqueles de aplicação prática na área da saúde.

A rica biodiversidade encontrada na Amazônia representa um imenso potencial genético e ambiental que desperta um grande interesse de países situados em outras partes do mundo. No entanto, grande parte das espécies existentes na Amazônia ainda é pouco estudada. Sendo assim, é de fundamental importância o fortalecimento do trabalho de ir esclarecendo pontualmente a sociedade os benefícios desta grande revolução tecnológica, abrindo um enorme leque de possibilidades, desafios e avanços.

Afinal, o conhecimento associado com a Biotecnologia tem possibilitado a identificação e a utilização de recursos naturais para a melhoria da vida do homem. É de suma importância que os pesquisadores se envolvam na luta pela preservação e conservação do nosso ecossistema. Dessa forma, os programas de exploração que envolva os seres vivos devem estar baseados em sólidos conhecimentos científicos e favorecer ecológica e economicamente a sociedade.

A obra “Biodiversidade e Biotecnologia no Brasil 2” traz aos leitores diversos temas da área, reunindo 18 trabalhos científicos, na qual o leitor poderá conferir pontos da Fitoquímica, Bioprospecção, Botânica Econômica, Microbiologia, Saúde Humana, dentre outras. A abrangência desses temas nos diversos setores da sociedade é um ponto crucial nesta obra, uma vez que proporcionará um enriquecimento sobre o tema e as experiências relatadas por diversos pesquisadores brasileiros e estrangeiros.

Neste sentido, ressaltamos a importância desta leitura, pois o nosso objetivo em produzir esta obra se fundamenta na condição de incrementar e valorizar o conhecimento da aplicabilidade da Biotecnologia em nosso cotidiano. Espera-se que este livro forneça um

suporte teórico e metodológico para as atividades do ensino de graduação e pós-graduação nas diferentes áreas do conhecimento, uma vez que este livro terá o seu acesso livre para pesquisas e leituras de forma a ser um objetivo de compartilhamento de informação e sapiência agregada acerca dos temas aqui abordados.

Gostaria de agradecer a colaboração de todos os autores, e esperamos continuar contando com o apoio da comunidade científica para o aprimoramento constante desta obra, fortalecendo assim a pesquisa para todos.

Desejo a todos uma ótima leitura

Prof. Dr. Renato Abreu Lima

SUMÁRIO

CAPÍTULO. 1.....12

ÔMICAS DESVENDANDO A DIVERSIDADE MICROBIANA NOS BIOMAS BRASILEIROS E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Priscila Jane Romano Gonçalves Selari (Instituto Federal Goiano)

Sarina Tsui (Universidade de São Paulo)

Tiago Tognolli de Almeida (Universidade Católica Dom Bosco)

Luiz Ricardo Olchanheski (Universidade Estadual de Ponta Grossa)

Manuella Nóbrega Dourado (Universidade de Sorocaba)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.01

CAPÍTULO. 2.....30

BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS NO CONTROLE DE LARVAS DE MOSQUITOS

Fábio Medeiros da Costa (Oikos Consultoria e Projetos)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.02

CAPÍTULO. 3.....42

Ocimum gratissimum L. NA PERSPECTIVA DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA: UMA REVISÃO

Júlio César Silva (Universidade Regional do Cariri)

Thais Pereira Lopes (Universidade Regional do Cariri)

Daniely Sampaio Arruda Tavares (Universidade Federal do Ceará)

Carla Mikevely de Sena Bastos (Universidade Regional do Cariri)

Marina Leite Linhares (Centro Universitário Doutor Leão Sampaio)

George Joaquim Garcia Santos (Universidade Regional do Cariri)

Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues (Universidade Regional do Cariri)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.03

CAPÍTULO. 4.....60

OBTENÇÃO DE METABOLITOS SECUNDÁRIOS PARA A INDÚSTRIA QUÍMICO-FARMACÊUTICA – IMPORTÂNCIA DA ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

Carromberth Carioca Fernandes (Universidade Federal do Acre)

Leonardo Gomes de Vasconcelos (Universidade Federal do Mato Grosso)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.04

CAPÍTULO. 5.....71

AÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DE *Acmella oleracea* EM CARRAPATOS *Amblyomma cajennense* (ACARI: IXODIDAE): AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

Luís Adriano Anholetto (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho")

Patrícia Rosa de Oliveira (Universidade Federal do Maranhão)

Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues (Universidade Estadual de Campinas)

Karina Neoob de Carvalho Castro (Embrapa Meio-Norte)

Maria Izabel Camargo-Mathias (Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho")

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.05

CAPÍTULO. 6.....90

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE EXTRATOS DE LIMÃO-CRAVO, ESPADA-DE-SÃO-JORGE, EMBAÚBA, PIMENTA-DE-MACACO E GOIABEIRA, NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS (*Atta sexdens rubropilosa* Forel)

Paulo Henrique de Oliveira Felipe (Instituto Federal de Rondônia)

Ivanir Alves da Silva (Instituto Federal de Rondônia)

Adeilza Felipe Sampaio (Universidade Federal de Rondônia)

Osvanda Silva Moura (Universidade Federal de Rondônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.06

CAPÍTULO. 7.....102

ATIVIDADE INSETICIDA DO BACUPARI (*Garcinia gardneriana* – Clusiaceae) SOBRE OS MOSQUITOS *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Frances T. T. Trindade (Universidade Federal de Rondônia)

Valdir A. Facundo (Universidade Federal de Rondônia)

Alexandre A. Silva (Universidade Federal de Rondônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.07

CAPÍTULO. 8.....117

EFEITOS BIOLÓGICOS DO CAMU-CAMU: REVISÃO DE LITERATURA E ANÁLISES *in vitro* DOS EFEITOS CICATRIZIAIS

Euler Ribeiro-Filho (Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade)
Danieli Monteiro Pillar (Universidade Federal de Santa Maria)
Beatriz S Nunes Cunha (Universidade Federal de Santa Maria)
Bruna Chitolina (Universidade Federal de Santa Maria)
Nathalia Bonotto (Universidade Federal de Santa Maria)
Ivana Beatrice Mânica da Cruz (Universidade Federal de Santa Maria)
Verônica Farina Azzolin (Universidade Federal de Santa Maria)
Raquel de Souza Praia (Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade)
Ednea Aguiar Maia-Ribeiro (Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade)
Ivo Emílio da Cruz Jung (Universidade Federal de Santa Maria)
Fernanda Barbisan (Universidade Federal de Santa Maria)
DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.08

CAPÍTULO. 9.....133

EFEITOS DO BIOCOMPÓSITO DE ZnO/AMEIXA BRAVA (*Ximenia americana* L.)
MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO
EM QUEIMADURAS INDUZIDAS EM CAMUNDONGOS

Nayara Mara Santos Ibiapina (Universidade Estadual do Piauí)
Renata da Silva Carneiro (Universidade Estadual do Piauí)
Marta Rejane Canuto (Universidade Estadual do Piauí)
Valdiléia Teixeira Uchôa (Universidade Estadual do Piauí)
Reginaldo da Silva Santos (Universidade Estadual do Piauí)
Antônio Luis Martins Maia Filho (Universidade Estadual do Piauí)
Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho (Universidade Estadual do Piauí)
DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.09

CAPÍTULO. 10.....146

EFEITOS DO EXTRATO DO ABACAXI - *Ananas comosus* (L.) MERRILL NA MIOSITE
INDUZIDA EM RATOS

Isabella Sousa Ramalho (Universidade Estadual do Piauí)
Whelen de Sousa Moreira (Universidade Estadual do Piauí)
Alessandra Rabelo Viana (Universidade Estadual do Piauí)
Antônio Luiz Martins Maia Filho (Universidade Estadual do Piauí)

Daniel Cabral Leão Ferreira (Universidade Estadual do Piauí)
Francisvaldo Falcão de Carvalho Júnior (Universidade Estadual do Piauí)
Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho (Universidade Estadual do Piauí)
DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.10

CAPÍTULO. 11.....159

EFEITOS DO ÓLEO DA GRAVIOLA (*Annona muricata*) EM TENDINITE INDUZIDA EM RATOS

Whelen de Sousa Moreira (Universidade Estadual do Piauí)
Isabella Sousa Ramalho (Universidade Estadual do Piauí)
Antônio Luiz Martins Maia Filho (Universidade Estadual do Piauí)
Daniel Cabral Leão Ferreira (Universidade Estadual do Piauí)
Francisvaldo Falcão de Carvalho Júnior (Universidade Estadual do Piauí)
Esmeralda Maria Lustosa Barros (Universidade Federal do Piauí)
Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho (Universidade Estadual do Piauí)
DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.11

CAPÍTULO. 12.....171

BIOMARCADORES DE FATORES DE ESTRESSE PARA SAÚDE HUMANA

José Williams Gomes de Oliveira Filho (Instituto Federal do Piauí)
Teresinha de Jesus Aguiar dos Santos Andrade (Instituto Federal do Maranhão)
Nerilson Marques Lima (Universidade Federal de Juiz de Fora)
Leandro de Sousa Dias (Instituto Federal do Maranhão)
Ana Carolina Soares Dias (Universidade Federal do Maranhão)
Lis Cardoso Marinho Medeiros (Universidade Federal do Piauí)
Francisco Soares Santos Filho (Universidade Estadual do Piauí)
DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.12

CAPÍTULO. 13.....188

ANÁLISE FATORIAL E SUA APLICAÇÃO EM ESTUDOS INTERDISCIPLINARES EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves (Universidade Federal do Maranhão)
Allan Kardec Duailibe Barros Filho (Universidade Federal do Maranhão)

Fabício Moraes de Almeida (Universidade Federal de Rondônia)

Lenita Rodrigues Moreira Dantas (Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.13

CAPÍTULO. 14.....210

MAPEAMENTO DA CONTAMINAÇÃO POR NITRATO (NO₃⁻) EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS DE ÁREA URBANA DE UMA REGIÃO DA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves (Universidade Federal do Maranhão)

Allan Kardec Duailibe Barros Filho (Universidade Federal do Maranhão)

Fabício Moraes de Almeida (Universidade Federal de Rondônia)

Lenita Rodrigues Moreira Dantas (Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.14

CAPÍTULO. 15.....231

GERAÇÃO ENERGIA ELÉTRICA SOLAR POR MEIO DE UM SISTEMA FOTOVOLTAICO ISOLADO NO IFG - CAMPUS JATAÍ

José Antonio Lambert (Instituto Federal de Goiás)

Fernando Nunes Marques (Instituto Federal de Goiás)

Fausto Oliveira Carvalho (Instituto Federal de Goiás)

Bruno Marcos de Jesus Terra (Instituto Federal de Goiás)

Ghunter Correia da Costa Júnior (Instituto Federal de Goiás)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.15

CAPÍTULO. 16.....245

GEOEPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER EM RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves (Universidade Federal do Maranhão)

Allan Kardec Duailibe Barros Filho (Universidade Federal do Maranhão)

Fabício Moraes de Almeida (Universidade Federal de Rondônia)

Lenita Rodrigues Moreira Dantas (Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.16

CAPÍTULO. 17.....267

SELF-REPORTING QUESTIONNAIRE COMO INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DE TRANSTORNOS MENTAIS COMUNS EM GRUPO POPULACIONAL DA AMAZÔNIA

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves (Universidade Federal do Maranhão)

Allan Kardec Duailibe Barros Filho (Universidade Federal do Maranhão)

Fabício Moraes de Almeida (Universidade Federal de Rondônia)

João Viana Fonseca Neto (Universidade Federal do Maranhão)

Alcione Miranda dos Santos (Universidade Federal de Rondônia)

Lenita Rodrigues Moreira Dantas (Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.17

CAPÍTULO. 18.....291

INFLUÊNCIA DO SOMBREAMENTO NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

Valéria Melo Costa (Universidade Estadual do Maranhão)

Adeval Alexandre Cavalcante Neto (Instituto Federal do Maranhão)

Talytha Ravenna de Melo Souza (Universidade Federal do Ceará)

Giulia Bianca Palacio Melo (Universidade Federal do Tocantins)

Daniel Fernandes Rodrigues Barroso (Instituto Federal do Maranhão)

Iberê Pereira Parente (Instituto Federal do Maranhão)

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297.18

ORGANIZADORES.....307

ÍNDICE REMISSIVO309

ÔMICAS DESVENDANDO A DIVERSIDADE MICROBIANA NOS BIOMAS BRASILEIROS E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Priscila Jane Romano Gonçalves Selari¹, Sarina Tsui², Tiago Tognolli de Almeida³,
Luiz Ricardo Olchanheski⁴ e Manuella Nóbrega Dourado⁵

1. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Ceres, Goiás, Brasil;
2. Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, São Paulo, São Paulo, Brasil;
3. Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, Mato Grosso, Brasil;
4. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética, Ponta Grossa, Paraná, Brasil;
5. Universidade de Sorocaba (UNISO), Engenharia Agrônômica, Sorocaba, São Paulo, Brasil.

RESUMO

As interações ecológicas dos organismos estão relacionadas à sanidade do hospedeiro. A comunidade microbiana pode apresentar um efeito patogênico ou benéfico ao hospedeiro e desempenha um papel importante na proteção da planta contra doenças causadas por patógenos ou distúrbios fisiológicos, assim como, contribui para o aumento da absorção de nutrientes. Uma forma de acessar esses micro-organismos é utilizando ferramentas ômicas, a metagenômica juntamente com outras “ômicas”, como análise de transcritos e dados de ensaios funcionais, compõem a abordagem multi-ômicas. Esta abordagem é capaz de gerar uma rede sofisticada de estruturas da comunidade, incluindo elementos de interações tróficas, dinâmica da comunidade e capacidade metabólica. Devido às interações entre espécies microbianas e seus hospedeiros, diferentes produtos biotecnológicos estão sendo utilizados para (i) a promoção de crescimento vegetal, (ii) o biocontrole de doenças e insetos e (iii) a indução da resistência sistêmica, aumentando a tolerância do hospedeiro à estresse. Além disso, há uma contribuição significativa da diversidade microbiana na (iv) biorremediação de ambientes contaminados e (v) na produção de enzimas úteis na agricultura e biorremediação. A presente revisão foca nos trabalhos desenvolvidos no Brasil que tem contribuído para a compreensão de interações dos diferentes grupos microbianos (bactéria, arquea, fungos e vírus), no entanto, ainda há uma vasta diversidade microbiana a ser explorada e muitos problemas agrônômicos (como resistência a fungicidas) e ambientais (tais como persistência de defensivos) a serem resolvidos. Mesmo com a grande revolução tecnológica e intensa geração de informações por meio da abordagem multi-ômicas, o conhecimento obtido até o momento ainda não compreende a verdadeira complexidade das comunidades microbianas.

Palavras-chave: Diversidade microbiana, Multi-ômicas e Biotecnologia.

ABSTRACT

The ecological interactions of organisms are directly related to the health of the host. The microbial community can present a pathogenic or beneficial effect on the host and plays an important role in protecting the plant against diseases caused both by pathogens or physiological disorders, as well as contributing to increase nutrients uptake. One way to access these microorganisms is to use omic tools, metagenomics together with other “omics”, such as analysis of transcripts and data from functional tests, make up the multi-omic approach. This approach is capable of generating a sophisticated network of community structures, including elements of trophic interactions, community dynamics and metabolic capacity. Due to the interactions between microbial species and their hosts, different biotechnological products are being used for (i) plant growth promotion, (ii) biocontrol of diseases and insects and (iii) induction of plant systemic resistance, increasing the tolerance of the host to stress. In addition, there is a significant contribution from microbial diversity in (iv) bioremediation of contaminated environments and (v) in the production of enzymes used in agriculture and bioremediation. This review focuses on studies developed in Brazil that has contributed to the comprehension of different microbial groups (bacteria, archaea, fungi and viruses) interactions, however, there is still a vast microbial diversity to be explored and many agronomic problems (such as resistance fungicides) and environmental problems (such as pesticide persistence) to be resolved. Even with the great technological revolution and intense information generation through the multi-omics approach, the knowledge obtained so far does not yet understand the true complexity of microbial communities.

Keywords: Microbial diversity, Multi-omics and Biotechnology.

1. INTRODUÇÃO

O organismo ou população de uma espécie não ocorre isoladamente, nos diferentes habitats já foi descrito uma diversidade e riqueza de espécies (FAUST; RAES, 2012). O resultado dessas múltiplas interações está frequentemente relacionado ao efeito patogênico ou benéfico no hospedeiro. A comunidade microbiana do solo apresenta um papel importante na proteção da planta contra doenças causadas por patógenos ou distúrbios fisiológicos, assim como, contribui para o aumento da absorção de nutrientes (BRAGA et al., 2016).

A fim de estudar essas interações é necessário o estudo isolado de cada componente do sistema, mas também é necessário compreender seu contexto ecológico. Para isso utilizam-se as ômicas: genômica, transcriptoma, proteoma, metaboloma, fenômica, iômica entre outros, em que é possível estudar o sistema como um todo. E para melhor compreender a ecologia é possível integrar dessas ômicas, o que corresponde à biologia de sistemas.

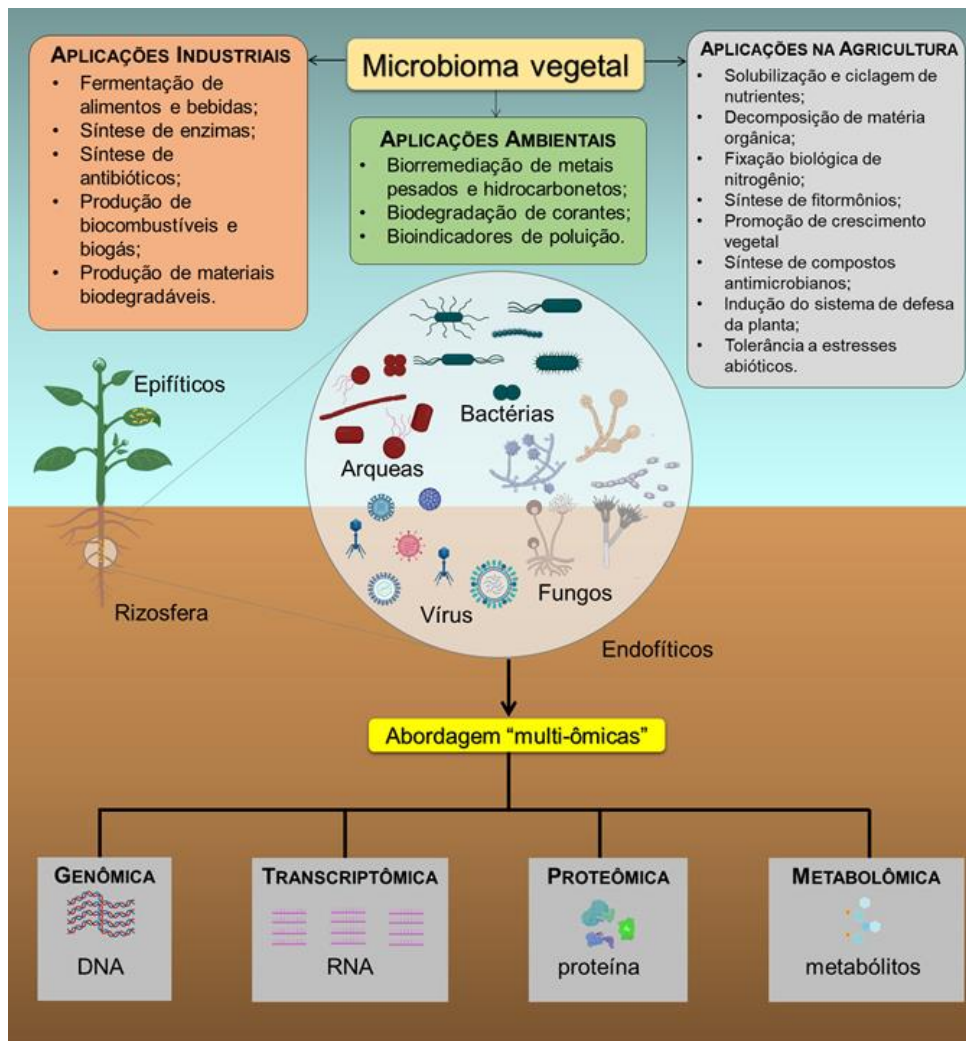


Figura 1. Diagrama esquemático das principais aplicações do microbioma vegetal (bactérias, arqueas, fungos e vírus).

Esses micro-organismos estão presentes na superfície das folhas (epifítico), nos espaços intercelulares da planta (endofíticos), no solo próximo à raiz das plantas (rizosfera) e no solo. O esquema representa o potencial biotecnológico com aplicações (A) na agricultura; (B) no ambiente; e (C) na indústria. Para acessar esse microbioma são utilizadas abordagens "multi-ômicas". Criado com BioRender.com.

A metagenômica, o estudo dos genomas de um determinado ambiente tem se tornado uma ferramenta indispensável para o estudo da diversidade taxonômica e funcional de micro-organismos do ambiente, os quais são, em sua maioria, não cultiváveis. Dessa forma, abordagens de sequenciamento *high-throughput* (alto rendimento) e "multi-ômicas" (análise *single-cell*, bem como metagenômica, metatranscriptômica, metaproteômica e metabolômica), tornou o estudo de micro-organismos não cultiváveis possível (PASIC et al., 2016) (Figura 1).

A presente revisão, focou-se nos trabalhos brasileiros nas interações microbianas (bactéria, arquea, fungo e vírus) com espécies vegetais, utilizando as ômicas e suas aplicações biotecnológicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIODIVERSIDADE DE BACTÉRIAS NOS BIOMAS BRASILEIROS E SUAS APLICAÇÕES

O Brasil é um celeiro mundial em se tratando de biodiversidade. Esta biodiversidade, ainda em grande parte desconhecida, é uma fonte inestimável de micro-organismos, genes e enzimas para aplicações biotecnológicas, que podem contribuir para a sustentabilidade e a conservação de biomas (PYLRO et al., 2014).

O solo é o ambiente com a maior diversidade microbiana da Terra, a qual é composta, em sua maioria, por bactérias. No solo, as bactérias desempenham diversas funções importantes como solubilização e ciclagem de nutrientes, fixação biológica de nitrogênio, produção de fitormônios, decomposição da matéria orgânica e controle biológico, que levam ao aumento da fertilidade dos solos e promoção do crescimento vegetal (AFZAL et al., 2019). Além disso, muitas bactérias podem desempenhar funções ambientalmente relevantes, como aquelas que realizam biorremediação ou são bioindicadoras da qualidade de um determinado ambiente. Industrialmente, muitas bactérias, seus genes ou seus produtos, são utilizados para a produção de alimentos, bebidas, biocombustíveis, biogás, medicamentos, cosméticos, dentre outros (AFZAL et al., 2019).

Além do solo, bactérias com aplicações biotecnológicas, também podem ter como habitat, a superfície vegetal, conhecida como filosfera, sendo denominadas de bactérias epifíticas (DIAS et al., 2015), ou o interior dos tecidos vegetais (bactérias endofíticas) (HARDOIM et al., 2015).

A distribuição dos microbiomas é específica para cada nicho, sendo variável a diversidade encontrada nos diferentes habitats (MENDES; TSAI, 2018). Dentre as bactérias rizosféricas, o filo mais abundante é Proteobacteria, geralmente seguido por Firmicutes, Actinobacteria e Bacteroidetes (KOUR et al., 2019). Estes mesmos filos são dominantes para as bactérias epifíticas (SIVAKUMAR et al., 2020) e endofíticas (AFZAL et al., 2019). Embora

a diversidade taxonômica seja similar, não significa que desempenhem a mesma função em todos os nichos (MENDES; TSAI, 2018).

Intervenções antrópicas, como desmatamento (NAVARRETE et al., 2015), mineração (GASTAUER et al., 2019), queimadas (RACHID et al., 2013) e mudanças no uso da terra (SOUZA et al., 2016), alteram a estrutura da comunidade bacteriana. Por esta razão, o conhecimento acerca da biodiversidade taxonômica e funcional de bactérias encontradas em regiões brasileiras nativas é fundamental para se traçar estratégias de conservação e explorar seu potencial biotecnológico.

As aplicações biotecnológicas possíveis a partir de microbiomas brasileiros são inúmeras. Na agricultura, tem crescido o uso de produtos biológicos, utilizando insetos ou micro-organismos para promover o crescimento e/ou inibir a manifestação de uma doença. As bactérias mais utilizadas comercialmente são dos gêneros *Bacillus*, usado no biocontrole, e rizóbio (*Bradyrhizobium* e *Rhizobium*) e *Nitrospirillum*, usados na fixação de nitrogênio.

Há muitos trabalhos brasileiros isolando bactérias e descrevendo potenciais produtos biológicos para a agricultura. *Nitrospirillum brasilense* e *Bradyrhizobium* spp., já comercializados como inoculantes, promovem o crescimento de plantas, principalmente em gramíneas (MARKS et al., 2015), sendo que *N. brasilense* confere proteção pela indução do sistema de defesa da planta e atividade antioxidante (FUKAMI et al., 2018). Plantas nativas, como cactos da região do semiárido do Brasil, também são estudados, isolando bactérias endofíticas eficientes na solubilização de fosfato (LIMA et al., 2015).

O gênero *Bacillus* é usado tanto para a promoção de crescimento, como para o biocontrole de fitopatógenos. Goes et al. (2012) isolou de caule, raízes, flores e rizosfera de girassol e foram capazes de realizar a fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fósforo e antagonismo contra *Sclerotinia sclerotiorum*. *Bacillus* sp. RZ2MS9 e *Burkholderia ambifaria* RZ2MS16, foram isoladas da rizosfera de guaraná (*Paullinia cupana*) e os experimentos mostraram múltiplos traços funcionais para a promoção do crescimento de plantas e, sendo capazes de aumentar efetivamente o crescimento de milho e soja (BATISTA et al., 2018). Outros gêneros também apresentam potencial de biocontrole como *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3, uma bactéria endofítica de raízes de cana-de-açúcar, apresenta grande potencial de biocontrole contra fungos fitopatogênicos (GONÇALVES et al., 2019).

O biocontrole pode ocorrer tanto na aplicação da bactéria como na aplicação de enzimas hidrolíticas. No bioma do Cerrado mineiro, foram isoladas bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Streptomyces*, *Paenibacillus*, *Enterobacter* e *Burkholderia*, epifíticas de frutos nativos, que produzem enzimas celulasas de interesse industrial e agrônomo (DIAS

et al., 2015). *Bacillus* spp., endofíticos de plantas do mangue brasileiro, também foram capazes de produzir várias enzimas, como amilase, esterase e endoglucanase (CASTRO et al., 2014).

Bactérias também são capazes de aumentar a tolerância das plantas estresses bióticos (como doenças) e abióticos (como estresse hídrico e metais pesados). Gêneros como *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Microbacterium* e *Bacillus*, isolados da rizosfera de cana, mostraram um aumento à tolerância da planta ao estresse hídrico (PEREIRA et al., 2019). *Burkholderia* sp. SCMS54 aumenta a tolerância de tomate ao cádmio, por induzir respostas ao estresse na planta (DOURADO et al., 2014). A mesma linhagem foi capaz de realizar a biosorção de níquel, demonstrando grande potencial para ser utilizada na biorremediação de solo e água contaminados (DOURADO et al., 2015a). *Methylobacterium* spp. também apresentam capacidade de degradar compostos tóxicos, tolerar altas concentrações de metais pesados e aumentar a tolerância de plantas a esses compostos, podendo ser utilizadas para reduzir contaminações ambientais (DOURADO et al., 2015b).

2.2 “MULTI-ÔMICAS” PARA DECIFRAR A COMUNIDADE ARQUEA, SUA DIVERSIDADE E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

Arqueas apresentam extremofilia, podendo sobreviver em ambientes com alta temperatura, alta salinidade, extremas variações de pH, ausência de oxigênio (EME; DOLITTLE, 2015), também podem se desenvolver em ambientes não-extremos (VALENTINE, 2007). A enorme capacidade adaptação das arqueas despertou um interesse biotecnológico sobre esta forma de vida tão particular (BANG; SCHMITZ, 2015).

No Brasil, estudos sobre a diversidade e função da comunidade de Arquea já foram conduzidos em alguns ecossistemas relevantes, como a floresta amazônica (TAKETANI et al., 2010; FONSECA et al., 2018), caatinga (LANÇONI et al., 2013) e pântano (ETTO et al., 2013), bem como em manguezal (MENDES et al., 2012) e Cerrado (CATÃO et al., 2013; ARAÚJO et al., 2018).

Acredita-se que a interação de arquea-planta seja positiva, uma vez que a ocorrência majoritária é observada em plantas saudáveis (TAFFNER et al., 2018). Até o presente momento não foram descritas arqueas associadas a doenças em plantas (PUMP et al., 2015). Taffner et al. (2018) evidenciaram a importância do microbioma funcional de Arquea sendo responsável pela ciclagem de nutrientes, resposta ao estresse, e biossíntese de fitormônios, também interagindo com bactéria e seus hospedeiros.

No Brasil, poucos são os estudos que avaliam a função do microbioma Arquea na interação com plantas, os poucos estudos que já foram realizados avaliam a diversidade da comunidade presente em determinada rizosfera influenciada pelos exsudatos de certa espécie vegetal de interesse (LANÇONI et al., 2013).

O trabalho de Song et al. (2019) representa o estabelecimento de base sólida para pesquisas futuras no novo campo de interações arquea-planta, apesar de não ser conhecido ainda o exato papel de Archea no crescimento de plantas (SIMON et al., 2005)

Além disso, foi observado que Arquea pode apresentar um grande potencial na produção de antimicrobianos, entre as classes Sulfolobus e Haloarchaea, um grande número de arqueocinas já foram identificadas e caracterizadas (SHAND et al., 2008).

Enzimas isoladas de micro-organismos extremófilos são denominadas extremozimas (DUMORNÉ et al., 2017), apresentam a extraordinária propriedade de tolerância à salinidade, termo-estabilidade e adaptabilidade ao frio. Algumas extremozimas apresentam grande potencial de interesse industrial como lipase, protease, quitanase, gluconase, xilanase, α -amilase, glucoamilase, pectinase, oxidase, pululanase, esterase, celulase, mananase e peroxidase.

Bini et al. (2010) fez uma revisão bem completa sobre a requisição de metal em processos metabólicos de Arquea e a relação destes com processos das transformações de metais no ambiente. Além disso, o estudo também lista arqueas capazes de realizar transformações metálicas, e, portanto, potenciais agentes para biorremediação e biomineralização.

Alguns estudos com base no “metaloma” – conjunto de proteínas e enzimas que requerem um metal para desempenhar sua função (BINI, 2010) de arqueas já foram realizados para a detecção de genes relacionados à (i) resistência a metais (BAKER-AUSTIN et al., 2007); (ii) sequestro de metais (REMONSELLEZ et al., 2006); (iii) mobilização de metais (EDWARDS et al., 2000); (iv) transformação de metais em formas insolúveis – biomineralização (KASHEFI, LOVLEY, 2000; KASHEFI et al., 2008a, b) e a (v) biorremediação (DRUSCHEL et al., 2004), a mais interessante aplicação destes organismos metal-tolerantes (BINI, 2010).

Campeão et al. (2017) fizeram a prospecção de micro-organismos capazes de degradar petróleo em diferentes bacias oceânicas brasileiras, próximas à Foz do Amazonas durante 48 dias. Halobacteriaceae foi considerado como o grupo mais importante para o processo de biodegradação de petróleo, mesmo não sendo a família mais abundante.

2.3 ÔMICAS NA BUSCA POR PRODUTOS FÚNGICOS USADOS NA AGRICULTURA SUSTENTÁVEL

O grupo dos fungos é um dos mais ricos em espécies quando comparado a outros grupos de seres vivos, estima-se que existam cerca de 12 milhões de espécies entre fungos cultiváveis e não-cultiváveis (WU et al., 2019). Este grupo inclui bolores, leveduras e cogumelos, e podem ser encontrados em uma grande diversidade em diferentes habitats como, solo, ar, lagos, rios e mares, no interior de plantas e também do corpo humano (HARRISON; GRIFF, 2020). Essa grande diversidade fúngica apresenta um amplo potencial na secreção de metabólitos secundários, secreção de enzimas de interesse comercial, biocontrole de fitopatógenos e fonte de novos fármacos (SILVA NETO, 2019). Os metabólitos secundários de fungos filamentosos possuem um impacto significativo no meio ambiente na agricultura e na saúde humana (HUSSAIN et al., 2014; ALMEIDA et al., 2017; HILARIO et al., 2020).

Grigoletto et al. (2020) mostraram que o fungo endofítico *Neopestalotiopsis* isolado de uma espécie de Begônia, produz o composto fumiquinona B, que frente aos fungos fitopatogênicos *Diaporthe phaseolorum* e *Colletotrichum gloeosporioides*, demonstrou atividade antifúngica. Em um estudo semelhante, Vieira, Cortelo, Castro-Gamboa (2020), utilizando espectrometria de massa (GC / MS) e UPLC-QTOF/MS notaram 20 compostos oriundos do fungo *Fusarium solani* isolado da rizosfera da planta *Senna spectabilis*, dentre esses compostos, dois (beauvericin e tyrosol) apresentaram atividade antifúngica frente ao fungo fitopatogênico *Cladosporium*.

Além de produzirem substâncias bioativas, os fungos podem ser utilizados como micoparasitas biocontroladores de fungos patogênicos e no controle biológico de insetos. Neste sentido, dentre os fungos encontrados na diversidade brasileira destacam-se *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma spp* e *Hirsutella thompsonii*, que já estão registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) e têm sido amplamente utilizados como agente de biocontrole na agricultura e estudados por meio das multi-ômicas e outras ferramentas (BEYS-DA-SILVA et al., 2014; HORTA et al., 2014, NASU et al., 2019).

Lima et al. (2016) identificaram proteínas extracelulares secretadas por *Trichoderma atrovirida* T17, relacionadas à controle do fitopatógeno *Guinardia citricarpa*, utilizando ferramentas de proteômica. Os resultados demonstraram que as proteínas secretadas pelo *T. atrovirida* estão relacionadas à degradação da parede celular, controle biológico e indução

de resistência sistêmica da planta, indicando que este fungo pode ser útil no controle deste fitopatógeno. Esses resultados demonstram que a aplicação dessas ferramentas em diferentes espécies de fungos, isolados no Brasil, podem auxiliar na obtenção de substâncias potencialmente úteis no controle de fitopatógeno, gerando produtos de baixo custo e impacto ambiental.

Dentre as aplicações dos fungos destaca-se também a biorremediação, processo no qual compostos tóxicos são degradados por micro-organismos, para convertê-los em produtos inofensivos ou diminuir a níveis a abaixo dos limites de concentração estabelecidos pelas autoridades reguladoras (BESTAWY et al., 2013).

Ortiz-Vera et al. (2018), analisaram os efeitos do gradiente de contaminação ao longo do Rio Tiête, na diversidade fúngica. Seus resultados mostraram uma diminuição na diversidade nos pontos mais contaminados, sugerindo que esta pode ser afetada em áreas altamente poluídas.

Oshiquiri et al. (2020) utilizaram RNA-Seq para identificar processos regulados no fungo *Trichoderma harzianum*, isolado do solo no Cerrado brasileiro, na presença do metal cádmio. Genes relacionados ao transporte de cádmio para o meio extracelular; à conjugação de cádmio com glutathione; à compartimentação em vacúolos e ao bombeamento do metal para fora da célula, foram diferencialmente expressos, comprovando o potencial biorremediador deste organismo.

Considerando ainda o potencial biorremediador dos fungos, investigações baseadas em proteômica também vêm sendo utilizadas para identificação de proteínas envolvidas na resposta fisiológica dos micro-organismos quando expostos a agentes tóxicos (DESEI; PATHAK; MADAMWAR, 2010). Dias et al. (2019) verificaram que ao ser exposto ao cobre, *Aspergillus niger* – oriundo de uma mina de cobre no Pará – foi capaz de produzir enzimas envolvidas no metabolismo de cobre, sendo potencial agente biotecnológico para a biorremediação.

Evidenciando o potencial biorremediador dos fungos encontrados em biomas brasileiros, os quais podem ser utilizados como ferramenta para diminuir os danos causados a saúde humana e ao meio ambiente pelos metais pesados e outros agentes xenobiontes.

No Brasil o bagaço da cana vem sendo utilizado como fonte de substratos para a produção de biocombustíveis (LUCAS et al., 2020). O uso de fungos neste processo tem se tornado cada vez mais promissor, uma vez que os polissacarídeos presentes na biomassa vegetal induzem a produção de enzimas nestes micro-organismos (ALAZI; RAM, 2018). *Trametes villosa*, isolado do semiárido brasileiro, apresenta em seu esboço de genoma 590

genes relacionados às enzimas reativas a carboidratos (CAZy), informação importante à produção de enzimas para a produção de biocombustíveis (FERREIRA et al., 2018). Valadares et al. (2019) mostraram que *Gloeophyllum trabeum* e *Pleurotus ostreatus* crescendo em bagaço de cana-de-açúcar, apresentam enzimas adequadas para a conversão de biomassa *in vitro*.

Enzimas envolvidas em outros processos também foram relatadas em estudos utilizando fungos de biomas brasileiros. Análises feitas por meio de transcriptoma, colaboraram com a identificação de novos fatores de transcrição relacionados ao controle da expressão gênica de enzimas, produzidas pelo fungo *Peniophora* sp., basidiomiceto isolado de uma esponja marinha encontrada no litoral de São Paulo. Foram encontrados pelo menos oito genes, que podem codificar dez lacases diferentes, as quais podem apresentar diversas aplicações biotecnológicas (OTERO et al., 2017). Os resultados demonstrados, pelos trabalhos citados acima, deixam claro a importância da utilização de enzimas fúngicas na otimização de processos industriais.

As “multi-ômicas” tem sido utilizadas com sucesso em estudos envolvendo a vasta diversidade fúngica brasileira, gerando informações relevantes sobre as aplicações biotecnológicas desses organismos, que contribuem para o desenvolvimento sustentável nas diferentes áreas das atividades humanas e principalmente no meio ambiente. No entanto, novos estudos devem ser realizados a fim de se conhecer ainda melhor as aplicações destes micro-organismos, uma vez que os mecanismos utilizados por eles nessas atividades ainda são pouco conhecidos.

2.4 VÍRUS: AGENTE DE BIOCONTROLE EM PLANTAS

Os vírus são micro-organismos classificados como parasitas intracelulares obrigatórios, por não apresentar um ciclo de vida independente de suas “células hospedeiras”. A necessidade de parasitar células, e na maior parte das vezes destruí-las, é o que traz a importância ecológica para estes micro-organismos tão intrigantes (ABEDON, 2009).

Os vírus apresentam hospedeiros específicos, e são classificados de acordo com esta capacidade, como por exemplo vírus de humanos, vírus de plantas, vírus de bactérias (os chamados bacteriófagos, ou fagos), entre outros. No âmbito de vírus humanos, rotineiramente são considerados patógenos, pois são responsáveis por diversas doenças, e como os principais agentes etiológicos de pandemias, como o que ocorreu em 2019

relacionado a um vírus da família Coronaviridae, o SARS-Cov-2. Vírus de plantas também são muito explorados pois causam diversos problemas econômicos anualmente (KEEN, 2015). Por outro lado, diferentes espécies são entomopatógenos como *Baculovirus*, assim como *Chrysodeixis*, e são registrados e utilizados no controle biológicos no Brasil (<https://croplifebrasil.org>).

O aumento do conhecimento sobre virologia mostra que provavelmente o ecossistema sofreria distúrbios ecológicos severos sem os vírus (EMERSON et al., 2018), principalmente, aos bacteriófagos. Já que apresentam a capacidade de terem como hospedeiros células bacterianas, sendo uma das principais formas no controle da diversidade bacteriana em diversos ambientes, principalmente solo e água (WILLIAMSON, 2010). Esta capacidade de controlar populações bacterianas já foi muito explorada no controle de doenças infecciosas bacterianas, e atualmente está sendo explorada e compreendida em ecossistemas naturais.

Além da importância clínica, os bacteriófagos podem ser utilizados no controle de bactérias fitopatogênicas, evitando impactos econômicos na agricultura (PINHEIRO et al., 2019).

Antes do desenvolvimento de técnicas moleculares, a diversidade viral era determinada por técnicas de cultivo, que é um grande limitador, pois se faz necessário o cultivo das células hospedeiras, para que as partículas virais possam ser cultivadas. Alternativamente, poderia ser realizado a purificação de uma determinada amostra, e verificar a diversidade por microscopia eletrônica de varredura, porém, a predição de possíveis hospedeiros, capacidade gênica, e conseqüentemente o potencial ecológico não poderia ser explorado de forma satisfatória.

Atualmente, existem metodologias que possibilitam a purificação de partículas virais de determinadas amostras ambientais, como filtração tangencial, floculação utilizando ferro, dentre outras. Após a purificação do conteúdo viral, o DNA ou RNA (dependendo do conteúdo que se pretende analisar) é extraído e o genoma de todos os vírus é sequenciado, utilizando metodologias em NGS (*Next Generation Sequencing*). A partir disto, é possível verificar todo o conteúdo viral presente no ambiente, porém ainda há uma limitação que seriam os bancos de dados, que são necessárias para a caracterização de um táxon viral (PARMAR et al., 2018).

Atualmente, há um avanço nos estudos na diversidade de vírus em solo e água, principalmente em ambientes marinhos (KOSKELLA; BROCKHURST, 2014). Porém, no Brasil esta abordagem ainda está em fase inicial, sendo possível estabelecer a diversidade genômica dos táxons virais apenas através do isolamento e purificação das partículas virais.

Entretanto, análises do metaviroma realizadas internacionalmente determinam que a diversidade viral influencia diretamente a diversidade bacteriana (além das características ambientais) (HAERTER; MITARAI; SNEPPEN, 2014).

O entendimento da diversidade viral (principalmente fagos) no Brasil, e a correlação com a diversidade bacteriana (e também fúngica), pode determinar informações importantes no manejo do solo, reestabelecimento da qualidade de água em rios e lagos, potencial genômico para prospecção de genes de interesse biotecnológico, dentre outros.

Felizmente, há estudos da diversidade viral sendo conduzidos, bem como um aumento na informação de genomas completos de bacteriófagos que podem auxiliar, em um futuro próximo, em um sistema de manejo que auxilie em fatores ecológicos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As ômicas abriram novas janelas para o entendimento da forma como as comunidades microbianas são moldadas, o papel fisiológico dos membros da comunidade e como eles são capazes de se adaptar às condições extremas. Mesmo com a grande revolução tecnológica e intensa geração de informações por meio da abordagem multi-ômicas, o conhecimento obtido até o momento não toca a superfície da verdadeira complexidade das comunidades microbianas.

O Brasil tem contribuído com pesquisas na aplicação biotecnológica de diferentes grupos microbianos. Os estudos de ecologia microbiana, incluindo a interação entre espécies microbianas e o hospedeiro levaram a importantes produtos biotecnológicos usados na promoção de crescimento vegetal, no biocontrole de doenças, pragas e plantas invasoras, usando o micro-organismo ou sua enzima isolada, e na indução da resistência sistêmica, aumentando a tolerância a estresses bióticos e abióticos. Além de contribuir na biorremediação de ambientes contaminados com metais ou compostos orgânicos. No entanto, ainda há uma vasta diversidade microbiana a ser explorada e muitos problemas agrônômicos, como resistência a fungicidas, e ambientais, tais como persistência de defensivos, a serem resolvidos.

4. REFERÊNCIAS

- ABEDON, S.T. Phage evolution and ecology. **Advances in Applied Microbiology**, v. 67, p. 1-35, 2009.
- ALAZI, E.; RAM, A.F.J. Modulating transcriptional regulation of plant biomass degrading enzyme networks for rational design of industrial fungal strains. **Frontiers In Bioengineering and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2018.
- ALMEIDA, T.T.; RIBEIRO, M.A.S.; POLONIO, J.C.; GARCIA, F.; NAKAMURA, C.V.; MEURER, E.C.; et al. Curvulin and spirostaphylotrichins R and U from extracts produced by two endophytic *Bipolaris* sp. associated to aquatic macrophytes with antileishmanial activity. **Natural Product Research**, v. 32, n. 23, p. 2783-2790, 2017.
- AFZAL, I.; SHINWARI, Z. K.; SIKANDAR, S.; SHAHZAD, S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v. 221, p. 36-49, 2019.
- ARAUJO, A.S.F.D., MENDES, L.W., BEZERRA, W.M., NUNES, L.A.P.L., LYRA, M. D.C.C.P.D., FIGUEIREDO, M.D.V.B., et al. Archaea diversity in vegetation gradients from the Brazilian Cerrado. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 522-528, 2018.
- BATISTA, B.D.; LACAVA, P.T.; FERRARI, A.; TEIXEIRA-SILVA, N.S.; BONATELLI, M.L.; TSUI, S.; et al. Screening of tropically derived, multi-trait plant growth-promoting rhizobacteria and evaluation of corn and soybean colonization ability. **Microbiological Research**, v. 206, p. 33-42, 2018.
- BAKER-AUSTIN, C.; DOPSON, M.; WEXLER, M.; SAWERS, R. G.; STEMMLER, A.; ROSEN, B.P.; et al. Extreme arsenic resistance by the acidophilic archaeon '*Ferroplasma acidarmanus*' Fer1. **Extremophiles**, v. 11, n. 3, p. 425-434, 2007.
- BANG, C.; SCHMITZ, R.A. Archaea associated with human surfaces: not to be underestimated. **FEMS microbiology reviews**, v. 39, n. 5, p. 631-648, 2015.
- BESTAWY, E.E.L.; HELMY, S.; HUSSIEN, H.; FAHMY, M.; AMER, R. Bioremediation of heavy metal-contaminated effluent using optimized activated sludge bacteria. **Applied Water Science**, v. 3, p. 181-192, 2013.
- BEYS-DA-SILVA, W.O.; SANTI, L.; BERGER, M.; CALZOLARI, D.; PASSOS, D. O.; GUIMARÃES, J.A.; et al. Secretome of the Biocontrol Agent *Metarhizium anisopliae* Induced by the Cuticle of the Cotton Pest *Dysdercus peruvianus* Reveals New Insights into Infection. **Journal Of Proteome Research**, v. 13, n. 5, p. 2282-2296, 2014.
- BINI, E. Archaeal transformation of metals in the environment. **FEMS microbiology ecology**, v. 73, n. 1, p. 1-16, 2010.
- BRAGA, R.M.; DOURADO, M. N.; ARAÚJO, W.L. Microbial interactions: ecology in a molecular perspective. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, p. 86-98, 2016.
- CAMPEÃO, M.E.; REIS, L.; LEOMIL, L.; DE OLIVEIRA, L.; OTSUKI, K.; GARDINALI, P.; THOMPSON, C.C. The deep-sea microbial community from the Amazonian basin associated with oil degradation. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 1019, 2017.
- CASTRO, R.A.; QUECINE, M.C.; LACAVA, P.T.; BATISTA, B.D.; LUVIZOTTO, D.M.;

- MARCON, J.; et al. Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. **SpringerPlus**, v. 3, n. 382, 2014.
- CATÃO, E.; CASTRO, A.P.; BARRETO, C.C.; KRÜGER, R.H.; KYAW, C.M. Diversity of Archaea in Brazilian savanna soils. **Archives of microbiology**, v. 195, n. 7, p. 507-512, 2013.
- DIAS, M.; DA CRUZ, P.M.M.G.; DUARTE, W.F.; SILVA, C.F.; SCHWAN, R.F. Epiphytic bacteria biodiversity in Brazilian Cerrado fruit and their cellulolytic activity potential. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 851–864, 2015.
- DIAS, M.; LACERDA, J.T.J.G.; ALMEIDA, S.P.C.; ANDRADE, L.; NASCIMENTO, C.A.O.; ROZAS, E.E.; et al. Response mechanism of mine-isolated fungus *Aspergillus niger* IOC 4687 to copper stress determined by proteomics. **Metallomics**, v. 11, n. 9, p. 1558-1566, 2019.
- DOURADO, M.N.; SOUZA, L.A.; MARTINS, P.F.; PETERS, L.P.; PIOTTO, F.A.; AZEVEDO, R.A. *Burkholderia* sp. SCMS54 triggers a global stress defense in tomato enhancing cadmium tolerance. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, n. 2159, 2014.
- DOURADO, M.N.; FRANCO, M.R.; PETERS, L.P.; MARTINS, P. F.; SOUZA, L. A.; PIOTTO, F.A.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant enzymes activities of *Burkholderia* spp. strains—oxidative responses to Ni toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 24, p. 19922-19932, 2015a.
- DOURADO, M.N.; NEVES, C.A.A.; SANTOS, D.S.; ARAÚJO, W.L. Biotechnological and agronomic potential of endophytic pink-pigmented methylotrophic *Methylobacterium* spp. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015b.
- DRUSCHEL, G.K., BAKER, B.J., GIHRING, T.M., BANFIELD, J.F. Acid mine drainage biogeochemistry at Iron Mountain, California. **Geochemical Transactions**, v. 5, n. 2, p. 13, 2004.
- DUMORNÉ, K., CÓRDOVA, D.C., ASTORGA-ELÓ, M., RENGANATHAN, P. Extremozymes: a potential source for industrial applications. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 4, p. 649-659, 2017.
- EDWARDS, K.J., BOND, P.L., GIHRING, T.M., BANFIELD, J.F. An archaeal iron-oxidizing extreme acidophile important in acid mine drainage. **Science**, v. 287, n. 5459, p. 1796-1799, 2000.
- EME, L.; DOOLITTLE, W.F. Archaea. **Current Biology**, v. 25, n. 19, p. R851-R855, 2015.
- EMERSON, J.B.; SIMON R.; JENNIFER R.B.; BENJAMIN B.; BEN J.W.; et al. Host-Linked Soil Viral Ecology along a Permafrost Thaw Gradient. **Nature Microbiology**, v. 3, n. 8, p. 870-880, 2018.
- ETTO, R.M.; CRUZ, L.M. JESUS, E.C.; GALVÃO, C.W.; GALVÃO, F.; SOUZA, E. M.; et al. Prokaryotic communities of acidic peatlands from the southern Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 661-674, 2012.
- FAUST, K.; RAES, J. Microbial interactions: from networks to models. **Nature Review Microbiology**, v. 10, p. 538–550.3, 2012.
- FERREIRA, D.S.S.; KATO, R. B.; MIRANDA, F.M.; PINHEIRO, K.C.; FONSECA, P.L.C.; TOMÉ, L.M.R.; et al. Draft genome sequence of *Trametes villosa* (Sw.) Kreisel CCMB561, a

tropical white-rot Basidiomycota from the semiarid region of Brazil. **Data In Brief**, v. 18, n. 1, p. 1581-1587, 2018.

FONSECA, J.P.; HOFFMANN, L.; CABRAL, B.C.A.; DIAS, V.H.G.; MIRANDA, M.R.; MARTINS, A.C.A.; et al. Contrasting the microbiomes from forest rhizosphere and deeper bulk soil from an Amazon rainforest reserve. **Gene**, v. 642, p. 389–397, 2018.

FUKAMI, J.; OLLERO, F.J.; DE LA OSA, C.; VALDERRAMA-FERNÁNDEZ, r.; NOGUEIRA, M.A.; MEGÍAS, M.; et al. Antioxidant activity and induction of mechanisms of resistance to stresses related to the inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Archives of Microbiology**, v. 200, n. 8, p. 1191–1203, 2018.

GASTAUER, M.; VERA, M.P.O.; DE SOUZA, K.P.; PIRES, E.S.; ALVES, R.; CALDEIRA, C.F.; et al. A metagenomic survey of soil microbial communities along a rehabilitation chronosequence after iron ore mining. **Scientific Data**, v. 6, n. 1, p. e190008, 2019.

GOES, K.C.G.P.; DE CASTRO FISHER, M.L.; CATTELAN, A.J.; NOGUEIRA, M.A.; CARVALHO, C.G.P.; et al. Biochemical and molecular characterization of high population density bacteria isolated from sunflower. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 437–447, 2012.

GONÇALVES, P.J.R.O.; HUME, C.C.D.; FERREIRA, A.J.; TSUI, S.; BROCCHI, M.; WREN, B.W.; et al. Environmental interactions are regulated by temperature in *Burkholderia seminalis* TC3.4.2R3. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2019.

GRIGOLETTO, D.F.; TRIVELLA, D.B.B.; TEMPONE, A.G.; RODRIGUES, A.; CORREIA, A.M.L.; LIRA, S.P. Antifungal compounds with anticancer potential from *Trichoderma* sp. P8BDA1F1, an endophytic fungus from *Begonia venosa*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2020.

HAERTER, J.O.; MITARAI, N.; SNEPPEN, K. Phage and bacteria support mutual diversity in a narrowing staircase of coexistence. **ISME Journal**, v. 8, n. 11, p. 2317-2326, 2014.

HARDOIM, P.R.; VAN OVERBEEK, L.S.; BERG, G.; PIRTTILÄ, A.M.; COMPANT, S.; CAMPISANO, A.; et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 79, n. 3, p. 293-320, 2015.

HARRISON, J.G.; GRIFFIN, E.A. The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? **Environmental Microbiology**, v. 22, n. 6, p. 2107-2123, 31, 2020.

HILARIO, F.; POLINÁRIO, G.; AMORIM, M.R.; BATISTA, V.S.; NASCIMENTO JÚNIOR, N.M.; et al. *Spirocyclic lactams* and curvulinic acid derivatives from the endophytic fungus *Curvularia lunata* and their antibacterial and antifungal activities. **Fitoterapia**, v. 141, p. e104466, 2020.

HORTA, M.A.C.; VICENTINI, R.; DELABONA, P. S.; LABORDA, P.; CRUCELLO, A.; FREITAS, S.; et al. Transcriptome profile of *Trichoderma harzianum* IOC-3844 induced by sugarcane bagasse. **Plos One**, v. 9, n. 2, p. 1-17, 2014.

HUSSAIN H.; Kliche-Spory, C.; AL-HARRASI, A.; AL-RAWAHI, A.; ABBAS, G.; GREEN, I.R.; et al. Antimicrobial constituents from three endophytic fungi. **Asian Pacific Journal Of Tropical Medicine**, v. 7, p. 224-227, 2014.

- KASHEFI, K.; MOSKOWITZ, B.M.; LOVLEY, D.R. Characterization of extracellular minerals produced during dissimilatory Fe (III) and U (VI) reduction at 100 C by *Pyrobaculum islandicum*. **Geobiology**, v. 6, n. 2, p. 147-154, 2008a.
- KASHEFI, K.; SHELOBOLINA, E.S.; ELLIOTT, W.C.; LOVLEY, D.R. Growth of thermophilic and hyperthermophilic Fe (III)-reducing microorganisms on a ferruginous smectite as the sole electron acceptor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 251-258, 2008b.
- KASHEFI, K.; LOVLEY, D.R. Reduction of Fe (III), Mn (IV), and toxic metals at 100 C by *Pyrobaculum islandicum*. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 3, p. 1050-1056, 2000.
- KEEN, E.C. A century of phage research: Bacteriophages and the shaping of modern biology. **BioEssays**, v. 37, n. 1, p. 6-9, 2015.
- KOSKELLA, B.; BROCKHURST, M.A. Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 38, n. 5, p. 916-931, 2014.
- KOUR, D.; RANA, K.L.; YADAV, N.; YADAV, A.N.; KUMAR, A.; MEENA, V.S.; et al. **Rhizospheric microbiomes: biodiversity, mechanisms of plant growth promotion, and biotechnological applications for sustainable agriculture**. In: KUMAR, A.; MEENA, V. (Eds). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*. 1^a ed, Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2019.
- LANÇONI, M.D.; TAKETANI, R.G.; KAVAMURA, V.N.; MELO, I.S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 7, p. 1233-1241, 2013.
- LIMA, F.B.; FÉLIX, C.; OSÓRIO, N.; ALVES, A.; VITORINO, R.; DOMINGUES, P.; et al. Secretome analysis of *Trichoderma atroviride* T17 biocontrol of *Guignardia citricarpa*. **Biological Control**, v. 99, n. 1, p. 38-46, 2016.
- LIMA, J.V.L.; WEBER, O.B.; CORREIA, D.; SOARES, M.A.; SENABIO, J.A. Endophytic bacteria in cacti native to a Brazilian semi-arid region. **Plant and Soil**, v. 389, n. 1–2, p. 25–33, 2015.
- LUCAS, R.C.; OLIVEIRA, T.B.; LIMA, M.S.; PASIN, T.M.; SCARCELLA, A.S.A.; PRADE, R.A.; et al. Effect of enzymatic pretreatment of sugarcane bagasse with recombinant hemicellulases and esterase prior to the application of the cellobiohydrolase CBH I Megazyme®. **Biomass Conversion And Biorefinery**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2020.
- MARKS, B.B.; MEGÍAS, M.; OLLERO, F.J.; NOGUEIRA, M.A.; ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. Maize growth promotion by inoculation with *Azospirillum brasilense* and metabolites of *Rhizobium tropici* enriched on lipo-chitooligosaccharides (LCOs). **AMB Express**, v. 5, n. 1, p. 1–11, 2015.
- MENDES, L.W.; TSAI, S.M. Distinct taxonomic and functional composition of soil microbiomes along the gradient forest-restinga-mangrove in southeastern Brazil. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 111, n. 1, p. 101–114, 2018.

- MENDES, L.W.; TAKETANI, R.G.; NAVARRETE, A.A.; TSAI, S.M. Shifts in phylogenetic diversity of archaeal communities in mangrove sediments at different sites and depths in southeastern Brazil. **Research in microbiology**, v. 163, n. 5, p. 366-377, 2012.
- NASU, É.G. C.; AMORA, D. X.; MONTEIRO, T. S. A.; ALVES, P. S.; PODESTÁ, G.S.; FERREIRA, F. C.; et al. *Pochonia chlamydosporia* applied via seed treatment for nematode control in two soil types. **Crop Protection**, v. 114, p. 106-112, 2018.
- NAVARRETE, A.A.; TSAI, S.M.; MENDES, L.W.; FAUST, K.; HOLLANDER, M.; CASSMAN, N.A.; et al. Soil microbiome responses to the short-term effects of Amazonian deforestation. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 10, p. 2433–2448, 2015.
- OSHIQUIRI, L.H.; SANTOS, K.R.A.; FERREIRA JUNIOR, S.A.; STEINDORFF, A.S.; BARBOSA FILHO, J.R.; MOTA, T.M.; et al. *Trichoderma harzianum* transcriptome in response to cadmium exposure. **Fungal Genetics and Biology**, v. 134, p. e103281, 2020.
- OTERO, I.V.R.; FERRO, M.; BACCI, M.; FERREIRA, H.; SETTE, L. D. Novo transcriptome assembly: a new laccase multigene family from the marine-derived basidiomycete *Peniophora* sp. cbmai 1063. **Amb Express**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2017.
- ORTIZ-VERA, M.P.; OLCANHESKI, L. R.; SILVA, E. G.; LIMA, F. R.; MARTINEZ, L. R.P.R.; SATO, M. I. Z.; et al. Influence of water quality on diversity and composition of fungal communities in a tropical river. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-9, 2018.
- PARMAR, K.; NISHANT D.; RAJESH P.; HITESH T.; HEMANT P. An insight into phage diversity at environmental habitats using comparative metagenomics approach. **Current Microbiology**, v. 75, n. 2, p. 132-141, 2018.
- PAŠIĆ, L.; MARTIN-CUADRADO, A.B.; LÓPEZ-GARCÍA, P. “deciphering archaeal communities” omics tools in the study of archaeal communities. In: MARTIN F.; UROZ S. **Microbial Environmental Genomics (MEG)**. Humana Press: New York, 2016.
- PEREIRA, L.B.; ANDRADE, G.S.; MENEGHIN, S.P.; VICENTINI, R.; OTTOBONI, L. M.M. Prospecting plant growth-promoting bacteria isolated from the rhizosphere of sugarcane under drought stress. **Current Microbiology**, v. 76, n. 11, p. 1345-1354, 2019.
- PINHEIRO, L.A.M.; PEREIRA, C.; FRAZÃO, C.; BALCÃO, V.M.; ALMEIRA, A. efficiency of phage $\phi 6$ for biocontrol of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*: An *in vitro* preliminary study. **Microorganisms**, v. 7, p. 286, 2019.
- PUMP, J.; PRATSCHER, J.; CONRAD, R. Colonization of rice roots with methanogenic archaea controls photosynthesis-derived methane emission. **Environmental microbiology**, v. 17, n. 7, p. 2254-2260, 2015.
- PYLRO, V.S.; ROESCH, L.F.W.; ORTEGA, J.M.; AMARAL, A. M., TÓTOLA, M. R.; HIRSCH, P.R.; et al. Brazilian microbiome project: revealing the unexplored microbial diversity-challenges and prospects. **Microbial Ecology**, v. 67, n. 2, p. 237–241, 2014.
- RACHID, C.T.C.C.; SANTOS, A.L.; PICCOLO, M.C.; BALIEIRO, F.C.; COUTINHO, H.L.; PEIXOTO, R.S.; et al. Effect of sugarcane burning or green harvest methods on the Brazilian Cerrado soil bacterial community structure. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–8, 2013.
- REMONSELLEZ, F.; ORELL, A.; JEREZ, C.A. Copper tolerance of the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus metallicus*: possible role of polyphosphate metabolism. **Microbiology**, v. 152, n. 1, p. 59-66, 2006.

SHAND, R.F.; LEYVA, K.J. Archaeal antimicrobials: an undiscovered country. In BLUM, P. **Archaea: new models for prokaryotic biology**, v. 2008, Caister Academic Press, 2008.

SILVA NETO, B.R. FUNGOS: Biodiversidade e biotecnologia, um breve panorama. In: SILVA, B.R. **Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos**. Ponta Grossa, Atena Editora, 2019.

SIMON, H.M.; JAHN, C.E.; BERGERUD, L.T.; SLIWINSKI, M.K.; WEIMER, P.J.; WILLIS, D.K.; et al. Cultivation of mesophilic soil crenarchaeotes in enrichment cultures from plant roots. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 4751-4760, 2005.

SIVAKUMAR, N.; SATHISHKUMAR, R.; SELVAKUMAR, G.; SHYAMKUMAR, R.; ARJUNEKUMAR, K. **Phyllospheric microbiomes: diversity, ecological significance, and biotechnological applications**. In: YADAV, A.N., SINGH, J., RASTEGARI, A.A., YADAV, N. *Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture*. 1^a ed, Springer Nature Switzerland AG, 2020.

SONG, G.C.; IM, H.; JUNG, J.; LEE, S.; JUNG, M.Y.; RHEE, S.K.; et al. Plant growth-promoting archaea trigger induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae*. **Environmental microbiology**, v. 21, n. 3, p. 940-948, 2019.

SOUZA, R.C.; MENDES, I.C.; REIS-JUNIOR, F.B.; CARVALHO, F.M.; NOGUEIRA, M.A.; VASCONCELOS, A.T.R.; et al. Shifts in taxonomic and functional microbial diversity with agriculture: How fragile is the Brazilian Cerrado? **BMC Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 42, 2016.

TAFFNER, J.; ERLACHER, A.; BRAGINA, A.; BERG, C.; MOISSEL-EICHINGER, C.; BERG, G. What is the role of Archaea in plants? New insights from the vegetation of alpine bogs. **MSphere**, v. 3, n. 3, 2018.

TAKETANI, R.G.; TSAI, S.M. The influence of different land uses on the structure of archaeal communities in Amazonian anthrosols based on 16S rRNA and amoA genes. **Microbial Ecology**, v. 59, n. 4, p. 734-743, 2010.

VALADARES, F.; GONÇALVES, T.A.; DAMASIO, A.; MILAGRES, A.M.; SQUINA, F. M; SEGATO, F.; et al. The secretome of two representative lignocellulose-decay basidiomycetes growing on sugarcane bagasse solid-state cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 130, p. e109370, 2019.

VALENTINE, D.L. Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the Archaea. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 316-323, 2007.

VIEIRA, N.C.; CORTELO, P.C.; CASTRO-GAMBOA, I. Rapid qualitative profiling of metabolites present in *Fusarium solani*, a rhizospheric fungus derived from *Senna spectabilis*, using GC/MS and UPLC-QTOF/MSE techniques assisted by UNIFI information system. **European Journal of Mass Spectrometry**, v. 26, n. 4, p. 281-291, 2020.

WILLIAMSON, K.E. **Soil phage ecology: abundance, distribution, and interactions with bacterial hosts**. In: Witzany G. *Biocommunication in Soil Microorganisms*. Soil Biology, 23ed. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011.

WU, B.; HUSSAIN, M.; ZHANG, W.; STADLER, M.; LIU, X.; XIANG, M. Current insights into fungal species diversity and perspective on naming the environmental DNA sequences of fungi. **Mycology**, v. 10, n. 3, p. 127-140, 2019.

BACTÉRIAS ENTOMOPATOGÊNICAS NO CONTROLE DE LARVAS DE MOSQUITOS

Fábio Medeiros da Costa¹

1. Oikos Consultoria e Projetos. Porto Velho, Rondônia, Brasil.

RESUMO

Bactérias entomopatogênicas são utilizadas no controle de larvas de mosquitos visando o controle de doenças transmitidas por vetores em várias partes do mundo. Esses microorganismos apresentam a vantagem de serem bastante efetivos e seletivos contra larvas de culicídeos e com baixo impacto ambiental negativo. O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia de um formulado à base de *Lysinibacillus sphaericus* (Ls) no controle de larvas de *Anopheles* spp. em duas localidades rurais do Estado de Rondônia (bioma amazônico): Caldeirão do Inferno e Sítio Domingas. Foram realizadas avaliações de densidades de larvas e adultos em localidades próximas a igarapés e tanques de piscicultura e obtidos os Índices de Larvas por Homem Hora (ILHH) e de Picadas por Homem Hora (IPHH) antes e após o tratamento com formulado Vectolex[®] CG, e as médias de mosquitos submetidas ao teste de Kruskal-Wallis. *Anopheles darlingi* correspondeu a 96% dos anofelinos coletados. O ILHH no Caldeirão do Inferno foi de 13,2 antes do tratamento e 1,3 pós-tratamento; e Sítio Domingas foi de 39,9 e 0,8 nos mesmos grupos. A média de larvas teve redução significativa nas duas localidades considerando o antes e depois da aplicação do biolarvicida. A média de mosquitos e o IPHH não variaram significativamente após os tratamentos nas localidades. O uso de biolarvicidas à base de Ls é uma alternativa viável no Manejo Integrado de Vetores de malária na Amazônia.

Palavras-chave: Controle Biológico, Manejo Integrado de vetores e Malária.

ABSTRACT

Entomopathogenic bacteria are used against mosquito larvae to control vector-borne diseases in various parts of the world. These microorganisms have the advantage of being very effective and selective against culicidae larvae and with low negative environmental impact. The present study aimed to evaluate the efficacy of a formulation based on *Lysinibacillus sphaericus* (Ls) in the control of larvae of *Anopheles* spp. in two rural localities in Rondônia State (Amazon Biome): Caldeirão do Inferno and Sítio Domingas. Densities of larvae and adults were evaluated in localities near streams and fish ponds and obtained the Larvae Index per Man/Hour (LIMH) and Mosquito Index per Man/Hour (MIMH) before and after treatment with formulated Vectolex[®] CG, and the averages of mosquitoes submitted to the Kruskal-Wallis test. *Anopheles darlingi* accounted for 96% of the anophelines collected. The LIMH in the Caldeirão do Inferno was 13.2 before treatment and 1.3 after treatment; and

in Sítio Domingas was 39.9 and 0.8 in the same groups. The average number of larvae had a significant reduction in both localities considering the before and after biolarvicidal application. The average number of mosquitoes and the MIMH did not vary after treatments in the localities. The use of Ls-based biolarvicides is a viable alternative in integrated malaria vector management in the Amazon.

Keywords: Biological Control, Integrated Vector Management and Malaria.

1. INTRODUÇÃO

O termo entomopatogênico é oriundo da junção de três palavras, ‘*entomom*’ (inseto) + ‘*pathos*’ (doença) + ‘*genesis*’ (origem), cujo epônimo é dado a um organismo que causa doença, a qual geralmente é letal para um inseto. Em um sentido mais amplo o termo é definido como um micro-organismo que causa doenças em artrópodes tais como insetos, ácaros e carrapatos. Várias espécies de entomopatógenos ocorrem naturalmente no ambiente (solo, água, poeira, no corpo de artrópodes, filoplano entre outros). São elas: vírus, bactérias, fungos e nematóides. Esses seres podem infectar uma variedade enorme de artrópodes, incluindo pragas e vetores, os quais desempenham um importante papel no manejo ou controle.

Os primeiros registros das doenças bacterianas em insetos datam do final do século XIX, sendo inicialmente detectados na apicultura, em criações de *Apis mellifera*, e na sericicultura, em colônias de *Bombyx mori* (HABIB; ANDRADE, 1998). A primeira bactéria entomopatogênica de que se tem registro foi a espécie *Bacillus thuringiensis*. Inicialmente foi isolada pelo biólogo japonês Ishiwata Shigetane em 1901. Porém, a espécie só foi descrita por Berliner em 1915 (ROH et al., 2007), desta vez isolada na Thuringia, Alemanha, em uma mariposa da espécie *Anagasta kuehniella*.

A bactéria *Bacillus sphaericus*, reclassificada como *Lysinibacillus sphaericus* (AHAMED et al., 2007), foi isolada em uma larva de mosquito já moribunda, sendo posteriormente descrita por Neide em 1904 (KELLEN et al., 1965). Inicialmente a cepa isolada apresentou baixa atividade larvicida. Somente após o isolamento de uma cepa mais virulenta na Indonésia, durante os anos 1970, foi que essa espécie passou a ser levada em consideração como potencial para o controle de vetores (CHARLES; NIELSEN-LE-ROUX; DELÉCLUSE, 1996).

Na atualidade *Bacillus thuringiensis* subespécie *israelensis* (Bti) e *Lysinibacillus sphaericus* (Ls) são as espécies mais utilizadas no controle de insetos de importância

médica, as quais incluem as larvas de vetores da ordem Diptera, famílias Culicidae e Simuliidae. As principais vantagens dessas bactérias no controle de vetores são: ação rápida, facilidade de produzir a um custo relativamente baixo, facilidade na produção de formulados, têm vida útil longa e permitem que sejam aplicados usando equipamentos convencionais, apresentam toxinas que são muito seletivas, o que gera um impacto ambiental negativo muito limitado. Os biolarvicidas dessas bactérias atuam diferentemente dos inseticidas químicos que possuem amplo espectro, afetando adversamente um grande número de artrópodes benéficos no meio ambiente (LACEY et al., 2015).

Em Bti as principais toxinas que são responsáveis pela elevada atividade larvicida são: Cry4A (125 kDa), Cry4B (135 kDa), Cry11A (68 kDa) e Cyt1A (28 kDa). Em Ls é encontrada a toxina binária (duas proteínas) que são responsáveis pela mortalidade larval: BinA (42 kDa) e BinB (51 kDa). Em ambas as espécies o modo de ação é bastante similar, ocorrendo quando as larvas de culicídeos ingerem os componentes bacterianos que são solubilizados pelo pH alcalino do intestino e as protoxinas solúveis são ativadas pelas proteases de serina do intestino médio, liberando assim as toxinas ativas. As toxinas se ligam às células epiteliais na superfície das microvilosidades no intestino médio e nos cecos gástricos, provocando a formação de poros (permeabilização) resultando em interrupção do balanço osmótico, com ruptura da membrana celular, lise das células e finalmente morte do inseto (LACEY, 2007; LACEY et al., 2015).

Os produtos à base de Bti são mais efetivos contra as larvas de *Aedes* sp., além disso, os criadouros artificiais utilizados por esses mosquitos possuem pouca matéria orgânica o que potencializa a ação das bactérias. Já os formulados com Ls são mais efetivos em larvas de *Culex* sp. e *Psorophora* sp., menos ativos em *Anopheles* sp. e *Mansonia* sp. (LACEY 2007) e certos formulados são inócuos para *Aedes aegypti* (CHARLES; NIELSON-LEROUX; DELÉCLUSE, 1996; LACEY et al., 2015). Em geral, o efeito de mortalidade nas larvas é alcançado mais rápido pela primeira bactéria, provavelmente pelo sinergismo do conjunto de toxinas presente. Em contraposição, a segunda tem ação mais prolongada, além de apresentar melhor desempenho em ambientes aquáticos com altas concentrações de matéria orgânica. No entanto, ambas podem ser afetadas por altas temperaturas nos criadouros, pela exposição à radiação solar, pela profundidade e a turbidez da água para dispersão do produto, pela presença de taninos que podem oxidar as toxinas, pelo conteúdo de matéria orgânica, pela presença de vegetação aquática entre outros.

A aplicação em campo com bactérias entomopatogênicas no controle de larvas de anofelinos na Amazônia brasileira, visando o controle da malária, foi demonstrada em

diferentes tipos de criadouros por Rodrigues et al. (2008; 2013), Ferreira et al. (2015) e Fontoura et al. (2019). Os autores verificaram que as densidades larvárias são reduzidas após as aplicações de formulados à base de Ls ou Ls + Bti em diferentes concentrações, demonstrando assim a eficácia desses micro-organismos no controle dos vetores de malária.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de um formulado com bactérias entomopatogênicas no controle de larvas de *Anopheles* spp. no Estado de Rondônia.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. ÁREAS DE ESTUDO

Os estudos foram conduzidos em criadouros naturais, como os igarapés em uma comunidade rural do município de Porto Velho, Rondônia, denominada Caldeirão do Inferno (9°14'0.85"S; 64°36'1.84"O) (Figura 1); e em criadouros artificiais, como os tanques de piscicultura na área periurbana do município de Itapuã do Oeste, Rondônia, denominada Sítio Domingas (9°12'13.33"S; 63°11'46.37"O) (Figura 2).



Figura 1. Aspecto de um dos criadouros naturais: igarapé de águas pretas, com macrófitas aquáticas e vegetação marginal alterada.

Localização: Caldeirão do Inferno, zona rural do município de Porto Velho, Rondônia.



Figura 2. Aspecto de um dos criadouros artificiais: tanque de piscicultura com vegetação marginal composta por gramíneas.

Localização: Sítio Domingas, área periurbana do município de Itapuã do Oeste, Rondônia.

2.2. COLETAS DE *Anopheles* spp.

As coletas foram realizadas em todos os criadouros presentes de ambas as localidades analisadas utilizando-se a técnica de busca ativa com concha entomológica (Figura 2) diretamente na água conforme preconizada a Nota Técnica nº 12 do Ministério da Saúde. Em seguida foi obtido o Índice de Larvas por Homem Hora (IPHH) antes e após as aplicações dos biolarvicidas. Adicionalmente foram realizadas coletas de adultos nas residências nas proximidades por meio da técnica de Atração Humana Protegida (AHP) utilizando capturadores orais de sucção para avaliar as densidades dos mosquitos picando no ambiente. As coletas foram autorizadas com seus respectivos protocolos no SISBIO no. 18281-1. As identificações dos mosquitos foram realizadas com as chaves dicotômicas de Consoli e Lourenço-de-Oliveira (1994), observados ao microscópio estereoscópico nas dependências da Oikos Consultoria e Projetos.

2.3. APLICAÇÕES DE BIOLARVICIDAS

Os biolarvicidas aplicados foram do formulado Vectolex CG à base de Ls. na concentração de 22,5kg/ha, considerando que ambos os criadouros encontrados possuíam grandes volumes de espelho d'água e presença de matéria orgânica. As aplicações foram realizadas com equipamento atomizador costal-portátil com pico para granulados e capacidade para 11 litros no tanque (Figura 3).



Figura 3. Aplicação de biolarvicida Vectolex® CG com equipamento motorizado em criadouro.

Destaque no inferior direito da imagem do produto granulado. Escala da régua em milímetros.

2.4. ANÁLISE DOS DADOS

A partir das larvas coletadas antes e após os tratamentos (48 e 72 horas) com biolarvicidas foi obtido o seguinte índice em cada localidade:

$$\text{Índice de Larva por Homem Hora (ILHH)} = \frac{\sum \text{larvas coletadas}}{\frac{\text{n}^\circ \text{ de coletores}}{\text{n}^\circ \text{ de horas avaliadas}}}$$

A partir dos adultos coletados antes e após os tratamentos (5, 10 e 15 dias) com biolarvicidas foi obtido o seguinte índice em cada localidade:

$$\text{Índice de Picadas por Homem Hora (IPHH)} = \frac{\sum \text{fêmeas coletadas}}{\frac{\text{n}^\circ \text{ de coletores}}{\text{n}^\circ \text{ de horas avaliadas}}}$$

As médias do número de larvas e de adultos antes e após o tratamento foram comparadas usando o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com auxílio do programa estatístico BioEstat versão 5.0 (AYRES et al., 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas duas localidades avaliadas foi coletado um total de 706 anofelinos, distribuídos em cinco espécies. *Anopheles darlingi* correspondeu a 96,3% da amostra, seguida por *Anopheles braziliensis* com 1,3% e por *Anopheles albitarsis* sensu lato (s.l.) com 1,0%. As maiores densidades obtidas foram de indivíduos no estágio larval (70,4%) contra 29,6% de adultos (Tabela 1).

No Caldeirão do Inferno o ILHH foi de 13,2 antes do tratamento com biolarvicida e depois do tratamento caiu para 1,3. No Sítio Domingas a variação nos dois grupos, antes e depois do tratamento, foram respectivamente, 39,9 e 0,8 (Tabela 2). A média de larvas de *Anopheles* sp. diferiu significativamente antes e depois do tratamento em ambas as localidades: Caldeirão do Inferno $H= 3,9706$ e $p = 0,0463$; Sítio Domingas $H= 3,8571$ e $p= 0,0495$ (Figura 4).

Os IPHHs obtidos no Caldeirão do Inferno foram 2,0 antes do tratamento e 0,9 cinco dias, 0,3 com dez dias e 0,7 com quinze dias pós-tratamento. No Sítio Domingas os índices para os mesmos grupos foram: 6,8; 2,3; 1,8 e 1,3. Não houve diferenças significativas entre os períodos de tratamentos em Caldeirão do Inferno ($p= 0,1163$) e no Sítio Domingas ($p= 0,2317$) (Figura 5).

Tabela 1. Espécies de *Anopheles*, por estágio de desenvolvimento, coletados em duas localidades de Rondônia.

| Espécie | Caldeirão do Inferno | | Sítio Domingas | | Subtotal / Espécie | % / Espécie |
|----------------------------------|----------------------|---------|----------------|---------|--------------------|-------------|
| | Larvas | Adultos | Larvas | Adultos | | |
| <i>Anopheles albitarsis</i> s.l. | 1 | 1 | 2 | 3 | 7 | 1,0 |
| <i>Anopheles braziliensis</i> | 1 | 1 | 3 | 4 | 9 | 1,3 |
| <i>Anopheles darlingi</i> | 128 | 59 | 354 | 139 | 680 | 96,3 |
| <i>Anopheles nuneztovari</i> | - | - | 1 | 1 | 2 | 0,3 |
| <i>Anopheles triannulatus</i> | - | 1 | 2 | - | 3 | 0,4 |
| <i>Anopheles</i> sp. | 1 | - | 4 | - | 5 | 0,7 |
| Total | 131 | 62 | 366 | 147 | 706 | - |
| % por estágio | 18,6 | 8,8 | 51,8 | 20,8 | - | - |

Tabela 2. Densidades de larvas de *Anopheles* sp, desvio padrão e ILHH, antes e depois do tratamento com Vectolex® CG, aplicado em duas localidades do Estado de Rondônia.

| Localidades | Antes | | | Depois | | |
|----------------------|-------|-------|------|--------|------|------|
| | n | DP | ILHH | n | DP | ILHH |
| Caldeirão do Inferno | 119 | ±5,1 | 13,2 | 12 | ±1 | 1,3 |
| Sítio Domingas | 359 | ±15,2 | 39,9 | 7 | ±0,8 | 0,8 |

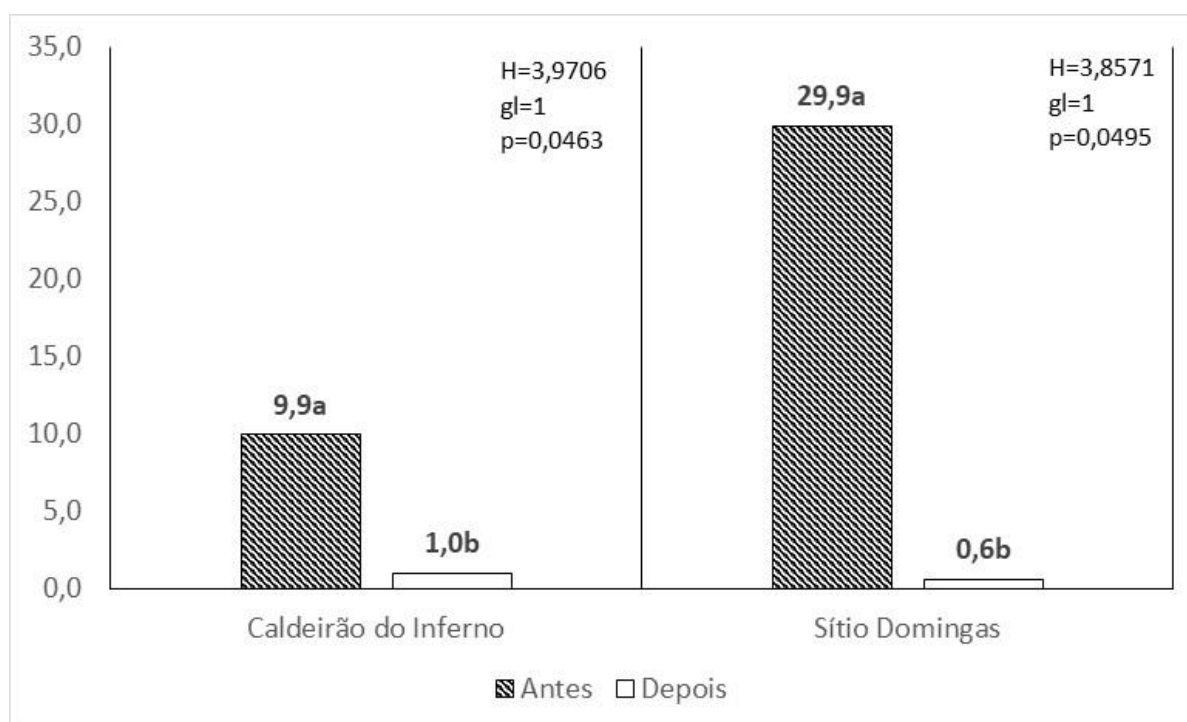


Figura 4. Médias de larvas de *Anopheles* sp. coletadas antes e depois do tratamento com Vectolex® CG em duas localidades do Estado de Rondônia.

Legenda: H = valor do teste H ou de Kruskal-Wallis; gl = graus de liberdade; p = valor de probabilidade.

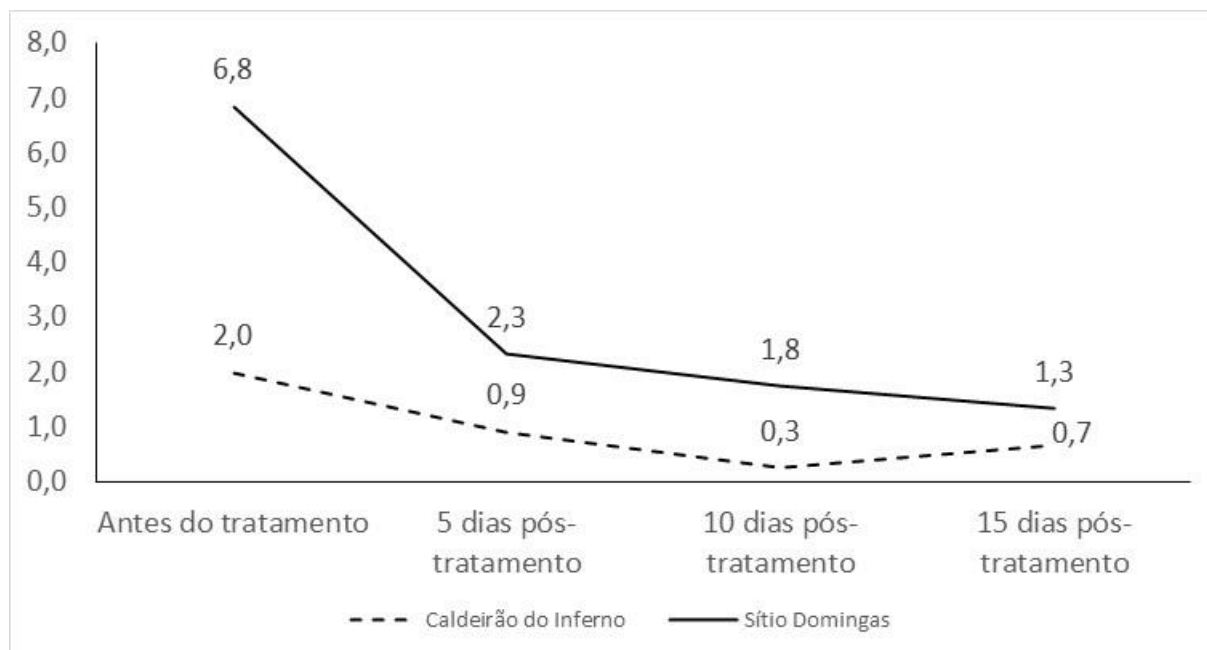


Figura 5. IPHH antes e após o tratamento com Vectolex® CG em duas localidades do Estado de Rondônia.

O controle biológico com bactérias entomopatogênicas tem se mostrado como uma importante ferramenta no manejo de vetores (LACEY, 2007; LACEY et al., 2015). As experiências práticas em campo têm permitido perceber o importante potencial que esses organismos têm desempenhado na redução das densidades de anofelinos na Amazônia (TADEI et al., 2007; TADEI et al., 2017).

Os dados obtidos neste trabalho estão de acordo com os achados de Alves et al. (2006) em *Culex* spp.; e com *Anopheles* sp. por Rodrigues et al. (2008); Rodrigues et al. (2013); Ferreira et al. (2015); Fontoura et al. (2019) que demonstraram a efetividade *Leishmania* contra larvas de mosquitos, em especial dos vetores de malária.

Os ILHHs obtidos por Rodrigues et al. (2013) em criadouros naturais foram mais elevados do que o obtido em leituras prévia nos criadouros naturais do Caldeirão do Inferno, mas foram semelhantes após a aplicação do biolarvicida. Em tanques de piscicultura Rodrigues et al. (2008) registraram ILHH prévio de 13,7, portanto, inferior aos tanques no Sítio Domingas, e redução pós-tratamento em níveis (0,6) semelhante ao alcançado nos ensaios dessa localidade. E Fontoura et al. (2019) conseguiram 100% de redução da densidade larval em tanques de piscicultura com Vectolex®CG (20kg/ha). As variações nos índices e densidades ocorreram provavelmente pelas particularidades existentes em cada ambiente e pelo desempenho das espécies de mosquitos.

O IPHH atingido em ambas as localidades foram variáveis, tais quais os registrados por Póvoa et al. (2009) em Juruti, Pará. Embora o ILHH tenha reduzido significativamente

após as aplicações, o mesmo não aconteceu com relação ao IPHH. Este fato pode estar relacionado a outros criadouros naturais disponíveis no entorno de Caldeirão do Inferno, assim como os artificiais (outras fazendas de piscicultura) que estão localizadas próximas ao Sítio Domingas, os quais não participaram o estudo. Esses dados sinalizam a importância de expandir as ações ao máximo de criadouros possíveis para reduzir a sua produtividade, além de combinar medidas de controle e prevenção de picadas dos adultos, conforme recomenda o Manejo Integrado de Vetores (BEIER et al., 2008).

Considerando as características socioeconômicas do Estado de Rondônia baseados na agropecuária, aquicultura, geração de energia elétrica e extrativismo (mineral e vegetal), atividades as quais exercem impactos que aumentam a transmissão da malária, o uso de bactérias entomopatogênicas pode colaborar na redução da produção de vetores e, conseqüentemente, nos casos da doença.

4. CONCLUSÃO

O uso de biolarvicidas à base de Ls é uma alternativa viável no Manejo Integrado de Vetores de malária na Amazônia, tanto para criadouros em condições naturais (igarapés), quanto para criadouros artificiais, como os tanques de piscicultura, pois reduz as densidades larvárias nesses ambientes.

5. AGRADECIMENTOS

O autor agradece às empresas Oikos Consultoria e Projetos e Jequitibá Consultoria, Projetos e Serviços pelo suporte em campo nas coletas e aplicações de produtos biológicos. Também é grato aos proprietários dos sítios, que preferiram o anonimato, e que disponibilizaram os acessos aos ambientes para a realização do estudo.

6. REFERÊNCIAS

AHAME, I.; YOKOTA, A.; YAMAZOE, A.; FUJIWARA, T. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp, and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformes* com. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 1117-1125, 2007.

ALVES, L.F.A.; ALVES, S.B.; LOPES, J.; LOPES, R.B. Avaliação de estirpes e de uma nova formulação granulada de *Bacillus sphaericus* Neide para o controle de mosquitos. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 493–499, 2006.

AYRES, M.; AYRES-JÚNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-Médicas**. 1ª ed, Produção coletiva, 2007.

BEIER, J.; KEATING, J.; GITHURE, J.I.; MACDONALD, M.B.; IMPOINVIL, D.E.; NOVAK, R. Integrated vector management for malaria control. **Malaria Journal**, v. 7, n. sup.1, p. 1-10, 2008.

CHARLES, J.F.; NIELSEN-LEROUX, C.; DELÉCLUSE, A. *Bacillus sphaericus* toxins: molecular biology and mode of action. **Annual Review Entomology**, v. 41, n. 1, p. 451-472, 1996.

CONSOLI, R.A.G.B.; OLIVEIRA, R.L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Fiocruz, 1994.

FERREIRA, F.A.S.; ARCOS, A.N.; SAMPAIO, R.T.M.; RODRIGUES, I.B.; TADEI, W.P. Effect of *Bacillus sphaericus* Neide of *Anopheles* (Diptera: Culicidae) and associated insect fauna in fishponds in the Amazon. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, n. 1, p. 234-239, 2015.

FLOORE, T. Mosquito larval control practices: past and presente. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n. 3, p. 527-533, 2006.

FONTOURA, O.S.; COSTA, A.S.; RIBEIRO, F.S.; FERREIRA, M.S.; CASTRO, M.; FERREIRA, U.M. Field efficacy of vectomax fg and vectolex cg biological larvicides for malaria vector control in Northwestern Brasil. **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 3, p. 942-946, 2020.

HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: FEALQ, 1998.

LACEY, L.A. *Bacillus thuringiensis* serovariety israelensis and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 23 n. sup.2, p. 133-163, 2007.

LACEY, L.A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D.I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M.S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, n. 1, p. 1-41. 2015.

KELLEN, W.R.; CLARK, T.B.; LINDERGREN, J.E.; HO, B.; ROGOFF, M.H.; SINGER, S. *Bacillus sphaericus* Neide as a Pathogen of Mosquitoes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 7, n. 1, p. 442-448, 1965.

PÓVOA, M.M.; SUCUPIRA, I.M.C.; VIANA, G.M.R.; LACERDA, R.N.L.; SOUZA, R.T.L.; ROSA, E.P.R.; et al. Risco de transmissão de malária humana em área de implantação de projeto de prospecção mineral, município de Juruti, Estado do Pará. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 2, p. 93-102; 2009.

RODRIGUES, I.B.; TADEI, W.P.; SANTOS, R.L.C.; SANTOS, S.; BAGGIO, J.B. Controle da Malária: eficácia dos formulados de *Bacillus sphaericus* 2362 contra larvas de espécies de *Anopheles* em criadouros artificiais-tranques de piscicultura e criadouros de olaria. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, n. 2, p. 161-176, 2008.

RODRIGUES, I.B.; TADEI, W.P.; DIAS, J.M.C.S.; LIMA, C.A.P. Atividade Larvicida de *Bacillus sphaericus* 2362 contra *Anopheles* sp. (Diptera, Culicidae) em rios do Amazonas, Brasil. **BioAssay**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2013.

ROH, J.Y.; CHOI, J.Y.; LI, M.S.; JIN, B.R. JE, Y.H. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 547-559, 2007.

TADEI, W.P.; RODRIGUES, I.B.; SANTOS, J.M.M.; RAFAEL, M.S.; PASSOS, R.A.; COSTA, F.M.; et al. O papel da entomologia no controle da malária. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. sup.2, p. 22-26, 2007.

TADEI, W.P.; RODRIGUES, I.B.; RAFAEL, M.S.; SAMPAIO, R.T.M.; MESQUITA, H.G.; PINHEIRO, V.C.S.; et al. Adaptative processes, controle measures, genetic background, and resilience of malaria vectors and environmental changes in the Amazon region. **Hydrobiologia**, v. 789, n. 1, p. 179-196, 2017.

***Ocimum gratissimum* L. NA PERSPECTIVA DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA: UMA REVISÃO**

Júlio César Silva¹, Thais Pereira Lopes¹, Daniely Sampaio Arruda Tavares², Carla Mikevely de Sena Bastos³, Marina Leite Linhares⁴, George Joaquim Garcia Santos¹ e Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues¹

1. Universidade Regional do Cariri (URCA), Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais e diversidade biológica, Crato, Ceará Brasil;
2. Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Fortaleza, Ceará, Brasil;
3. Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brasil;
4. Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

RESUMO

No mundo todo, as plantas medicinais são o principal tipo de medicamento usado pela população, principalmente em países de clima tropical e emergentes. O manuseio dos recursos de origem vegetal para tratamento de doenças acompanha as civilizações desde o momento em que o homem despertou para consciência de que a natureza poderia ser manuseada conforme seus interesses. *Ocimum gratissimum* L., popularmente conhecida como alfavaca, faz parte da família Lamiaceae e do gênero *Ocimum*. O presente trabalho busca levantar informações a respeito da propriedade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L., dentro da perspectiva de utilização das plantas medicinais. Artigos foram selecionados obedecendo-se critérios de exclusão determinados e prezando-se pelas plataformas Scopus e Periódicos Capes. 156 artigos foram selecionados para fundamentação desta revisão. Após a filtragem, por meio dos critérios de exclusão, 72 artigos restaram e foram utilizados para embasamento teórico e apresentação dos dados da atividade antibacteriana. Evidencia-se por meio dos dados levantados que a espécie em questão apresenta considerável atividade antibacteriana. Estes dados incentivam a continuidade de estudos comparativos, testando-se a eficácia terapêutica dos produtos obtidos a partir da alfavaca, suas propriedades e também se estes são capazes de oferecer algum grau de toxicidade quando administrados.

Palavras-chave: *Ocimum gratissimum* L., Atividade antibacteriana e Plantas medicinais.

ABSTRACT

Worldwide, medicinal plants are the main type of medicine used by the population, especially in countries with tropical weather and emerging. The handling of plant-based resources for the treatment of diseases follow civilizations from the moment that man awoke to the awareness that nature could be handled according to his interests. *Ocimum gratissimum* L., popularly known as alfavaca, is part of the Lamiaceae family and the genus *Ocimum*. The

present work seeks to raise information about the antibacterial property of *Ocimum gratissimum* L., from the perspective of using medicinal plants. Articles were selected in accordance with certain exclusion criteria and valued by Scopus and Periódicos Capes platforms. 156 articles were selected to support this review. After filtering, through the exclusion criteria, 72 articles remained and were used for theoretical support and presentation of data on the antibacterial activity. It is evident from the data collected that the species in question has considerable antibacterial activity. These data encourage the continuity of comparative studies, testing the therapeutic efficacy of the products obtained from the alfavaca, their properties, and also if they are capable of offering some degree of toxicity when administered.

Keywords: *Ocimum gratissimum* L., Antibacterial activity and Medicinal plants.

1. INTRODUÇÃO

O manuseio dos recursos de origem vegetal para tratamento de doenças acompanha as civilizações desde o momento em que o homem despertou para consciência de que a natureza poderia ser manuseada conforme seus interesses (GADELHA et al., 2013). Na medida em que os povos compreenderam sua função nas estratégias de sobrevivência e habilidade para suprimento de suas necessidades, por intermédio dos recursos naturais, papéis sociais específicos foram criados dentro das comunidades, entre eles os curandeiros, que introduziram junto às mulheres das tribos a prática de extração de ativos de plantas para cura de doenças (FRANÇA et al., 2007).

Uma planta medicinal pode ser definida como toda e qualquer espécie vegetal que, relacionada a uma tradição e comunidade, possui a propriedade de oferecer tratamento, prevenção e cura das doenças (ANVISA, 2020). Essa definição não pode ser dissociada da relação de convívio do homem com o ambiente, que originou o senso observativo para apropriação dos benefícios disponibilizados pela natureza (CASTRO et al., 2009).

Nos últimos anos, muitas indústrias farmacológicas têm recorrido aos insumos vegetais para compor os seus medicamentos, buscando principalmente beneficiar uma vasta parcela da população e reduzir os custos vinculados à fabricação de produtos sintéticos (SILVA et al., 2010). As plantas medicinais se destacam, nesse sentido, pelo seu significado como recurso biológico e por seu potencial genético, sendo assim uma alternativa na assistência em saúde (OLIVEIRA et al., 2006).

Um fator relevante para uso das plantas medicinais nacionalmente está associado à diversidade brasileira, que devido a sua riqueza tem incentivado espontaneamente o desenvolvimento de pesquisas de fitofármacos, de ampla relevância em um cenário científico

global (GADELHA et al., 2013). No mundo, estima-se que cerca de 25% dos atuais medicamentos disponíveis no mercado sejam originados diretamente de princípios vegetais (WHO, 2011).

Os fatores descritos corroboram com as práticas associadas à medicina tradicional, com o seu desenvolvimento e influência nos hábitos humanos, fomentando modelos alternativos pautados na dinâmica e compreensão cultural vinculada as muitas interações da espécie humana com os recursos naturais (PAZ et al., 2015).

Ocimum gratissimum L. tem sua utilização associada às doenças do trato respiratório (PEREIRA et al., 2004). As literaturas acadêmicas descrevem para essa espécie atividades antioxidantes, anestésicas, analgésicas dentárias, anticonvulsivantes, antibacteriana e antifúngica (SARTORATO et al., 2004). Assim, o presente trabalho busca levantar informações a respeito da propriedade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L., dentro da perspectiva de utilização das plantas medicinais culturalmente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

2.1.1 Estratégia de pesquisa de literatura

O nome da planta foi verificado nos sites www.theplantlist.org (The Plant List, 2013) e no www.ipni.org (International Plant Name Index). Foi considerada a nomenclatura *Ocimum gratissimum* L., aceita com três níveis de confiança. Para coleta de dados foi realizada uma pesquisa detalhada de artigos científicos prezando-se pela base de dados Scopus e Periódicos Capes. Os descritores selecionados para busca foram: metabólitos secundários; plantas medicinais; bioprospecção ou bioprospecção molecular; *Ocimum gratissimum* L.; *Ocimum gratissimum* L. e atividade antibacteriana. Foram revisados estudos publicados entre 2000 a junho de 2020. Artigos em texto completo foram selecionados se o título, o resumo ou as palavras-chave incluíssem os descritores acima citados.

2.1.2 Critérios de exclusão e inclusão

Foram excluídos da revisão todos os trabalhos: [1] não classificados como estudos originais do tipo: cartas ao editor, prefácios, comentários, editoriais, teses e dissertações); [2] repetidos; [3] relatos de casos.

Os artigos foram selecionados com base em seu título, resumo e palavras-chave. Por fim, artigos completos foram analisados seguindo o critério [1] atividade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L. As informações gerais (plantas medicinais, metabólitos secundários, pesquisas bioprospectivas) atribuídas à temática foram apresentadas através de tópicos, que compuseram a fundamentação teórica desta produção.

Após as buscas nas bases de dados foram contabilizados o número de 156 trabalhos. Ao final de todas as etapas de seleção, por meio dos critérios de exclusão estabelecidos, foram selecionados 72 artigos (incluindo os artigos usados nos aspectos gerais e da atividade antibacteriana), os quais tiveram sua análise feita para extração de dados e interpretação de seus resultados. As informações e os dados analisados são discutidos nas seções abaixo.

2.2 PLANTAS MEDICINAIS

2.2.1 Aspectos gerais

Silva e colaboradores (2010) associam o uso de plantas medicinais às civilizações pré-históricas, uma vez que os homens primitivos ingeriram plantas para satisfazer suas necessidades nutricionais, pela indisponibilidade de caça para captura, conseguindo distinguir o que possuía efeito terapêutico, tóxico, alucinógeno ou ainda alimentício.

O papel atribuído aos indígenas nessa relação é inegável, tendo em vista a intuição originada a partir desses povos, que norteou a disseminação de saberes a partir do entendimento de que as plantas poderiam fornecer artifícios essenciais para cura e alívio (PAZ et al., 2015). Por outro lado, a herança cultural e religiosa das matrizes africanas é preponderante ainda hoje, como consequência da disseminação de práticas que remontam o período colonial (MOTA; TRAD, 2011).

A institucionalização do Sistema Único de Saúde (SUS), por meio da promulgação da Constituição de 1988, inseriu as primeiras transformações que serviram como passo inicial

para implementação de práticas complementares nos serviços de assistência em saúde no Brasil (IBIAPINA et al., 2014). A fitoterapia, por sua vez, tem favorecido maior conexão da população com fatores históricos, assim como o resgate de sua cultura e costumes tradicionais (MATTOS et al., 2018).

No mundo todo, as plantas medicinais são o principal tipo de medicamento usado pela população, principalmente em países de clima tropical e emergentes (CARDOSO; OLIVEIRA; CARDOSO, 2019). A utilização de plantas medicinais nos últimos anos é perceptível na fitoterapia, em virtude da intensificação de pesquisas bioprospectivas, que identificaram compostos ativos em muitos produtos de origem natural (CUNHA et al., 2016).

2.2.2 Bioprospecção de produtos vegetais

O Brasil é o único país do mundo que possui seu nome originado de uma espécie de planta, comprovando que historicamente os produtos vegetais sempre tiveram um papel de destaque para economia do país (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010). O uso dos recursos naturais pelo homem não é um evento recente, a natureza sempre foi utilizada como detentora de recursos para usos medicamentosos, alimentício, suplementar, cosméticos e inseticidas (BERLINCK, 2012).

Define-se como bioprospecção o conjunto de práticas explorativas destinadas a extração de valores da biodiversidade, incluindo a busca sistemática de genes, enzimas, compostos e processos que possam gerar valor econômico ou o desenvolvimento de um produto (JUNIOR, 2011). Para Berlinck (2012), a bioprospecção é algo inerente à cultura brasileira, visto que os indígenas já faziam uso de plantas em seus costumes, além de usá-las também para construção de moradia e de canoas.

Estima-se que 15-25% de todas as espécies vegetais estão dispersas nos biomas brasileiros e que estas tenham sido estudadas sob os aspectos químicos, biológicos e farmacológicos (JOLY et al., 2011). Existe atualmente uma infinidade de metodologias destinadas à síntese e descoberta de novos fármacos e ao longo dos anos as moléculas foram avaliadas e modificadas com o propósito de induzirem respostas específicas (JUNIOR, 2011).

As espécies vegetais de interesse clínico podem ser analisadas seguindo duas vias: a investigação para isolamento de produtos químicos sintéticos para fabricação de fármacos e o uso de suas partes para fabricação de extratos padronizados, visando à avaliação de suas atividades biológicas (ZUANAZZI; MAYORGA, 2010).

Segundo Silva, Miranda e Conceição (2010), muitas espécies vegetais carecem de estudos relacionados aos seus constituintes químicos. Sob a lógica desses pesquisadores, a fitoquímica apresenta-se como metodologia relevante para o conhecimento das substâncias bioativas presentes nos produtos naturais, fomentando a necessidade de estudos pautados nessa abordagem. Os estudos bioprospectivos voltados para análise química de plantas medicinais, por sua vez, têm como objetivo principal a identificação dos compostos obtidos de extratos vegetais, originados de estruturas distintas, tais como: raízes, caule, galhos, folhas, sementes, flores e inflorescências (FILHO; CASTRO, 2019).

No Brasil, os estudos envolvendo a bioprospecção molecular de plantas medicinais ganhou respaldo pela acessibilidade com que esses recursos são encontrados, por sua baixa toxicidade quando comparado com os medicamentos industrializados e como alternativa promissora ao encarecimento e inacessibilidade de muitos medicamentos comercializados atualmente (ZENI; BOSIO, 2011).

2.2.3 Metabólitos secundários de plantas medicinais

O investimento em pesquisas que envolvem os produtos naturais e suas bioatividades tem aumentado nas últimas décadas. Os constituintes ativos existentes na composição destes produtos além de se apresentar como ferramenta para produção de derivados medicamentosos tem demonstrado baixa toxicidade, menores custos e discretos efeitos adversos, sendo em sua grande maioria mais acessíveis (NEWMAN; GRAGG, 2012).

A bioatividade descrita acima é garantida através dos metabólitos secundários, moléculas existentes nos produtos naturais, associadas a processos adaptativos, sem possuir relação com o metabolismo associado ao crescimento ou desenvolvimento (DASH et al., 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012). Em concordância com o afirmado por Fumagali e colaboradores (2008), apesar do pleno desenvolvimento da química sintética, a maioria dos metabólitos disponíveis no mercado foram originados do cultivo de plantas medicinais.

Nesse sentido, muitas técnicas foram desenvolvidas nos últimos anos para identificar os metabólitos secundários advindos de espécies vegetais, tanto por sua bioatividade e principalmente pelo retorno econômico que estes oferecem para o ramo farmacológico (SOBRINHO et al., 2011). Metodologias prospectivas demonstraram que muitas espécies de uso popular possuem metabolismo ativo, o que lhe confere propriedades antibacterianas, anti-helmínticas, antifúngica, antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (CHIN et al., 2006; MURAINA; PICARD; ELOFF, 2009).

Testes de bioprospecção molecular, como a fitoquímica, além de acessíveis apresentam excelente custo-benefício, propiciando a identificação dos principais grupos de metabólitos, incluindo flavonóides, alcalóides, taninos, cumarínicos, glicosídeos e cardiotônicos, altamente benéficos para tratamento de muitas complicações de importância clínica (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010).

2.3 *Ocimum gratissimum* L.

2.3.1 Generalidades

Nas últimas décadas, estudos foram realizados na tentativa de se encontrar bioativos capazes de tratar as doenças e amenizar os seus sintomas, sendo as plantas de uso popular as fontes mais usadas para essa finalidade (SILVA et al., 2010). A atividade biológica dos produtos vegetais é uma característica comum a mais de 50 famílias catalogadas, como a Asteraceae e Lamiaceae, largamente conhecidas pelo seu valor industrial e medicinal (VIGAN, 2010).

Ocimum gratissimum L., popularmente conhecida como alfavaca, faz parte da família Lamiaceae e do gênero *Ocimum* (PEREIRA; MAIA, 2007). A princípio, a família Lamiaceae é constituída de plantas arbóreas e também arbustivas, contendo cerca de 258 gêneros e 7193 espécies catalogadas, de origem cosmopolita e originadas das porções subtropicais ou montanhosas do Oriente Médio (HARLEY, 2012; TRINDADE et al., 2016). Blank e colaboradores (2010) apontam que o gênero *Ocimum* compreende um total de 3200 espécies nativas do sudeste asiático e da África Central, altamente adaptáveis ao solo brasileiro.

A alta distribuição e adaptabilidade da alfavaca nacionalmente se dar por sua capacidade de ajustar características fisiológicas, ultraestruturais e anatômicas às variações ambientais e a alternância de luminosidade (FERNANDES et al., 2014). Existe ainda uma grande variação na morfologia da espécie associada à interferência antrópica no cultivo e a processos de seleção ou hibridação de gênero (LABRA et al., 2004).

A alfavaca é um subarbusto aromático de até 1 metro de altura, de folhas ovaladolaceoladas ricas em compostos químicos, flores pequenas de aspecto roxo e tom pálido e de frutos em formato de cápsulas (LORENZI; MATOS, 2000). Borges e colaboradores (2012) distinguiram a presença de eugenol de maneira preponderante (87,38%) e do timol (6,27%) em folhas frescas coletadas desta espécie.

2.3.2 Atividade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L.

Os resultados para atividade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L. foram descritos na tabela 1. Nesta foi apresentado um resumo do levantamento dos dados obtidos na pesquisa, levando em consideração o ano dos artigos, o título vinculado ao objeto de estudo, o método empregado para análise, as cepas testadas e inibidas e o tipo de produto (extrato, óleo essencial) utilizado nos testes apresentados por cada autor revisado.

Tabela 1. Atividade antibacteriana de *Ocimum gratissimum* L., de acordo com a literatura de 2000 a 2020.

| Autor | Título Do Artigo | Método Empregado | Cepa Testada | Produto |
|--------------------------|---|------------------|--|----------------|
| ORAFIDIYA et al., 2001 | The formulation of an effective topical antibacterial product containing <i>Ocimum gratissimum</i> leaf essential oil. | Difusão em ágar | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Óleo Essencial |
| NGASSOUM et al., 2003 | Antimicrobial study of essential oils of <i>Ocimum gratissimum</i> leaves and <i>Zanthoxylum xanthoxyloides</i> fruits from Cameroon. | Difusão de disco | <i>B. cereus</i> ; <i>B. subtilis</i> <i>C. glutamicum</i> ; <i>S. aureus</i> ; <i>S. faecalis</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>E. faecalis</i> | Óleo Essencial |
| ACOSTA et al., 2003 | Composición química de los aceites esenciales de <i>Ocimum basilicum</i> L. var <i>basilicum</i> , <i>O. basilicum</i> L. var <i>purpurensceus</i> , <i>O. gratissimum</i> L., y <i>O. tenuiflorum</i> L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. | Difusão em ágar | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Óleo Essencial |
| ADEBOLU; OLADIMEJI, 2005 | Antimicrobial activity of leaf extracts of <i>Ocimum gratissimum</i> on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. | Difusão em ágar | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Salmonella typhi</i> ; <i>Salmonella typhimurium</i> , | Extrato |
| MBATA; SAIKIA, 2005 | Antibacterial activity of essential oil from <i>Ocimum gratissimum</i> on <i>Listeria monocytogenes</i> . | Difusão em ágar | <i>Listeria monocytogenes</i> sorotipo 4a | Óleo Essencial |

| | | | | |
|------------------------|--|--------------------------|--|--|
| JUNAID et al., 2006 | The antimicrobial properties of <i>Ocimum gratissimum</i> extracts on some selected bacterial gastrointestinal isolates. | Difusão em ágar | <i>Salmonella Typhimurium</i> ; <i>Escherichia. Coli</i> ; <i>Yersinia enterocolitica</i> ; <i>Bacillus cereus</i> ; <i>Aeromonas hydrophila</i> | Extratos de água fria da folha fresca e extrato hexânico |
| ORAFIDIYA et al., 2006 | The effect of honey and surfactant type on the antibacterial properties of the leaf essential oil of <i>Ocimum gratissimum</i> Linn. against common wound-infecting organisms. | Difusão em ágar | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Proteus vulgaris</i> | Óleo Essencial |
| FRANCO et al., 2007 | Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de <i>Aloysia gratissima</i> (gillies & hook) trunc. (alfazema), <i>Ocimum gratissimum</i> L. (alfavaca-cravo) e <i>Curcuma longa</i> L. (açafraão). | Difusão em ágar | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Salmonella choleraeseus</i> ; <i>Escherichia coli</i> | Óleos Essenciais |
| MATASYOH et al., 2007 | Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of <i>Ocimum gratissimum</i> L. growing in Eastern Kenya. | Disco difusão | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> | Óleo Essencial |
| ORAFIDIYA et al., 2007 | A study on the composition, autoxidation and antimicrobial activity of the leaf essential oil of <i>Ocimum gratissimum</i> Linn. against <i>Helicobacter pylori</i> and <i>Neisseria sicca</i> . | Difusão em disco de ágar | <i>Neisseria sicca</i> | Óleo Essencial |
| MATASYOH et al., 2008 | Antimicrobial activity of essential oils of <i>ocimum gratissimum</i> L. from different populations of Kenya. | Difusão em disco | <i>Staphylococcus aereus</i> ; <i>Bacillus spp</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; | Óleo Essencial |

| | | | | |
|--------------------------------|--|--|--|---------------------------------|
| | | | <i>Samonella typhi</i> ; <i>Klebisiella pneumonia</i> ; <i>Proteus mirabilis</i> | |
| AHONKHAI et al., 2009 | Antimicrobial activities of the volatile oils of <i>Ocimum bacilicum</i> L. and <i>Ocimum gratissimum</i> L. (<i>Lamiaceae</i>) against some aerobic dental isolates. | Difusão e diluição em ágar | <i>Strept. viridans</i> ; <i>K. pneumonia</i> | Óleo Essencial |
| OBOH; MASODJE; ENABULELE, 2009 | Nutritional and antimicrobial properties of <i>Ocimum gratissimum</i> leaves. | Difusão em disco | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> | Extrato Aquoso |
| PASSOS; CARVALHO; WIEST, 2009 | Inibição e inativação in vitro de diferentes métodos de extração de <i>Ocimum gratissimum</i> L. ("alfavacão", "alfavaca", "alfavaca-cravo") - <i>Labiatae</i> (<i>Lamiaceae</i>), frente a bactérias de interesse em alimentos. | Diluição em sistema de tubos múltiplos | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella enteritidis</i> | Extrato |
| FERREIRA et al., 2010 | Atividade antibacteriana <i>in vitro</i> de <i>Croton campestris</i> A., <i>Ocimum gratissimum</i> L. e <i>Cordia verbenacea</i> DC. | Microdiluição | <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> | Extrato metanólicos e hexânicos |
| OSUAGWU; EDEOGA, 2010 | Effect of fertilizer treatment on the antimicrobial activity of the leaves of <i>Ocimum gratissimum</i> (L.) and <i>Gongronema latifolium</i> (Benth). | Difusão | <i>Klebisiella pneumonia</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Salmonella typhi</i> ; <i>Streptococcus faecalis</i> | Extrato Etanólico |
| SILVA et al., 2010 | Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em <i>Artemia salina</i> do óleo essencial das inflorescências de <i>Ocimum gratissimum</i> L., <i>Lamiaceae</i> . | Microdiluição | <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> | Óleo Essencial |
| BRAGA et al., 2011 | Potentiation of in vitro antibiotic activity by <i>Ocimum gratissimum</i> L. | Microdiluição | <i>E. coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> | Extrato de metanol e hexano |

| | | | | |
|-------------------------------------|---|------------------|---|---------------------------------|
| GEROMINI et al., 2012 | Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. | Difusão em ágar | <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> | Óleo Essencial |
| KPOVIESSI et al., 2012 | Chemical variation of essential oil constituents of <i>Ocimum gratissimum</i> L. from benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against <i>Artemia salina</i> leach. | Microdiluição | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> | Óleo Essencial |
| MANN, 2012 | Phytochemical constituents and antimicrobial and grain protectant activities of <i>Clove basil</i> (<i>Ocimum gratissimum</i> L.) grown in Nigeria. | Diluição em ágar | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ; <i>Salmonella typhi</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Vibrio cholerae</i> | Extrato etanólico |
| AMENGIALUE; EDOBOR; EGHAREVBA, 2013 | Antibacterial activity of extracts of <i>Ocimum gratissimum</i> on bacteria associated with diarrhoea. | Difusão em ágar | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Shigella sp.</i> ; <i>Salmonella sp.</i> | Extrato de etanol e clorofórmio |
| JOSHI, 2013 | Chemical Composition, <i>in vitro</i> Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils of <i>Ocimum Gratissimum</i> , <i>O. Sanctum</i> and their major constituents. | Diluição em tubo | <i>E. coli</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>K. pneumoniae</i> | Óleo Essencial |
| STEFAN et al., 2013 | The composition and antibacterial activity of essential oils in three <i>Ocimum</i> species growing in Romania. | Difusão | <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> | Óleo Essencial |
| PEREIRA et al., 2014 | Estudo químico, toxicidade e atividade antibacteriana do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> . | Microdiluição | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas vulgaris</i> ; <i>P. aeruginosa</i> ; <i>E. coli</i> | Óleo Essencial |
| STANLEY et al., 2014 | The antibacterial activity of leaf extracts of <i>Ocimum gratissimum</i> and <i>Sida acuta</i> . | Difusão em disco | <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus faecalis</i> ; <i>Peudomonas aeuginosa</i> | Extrato etanólico e aquoso |

| | | | | |
|----------------------------|--|--|--|----------------------------|
| AGUIAR et al., 2015 | Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of <i>Ocimum gratissimum</i> L. and <i>Plectranthus amboinicus</i> L. | Microdiluição | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Óleo Essencial |
| EVWIERHURHOMA et al., 2015 | Antibacterial evaluation of aqueous and ethanol extracts of <i>Ocimum gratissimum</i> and <i>Carica papaya</i> . | Difusão em disco. | <i>E. coli</i> ; <i>P. aeruginosa</i> <i>S. typhi</i> ; <i>P. pyogenes</i> | Extrato aquoso e etanólico |
| OMODAMIRO; JIMOH, 2015 | Antioxidant and antibacterial activities of <i>Ocimum gratissimum</i> . | Difusão em disco | <i>Proteus mirabilis</i> ; <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Salmonella</i> . | Extrato etanólico |
| BONOU et al., 2016 | Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de <i>Ocimum gratissimum</i> , <i>Ocimum basilicum</i> , <i>Laurus nobilis</i> et <i>Melaleuca quinquenervia</i> . | Microdiluição | <i>Micrococcus luteus</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Proteus mirabilis</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Óleo Essencial |
| IGBINOSA; IDEMUDIA, 2016 | Anti-vibrio potentials of acetone and aqueous leaf extracts of <i>Ocimum gratissimum</i> (Linn). | Microdiluição | Cepas de <i>Vibrio</i> | Extrato aquoso |
| BANDEIRA JR. et al., 2017 | Potential uses of <i>Ocimum gratissimum</i> and <i>Hesperozygis ringens</i> essential oils in aquaculture. | Microdiluição | <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas veronii</i> , <i>Citrobacter freundii</i> e <i>Raoltella ornithinolytica</i> | Óleo Essencial |
| CHIMNOI et al., 2018 | Characterization of essential oil from <i>Ocimum gratissimum</i> leaves: antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. | Microdiluição | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Salmonella Typhimurium</i> ; <i>Shigella flexner</i> | Óleo Essencial |
| MELO et al., 2019 | Chemical composition and antimicrobial effectiveness of <i>Ocimum gratissimum</i> L. essential oil against multidrug-resistant isolates of <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Escherichia coli</i> . | Teste de difusão em disco de papel e método de microdiluição | <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Escherichia coli</i> | Óleo Essencial |

| | | | | |
|------------------------|---|---------------|--|----------------|
| SHARMA et al., 2020 | Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. | Microdiluição | <i>S. aureus</i> ; <i>M. luteus</i> ; <i>E. coli</i> ; <i>B. subtilis</i> ; <i>K. pneumoniae</i> | Óleo Essencial |
|------------------------|---|---------------|--|----------------|

Fonte: organização dos dados realizada pelo próprio autor, em conformidade com o apresentado pelos estudos/artigos revisados.

3. CONCLUSÃO

As plantas medicinais continuam sendo ferramentas importantes para terapêutica das doenças, tendo seu uso popular encorajado o desenvolvimento de pesquisas prospectivas, que se aperfeiçoaram e foram intensificados com o passar dos anos. Através de testes bioprospectivos, tornou-se possível conhecer bem mais sobre os efeitos bioativos das espécies vegetais, garantidos em sua maioria por meio de moléculas conhecidas como metabólitos secundários, comuns nas plantas medicinais.

Os resultados apresentados, por meio do levantamento de dados das literaturas, demonstram o potencial antibacteriano da alfavaca. Embora promissoras, estas informações devem incentivar a continuidade de estudos comparativos, capazes de oferecer a percepção da eficácia terapêutica dos produtos obtidos a partir de *Ocimum gratissimum* L. Além disso, pesquisas toxicológicas devem ser realizadas, de modo a evidenciar também possíveis reações tóxicas associadas à prática tradicional de seu uso.

4. REFERÊNCIAS

ACOSTA, M.; et al. Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurensceus*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. **Revista de la facultad de farmácia**, v. 45, n. 1, p. 19-24, 2003.

ADEBOLU, T. T.; OLADIMEJI, S. A. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. **African journal of biotechnology**, v. 4, n. 7, p. 682-684, 2005.

AGUIAR, J. J. S.; et al. Antibacterial and modifying-antibiotic activities of the essential oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Plectranthus amboinicus* L. **European journal of integrative medicine**, v. 7, n. 2, p. 151-156, 2015.

AHONKHAI, I.; et al. Antimicrobial activities of the volatile oils of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. (*Lamiaceae*) against some aerobic dental isolates. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 4, p. 405-409, 2009.

AMENGIALUE, O. O.; EDOBOR, O.; EGHAREVBA, A. P. Antibacterial activity of extracts of *Ocimum gratissimum* on bacteria associated with diarrhoea. **Bayero journal of pure and applied sciences**, v. 6, n. 2, p. 143-145, 2013.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Fitoterápicos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/fitoterapicos>>. Acessado em 29/07/2020.

BANDEIRA JR., G.; et al. Potential uses of *Ocimum gratissimum* and *Hesperozygis ringens* essential oils in aquaculture. **Industrial crops and products**, v. 97, p. 484-491, 2017.

BERLINCK, R. G. S. Bioprospecção no Brasil: um breve histórico. **Ciência e cultura**, v. 64, n. 3, p. 27-30, 2012.

BLANK, A. F.; et al. Comportamento fenotípico e genotípico de populações de manjeriço. **Horticultura brasileira**, v. 28, n. 3, p. 305-310, 2010.

BONOU, J.; et al. Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. **European scientific journal**, v. 12, n. 27, p. 1-15, 2016.

BORGES, A. M.; et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

BRAGA, L. K. A. Potentiation of in vitro antibiotic activity by *Ocimum gratissimum* L. **African journal of pharmacy and pharmacology**, v. 5, n. 19, p. 2145-2149, 2011.

CARDOSO, J. C.; OLIVEIRA, B. E. B. S.; CARDOSO, F. C. I. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura brasileira**, v. 37, n. 2, p. 124-132, 2019.

CASTRO, A. P.; et al. Os sistemas agroflorestais como alternativa de sustentabilidade em ecossistemas de várzea no Amazonas. **Acta Amazônia**, v. 39, n. 2, p. 279-288, 2009.

CHIMNOI, N.; et al. Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 118, p. 290–300, 2018.

CUNHA, A. L.; et al. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas jornal**, v. 1, n. 2, p. 175-181, 2016.

DASH, B.K.; et al. Antibacterial activities of methanol and acetone extracts of fenugreek (*Trigonella foenum*) and Coriander (*Coriandrum sativum*). **Life Sciences and Medicine Research**, v. 2011, n. 27, p. 1-8, 2011.

EVWIERHURHOMA, E. et al. Antibacterial evaluation of aqueous and ethanol extracts of *Ocimum gratissimum* and *Carica papaya*. **Annual research & review in biology**, v. 7, n. 1, p. 54-60, 2015.

FERNANDES, V. F.; et al. Anatomia e ultraestrutura foliar de *Ocimum gratissimum* sob diferentes níveis de radiação luminosa. **Ciência rural**, v. 44, n. 6, p. 1037-1042, 2014.

- FERREIRA, F. S.; et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010.
- FILHO, A. C. P. M.; CASTRO, C. F. S. identificação das classes de metabólitos secundários em extratos etanólicos foliares de *Campomanesia adamantium*, *Dimorphandra mollis*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Kielmeyera lathrophytum* e *Solanum lycocarpum*. **Estação Científica UNIFAP**, v. 9, n. 1, p. 89-101, 2019.
- FRANÇA, I. S. X.; et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.
- FRANCO, A. L. P.; et al. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) tronc. (alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafrão). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 208-220, 2007.
- FUMAGALI, E.; et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627-641, 2008.
- GADELHA, C. S.; et al. Estudo bibliográfico do uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 208-212, 2013.
- GEROMINI, K. V. N. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia.**, v. 15, n. 2, p. 127-131, 2012.
- HAYLEY, C. A. M. Checklist and key of genera and species of the Lamiaceae of the Brazilian Amazon. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 129-144, 2012.
- IBIAPINA, W. V.; et al. Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS. **Ciência Saúde Nova Esperança**, v. 12, n. 1, p. 58-68, 2014.
- IGBINOSA, E. O.; IDEMUDIA, O. G. Anti-vibrio potentials of acetone and aqueous leaf extracts of *Ocimum gratissimum* (Linn). **Tropical journal of pharmaceutical research**, v. 15, n. 4, p. 743-750, 2016.
- JOLY, C. A. et al. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista USP, São Paulo**, v. 1, n. 89, p. 114-133. 2011.
- JOSHI, R. K. Chemical composition, *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Ocimum Gratissimum*, *O. Sanctum* and their major constituents. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.75, n. 4, p. 457–462, 2013.
- JUNAID, S. A.; et al. The antimicrobial properties of *Ocimum gratissimum* extracts on some selected bacterial gastrointestinal isolates. **African journal of biotechnology**, v. 5, n. 22, p. 2315-2321, 2006.
- JUNIOR, N. L. S. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Ambiente e sociedade**, v. 14, n. 1, p. 229-244, 2011.
- KPOVIESSI, B. G. H.; et al. Chemical variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. from benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against *Artemia salina* leach. **Chemistry and biodiversity**, v. 9, n. 1, p. 139-150, 2012.

- LABRA, M. Morfological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. **Plant Science**, v. 167, p. 725-731, 2004.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, 2002.
- MANN, A. Phytochemical constituents and antimicrobial and grain protectant activities of Clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) grown in Nigeria. **International Journal of Plant Research**, v. 2, n. 1, p. 51-58, 2012.
- MATASYOH, L. G.; et al. Antimicrobial activity of essential oils of *Ocimum gratissimum* L. from different populations of Kenya. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 5, n. 2, p. 187-193, 2008.
- MATASYOH, L. G.; et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 6, p. 760-765, 2007.
- MATTOS, G.; et al. Plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária em saúde: percepção dos profissionais. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 23, n. 11, p. 3735-3744, 2018.
- MBATA, T. I.; SAIKIA, A. Antibacterial activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* on *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Safety**, v. 5, n. 7, p. 15-19, 2005.
- MELO, R. S. et al. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Molecules**, v. 24, n. 21, p. 1-17, 2019.
- MOTA, C. S.; TRAD, L. A. B. A gente vive pra cuidar da população: estratégias de cuidado e sentidos para a saúde, doença e cura em terreiros de candomblé. **Saúde e Sociedade**, v. 20, n. 2, p. 325-337, 2011.
- MURAINA, I. A.; PICARD, J.; ELOFF, J. N. Development of a reproducible method to determine minimum inhibitory concentration (MIC) of plant extract against a slow-growing mycoplasmas organismo. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2, p. 262-264, 2009.
- NGASSOUM, M. B.; et al. Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. **Fitoterapia**, v. 74, n. 3, p. 284-287, 2003.
- NEWMAN, D. J.; GRAGG, G. M. Produtos naturais como fontes de novas drogas de 1981 a 2014. **Journal of natural products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.
- OBOH, F. O. J.; MASODJE, H. I.; ENABULELE, S. A. Nutritional and antimicrobial properties of *Ocimum gratissimum* leaves. **Journal of biological sciences**, v. 9, n. 4, p. 377-380, 2009.
- OLIVEIRA, M. J. R.; et al. Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 8, n. 2, p. 39-41, 2006.
- OMODAMIRO, O. D.; JIMOH, M. A. Antioxidant and antibacterial activities of *Ocimum gratissimum*. **American journal of phytomedicine and clinical therapeutics**, v. 3, n. 01, p. 10-19, 2015.

ORAFIDIYA, L. O.; et al. A study on the composition, autoxidation and antimicrobial activity of the leaf essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. against *Helicobacter pylori* and *Neisseria sicca*. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 1, n. 3, p. 103-109, 2007.

ORAFIDIYA, L. O.; et al. The effect of honey and surfactant type on the antibacterial properties of the leaf essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. against common wound-infecting organisms. **The international Journal of Aromatherapy**, v. 16, n. 2, p. 57–62, 2006.

ORAFIDIYA, L. O.; et al. The formulation of an effective topical antibacterial product containing *Ocimum gratissimum* leaf essential oil. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, n. 1-2, p. 177–183, 2001.

OSUAGWU, G. G. E.; EDEOGA, H. O. Effect of fertilizer treatment on the antimicrobial activity of the leaves of *Ocimum gratissimum* (L.) and *Gongronema latifolium* (Benth). **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 52, p. 8918-8922, 2010.

PASSOS, M. G.; CARVALHO, H.; WIEST, J. M. Inibição e inativação *in vitro* de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. ("alfavacão", "alfavaca", "alfavaca-cravo") - Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 1, p. 71-78, 2009.

PAZ, C. E.; et al. Plantas medicinais no candomblé como elemento de resistência cultural e cuidado à saúde. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**, v. 20, n. 1, p. 25-37, 2015.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v.3, n.4, p. 146-52, 2012.

PEREIRA, R. S.; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 2, p. 326-328, 2004.

PEREIRA, V. S.; et al. Estudo químico, toxicidade e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, p. 1-5, 2014.

SARTORATO, A.; et al. Composição e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas aromáticas utilizadas no Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SHARMA, K.; et al. Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 1-14, 2020.

SILVA, L. L.; et al. Composição química, atividade antibacteriana *in vitro* e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 700-705, 2010.

SILVA, M. A. et al. Levantamento das Plantas Espontâneas e suas Potencialidades Fitoterapêuticas: Um Estudo no Complexo Aluizio Campos-Campina Grande – PB. **Revista Brasileira de Informação Científica**, v. 1, n. 1, p. 52-66, 2010.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem fitoquímica de plantas do Cerrado, da área de proteção ambiental municipal de Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia Plena**, v. 6, n. 3, p. 1-17, 2010.

SOBRINHO, A. L.; et al. Phenolic content and antioxidant capacity of our *Cnidoscolus* species (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 20, p. 2310-2316, 2011.

STANLEY, M. C.; et al. The antibacterial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* and *Sida acuta*. **IOSR - Journal of Dental and Medical Sciences**, v. 13, n. 6, p. 80-85, 2014.

STEFAN, M. et al. The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. **Central European Journal of Biology**, v. 8, n. 6, p. 600-608, 2013.

TRINDADE, E. L.; et al. Levantamento de dados das Plantas medicinais recorrentes no estado de Mato Grosso presentes no herbário UFMT Campus de Cuiabá-MT. **Biodiversidade**, v. 15, n. 2, p. 183-190, 2016.

VIGAN, V. Essential oils: renewal of interest and toxicity. **European Journal of Dermatology**, v. 20, n. 6, p. 685-692, 2010.

WHO, WORLD HEALTHY ORGANIZATION. **Traditional medicines: global situation, issues and challenges**. Geneva, 2011.

ZENI, A. L. B.; BOSIO, F. O uso de plantas medicinais em uma comunidade rural de Mata Atlântica- Nova Rússia, SC. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 1, p. 55-63, 2011.

ZUANAZZI, J. A. S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1421-1428, 2010.

OBTENÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PARA A INDÚSTRIA QUÍMICO-FARMACÊUTICA – IMPORTÂNCIA DA ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL

Carromberth Carioca Fernandes¹ e Leonardo Gomes de Vasconcelos²

1. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação, Bionorte - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Rio Branco, Acre, Brasil;
2. Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

RESUMO

Os grandes biomas do Brasil são verdadeiramente ricos, tanto o continental quanto o marinho, ocupando uma vasta área territorial. Os seringueiros utilizam plantas ao combate de doenças, por exemplo, Baba-de-paca (*Adiantum latifólio* Lam.) para estancar sangue, assim, se faz necessário o isolamento de substâncias para comprovar as atividades biológicas. Demonstra-se de forma sucinta, sugestões das técnicas necessárias para o desenvolvimento das análises, sendo: cromatografia líquida; cromatografia gasosa; cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscópicas ao processo elucidativo: ultravioleta; infravermelho; ressonância magnética nuclear de carbono (C^{13}) e hidrogênio (H^1) e de massa e as técnicas chamadas hífenizadas: cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massa (CG-MS), cromatografia de interface, acoplado diretamente ao RMN (LC-NMR). O composto isolado, sólido amorfo castanho solúvel em $CHCl_3$, dando teste positivo para alcalóide. Tratado com solução de cloreto férrico, indicando a presença de hidroxila fenólica, ponto de fusão [p.f. = 186.0-188.0 °C]. Utilizou-se a espectroscopia de RMN, IV e MS. O espectro de RMN C^{13} exibiu vinte e três linhas espectrais, mencionam-se algumas: em $\delta 46,50$ referente ao C-1' do grupo acetônio, carbono não-hidrogenado de carbonila em $\delta 207,60$ atribuído ao C-2' e os carbonos aromáticos, em $\delta 148,50$ e $\delta 147,50$, atribuídos ao C-2 e C-3 (anel **A**) ligados ao grupo metilenodióxido. Os sinais do espectro de RMN 1H e na região dos hidrogênios aromáticos, dois simpletos centrados em $\delta 7,10$ e $\delta 7,51$ (s, 1H), atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-4 (anel **A**). Teve sua estrutura elucidada e trata-se da substância 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine (na época, um novo composto).

Palavras-chave: Alcaloides, Elucidação-Estrutural e Bioativos.

ABSTRACT

The great biomes of Brazil are truly rich, both continental and marine, occupying a vast territorial area. The rubber tappers use plants to fight diseases, for example, Baba-de-paca (*Adiantum latifolio* Lam.) To stop blood, so it is necessary to isolate substances to prove biological activities. Suggestions of the necessary techniques for elucidating structures are

shown succinctly, being: liquid chromatography; gas chromatography; high performance liquid chromatography and spectroscopy to the elucidative process: ultraviolet; infra-red; nuclear magnetic resonance of carbon (C^{13}) and hydrogen (H^1) and mass and the so-called hyphenated techniques: gas chromatography coupled to mass spectrometer (GC-MS), interface chromatography, coupled directly to NMR (LC-NMR). The isolated compound, brown amorphous solid soluble in $CHCl_3$, giving positive test for alkaloid. treated with ferric chloride solution, indicating the presence of phenolic hydroxyl, melting point [m.p. = 186.0-188.0 °C]. NMR, IR and MS spectroscopy was used. The C^{13} NMR spectrum exhibits twenty-three spectral lines, a few are mentioned: at $\delta 46.50$ referring to the C-1 'of the acetyl group, non-hydrogenated carbonyl carbon at $\delta 207.60$ assigned to the C-2' and aromatic carbons, in $\delta 148.50$ and $\delta 147.50$, attributed to C-2 and C-3 (ring A) linked to the methylenedioxy group. The signals of the 1H NMR spectrum and in the region of aromatic hydrogens, two simple ones centered on $\delta 7.10$ and $\delta 7.51$ (s, 1H), attributed to hydrogens H-1 and H-4 (ring A). Its structure was elucidated and it is the substance 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine (at the time, a new compound).

Keywords: Alkaloids, Structural-Elucidation e Bioactive.

1. INTRODUÇÃO

1.1 ASPECTOS GERAIS

Os grandes biomas do Brasil são verdadeiramente ricos, tanto o continental quanto o marinho, ocupando uma vasta área territorial. Estão presentes nesse ecossistema, vegetal e animal, constituído por valorosa diversidade biológica com características próprias, sua fauna característica e de sua flora abundante, provavelmente, existindo espécies ainda não catalogadas e identificadas, com suas características peculiares, do norte ao sul do Brasil. Na Amazônia, as espécies florísticas, as de terra firme, várzea, de igapó das águas “morenas”, em decorrência da liberação de compostos fenólicos.

Sabemos que as plantas produzem metabolitos secundários a partir de várias interações, planta-planta; planta-insetos; planta-microrganismos dentre outras, além da existência de simbioses, com fungos endofíticos. As rotas metabólicas produzem substâncias, por exemplo, compostos fenólicos, terpenos e alcaloides.

O uso de plantas do conhecimento popular, citando os seringueiros que utilizam ao combate de doenças, por exemplo, Baba-de-paca (*Adiantum latifólio* Lam.) para estancar sangue, cipó-axixuache (*Salacia cf. juruana* Loes) para Reumatismo (SIVIERO, 2016). A partir do conhecimento tradicional, surge os interesses dos laboratórios químico-farmacêutico, com o intuito de se obter substâncias com interesses para as indústrias químico-farmacêutica, ou seja, como fonte promissora de bioativos que possam ser

utilizados nas formulações de medicamentos, cosméticos, aditivos nutracêuticos, bioinseticidas e outros.

2. MATERIAIS E MÉTODO

Demonstra-se de forma teórica, as técnicas espectroscópicas de IV, MS, RMN e experimentos bidimensionais (gHSQC, gHSQC e Dept-125) e análises físico-químicas, suficientes e fundamentais para a elucidação estrutural de uma substância nova ou já conhecida.

Para a demonstração da elucidação estrutural do sólido isolado das raízes de *Zanthoxylum riedelianum*, utiliza-se de dados da literatura concernente a substância isolada. Neste caso, se fez necessário a utilização de: espectros de Infravermelho, registrados em espectrofotômetro modelo FTIR-Bomem-MB / 100 usando filme de NaCl. Os espectros de NMR em CDCl₃, registrados no aparelho Bruker ARX-400 (400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C) e Bruker AC-200 (200 MHz para ¹H e 50 MHz para ¹³C), usando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os espectros de massa de ionização de elétrons (ESI-MS) foram realizados empregando um espectrômetro modelo Quatro LC-Micromass UK. As rotações ópticas foram determinadas em um polarímetro Perkin-Elmer 341.

Utiliza-se de dados da literatura concernente a substância isolada, demonstrando a importância dessa nova molécula, os interesses despertados aos cientistas, na obtenção de novos resultados experimentalmente a partir deste. Os interesses dos laboratórios e empresas em nível internacional, que comercializam produtos de origem natural, plantas, seguidos de relatos vivenciados e experiências adquiridas ao longo do tempo no espaço acadêmico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SUGESTÕES PARA A ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE COMPOSTOS NATURAIS, RECOMENDAÇÕES TEÓRICAS E EXPERIMENTAIS

Os cientistas afirmam a décadas a importância da elucidação estrutural dos metabolitos obtidos de produtos naturais, tornando-se um dos principais desafios, além da

utilização de metodologias eficazes para a separação e o isolamento das substâncias naturais. Técnicas para o desenvolvimento das análises, utilizando a espectroscopia molecular, de ultravioleta (UV), infravermelho (infrared - IV), ressonância magnética nuclear (Nuclear magnetic resonance spectroscopy - RMN) de carbono (C^{13}) e hidrogênio (H^1) e experimentos bidimensionais, foram aprimorados e com a ampliação de sua capacidade, por exemplo a espectroscopia de RMN que era de 100 MHz, hoje já se utiliza o de alta resolução magnética, com equipamento de até 1000 MHz (BRUKER®), espectrometria de massa (Mass spectrometry - MS); cromatográficas: cromatografia líquida (liquid chromatography - LC), cromatografia gasosa (Gas chromatography - GC), cromatografia líquida de alta eficiência (High performance liquid chromatography - HPLC) e as técnicas chamadas hífenizadas, como, cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massa (CG-MS), cromatografia de interface, acoplado diretamente ao RMN (LC-NMR) para separar moléculas principais. Trabalhos estão sendo desenvolvidos para minimizar as dificuldades inerentes as análises complexas de algumas moléculas, favorecendo a identificação de forma rápida de novos compostos e dos já conhecidos. A identificação desses compostos é desafiadora e requer domínio das técnicas para que se possa obter a identificação absoluta dos compostos que incluem a química de produtos naturais, avaliação de drogas e ciência forense. Requer informações precisas relacionadas as análises espectroscópicas, incluindo as informações das análises físico-químicas, principalmente ponto de fusão, rotações ópticas.

De forma sucinta destaca-se, espectroscopia UV-Visível: para descobrir se o sistema é conjugado (elétrons pi); espectroscopia IV: para identificar os grupos funcionais que estão presentes no composto; espectroscopia de massa: para determinar o peso molecular do composto e identificar a presença de padrões de isótopos para Cl e Br; espectroscopia de RMN: dá uma ideia sobre o esqueleto básico da estrutura do composto; RMN C^{13} : para identificar quantos átomos de carbonos estão presente no composto; RMN H^1 : para verificar os tipos de átomos de hidrogênios presentes e como esses estão conectados na molécula. RMN e experimentos bidimensionais: gHSQC - para correlação heteronuclear $^1H - ^{13}C$, detectam acoplamentos de curto alcance, H é traçado na horizontal e o DEPT traçado na vertical; DEPT-125 - não mostram os carbonos quaternários; gHSQC - mostram as correlações de cada hidrogênio com os carbonos que estejam duas, três ou até quatro ligações distantes (VALLI et al., 2012; SATHEESHKUMARA et al., 2012; DIAS et al., 2016; CHAVAN et al., 2017).

3.2 ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DO COMPOSTO 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine – SUGESTÕES VIVÊNCIADAS

Pesquisa realizada por Fernandes et al. (2009), isolou o sólido das raízes de *Zanthoxylum riedelianum*, através de uma sequência sucessiva de processos cromatográficos apresentou-se como um sólido amorfo castanho solúvel em CHCl_3 , com ponto de fusão [p.f. = 186.0-188.0 °C], sua rotação óptica $[\alpha]_{\text{D}}^{21.50} -5.625$ (CHCl_3 ; conc. 0.014 g mL⁻¹), dando teste positivo para alcalóide. O tratamento com solução de cloreto férrico produziu coloração verde, indicativo da presença de hidroxila fenólica. Teve sua estrutura (1) elucidada por métodos espectroscópicos convencionais, conforme abaixo.

3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear de C¹³

O espectro de RMN ¹³C exibiu vinte e três linhas espectrais, como pode ser observado na tabela 1, assim, observa-se os seguintes sinais: Os carbonos não-hidrogenados do anel, em $\delta 148,50$ e $\delta 147,50$, atribuídos ao C-2 e C-3 (anel A) ligados ao grupo metilenodióxido e em $\delta 151,30$ e $\delta 144,90$ atribuídos ao C-7 e C-8 (anel D) ligados a metoxila e hidroxila, respectivamente e em $\delta 138,80$ referente ao C-4b. Dois sinais $\delta 101,00$ (metilenodióxido) e $\delta 46,50$ referente ao C-1' do grupo acetnil. Três metilas, uma relacionada ao grupamento metoxila em $\delta 61,90$ ligado ao C-7 (anel D); uma ligada a um átomo de nitrogênio em $\delta 42,40$ (anel C) e outra em $\delta 31,50$ atribuída ao C-3' do grupo acetnil. Um carbono metínico em $\delta 54,80$, atribuído ao C-6 (anel C). Um carbono não-hidrogenado de carbonila em $\delta 207,60$ atribuído ao C-2' do grupamento acetnil (FERNANDES, 2009).

3.2.2 Ressonância Magnética Nuclear de H¹

Os sinais do espectro de RMN ¹H, exibe na região dos hidrogênios aromáticos, dois simples centrados em $\delta 7,10$ e $\delta 7,51$ (s, 1H), atribuídos aos hidrogênios H-1 e H-4 (anel A); quatro dupletos em $\delta 7,01$ (d, 1H, J=8,43Hz), $\delta 7,54$ (d, 1H, J=8,43Hz), $\delta 7,72$ (d, 1H, J=8,58Hz) e $\delta 7,51$ (d, 1H, J=8,58Hz), atribuídos aos hidrogênios *orto*-relacionados H-9, H-10, H-11 e H-12 respectivamente (anéis D e B); um simpleto centrado em $\delta 3,95$ (s, 3H) do grupo metoxila em C-7; um simpleto centrado em $\delta 6,05$ (s, 2H) do grupamento metilenodióxido; um simpleto centrado em $\delta 5,30$ (s, 1H) que pode ser atribuído ao hidrogênio intercambiável da hidroxila

ligada ao carbono C-8. A presença de um grupo acetnil em C-6 foi evidenciada através dos sinais: um simpleto centrado em $\delta 2,02$ (s, 3H) atribuído ao H-3' e de um sistema AMX, sendo, um duplo duplete em $\delta 5,00$ (dd, 1H $J=3,53$ e $10,92\text{Hz}$, H-6); um par de duplo duplete em $\delta 2,25$ (dd, 2H, $J=3,53$ e $15,24\text{Hz}$) e em $\delta 2,66$ (dd, 2H, $J=10,92$ e $15,24\text{Hz}$), atribuídos ao H-1'. Um simpleto centrado em $\delta 2,65$ (s, 3H) relacionado ao grupamento metílico ligado ao nitrogênio (NCH₃). Essa sugestão é compatível para alcalóides do tipo benzofenantridínico *N*-metilado, contendo como substituintes, um grupamento metoxila e uma hidroxila (anel D), um grupamento metilenodióxido (anel A), e um grupo acetnil em C-6 (anel C), (FERNANDES, 2009).

3.2.3 RMN gHSQC

Através dos deslocamentos químicos observados em ¹³C – ¹H gHSQC, foi possível a atribuição de cada carbono e de seu respectivo hidrogênio, sendo: $\delta 7,10$ (H-1) e $\delta 104,4$ (C-1); $7,51$ (H-4) e $\delta 100,5$ (C-4); $\delta 7,01$ (H-9) e $\delta 115,1$ (C-9); $\delta 7,54$ (H-10) e $\delta 119,7$ (C-10); $\delta 7,72$ (H-11) e $\delta 120,0$ (C-11); $\delta 7,51$ (H-12) e $\delta 124,7$ (C-12). Assim foi possível a atribuição de cada carbono e seu respectivo hidrogênio (Tabela 1), (FERNANDES, 2009).

3.2.4 RMN gHMBC

Os picos cruzados observados no espectro de gHMBC mostraram acoplamentos de longo alcance de H-6 ($\delta\text{H } 5,0$) e H-3' ($\delta\text{H } 2,02$) com C-2' ($\delta\text{C } 207,6$), confirmando a conexão da fração acetnil com C-6. Outras correlações foram observadas entre OCH₃ ($\delta\text{H } 3,95$) com C-7 ($\delta\text{C } 151,3$), bem como H-9 ($\delta\text{H } 7,01$) e H-10 ($\delta\text{H } 7,54$) com C-8 ($\delta\text{C } 144,9$) e C-10 ($\delta\text{C } 119,7$), indicando que a posição 8 é substituída; finalmente, N-CH₃ ($\delta\text{H } 2,65$) com C-6 ($\delta\text{C } 54,8$), (FERNANDES, 2009).

3.2.5 Espectroscopia no Infravermelho

O espectro, na região do infravermelho, bandas de absorção em 3396 cm^{-1} relativo ao estiramento de OH, uma absorção em 1708 cm^{-1} que pode ser relacionada a carbonila alifática, 1615 , 1516 cm^{-1} atribuído ao anel aromático, absorções em 1610 e 1425 cm^{-1}

(estiramento C=C de anel aromático) e duas absorções em 1239 e 1296 cm^{-1} que podem estar relacionadas a grupamentos metoxilas ligadas a anel aromático (FERNANDES, 2009).

3.2.6 Espectrometria de Massa

O espectro de massa ESI $[\text{M}+\text{H}]^+$ deste composto apresentou um íon pseudomolecular de m/z 391, indicando para fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ (FERNANDES, 2009).

Os dados espectrais de RMN de ^{13}C e ^1H e demais análises apresentadas para o composto isolado, conduziram a proposição que esse composto é um alcalóide benzofenantridínico, e pode ser denominado de 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine (1), na ocasião do isolamento, foi inédito comprovado após levantamentos em bases de dados e de relatos na literatura, sendo um provável derivado da diidroqueleritrina (2) ou da decarina (3) por apresentarem o mesmo núcleo benzofenantridínico, requerendo estudo posterior para constatar a origem (Figura 1) (FERNANDES, 2009).

A substância 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine, foi denominada “Carrombertina” em homenagem ao pesquisador que isolou, Carromberth. Registrada no Chemical Abstracts Service (CAS number), indexada ao Chemical American Society, sob o número – CAS 1253740-09-8.

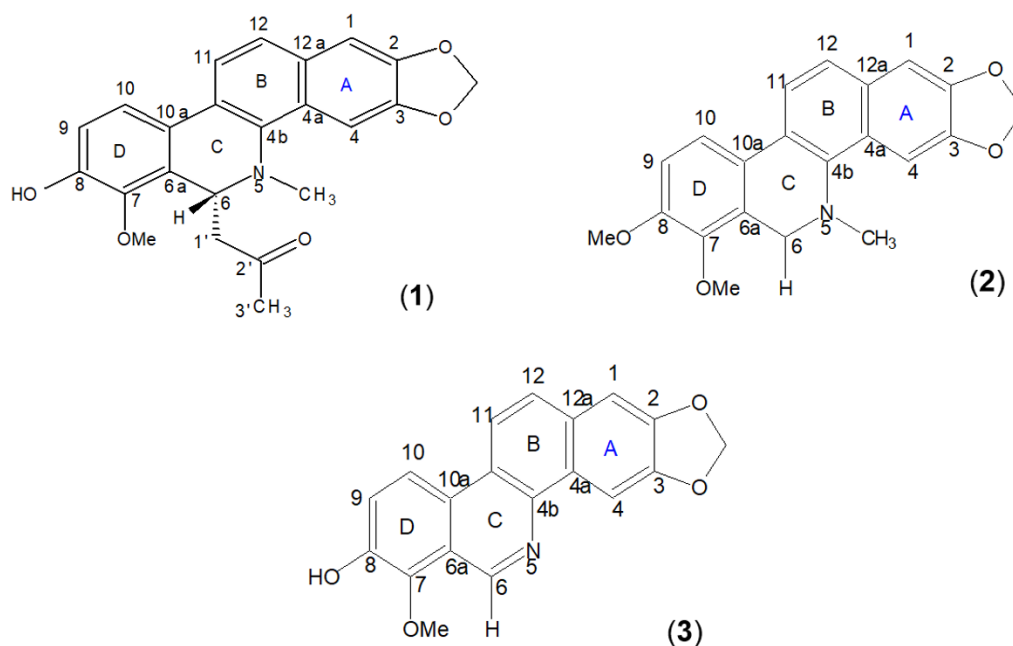


Figura 1. Compostos químicos.

Tabela 1: δ_H e δ_C da substância 1. RMN H^1 (400 MHz) e C^{13} (100 MHz) em $CDCl_3$

| C | δ_C 1 | δ_H 1 |
|-------------------------|--------------|---|
| 1 | 104,4 | 7,10 (s, 1H) |
| 2 | 148,5 | |
| 3 | 147,5 | - |
| 4 | 100,5 | 7,51 (s, 1H) |
| 4a | 123,9 | - |
| 4b | 138,8 | - |
| 6 | 54,8 | 5,0 (dd, 1H, $J=3,53$ e $10,92$ Hz) |
| 6a | 123,3 | |
| 7 | 151,3 | - |
| 8 | 144,9 | - |
| 9 | 115,1 | 7,01 (d, 1H, $J=8,43$ Hz) |
| 10 | 119,7 | 7,54 (d, 1H, $J=8,43$ Hz) |
| 10a | 131,0 | - |
| 10b | 127,5 | - |
| 11 | 120,0 | 7,72 (d, 1H, $J=8,58$ Hz) |
| 12 | 124,7 | 7,51 (d, 1H, $J=8,58$ Hz) |
| 12a | 127,2 | - |
| 1' (COCH ₂) | 46,5 | 2,25 (dd, 2H, $J=3,53$ e $15,24$ Hz) e 2,66 (dd, 2H, $J=10,92$ e $15,24$ Hz) |
| 2' (COCH ₃) | 207,6 | - |
| 3' (COCH ₃) | 31,5 | 2,02 (s, 3H) |
| 7-OCH ₃ | 61,9 | 3,95 (s, 3H) |
| O-CH ₂ -O | 101,0 | 6,05 (s, 2H) |
| N-CH ₃ | 42,4 | 2,65 (s, 3H) |

3.3 NOVAS MOLÉCULAS - CONTRIBUIÇÕES EFETIVAS E QUE DESPERTAM INTERESSES AOS CIENTISTAS, LABORATÓRIOS E EMPRESAS DE PRODUTOS NATURAIS, AO NÍVEL INTERNACIONAL – RELATOS DE EXPERIÊNCIA.

Substâncias obtidas de produtos naturais, principalmente as mais complexas com relação a sua estrutura química, de certa forma, apresentam um certo grau de dificuldades nos processos de isolamento dessas. Requer um exaustivo trabalho, iniciando na manufatura até a utilização de equipamentos científicos, obtendo-se as mais variadas análises, com custos elevados para manutenção e execução desses instrumentos. Inicialmente, opta-se pela escolha do material botânico a ser estudada, através de observações in situ ou por dados etnobotânicos, seguida da identificação taxonômica. A coleta necessariamente, deve-se obter a autorização no órgão gestor e fiscalizador, por força de Lei Federal. O zelo no processo da coleta é fundamental, o corte, o transporte, o processo de secagem, local isento de contaminações, a fragmentação, nesse processo inicial poderá gerar artefatos (substâncias naturais alteradas por vários fatores). O processo de produção dos extratos brutos (centenas/milhares de metabolitos secundários) seguidos dos

fracionamentos e sub-fracionamentos subsequentes, são fundamentais, decisões a serem seguidas, análises preliminares das abordagens químicas, a escolha dos solventes, a montagem das colunas cromatográficas, cada fracionamento, as vezes requerendo do operador a sua presença, as vezes por 24 horas seguidas, recolhendo as frações, gota a gota, totalizando em centenas de frações. Vários outros processos são executados para se obter a substância totalmente pura. Essa é submetida as análises espectroscópicas para elucidar a estrutura química, exigindo domínio e expertise científica das técnicas utilizadas.

A substância 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine (Carrombertina), vem sendo comercializada por várias empresas Chinesas, produtoras de produtos naturais, por exemplo a BioCrick Biotech; CHEMFACE - Wuhan ChemFaces Biochemical Co.,Ltd. Umas citam em sua referência a nossa pesquisa, inclusive a identificação da estrutura. Outras, não fazem nenhuma menção, no caso a BioBioPhha Co. Ltd. Isso indica que a nossa legislação concernente a propriedade intelectual é fraca, requerendo ampliação e incluindo a patente de moléculas isoladas, assim, gerando divisas financeiras ao Brasil.

O estudo realizado por Talonstsi et al. (2011) isolou a mesma substância (Carrombertina) em outra espécie do gênero *Zanthoxylum*, testando a atividade larvicida para o mosquito vetor da malária *Anopheles gambiae*, apresentando taxa de mortalidade de 98,3%, na concentração de 250 mg/L, esse autor cita a nossa pesquisa em seu trabalho. Assim, a presença da mesma substância em outra espécie desse gênero, provavelmente, indicando ser o precursor do esqueleto básico dessa classe de alcalóides. Da mesma forma, empresa Chinesa BioCrick Biotech, divulga em seu catalogo, a propriedade biológica larvicida dessa substância.

A pesquisadora do Centro de Pesquisa de Produtos Naturais, da Universidade Federal de Santa Maria – Rio Grande do Sul. Em suas pesquisas com a espécie *Z. rhoifolium*, verificando atividades antimicrobiana, promovendo semi-síntese de uma substância natural, gerando um derivado. Os alcaloides isolados, foram identificados, comparando seus dados espectrais com os nossos estudos divulgados (TAVARES et al., 2014).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Contatou-se que as técnicas espectroscópicas de IV, MS, RMN e experimentos bidimensionais (gHSQC, gHSQC e Dept-125) e análises físico-químicas, são eficazes para a elucidação estrutural de substâncias químicas, tanto novas ou já conhecidas.

4. AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Digníssimos Pesquisadores Paulo Teixeira de Sousa Júnior, PhD e Evandro Luiz Dall'Oglio, PhD. Professores e Pesquisadores do Departamento de Química da Universidade Federal do Mato Grosso e do Centro de Pesquisa do Pantanal – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Áreas Úmidas – INCT (INAU), pelo constante apoio.

4. REFERÊNCIAS

BIOBIOPHHA CO. LTD. **6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine**. Disponível em: <https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB82519476_EN.htm>, Acessado em 02/05/2020.

BIOCRICK BIOTECH. **6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine**. Disponível em: <<https://www.biocrick.com/6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine-BCN6134.html>>, Acessado em 02/05/2020.

CHAVAN, S.S.; et al. A review on spectroscopic analysis of phytopharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 43, n. 1, p. 161-168. 2017

CHEMFACE. **Wuhan chemfaces biochemical Co.,Ltd**. Disponível em: <<http://www.chemfaces.com/natural/6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine-CFN99367.html>>, Acessado em 02/05/2020.

DIAS, D.A.; et al. Current and future perspectives on the structural identification of small molecules in biological systems. **Metabolites**, v. 6, n. 4, p. e46, 2016.

FERNANDES, C.C.; VIEIRA, P.C.; SILVA, V.C.; DALL'OGGIO, E.L.; Jr. SOUSA, P.T. 6-Acetyl-N-methyl-dihydrodecarine, a new alkaloid from *Zanthoxylum riedelianum*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 379-382, 2009.

SATHEESHKUMARA, N.; et al. Analytical profiling of bioactive constituents from herbal products, using metabolomics - a review. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 8, p. 1111-1115, 2012

SOUZA, J.M.A., MING, L.C. **Plantas medicinais utilizadas por seringueiros na Reserva Extrativista São Luiz do Remanso, Acre**. In: SIVIERO, A.; MING, L.C.; SILVEIRA, M.; DALY, D.C.; WALLACE, R.H. Etnobotânica e botânica econômica do Acre. EDUFAC, 2016.

TAVARES, L.C.; et al. Structure-Activity Relationship of Benzophenanthridine Alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium* Having Antimicrobial Activity. **Journals Plos One**, v. 9, n. 5, p. e97000, 2014.

TALONSTSI; et al. Mosquito larvicidal activity of alkaloids from *Zanthoxylum lamairei* against the malária vector *Anopheles gambiae*. **Pesticide Biochemistry and Ohysiology**, v. 99, p. 82-85, 2011.

VALLI, M.; BOLZANI, V.S.; et al. Tropical biodiversity: has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry?. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2278-2287, 2012.

AÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DE *Acmella oleracea* EM CARRAPATOS *Amblyomma cajennense* (ACARI: IXODIDAE): AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL DO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

Luís Adriano Anholetto¹, Patrícia Rosa de Oliveira², Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues³, Karina Neob de Carvalho Castro⁴ e Maria Izabel Camargo-Mathias⁵

1. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil;
2. Programa de Pós-graduação em Química, Centro de Ciências Exatas e Tecnologia (CCET), Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil;
3. Divisão Química de Produtos Naturais, CPQBA/UNICAMP, Paulínia, São Paulo, Brasil;
4. Embrapa Meio-Norte, Parnaíba, Piauí, Brasil;
5. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, São Paulo, Brasil.

RESUMO

No presente estudo avaliou-se ultraestruturalmente os efeitos de diferentes concentrações do extrato etanólico bruto das flores, folhas e caules de *Acmella oleracea* sobre o sistema reprodutor masculino carrapatos *Amblyomma cajennense*. Para tanto, foram utilizados 100 machos com pesos homogêneos ($p > 0,05$), os quais foram alocados em cinco grupos experimentais de carrapatos (10 animais/grupo): Controle 1 - foram expostos à água destilada; Controle 2 - ao solvente etanol 50% e DMSO 1%; Tratamentos 1 a 3 - às concentrações de: 6,2; 12,5 e 25 mg/mL do extrato, respectivamente, obtidas por diluição em etanol 50% e DMSO 1% (em duplicata). Os carrapatos foram imersos nas diferentes concentrações do extrato por cinco minutos, secos em papel absorvente e levados à incubadora BOD sob condições controladas por sete dias. Após esse período, foram dissecados para remoção dos sistemas reprodutores, que foram submetidos às técnicas de microscopia eletrônica de transmissão. Foi observado nos indivíduos dos grupos tratamento que o extrato provocou alterações significativas nas células secretoras do complexo de glândulas acessórias dos testículos, que incluíram mudanças na sua forma, desorganização e vacuolização citoplasmática, diminuição dos grânulos de secreção e presença de figuras mielínicas. Além disso, as espermátides maduras apresentaram desarranjo do citoesqueleto. Os dados aqui obtidos confirmaram o potencial citotóxico do extrato etanólico de *A. oleracea* sobre o sistema reprodutor masculino de carrapatos *A. cajennense*, vindo abrir a possibilidade do seu uso como alternativa eficiente e sustentável para o controle populacional dessa espécie.

Palavras-chave: Controle químico, Citotoxicidade e Jambu.

ABSTRACT

In the present study, the effects of different concentrations of the crude ethanolic extract of *Acmella oleracea* on the male reproductive system of *Amblyomma cajennense* ticks were evaluated ultrastructurally. For this purpose, 100 males with homogeneous weights ($p > 0.05$) were used, which were allocated to five experimental groups (10 animals / group): Control 1 - were exposed to distilled water; Control 2 - solvent 50% ethanol and 1% DMSO; Treatments 1 to 3 - at concentrations of: 6.2; 12.5 and 25 mg / mL of the extract, respectively, obtained by dilution in 50% ethanol and 1% DMSO (in duplicate). The ticks were immersed in the different concentrations of the extract for five minutes, dried on absorbent paper and taken to the BOD incubator under controlled conditions for seven days. After this period, they were dissected to remove the reproductive system, which were submitted to transmission electron microscopy techniques. It was observed in the individuals in the treatment groups that the extract caused significant changes in the secretory cells of the testicular accessory gland complex, which included changes in its shape, cytoplasmic disorganization and vacuolization, decreased secretion granules and the presence of myelinated figures. In addition, the mature spermatids showed a breakdown of the cytoskeleton. The data obtained here confirmed the cytotoxic potential of the ethanol extract of *A. oleracea* on the male reproductive system of ticks *A. cajennense*, opening the possibility of its use as an efficient and sustainable alternative for the population control of this species.

Keywords: Control chemical, Cytotoxicity and Jambu.

1. INTRODUÇÃO

Carrapatos do complexo *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) são importantes artrópodes de relevância médica e veterinária por parasitarem diferentes hospedeiros, dentre eles os humanos. A relevância de sua importância no contexto atual reside ainda no fato de que estes ectoparasitas são também vetores potenciais da *Rickettsia rickettsii*, causadora da Febre Maculosa Brasileira ou Febre das Montanhas Rochosas (SOARES et al., 2015; TARRAGONA et al., 2015). Eles estão distribuídos por todo o continente americano e, especificamente no Brasil, a espécie *A. cajennense* pode ser encontrada na zona Norte ocidental da Bacia Amazônica, enquanto que *A. sculptum* nos estados do Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Sul do Paraná (ESTRADA-PEÑA et al., 2014).

Atualmente, o método de controle de carrapatos mais eficiente, além de ser o mais amplamente utilizado, é aquele que faz uso de acaricidas químicos de natureza sintética (CHAGAS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2016). Entretanto, o uso indiscriminado desses produtos pode induzir a seleção de indivíduos resistentes o que compromete a eficiência dos acaricidas, bem como sua toxicidade pode ser letal aos organismos não alvos. Além disso, seus resíduos se acumulam no ambiente, o que pode comprometer o solo, cursos d'água, a

flora e a saúde animal, inclusive a humana (OLIVEIRA; BECHARA; CAMARGO-MATHIAS, 2008; ROMA et al., 2009).

Diante desse cenário, a busca por novas estratégias de controle tem sido uma constante. Dentre elas está a utilização de vacinas ou de acaricidas químicos de origem natural, geralmente com seus princípios ativos originados de extratos de plantas (CASTRO et al., 2014; REMEDIO et al., 2015; RODRÍGUEZ-MALLON, 2016).

Acmella oleracea é uma planta da família Asteraceae, encontrada em regiões tropicais próximas à linha do Equador na África, Ásia e América do Sul. No Brasil ela é conhecida popularmente como jambu, sendo muito utilizada na culinária e na medicina popular como potente analgésico e anestésico local (CHENG et al., 2015; BARBOSA et al., 2016; FAVORETO; GILBERT, 2010). Estudos recentes mostraram que extratos das flores, folhas e caules de *A. oleracea* apresentaram atividades fungistática, fungicida e inseticida (FAVORETO; GILBERT, 2010; BARBOSA et al., 2016).

Diante deste cenário bastante promissor quanto ao uso de *A. oleracea* como acaricida, o presente trabalho teve por objetivo avaliar ultraestruturalmente os efeitos de diferentes concentrações (6,2; 12,5 e 25 mg/mL) do extrato etanólico de *A. oleracea* sobre o sistema reprodutor de machos de carrapatos *A. cajennense*, a fim de se estabelecer se este químico natural poderá num futuro próximo se tornar uma estratégia a ser utilizada no controle desses carrapatos.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 EXTRATO DE *Acmella oleracea*

O extrato etanólico bruto das partes aéreas (flores, folhas e caules) de *A. oleracea* foi produzido no Laboratório de Química de Produtos Naturais do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil, sob a supervisão do Dr. Rodney Alexandre Ferreira Rodrigues.

2.1.1 Obtenção do material vegetal

O material vegetal foi semeado e cultivado no campo experimental do CPQBA/UNICAMP, localizado no município de Paulínia, SP, Brasil (coordenadas geográficas -22° 47' 52" S, -47° 6' 49"). As sementes foram gentilmente cedidas pela empresa Centroflora (Botucatu, SP, Brasil) e a coleta das partes aéreas (flores, folhas e caule) foi realizada no mês de abril de 2015. A planta foi identificada pelo Dr. John F. Pruski do *Missouri Botanical Garden (USA)* e a exsicata está depositada no Herbário do CPQBA/UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, sob nº 181.452. Também foi obtida autorização de acesso e de remessa de patrimônio genético (CGEN) sob nº 010577/2014-9. Além disso, o estudo está cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen sob número A34093F.

2.1.2 Secagem e moagem do material vegetal

Depois de coletadas, as flores, folhas e caules de *A. oleracea* foram secas em estufa com ventilação forçada por 48h a 40° C até massa constante (RODRIGUES et al., 2006). A moagem deu-se em moinho de facas com peneira de 48 mesh – 0,297 mm. O material vegetal seco e moído foi armazenado em embalagem de papel craft com revestimento de polipropileno com fechamento simples e mantido em freezer - 20° C até a utilização.

2.1.3 Preparação do extrato etanólico bruto de *Acmella oleracea* (L.) R. L. Jansen

A extração foi realizada em etanol 96° GL (na proporção de 1:5, planta/solvente) à temperatura ambiente, em tanque de aço inox com agitação mecânica por uma hora e trinta minutos, ao final da qual o resíduo foi separado por filtração. Este processo foi repetido por mais duas vezes (RODRIGUES et al., 2006). Os extratos brutos obtidos foram filtrados, reunidos e concentrados sob vácuo em sistema de evaporação rotativo na temperatura de 40°C. O extrato foi então liofilizado até massa constante, acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer - 20° C até a utilização.

2.1.4 Monitoramento analítico do extrato

A presença do espilantol, componente majoritário das partes aéreas (flores, folhas e caules) de *A. oleracea* e do extrato etanólico bruto aqui utilizado, foi monitorada em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS, Agilent® 5890 Series II mass selective detector Agilent® 5970 EI 70eV) equipado com uma coluna de sílica fundida WCOT, HP5-MS, Agilent®, dimensões 30m x 0.25 mm x 0.25 µm. As condições de análise foram: temperatura do injetor: 220° C; temperatura do detector: 250° C; programa de temperatura: 60-240° C (3° C/min), injeção de amostra usando modo de divisão de proporção 1:40; gás Hélio foi utilizado como transportador a 0,7 bar, 1 mL/min.

2.2 HOSPEDEIROS

Foram utilizados como hospedeiras coelhas adultas do Grupo Genético Botucatu com peso entre 3 a 3,5 Kg, sem contato prévio com carrapatos ou carrapaticidas, que foram adquiridas do Biotério da UNESP de Botucatu, SP, Brasil. Os animais foram mantidos em gaiolas e receberam água e ração comercial *ad libitum*. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UNESP de Rio Claro, SP, Brasil sob nº 11/2015.

2.3 CARRAPATOS *A. cajennense* (FABRICIUS, 1787)

Os carrapatos *A. cajennense* foram gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, USP, SP, Brasil. Os carrapatos adultos foram coletados da vegetação do Município de Governador Jorge Teixeira, Rondônia, região ocidental da Amazônia brasileira (coordenadas geográficas 10° 31' 00" S, 62° 38' 00" W) e mantidos em colônia. A identificação das espécies foi realizada por Martins et al. (2016).

Para o presente estudo foram utilizados machos de *A. cajennense* alimentados por 10 dias em coelhas hospedeiras e mantidos em estufa BOD sob condições controladas (28° ± 1°C, 85% de umidade e fotoperíodo de 12 h) em sala de Biotério do Departamento de Biologia, I.B, – UNESP, Rio Claro, SP, Brasil.

2.4 AVALIAÇÃO ULTRAESTRUTURAL

2.4.1 Delineamento experimental

Para a avaliação ultraestrutural do sistema reprodutor dos machos alimentados de *A. cajennense* após a exposição ao extrato etanólico bruto de *A. oleracea* em concentrações subletais (concentrações menores que a CL_{50}), foi utilizado o Teste de Imersão de Adultos (DRUMMOND et al., 1973). As concentrações subletais foram determinadas por Anholetto et al. (2017a)

Machos alimentados com peso médio de 10 mg (cerca de 10 dias de alimentação em coelhas hospedeiras) (150 indivíduos) de *A. cajennense*, foram coletados de infestações artificiais de três coelhas hospedeiras (50 casais de carrapato/coelho). Antes do início dos testes, os carrapatos foram lavados em água corrente e depois, secos em papel absorvente macio.

Machos com pesos homogêneos ($p > 0,05$), foram alocados em cinco grupos experimentais de 10 carrapatos cada e expostos a concentrações subletais do extrato:

Machos alimentados: Grupo Controle 1 - os carrapatos foram expostos à água destilada; Grupo Controle 2 - foram expostos ao solvente etanol 50% e DMSO 1%; Grupos Tratamento 1 a 3 - foram expostos às concentrações de 6,2; 12,5 e 25 mg/mL do extrato etanólico bruto das partes aéreas (flores, folhas e caules) de *A. oleracea*, respectivamente, obtidas por diluição em etanol 50% e DMSO 1%.

Em cada grupo experimental, os indivíduos foram imersos nas substâncias a serem testadas durante cinco minutos. Em seguida, foram secos em papel absorvente, colocados em placas de Petri identificadas e levadas à estufa BOD sob condições controladas ($28 \pm 1^\circ\text{C}$, 85% de umidade, com fotoperíodo de 12 horas) por sete dias, intervalo de tempo sugerido por Oliveira, Bechara e Camargo-Mathias (2008) em estudos com fêmeas de *R. sanguineus* submetidas ao fipronil, visto que a maioria dos efeitos dos acaricidas não são imediatos e as alterações morfológicas geralmente aparecem após esse período. Foram realizadas observações diárias e os carrapatos foram estimulados com gás carbônico e com a ponta de um pincel por 30 minutos. Os indivíduos considerados mortos foram aqueles sem capacidade de movimento após dez minutos do estímulo e não foram utilizados para as análises ultraestruturais. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Após o teste de imersão, os machos de *A. cajennense* foram dissecados sob estereomicroscópio em placas de Petri contendo solução fisiológicas tamponada (NaCl 7,5

g/L, Na₂HPO₄ 2,38 g/L e KH₂PO₄ 2,72 g/L) para coleta do sistema reprodutor para posterior análise.

2.4.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Para a análise ultraestrutural, as amostras foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7.2), durante 72 horas. Em seguida, foram realizadas duas lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, com duração de 15 minutos cada e, logo depois, foi realizada a pós-fixação em solução de tetróxido de ósmio (OsO₄) a 1%, durante duas horas. As amostras foram novamente lavadas em tampão cacodilato de sódio por duas vezes de 15 minutos e imersas em etanol aquoso a 10% por 15 minutos. O material foi contrastado em solução de acetato de uranila a 1%, dissolvido em álcool 10%, por 24 horas no escuro, sendo, em seguida, desidratado em série gradativa de acetona (de 50 a 100%). Posteriormente, o material foi embebido em resina Epon-Araldite mais acetona, na proporção de 1:1, por 24 horas, incluído em resina pura e levado à estufa por 72 horas, a 60°C, para polimerização.

Secções ultrafinas obtidas em ultra micrótomo Leica Reichert Supernova foram depositadas sobre grades de cobre e contrastadas em acetato de uranila a 4%, durante 20 minutos, e citrato de chumbo por 10 minutos (REYNOLDS, 1963). O material foi observado e fotografado em microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM-1011 nas dependências do Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS

3.1.1 Grupos controle 1 E 2

O sistema reprodutor de machos de *A. cajennense* alimentados por 10 dias em coelhos hospedeiros (Grupos Controle I e II), apresentou as características típicas já descritas anteriormente por Sonenshine e Roe (2014) e Anholetto et al. (2015). As células

secretoras do complexo de glândulas acessórias multilobuladas mostraram-se íntegras, com núcleo arredondado apresentando heterocromatina localizada na região periférica e eucromatina na porção central dele (Figuras 1A, 5). O citoplasma, se mostrou homogêneo, com presença de retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido, além de grande quantidade de ribossomos livres (Figuras 1B, 5). Além disso, foram observados grânulos de secreção arredondados, sendo esses eletrondensos (Figuras 1B, 5). Já nos testículos, foram observadas espermatídes maduras, também chamadas de espermióforos ou prospermia, que apresentaram ultraestrutura preservada conforme já descrito por Feldman-Muhsam e Filshie (1976) (Figuras 1A-B, 5).

3.1.2 Grupo tratamento 1: exposição a 6,2 mg/mL do extrato

Os machos alocados nesse grupo de estudo quando expostos à concentração de 6,2 mg/mL do extrato etanólico bruto de *A. oleracea*, apresentaram alterações ultraestruturais no seu sistema reprodutor em comparação aos dados obtidos dos indivíduos dos grupos Controle I e II (Figuras 2A-C, 5). O núcleo das células secretoras das glândulas acessórias apresentou morfologia alterada, visto terem passado de arredondado a irregular (Figuras 2A, 5). No citoplasma, foi possível notar a presença de grânulos de secreção eletrondensos de morfologia irregular (Figuras 2A-B, 5). Além disso, vacúolos foram encontrados sobretudo ao redor dos grânulos de secreção (Figuras 2B-C, 5). Em relação ao espermióforo, verificaram dobras na membrana plasmática e desarranjo do citoesqueleto (Figuras 2C-D, 5).

3.1.3 Grupo tratamento 2: exposição a 12,5 mg/mL do extrato

Neste grupo de tratamento, as alterações ultraestruturais foram mais acentuadas, sendo que os núcleos das células secretoras das glândulas acessórias apresentaram-se irregulares e com marginalização cromatínica (Figuras 3A, 5). Em relação ao citoplasma, foi possível observar grânulos de secreção menores quando comparados aos do grupo controle (Figuras 3A-D, 5). Além disso, foram encontrados grânulos de secreção irregulares com conteúdo desorganizado, além de grânulos fragmentados e até mesmo vacuolizados (Figuras 3A-D, 5), bem como regiões desorganizadas e eletrólúcidas, vacúolos autofágicos com organelas em seu interior (Figuras 3A-D, 5) e figuras mielínicas (Figuras 3B, 5). Em relação ao espermióforo, pode-se notar dobras na membrana plasmática, bem como desarranjo do citoesqueleto (Figuras 3E-F, 5).

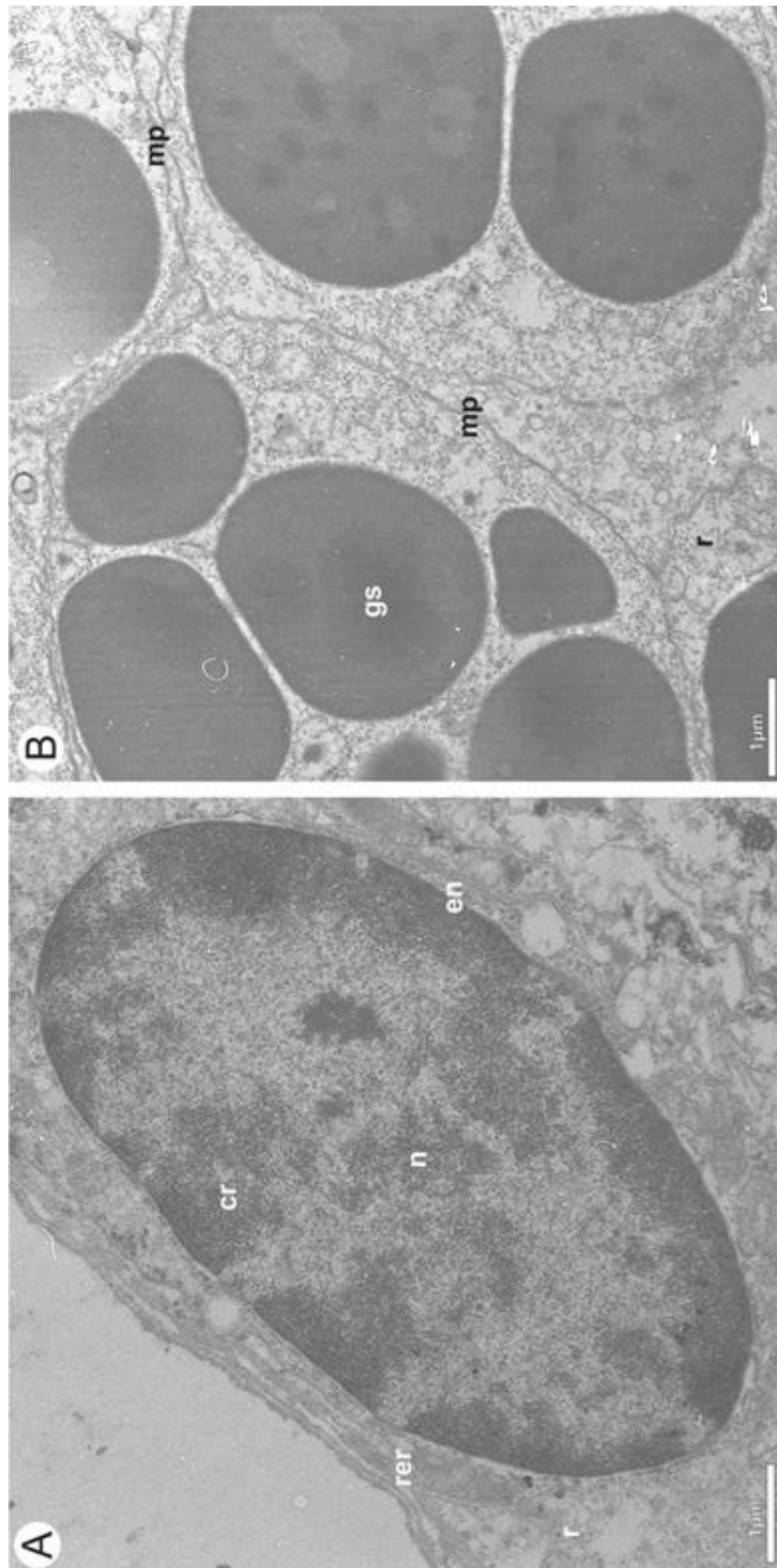


Figura 1. Ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de *Amblyomma cajennense* (Grupos Controles I e II).

A-B. Células secretoras do complexo de glândulas acessórias multilobuladas. cr= cromatina; en= envoltório nuclear; gs= grânulos de secreção; mp = membrana plasmática; n= núcleo; r= ribossomos livres; rer: retículo endoplasmático rugoso. Barras: A-B= 1µm.

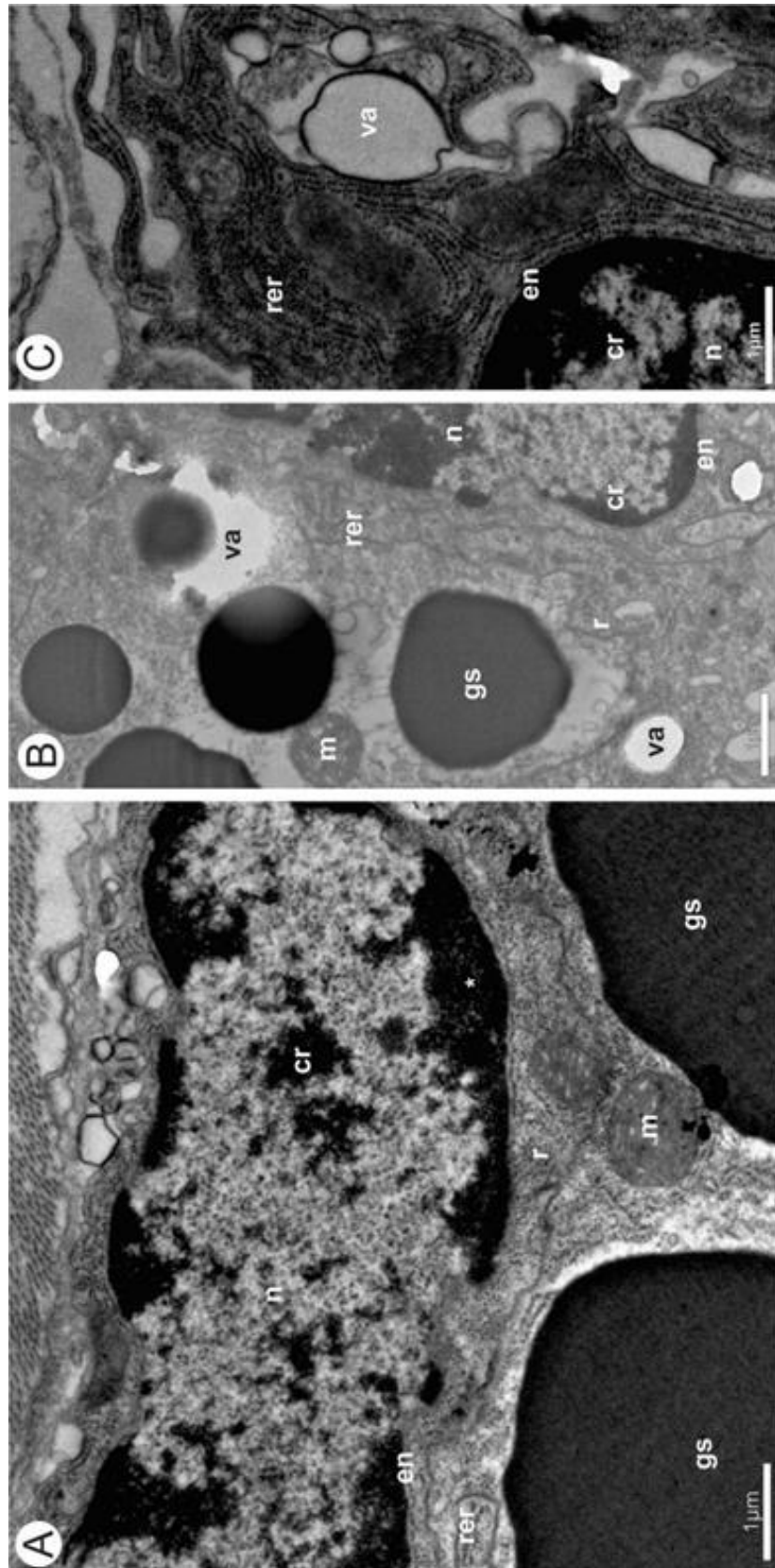


Figura 2. Ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de *Amblyomma cajennense* (Grupo Tratamento 1: exposição a 6,2 mg/mL do extrato etanólico de *Acmella oleracea*). A-C. Células secretoras do complexo de glândulas acessórias multilobuladas. cr= cromatina; gs= grânulos de secreção; m= mitocôndria; en= envoltório nuclear; n= núcleo; r= ribossomos livres; rer: retículo endoplasmático rugoso; va= vacúolo; * = marginalização cromatínica. Barras: A-C= 1μm

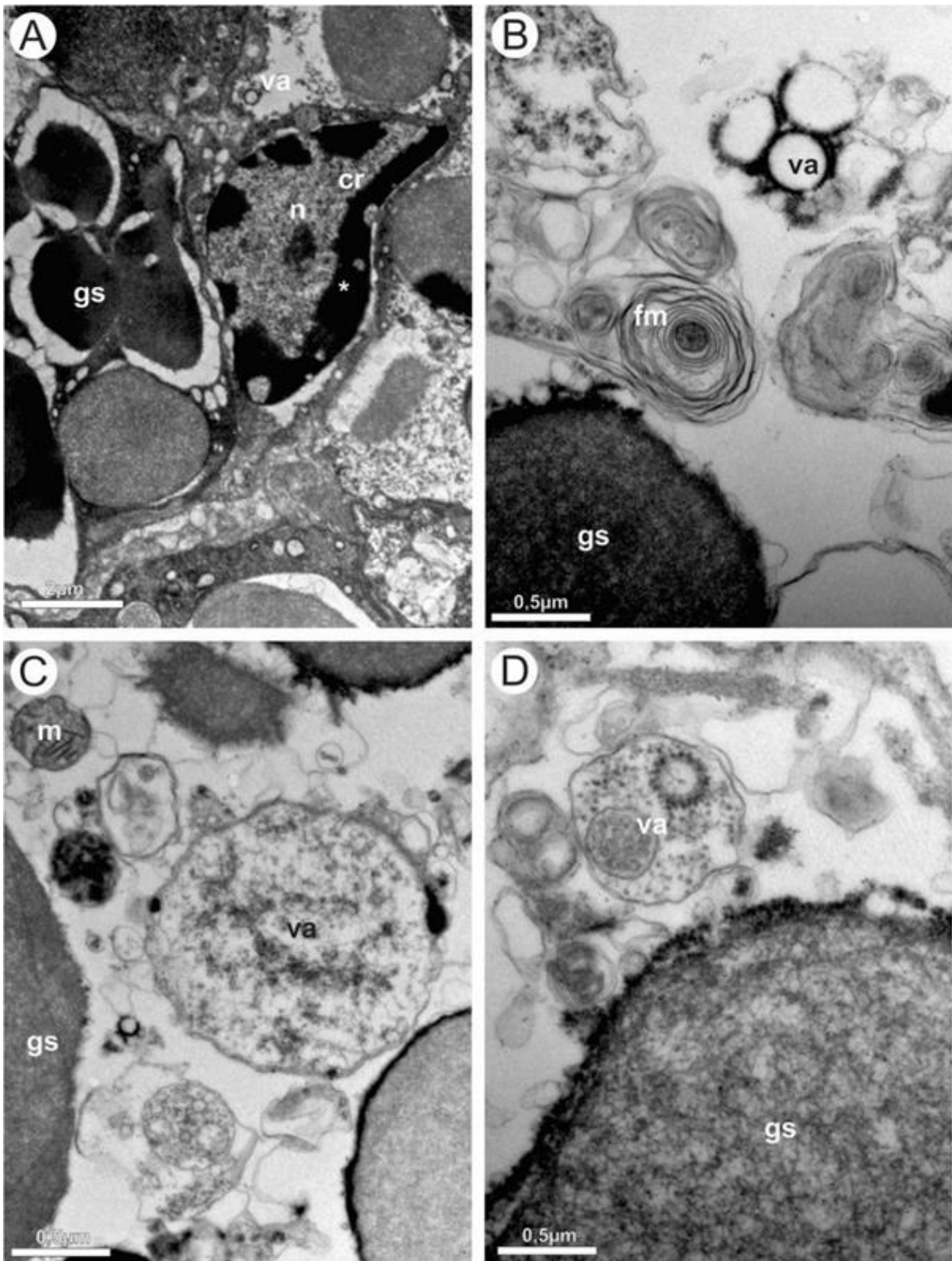


Figura 3. Ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de *Amblyomma cajennense* (Grupo Tratamento 2: exposição a 12,5 mg/mL do extrato etanólico de *Acmella oleracea*). A-D. Células secretoras do complexo de glândulas acessórias multilobuladas. cr= cromatina; fm= figura mielínica; gs= grânulos de secreção; m= mitocôndria; n= núcleo; r= ribossomos livres; rer: retículo endoplasmático rugoso; va= vacúolo autofágico; * = marginalização cromatínica. Barras: A= 2μm; B-D= 0,5 μm.

3.1.4 Grupo tratamento 3: exposição a 25 mg/mL do extrato

Nesses machos houve alterações ultraestruturais severas no complexo de glândulas acessórias multilobuladas. Os núcleos das células secretoras mostraram morfologia irregular (Figuras 4A-D, 5) e o citoplasma apresentou grânulos de secreção ainda menores quando comparados aos dos grupos controle e aos de tratamento anteriormente descritos (Figuras 4A-F, 5). Além disso, no citoplasma foram observadas regiões desorganizadas e eletrólúcidas, grânulos de secreção irregulares com conteúdo desorganizado, grânulos fragmentados (Figuras 4A-F, 5), grânulos com vacuolização ao seu redor (Figuras 4A-F, 5) e vacúolos autofágicos com restos celulares em seu interior (Figura 4A-F, 5). Em relação ao espermióforo, observou-se dobras na membrana plasmática, bem como desarranjo do citoesqueleto (Figuras 4G, 5).

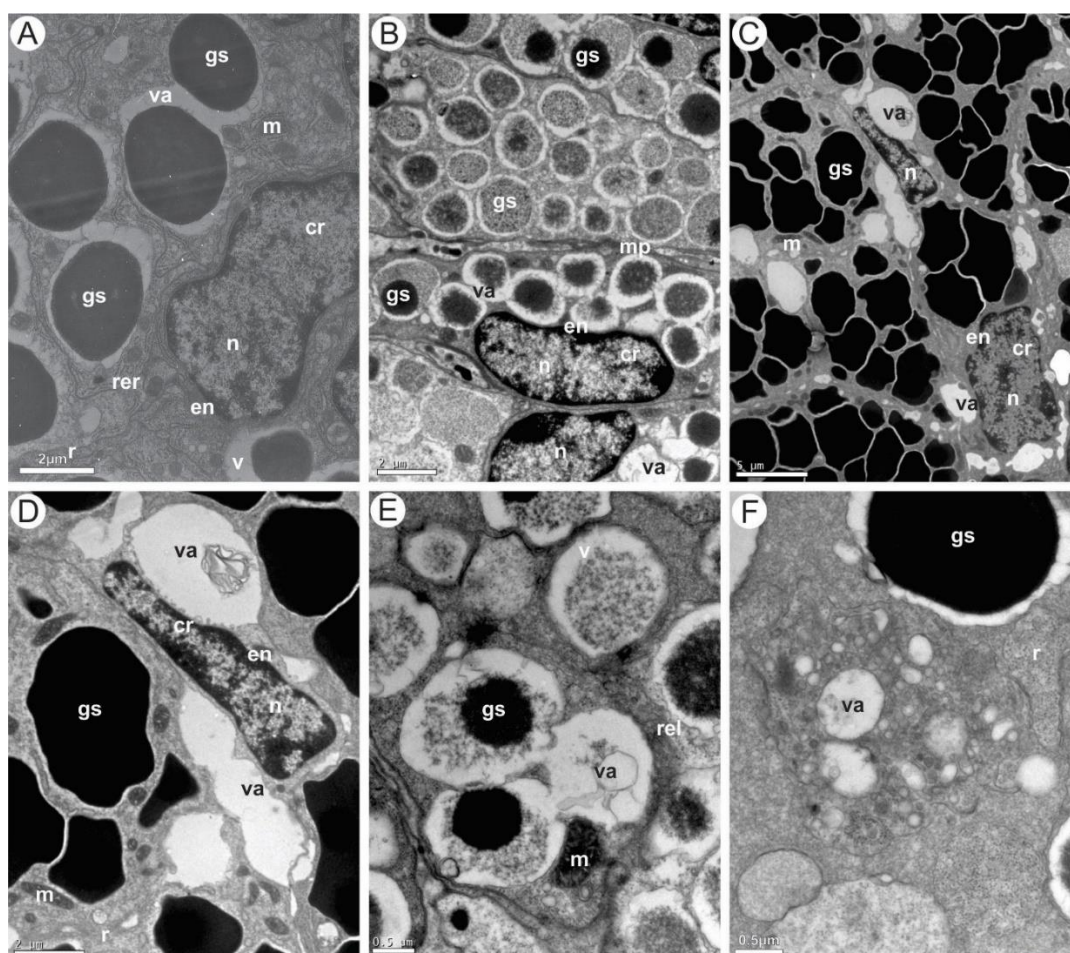


Figura 4. Ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de *Amblyomma cajennense* (Grupo Tratamento 3: exposição a 25 mg/mL do extrato etanólico de *Acmella oleracea*). A-F. Células secretoras do complexo de glândulas acessórias multilobuladas. cr= cromatina; gs= grânulos de secreção; m= mitocôndria; en= envoltório nuclear; mp = membrana plasmática; n= núcleo; r= ribossomos livres; rer: retículo endoplasmático rugoso; va= vacúolo. Barras: A, B, D= 2 µm; C= 5µm; E-F= 0,5 µm.

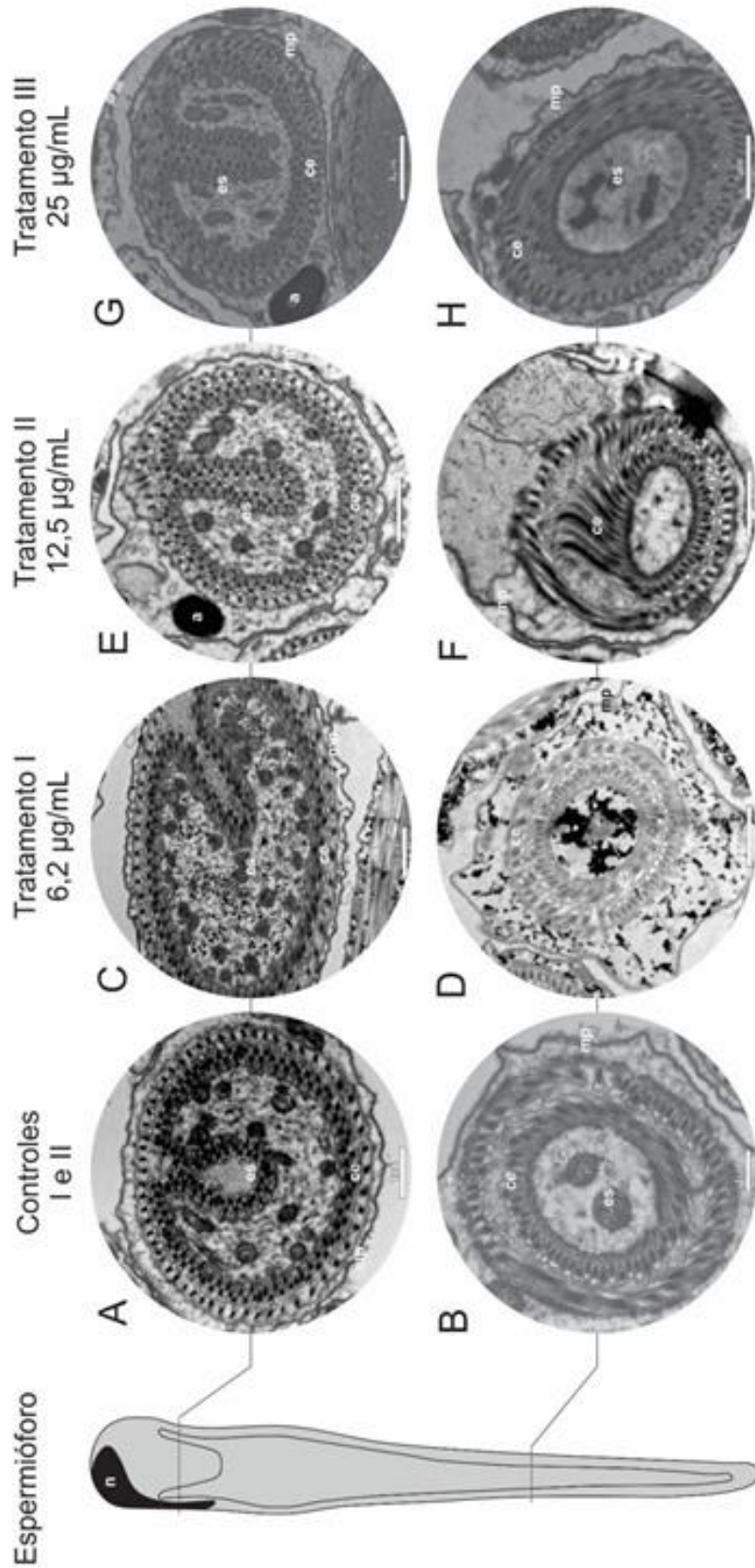


Figura 5. Ultraestrutura do sistema reprodutor masculino de *Amblyomma cajennense*. Evidenciando os espermióforos no interior do testículo A-B. Grupo Controles I e II: C-D. Grupo Tratamento 1. E-F. Grupo Tratamento 2. G-H. Grupo Tratamento 3. ce= citoesqueleto; es= espermióforo; mp= membrana plasmática; n= núcleo. Barras: A-H= 1µm

3.2 DISCUSSÃO

Segundo Anholeto et al. (2015) e Sampieri et al. (2015b), o sistema reprodutor masculino dos carrapatos *A. cajennense* é composto por um par de testículos tubulares responsáveis pela produção e maturação das células germinativas até o estágio de espermátides e por um complexo de glândulas acessórias multilobuladas responsável pela produção e secreção do fluído espermático e pela síntese do espermátóforo. Os dados ultraestruturais aqui obtidos para a mesma espécie nos indivíduos dos grupos Controles I e II confirmaram aqueles de Sampieri et al. (2015b)

Segundo Sonenshine e Roe (2014), o desenvolvimento morfológico das espermátides dos carrapatos da família Ixodidae ocorre basicamente em duas etapas: a espermatogênese, caracterizada pela sequência de divisões mitóticas e meióticas das espermatogônias e dos espermátócitos, originando as espermátides; e a espermiogênese, etapa final do desenvolvimento (diferenciação) das espermátides e que resultarão nos espermatozóides. A espermatogênese na maioria dos Ixodidae tem início no final do estágio de ninfa e é concluída logo após a ecdise do estágio de ninfa para o adulto (OLIVEIRA et al., 2012). Porém, esta dinâmica não é regra, visto que para algumas espécies a espermatogênese só é concluída quando o macho, depois de atingir o estágio adulto, inicia o processo de alimentação, caso de *Dermacentor variabilis* (SONENSHINE; ROE, 2014). A espermiogênese ocorre em etapas que são dependentes de outros processos fisiológicos, tais como o avanço da alimentação do adulto, bem como a produção do espermátóforo e da síntese das secreções ejaculatórias (REGER, 1961, 1974; FELDMAN-MUHSAM; BORUT, 1978, 1983; SONENSHINE; ROE, 2014). No presente estudo, o estágio celular mais avançado da espermiogênese foi a espermátide madura, que segundo Sampieri et al. (2015b) é a espermátide V, com morfologia alongada (REGER, 1961, 1974; SAMPIERI et al., 2015b). Outros trabalhos já desenvolvidos com o sistema reprodutor masculino de carrapatos postularam que as células germinativas em processo de desenvolvimento (espermatogênese e espermiogênese) seriam mais sensíveis às alterações fisiológicas do animal, incluindo a exposição dos indivíduos às substâncias com comprovado potencial tóxico (SAMPIERI et al., 2015a). Aqui pode-se sugerir que as concentrações de 6,2; 12,5 e 25 mg/mL do extrato etanólico de *A. oleracea* foram suficientes para provocar danos nas espermátides, danos representados por dobras na membrana plasmática e desorganização dos elementos do citoesqueleto, resultados semelhantes aqueles obtidos por Montasser e Amin (2005) quando analisaram ultraestruturalmente os testículos de *Argas persicus*

expostos à ivermectina, lactona macrocíclica, na dose de 400 µg/Kg do hospedeiro, onde foi observado o rompimento da membrana plasmática e das organelas das espermátides.

Já em relação às células secretoras do complexo de glândulas acessórias do sistema reprodutor de *A. cajennense*, indivíduos expostos às concentrações de 6,2; 12,5 e 25 mg/mL do extrato etanólico bruto das partes aéreas (folhas, flores e caules) de *A. oleracea*, respectivamente, apresentaram alterações ultraestruturais significativas. Essas células apresentaram regiões do citoplasma desorganizadas e eletronlúcidas, além da presença de vacúolos autofágicos abrigando organelas no seu interior, provavelmente já desativadas, as quais passariam posteriormente pelo processo de digestão intracelular. Sugere-se que tais alterações ultraestruturais poderiam provocar a diminuição de síntese e de armazenamento dos grânulos de secreção que iriam compor o fluido espermático e o espermatóforo (SONENSHINE; ROE, 2014; SAMPIERI et al., 2015b), corroborando dados obtidos por Sampieri et al. (2015a), quando estudaram a ação de ésteres do ácido ricinoleico do óleo de rícino, sobre carrapatos *A. cajennense* s.l. Esses mesmos autores registraram a presença de significativa vacuolização citoplasmática nas células secretoras das glândulas acessórias dos indivíduos expostos à maior concentração do produto acaricida. A presença de intensa vacuolização citoplasmática em células de indivíduos que foram expostos a agente tóxicos, provavelmente isolaria organelas ou porções do citoplasma já danificadas pelos mesmos, o que de certa forma permitiria que a célula ainda conseguisse sobreviver e se manter biologicamente viável (CARVALHO; RECCO-PIMENTEL, 2012).

Outra alteração que estaria confirmando a ocorrência de sérios danos às células do complexo de glândulas acessórias, no caso dos indivíduos expostos ao extrato, seria a presença significativa de figuras mielínicas (estruturas membranosas derivadas da autodigestão celular) no citoplasma. Estas também já foram reportadas por Oliveira et al. (2009) em ovócitos de fêmeas de carrapatos *R. sanguineus* expostas ao fipronil. Além disso, Remedio et al. (2015) quando estudaram a ação do óleo de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) em concentrações conhecidas de azadiractina (200, 400 e 600 ppm) sobre o sistema reprodutor feminino de *R. sanguineus*, encontraram resultados semelhantes.

Além da intensa vacuolização citoplasmática das células do complexo de glândulas acessórias, os grânulos de secreção por elas produzidos estavam: a) menores, irregulares e com conteúdo desorganizado, b) fragmentados e c) até mesmo vacuolizados, sinalizando possível queda na síntese e na secreção de polissacarídeos, glicoproteínas, lipoproteínas, glicosaminoglicanos, elementos estes que compõem o fluido seminal. Isso provavelmente implicaria num prejuízo ao processo de capacitação dos espermatozóides no trato genital da

fêmea, inclusive inibindo a formação do espermátforo (envoltório das espermátides maduras) (GARCIA-FERNANDEZ; GARCIA; GARCIA, 1998; SONENSHINE; ROE, 2014). Essas alterações trariam consequências diretas para o processo de fecundação das fêmeas do carrapato, visto que a transferência do esperma e das espermátides do trato masculino para o feminino dar-se-ia por meio do espermátforo (SONENSHINE; ROE, 2014; ANHOLETO et al., 2015; SAMPIERI et al., 2015b). Estudos realizados por Oliver and Brinton (1972) com carrapatos *Dermacentor variabilis* e *Ornithodoros moubata* mostraram que a capacitação das espermátides no trato feminino seria ativada por um polipeptídio produzido pelas glândulas acessórias dos machos. Lomas and Kaufman (1992) em seus estudos observaram em *A. hebraeum* a presença de um fator químico também produzido nestas glândulas dos machos, que depois de liberados no fluído seminal teriam ação sobre o processo de degeneração das glândulas salivares das fêmeas dessa mesma espécie. Os mesmos autores sugeriram ainda que outros fatores químicos produzidos no trato masculino influenciariam na fase de ingurgitamento das fêmeas, porém a natureza química desses fatores ainda continua pouco esclarecida. Portanto, a alteração da ultraestrutura do complexo glandular do sistema reprodutor dos machos traria por consequência alterações no processo de síntese e secreção e consequentemente alteraria os processos de fecundação e de reprodução dos carrapatos (SAMPIERI et al., 2015a).

4. CONCLUSÃO

De maneira geral, os resultados aqui apresentados deixaram claro que o extrato etanólico de *A. oleracea* nas concentrações de 6,2; 12,5 e 25 mg/mL teria ação tóxica e provocaria danos na ultraestrutura do complexo de glândulas acessórias dos testículos de carrapatos *A. cajennense*, dados esses que o elegem como uma alternativa acaricida para o controle de carrapatos *A. cajennense*, visto seu potencial de inibir a produção e a secreção dos fluidos seminais, bem como de modificar a ultraestrutura das espermátides maduras, consequentemente comprometendo o processo de reprodução dessa espécie. Esses achados vêm abrir a possibilidade do uso do extrato etanólico obtido a partir das flores, folhas e caule de *A. oleracea*, como uma estratégia de controle mais vantajosa se comparada àquelas oferecidas pelos químicos sintéticos.

5. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo nº 2015/01496-5) e CAPES/Brasil pelo suporte financeiro. Ao Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna pela colaboração. À Sra. Monika Lamonte e aos Srs. Gerson de Melo Souza e Antônio Teruyoshi Yabuki pelo apoio técnico.

6. REFERÊNCIAS

ABBAS, R. Z.; ZAMAN, M. A.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J.; IQBAL, Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 1–2, p. 6–20, 2014.

ANHOLETO, L. A.; NUNES, P. H.; REMÉDIO, R. N.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Testes of fed and unfed *Amblyomma cajennense* ticks (Acari: Ixodidae). First morphological data. **Acta Zoologica**, v. 96, n. 3, p. 375–382, 2015.

ANHOLETO, L. A.; OLIVEIRA, P. R.; RODRIGUES, R. A. F.; SPINDOLA, C. S.; LABRUNA, M. B.; PIZANO, M. A.; et al. Potential action of extract of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen to control *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) ticks. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 1, p. 65–72, 2017.

BARBOSA, A. F.; CARVALHO, M. G.; SMITH, R. E.; SABAA-SRUR, A. U. O. Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 1, p. 128–133, 2016.

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; BARBOSA, C. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 20, n. 2, p. 89–96, 2011.

BRITES-NETO, J.; DUARTE, K. M. R.; MARTINS, T. F. Tick-borne infections in human and animal population worldwide. **Veterinary World**, v. 8, n. 3, p. 301–315, 2015.

CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. **A Célula**. 3ª ed. Editora Manole, 2012.

CASTRO, K. N. C.; LIMA, D. F.; VASCONCELOS, L. C.; LEITE, J. R. S. A.; SANTOS, R. C.; PAZ NETO, A. A.; et al. Acaricide activity *in vitro* of *Acmella oleracea* against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 10, p. 3697–701, 2014.

CHAGAS, A. C. S.; GEORGETTI, C. S.; CARVALHO, C. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; RODRIGUES, R. A.; FOGGIO, M. A.; et al. *In vitro* activity of *Artemisia annua* L (Asteraceae) extracts against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 31–35, 2011.

CHENG, Y.; LIU, R.; HO, M.; WU, T.; CHEN, C.; LO, I.; et al. Alkylamides of *Acmella oleracea*. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 6970–6977, 2015.

CRAMPTON, A.; BAXTER, G.; BARKER, S. Identification and characterisation of a cytochrome P450 gene and processed pseudogene from an arachnid: the cattle tick,

- Boophilus microplus*. **Insect Biochemistry and Molecular Biol**, v.29, n.4, p.377-384, 1999.
- DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 1, p. 130–133, 1973.
- ESTRADA-PEÑA, A.; TARRAGONA, E. L.; VESCO, U.; MENEGHI, D.; MASTROPAOLO, M.; MANGOLD, A. J.; et al. Divergent environmental preferences and areas of sympatry of tick species in the *Amblyomma cajennense* complex (Ixodidae). **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 14, p. 1081–1089, 2014.
- FAVORETO, R.; GILBERT, B. Estado da Arte/State of the Art - *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen (Asteraceae) – Jambu. **Revista Fitos**, v. 5, n. 1, p. 83–91, 2010.
- FELDMAN-MUHSAM, B.; BORUT, S. Further observations on spermatophore formation in argasid ticks. **Journal of Insect Physiology**, v. 24, n. 10–11, p. 693–697, 1978.
- FELDMAN-MUHSAM, B.; BORUT, S. On the spermatophore of ixodid ticks. **Journal of Insect Physiology**, v. 29, n. 5, p. 449–457, 1983.
- FELDMAN-MUHSAM, B.; FILSHIE, B. K. Scanning and transmission electron microscopy of the spermiophores of *Ornithodoros ticks*: an attempt to explain their motility. **Tissue & Cell**, v. 8, n. 3, p. 411–419, 1976.
- GARCIA-FERNANDEZ, C.; GARCIA, S. M. L.; GARCIA, R. N. The male genital accessory gland complex of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 58, n. 3, p. 453–462, 1998.
- LOMAS, L. O.; KAUFMAN, W. R. The influence of a factor from the male genital tract on salivary gland degeneration in the female ixodid tick, *Amblyomma hebraeum*. **Journal of Insect Physiology**, v. 38, n. 8, p. 595–601, 1992.
- MARTINEZ, S. S. **O Nim - *Azadirachta indica*: Natureza, usos múltiplos**. IAPAR, 2002.
- MONTASSER, A. A.; GADELHAK, G. G. G.; TARIQ, S. Impact of ivermectin on the ultrastructure of the testis of *Argas (Persicargas) persicus* (Ixodoidea: Argasidae). **Experimental & Applied Acarology**, v. 36, n. 1–2, p. 119–129, 2005.
- OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; MARIN-MORALES, M. A.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Action of the chemical agent fipronil on the reproductive process of semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Ultrastructural evaluation of ovary cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1255–1264, 2009.
- OLIVEIRA, P. R.; CALLIGARIS, I. B.; ROMA, G. C.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morphological characterization of the nymphs *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Description of the testes, integument, Malpighian tubules, and midgut on the detachment day. **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 6, p. 727–736, 2012.
- OLIVEIRA, P. R.; CASTRO, K. N. C.; ANHOLETO, L. A.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Cytotoxic effects of extract of *Acmella oleracea* (Jambú) in *Rhipicephalus microplus* females ticks. **Microscopy Research and Technique**, v. 79, n. 8, p. 744–753, 2016.
- OLIVEIRA, P. R.; ANHOLETO, L. A.; RODRIGUES, R. A. F.; BECHARA, G. H.; CASTRO, K. N. C.; CAMARGO MATHIAS, M. I. The potential of *Acmella oleracea* (Jambu) extract in the control of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) female

ticks. **International Journal of Acarology**, v. 44, n. 4–5, p. 192–197, 2018.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Evaluation of cytotoxic effects of fipronil on ovaries of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick female. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.7, p.2459–2465, 2008.

OLIVER, J. H.; BRINTON, L. P. Cytogenetics of ticks (Acari: Ixodoidea). 7. Spermatogenesis in the Pacific Coast tick, *Dermacentor occidentalis* Marx (Ixodidae). **The Journal of Parasitology**, v. 58, n. 2, p. 365–379, 1972.

REGER, J. F. The fine structure of spermatids from the tick, *Amblyomma dissimili*. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 5, n. 6, p. 584–599, 1961.

REGER, J. F. The origin and fine structure of cellular processes in spermatozoa of the tick *Dermacentor andersoni*. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 48, n. 3, p. 420–434, 1974.

REMEDIO, R. N.; NUNES, P. H.; ANHOLETO, L. A.; OLIVEIRA, P. R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Morphological effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with known azadirachtin concentrations on the oocytes of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 2, p. 431–444, 2015.

REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 17, n. 1, p. 208–12, 1963.

RODRIGUES, R. A. F.; FOGLIO, M. A.; BOAVENTURA JÚNIOR, S.; SANTOS, A. S.; REHDER, V. L. G. Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 368–372, 2006.

RODRÍGUEZ-MALLON, A. Developing anti-tick vaccines. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v. 1404, p. 243–259, 2016.

ROMA, G. C.; OLIVEIRA, P. R.; PIZANO, M. A.; CAMARGO MATHIAS, M. I. Determination of LC(50) of permethrin acaricide in semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 123, n. 3, p. 269–272, 2009.

SAMPIERI, B. R.; FURQUIM, K. C. S.; CARVALHO, P. L. P.; BUENO, O. C.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Ricinoleic acid esters from castor oil modifying male reproductive system of *Amblyomma cajennense* (Fabricius 1787). **Emergent Life Sciences Research**, v. 1, n. 1, p. 26–37, 2015a.

SAMPIERI, B. R.; MOREIRA, J. C. S.; PÁEZ, F. A. R.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Comparative morphology of the reproductive system and germ cells of *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae): A contribution to Ixodidae systematics. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, v. 4, n. 2, p. 95–107, 2015b.

SOARES, H. S.; BARBIERI, A. R. M.; MARTINS, T. F.; MINERVINO, A. H. H.; LIMA, J. T. R.; MARCILI, A.; et al. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental & Applied Acarology**, v. 65, n. 1, p. 125–140, 2015.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of ticks**. 2ª ed. Oxford University Press, 2014.

TARRAGONA, E. L.; CICUTTIN, G. L.; MANGOLD, A. J.; MASTROPAOLO, M.; SALVO, M. N.; NAVA, S. *Rickettsia* infection in *Amblyomma tonelliae*, a tick species from the *Amblyomma cajennense* complex. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, n. 2, p. 173–177, 2015.

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE EXTRATOS DE LIMÃO-CRAVO, ESPADA-DE-SÃO-JORGE, EMBAÚBA, PIMENTA-DE-MACACO E GOIABEIRA, NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS (*Atta sexdens rubropilosa* Forel)

Paulo Henrique de Oliveira Felipe¹, Ivanir Alves da Silva², Adeilza Felipe Sampaio³ e Osvanda Silva Moura⁴

1. Instituto Federal de Rondônia (IFRO), Licenciatura em Ciências Biológicas, *Campus* Colorado do Oeste, Rondonia, Brasil;
2. Instituto Federal de Rondônia (IFRO), Gestão Ambiental, *Campus* Colorado do Oeste, Rondonia, Brasil;
3. Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Porto Velho, Rondonia, Brasil;
4. Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Departamento de Ciências Biológicas, *Campus* Porto Velho, Rondonia, Brasil.

RESUMO

Os trabalhos que avaliam as atividades de plantas na região amazônica com ação formicida, ainda são considerados insipientes, principalmente na avaliação contra formigas do gênero *Atta*. Atualmente estudos, com extratos de plantas, são necessários, pois o tratamento, com inseticidas químicos vem deixando resíduos tóxicos ao meio ambiente. Esse trabalho objetivou investigar o potencial dos extratos vegetais, buscando produtos naturais com ação contra formigas que atacam principalmente os cultivos de agricultura. Foram realizados a extração de extratos vegetais de limão-cravo (*Citrus x limonia* Osbeck), Espada-de-são-jorge (*Sansevieria trifasciata* Prain), Embaúba (*Cecropia pachystachya* Trécul), Pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.), e Goiabeira (*Psidium guajava* L.). As coletas das formigas foram realizadas manualmente e para cada amostra de extratos vegetais foram realizadas três repetições. Observou-se que o extrato de limão-cravo apresentou 100% de mortalidade das formigas cortadeiras quando comparado com as demais extrações. Observa-se, portanto, que o extrato de limão-cravo é uma das alternativas naturais para eliminação das formigas cortadeiras. Outros extratos tiveram resultados intermediários de 50% como *S. trifasciata*, *C. pachystachya* e *P. guajava*. Já os resultados de *P. aduncum* tiveram resultados ineficazes contra as formigas (16.3%).

Palavras-chave: Agricultura, Inseticida, Controle alternativo, Insetos pragas e Rondônia.

ABSTRACT

The works that evaluate the activities of plants in the Amazon region with ant killer action are still considered insipient, mainly in the evaluation against ants of the genus *Atta*. Currently,

studies with plant extracts are necessary, as treatment with chemical insecticides has left toxic residues in the environment. This work aimed to investigate the potential of plant extracts, looking for natural products with action against ants that attack mainly agricultural crops. Vegetable extracts of lemon-clove (*Citrus × limonia* Osbeck), Espada-de-são-jorge (*Sansevieria trifasciata* Prain), Embaúba (*Cecropia pachystachya* Trécul), Monkey pepper (*Piper aduncum* L.), and Guava (*Psidium guajava* L.). Ants were collected manually and for each sample of plant extracts, three replications were performed. It was observed that the extract of lemon-clove showed 100% mortality of leaf-cutting ants when compared to the other extractions. It is observed, therefore, that the extract of lemon-cloves is one of the natural alternatives for the elimination of leaf-cutting ants. Other extracts had intermediate results of 50% such as *S. trifasciata*, *C. pachystachya* and *P. guajava*. *P. aduncum* results had ineffective results against ants (16.3%).

Keywords: Agriculture, Insecticide, Alternative control, Pest insects and Rondônia.

1. INTRODUÇÃO

As formigas cortadeiras são as causadoras de elevados prejuízos à agricultura brasileira, pelo fato de um grande número de espécies atacarem praticamente todas as plantas cultivadas. Estão disseminadas por todo o território nacional e efetuam sua ação prejudicial durante todo o ano. Além disso, o controle é muitas vezes difícil e cansativo, exigindo assim, gastos altos com formicidas, equipamentos e mão de obra (LOECK et al., 2003).

Segundo Della Lucia e Souza (2011), as formigas-cortadeiras cortam uma gama diversa de vegetais e são consideradas herbívoros dominantes da Região Neotropical. A grande capacidade de explorar vegetais faz com que essas formigas sejam pragas importantes para cultivos agrícolas, pastagens e cultivos florestais.

As formigas dos gêneros *Atta*, distribuem-se desde o sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina. Somente no Brasil, ocorrem 20 espécies. Nem todas têm importância econômica definida, pois ocorrem em áreas pouco exploradas pela agricultura ou causam pequeno impacto nos diferentes agro ecossistemas (ZANETTI et al., 2000). Dentre as formigas cortadeiras encontradas no Brasil, somente cinco espécies de saúva - *Atta bisphaerica* (saúva-mata-pasto), *Atta capiguara* (saúva-parda), *Atta cephalotes* (saúva-da-mata), *Atta robusta* (saúva-preta) e *Atta sexdens rubropilosa* (saúva limão), são importantes sob o ponto de vista econômico (ZANETTI et al., 2000).

Esses insetos são importantes em ecossistemas naturais e alterados, cumprindo uma variedade de funções ecológicas, devido aos seus hábitos de nidificação, amplo espectro de alimentação e associação com numerosas espécies de plantas e animais (DAVIDSON;

MCKEY, 1993). Também podem causar a desfolha total, tanto de mudas como de plantas adultas, levando as plantas à morte.

Comumente atacam as culturas de algodão, arroz, milho, soja, trigo, etc. e são consideradas as pragas mais importantes dos plantios florestais, principalmente de *Pinus* e *Eucalyptus*, devido aos ataques intensos e constantes às plantas, causando prejuízos consideráveis (ZANUNCIO et al., 1996).

As desfolhas provocadas por saúvas, por exemplo, afetam significativamente o volume final do material vegetal comercializado (ZANETTI et al., 2000). A espécie *Eucalyptus grandis* Hill Ex. Maiden, por exemplo, sofre redução de 45,5% na produção individual de madeira quando ocorre 100% de desfolha (ZANETTI et al., 2000). Os danos são maiores em plantas jovens, onde as perdas causadas por esses insetos podem ser irreversíveis, pela fragilidade das mudas (ZANUNCIO et al., 1996).

No Brasil, algumas dessas espécies, são as principais pragas, por exemplo, dos eucaliptais (ZANETTI et al., 2000; ZANUNCIO et al., 2002) e por serem insetos sociais, as cortadeiras são capazes de identificar e reagir quase que imediatamente a qualquer agente estranho que interfira na rotina da colônia, o que torna seu controle diferente do aplicado para outras pragas, sendo o método químico o único eficiente contra essas formigas (GRÜRZMACHER et al., 2002).

A importância dessas formigas levou muitas empresas a formarem equipes exclusivas e para o combate desses insetos. Além disso, inclui também custos com produtos químicos para o controle, mão-de-obra para aplicação e monitoramento (ZANUNCIO et al., 1996).

Os trabalhos que avaliam as atividades de plantas brasileiras com ação formicidas, ainda são poucos, principalmente na avaliação contra formigas, mas há o reconhecimento pela população do poder de extratos de plantas na diminuição ou mesmo eliminação, pois, os nativos, por exemplo, usavam “chás das ervas” para o controle dessas formigas. (ZANUNCIO et al., 1996).

Pesquisas sobre plantas, visando à extração e identificação do material coletado e extraído às formigas, têm sido realizadas com o intuito de desenvolver técnicas viáveis para aplicação a campo. O uso de substâncias, extraídas de vegetais (tóxicas ou não) poderá apresentar-se, no futuro, como possibilidade de controle (ZANETTI et al., 2000).

Plantas como *Sansevieria trifasciata* Prain (Agavaceae) são constituídas por cerca de 60 espécies e diversos cultivares, vulgarmente conhecidas como espada e lança-de-são-Jorge, em vista de suas folhas achatadas lanceoladas ou cilíndricas, respectivamente. Além da sua utilização como planta fornecedora de fibras e de defesa, muitas são, por excelência,

de uso ornamental, cultivadas comercialmente como folhagens, sendo o seu fim determinado por seu hábito de crescimento e pela forma, textura e coloração de suas folhas (LORENZI; MATOS, 2002).

Além das qualidades estéticas, apresentam rusticidade adaptando-se a ambientes nem sempre favoráveis ao desenvolvimento da maioria das plantas (VEIGA-JUNIOR et al., 2005).

A goiabeira (*Psidium guajava* L.) é nativa da América do Sul (RISTERUCCI et al., 2005), de onde foi levada, pelos navegantes europeus, para as colônias africanas e asiáticas, tendo se espalhado para todas as regiões tropicais. A goiabeira ocupa lugar de destaque entre as frutas tropicais brasileiras, posição garantida pelo seu agradável aroma e sabor peculiar, e também pelo seu elevado valor nutricional (RISTERUCCI et al., 2005). Apresentam folhas simples, opostas, oblongas; ápice arredondado ou levemente agudo; base arredondada; pecíolo curto e canaliculado, pilosas na face inferior e glabras na superior; nervura proeminente na face inferior, com até 13 cm de comprimento.

Psidium é composto de aproximadamente 5800 espécies, distribuídas como a *P. guajava* (RISTERUCCI et al., 2005). Além de ser consumida *in natura*, a goiaba é utilizada na indústria de processamento de sucos, néctares, polpas, sorvetes, geleias e compotas, bem como serve de ingrediente na preparação de iogurtes, gelatinas (RISTERUCCI et al., 2005).

Embaúba (*Cecropia pachystachya* Trécul) é o nome genérico dado a plantas da família das Urticaceae, sendo conhecida atualmente cerca de 50 espécies. As árvores são eretas, sem ramificações, podendo atingir até 15 m de altura, com folhas simples, palmatífidas, com incisões que às vezes atingem o pecíolo, formando de 9 a 13 segmentos, com face superior áspera e a inferior com densa camada de pelos esbranquiçados e pecíolo piloso de 10 a 55 cm de comprimento (COLEY et al., 1985; HOWE; WESTLEY 1988). Como são plantas de crescimento rápido, a alocação de recursos para a produção de biomassa deve diminuir a produção de defesas contra herbívoros, já que tanto uma quanto a outra demandam um grande gasto de energia (COLEY et al., 1985; HOWE; WESTLEY 1988).

O limão-cravo (*Citrus x limonia* Osbeck) apresenta uma fruta cítrica também conhecida no Brasil sob o nome comum de limão-rosa. Chega a 5–6 m de altura e as folhas são de um verde intenso e aromáticas já as flores são pequenas, cheirosas e melíferas é uma espécie com o fruto redondo, ligeiramente achatado, mas irregular, quase disforme. A casca, de cor verde- amarelada ou amarela, toma uma forte cor alaranjada na maturação, mas tem manchas e uma aparência grosseira, e é suscetível ao ataque de fungos e doenças.

A polpa é de aparência geralmente sã, alaranjada, com um suco abundante, muito ácido, saboroso e rico em vitamina C (LORENZI; SOUZA, 1995).

Piper aducum L. (Piperaceae), é conhecida como pimenta-de-macaco, e nativa da América Tropical (LORENZI; MATOS 2002). Além de uma planta tropical, sempre-viva e arbustiva, cresce de 6 a 7 metros de altura com folhas na forma de lança, de 12 a 20 centímetros de comprimento (GAIA et al., 2010). Seu óleo essencial é contemplado com um elevado teor de *fenilpropanóide dilapiol*, até 86% e é obtido da parte aérea da planta (GAIA et al., 2010), podendo ser retirado sem a destruição da planta, não agredindo ao meio ambiente.

Muitas das plantas como as citadas acima, podem apresentar potencial terapêutico para cura de enfermidades, constituindo importante fonte de novos compostos biologicamente ativos, a partir dos metabólitos secundários.

Extrato botânico ou inseticidas botânicos são metabólitos secundários de plantas (Kim et al., 2003) e podem derivar de toda a planta ou de partes dela. Seus princípios ativos podem ser obtidos do próprio material vegetal moído e reduzido a pó ou farinha, ou através da extração aquosa ou com solventes orgânicos (MENEZES, 2005).

Atualmente, houve crescimento da aplicação desses extratos ou óleos essenciais em indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticas, no entanto, é importante ressaltar a necessidade de conhecer seus potenciais biológicos como também sua composição química, para que possa estabelecer a correlação entre essas potências (SANTOS et al., 2001), bem como de que maneira essa correlação pode auxiliar nos estudos de eliminação de insetos como a formiga *Atta*, que prejudicam cultivares. Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos de cinco espécies vegetais, como inseticidas no controle de formiga cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*).

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O experimento foi realizado Laboratório de Química do IFRO, *Campus Colorado* do Oeste, RO. Para realização dos extratos e para os testes, foram coletadas folhas de limão-cravo (*Citrus x limonia*), Espada-de-são-jorge (*S. trifasciata*), Embaúba (*C. pachystachya*), Pimenta-de-macaco (*P. aduncum*) e goiabeira (*P. guajava*). Todas as coletas foram

realizadas no período da manhã, de acordo com metodologia de Santos; Innecco (2003). Pois, no decorrer do dia podem ocorrer variações da intensidade luminosa e da temperatura atuando diretamente em processos primários, como fotossíntese e respiração, e podem influenciar indiretamente a produção de metabólitos secundários, entre eles os constituintes dos extratos vegetais, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário.

A pesquisa foi realizada com formigas cortadeiras da espécie Saúva-limão, (*Atta sexdens rubropilosa* Forel). As coletas das formigas foram realizadas, em alguns pontos, na área urbana da cidade de Colorado do Oeste, no período da manhã, pois, há influência do horário de coleta das mesmas, por exemplo, em período chuvoso as formigas não saem de seus ninhos (BLANK et al., 2005). Posteriormente as amostras de formigas foram separadas em nove coletores para cada extrato com testes positivo e negativo.

As amostras das folhas foram coletadas no centro de Colorado do Oeste e no IFRO *Campus* Colorado do Oeste. Utilizou-se uma faca para coletar as folhas e em seguida, foram armazenadas em sacos plásticos transparentes, e colocadas para secar, por dois dias a uma semana (dependendo da espécie), na estufa do herbário do IFRO *Campus* Colorado do Oeste. Em seguida, foi feita a pesagem das folhas com auxílio de balança analítica no Laboratório de Química, IFRO *Campus* Colorado do Oeste.

2.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BOTÂNICOS

O método de extração realizado foi o de hidrodestilação, semelhante ao método de extração por solvente. Contudo, como o material oleoso a ser extraído é insolúvel em água, houve necessidade de se proceder à decantação para separá-los. A hidrodestilação consiste em extrair os componentes voláteis de óleos essenciais, devido à diferença de pressão de vapor utilizada no processo (BIASI, 2009).

O material vegetal, do qual se extraiu a essência foi colocado em um recipiente com água, o qual foi aquecido no fogo ou por uma manta elétrica. A elevação da temperatura provoca o rompimento da parede celular dos tricomas, iniciando o processo de vaporização da água e do óleo. O vapor formado foi então liquefeito no condensador, em seguida foi recolhida a mistura líquida, óleos essenciais mais a água (BIASI, 2009). A água e o óleo essencial formam uma mistura heterogênea, sendo possível observar a formação de duas fases, ficando o óleo na parte de cima da mistura por ser menos denso que a água.

2.3 REALIZAÇÃO DOS TESTES COM OS EXTRATOS DE PLANTAS

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos pelos grupos controle negativo (água destilada), e positivo (Fipronil: 25 g/L + Azadiractina 0,02 g/L), nome comercial Termitox. Os extratos de folhas avaliados foram de limão-cravo (*Citrus x limonia*), espada-de-são-jorge (*S. trifasciata*), embaúba (*C. pachystachya*), pimenta-de-macaco (*P. aduncum.*) e goiabeira (*P. guajava*).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro. Cada unidade experimental foi constituída de quatro indivíduos de *Atta sexdens rubropilosa*. Para avaliar o efeito dos extratos brutos dos vegetais, foram utilizados 64 indivíduos de *Atta sexdens rubropilosa* da ordem Formicidae.

Os tratamentos foram avaliados após 24 horas em diferentes concentrações de extratos testados no bioensaio. A princípio foram divididos em três dosagens para cada extrato (1,2 e 3 mL) e sem diluição após a exposição das formigas aos extratos, contando 24 horas de exposição. Em seguida foi feito o teste com uma pinça para avaliar a mortalidade das formigas a qual também sofria uma atrofiação quando morta. Para melhor tabulação dos dados, foi usado o programa *Assistat* para a análise de médias comparadas, pelo teste de Tukey 5%. Os dados foram analisados e interpretados, constituindo-se em uma análise fatorial (extrato x doses).

Os experimentos científicos foram realizados com controles (positivo e negativo), visando obter resultados confiáveis, aumentar a validade estatística do conjunto de dados, assim como comparar, analisar e explicar os resultados obtidos relacionando-os aos controles utilizados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram utilizados o formicida Termitox como controle positivo e a água destilada como controle negativo, sendo aplicados também nas dosagens de 1, 2 e 3 mL (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos: Extratos utilizados nas seguintes concentrações através do teste de Tukey. Trat (Tratamentos), CN (Controle negativo), CP (Controle positivo).

| Trat. | CN (mL) | CP (mL) | <i>Citrus x limonia</i> (mL) | <i>S. trifasciata</i> (mL) | <i>C. pachystachya</i> (mL) | <i>P. aduncum</i> (mL) | <i>P. guajava</i> (mL) |
|-------|---------|---------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| T1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| T2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| T3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

Os resultados dos bioensaios mostraram que os tratamentos mais eficientes foram: extratos das folhas de *Citrus x limonia* (acima de > 90% de mortalidade das formigas), seguido de extrato de folhas de *Sansevieria trifasciata* com mortalidade de 50% das formigas testadas. Os demais extratos apresentaram um controle abaixo de 20% (Tabela 2).

Tabela 2. Eficácia das diferentes dosagens de extratos aquosa de vegetais no controle de formigas do gênero *Atta*, 26°C ± 3°C e UR (72%).

| Tratamentos | 1 mL | 2 mL/ | 3 mL/ |
|--------------------------------|--------|--------|--------|
| <i>Citrus x limonia</i> | 2,67 a | 3,00 a | 3,00 a |
| <i>Piper aduncum</i> | 0,67 b | 0,67 c | 0,67 c |
| <i>Psidium guajava</i> | 2,00 a | 0,67c | 2,00 b |
| <i>Cecropia pachystachya</i> | 1,33 b | 1,00 b | 1,00 c |
| <i>Sansevieria trifasciata</i> | 2,00 a | 1,67 b | 2,00 b |
| Formicida | 3,00 a | 3,00 a | 3,00 a |
| Água destilada | 0,00 d | 0,00 d | 0,00 d |

*As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, no nível de 5% de probabilidade.

De acordo com o teste de Tukey, houve diferença significativa, no nível de 5% de probabilidade, entre os extratos vegetais *Citrus x limonia*, *P. aducum*, *C. pachystachya*, a hipótese é aceita para este tratamento (*Citrus x limonia*) sendo uma alternativa para controle de formigas, pois os tratamentos diferem entre si apresentando em *Citrus x limonia* a maior mortalidade. Os resultados obtidos no teste de Tukey mostrou que o controle positivo difere estatisticamente de todos os outros tipos de tratamento (Tabela 2). Enquanto que os extratos de *P. guajava* e *S. trifasciata* não difere estatisticamente quando comparados na dosagem mínima de 1 mL de extrato.

Assim, observa-se que em relação à dosagem de 1 mL, o extrato aquoso de *Citrus x limonia* foi o mais eficaz, sendo o que mais se aproximou do inseticida com a média de 2,67 de mortalidade. Esse resultado corrobora com o trabalho de Monteiro e Freitas (2017), que fizeram a extração de folhas de limão para testar contra as formigas cortadeiras em condições experimentais. Eles registraram 95% de mortalidade das formigas nas 120 horas de observação em todos os tratamentos feitos, mas segundo esses autores, novos testes estão sendo realizados para verificar a eficiência do extrato botânico.

Os dados dessa pesquisa também se aproximam dos resultados do trabalho de Fernandes et al. (2002) onde os mesmos testam óleos da semente do limão, e os resultados chegam a próximos de 60% de mortalidade com formigas cortadeiras. Assim, o extrato de folhas de limão e de óleo da semente podem ser considerados bons formicidas naturais já que sua eliminação teve alta taxa de mortalidade.

O trabalho de Fernandes et al. (2002) teve uma taxa de mortalidade de formigas superior a alguns extratos que foram testados. Porém ainda sim os extratos com as folhas do limão sobressaíram com os resultados do óleo da semente.

Em segundo lugar em eficácia estão os de *P. guajava* e *S. trifasciata* com uma média de 2,00 para mortalidade cada um. No trabalho de Marques (2017), sobre composição química de extratos vegetais e sua eficácia no controle *in vitro* de ovos de *Fasciola hepatica*, notou-se que os extratos de *P. guajava* apresentaram eficácia de 100% relacionada à presença de compostos bioativos neles presentes como flavonoides, taninos, alcaloides, terpenos entre outros. Tais compostos, principalmente o tanino, fizeram com que não houvesse eclosão de miracídios e em alguns casos, impossibilitando sua formação no interior do ovo. Assim, verifica-se que os extratos das folhas de *P. guajava* podem auxiliar no controle de certos parasitas, porém, não surtiram tanta eficácia com relação aos artrópodes.

Enquanto que o resultado de *C. pachytachya* apresentou efeito de mortalidade de 1,33 e *P. aducum* mortalidade bem abaixo do esperado na respectiva dosagem (Tabela 2). Trabalhos como os de Torres et al. (2001) mostraram que extratos aquosos de plantas (*Cecropia* sp.) que possuem acentuada viscosidade podem dificultar a locomoção e alimentação de larvas, reduzindo a viabilidade da fase larval de *Plutella xylostella* (L.). Contudo, trabalhos de extratos de *Cecropia* contra *Atta*, ainda são insipientes. Entretanto, do ponto de vista farmacológico, as propriedades hipotensoras de extratos obtidos a partir das folhas de *Cecropia glaziovii* Snethl, por exemplo, já foram comprovadas (ROCHA et al., 2002).

Verifica-se, também, que o extrato de Pimenta-de-macaco (*P. aduncum*) teve baixa taxa de mortalidade em seus tratamentos com as formigas. Porém, os extratos tiveram alta mortalidade quando usado contra as larvas de mosquitos (TELES, 2017). Trabalho realizado por Silva et al. (2007) também indicou a eficiência do extrato de *P. aduncum* contra *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), uma praga de importância econômica no Amazonas. Nota-se, assim, que os extratos dessa espécie podem ser eficazes contra alguns organismos, todavia mostrou-se ineficiente contra as formigas cortadeiras desse trabalho.

Em relação à dosagem de 2 mL, os extratos aquosos de *Citrus x limonia*, apresentaram eficácia significativa de 3 com média igual à do inseticida. O extrato de *S. trifasciata* e *C. pachytachya* manteve a média de 1,67 e 1,00 próximo da apresentada na dosagem de 1 ml. A respeito da dosagem de 3 mL os extratos aquosos de *Citrus x limonia*, manteve eficácia de 100%. No entanto, o extrato de *P. guajava* apresentou uma eficácia de 2,00 de mortalidade (Tabela 2).

4. CONCLUSÃO

Dessa maneira, observa-se que o extrato de limão-cravo foi o mais eficiente no total, pois teve resultados bem próximos do formicida o qual fez a eliminação completa das formigas. O extrato da espada-de-são-jorge teve um resultado significativo em torno de 50% de mortalidade. Porém, é uma planta de jardim praticamente inexplorada para testes em laboratório, especialmente com artrópodes, o que torna esse trabalho pioneiro.

Pelo exposto acima, constata-se que os inseticidas vegetais podem ser indicados para o controle natural de formigas cortadeiras, sendo um recurso com baixo custo e alta eficácia em alguns extratos. Entretanto, é necessária a complementação dos dados com análises clínicas, toxicológicas e fotoquímicas para a validação de experimentos “*in vivo*”. Assim, os dados compilados neste trabalho poderão nortear a elaboração e o registro de novos produtos anti-formicidas para animais (como formigas) nas entidades competentes.

Espera-se que estes dados científicos alcancem o produtor rural, levando consigo os benefícios econômicos, ambientais e de saúde pública, advindos da utilização de métodos de controle anti-formicidas aos convencionais.

5. REFERÊNCIAS

- BIASI, L.A. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.
- BLANK, A.F.; FONTES, S.M.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; ALVES, P.B.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M.C.; et al. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 73-78, 2005.
- COLEY, P.D.; BRYANT, J.P.; CHAPIN, F.S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, v. 230, p. 895-899, 1985.
- DAVIDSON, D.W.; MCKEY, D. Evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationships. **International society of Hymenopteris**, v. 2, p. 13-83, 1993.
- DELLA LUCIA, T.M.C.; SOUZA, D.J. **Importância e história de vida das formigas-cortadeiras**. In: DELLA LUCIA, T.M.C. Formigas-cortadeiras: da biologia ao manejo. UFV, 2011.
- FERNANDES, J.B.; DAVID, V.; FACCHINI, P.H.; SILVA, M.F.G.F.; FILHO, E.R.; VIEIRA, P.C. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbionte. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1091-1095, 2002.
- GAIA, J.M.D.; MOTA, M.G.C.; CONCEIÇÃO, C.C.C.; MAIA, J.G.S. Collecting and evaluation of germplasm of spiked pepper from Brazilian amazon. **Horticultura brasileira**, v. 28, n. 2, p. 162-167, 2010.
- GRÜRZMACHER, D.D.; LOECK, A.E.; MEDEIROS, A.H. Ocorrência de formigas cortadeiras na Região da Depressão Central do estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 32, n.2, p. 185-190, 2002.
- HOWE, H.F.; WESTLEY, I. **Ecological relationships of plants and animals**. Oxford University Press, New York, 1988.
- KIM, S.I.; ROH, J.Y.; KIM, D.H.; LEE, H.S.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293-303, 2003.
- LOECK, A.E.; GRUTZMACHER, D.; COIMBRA, S.M. Ocorrência de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* nas principais regiões agropecuárias do rio grande do sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n.2, p. 129-133, 2003.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Plantarum, 1995.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Instituto Plantarum, 2002.
- MARQUES, L.T. **Composição química de extratos vegetais e sua eficácia no controle *in vitro* de ovos de *Fasciola hepatica***. (Dissertação) Mestrado em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2017.

- MENEZES, E.L.A. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica, Embrapa Agrobiologia, 2005.
- MONTEIRO, A.G.M., FREITAS, A.D.G. Utilização dos extratos botânicos de folhas de limão (*Citrus x limon*) sobre as formigas cortadeiras (*Atta sexdens*) em condições experimentais. **Revista Ensino, Saúde, Biotecnologia da Amazônia**, v. 1, n. 1, p. 1, 2017.
- RISTERUCCI, A.M.; DUVAL, M.F.; ROHDE, W. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* l. **Molecular ecology notes**, v. 5, p. 745-748, 2005.
- ROCHA, F.F.; LAPA, A.J.; DE LIMA, T.C.M. Evaluation of the anxiolytic-like effects of *Cecropia Glazioui* Sneth. In mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 71, p. 183-190, 2002.
- SANTOS, M.R.A.; INNECO, R. Influência de períodos de secagem de folhas de óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo Limoneno-carvona). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 34, p. 5-11, 2003.
- SANTOS, G.T.; ÍTAVO, L.C.V.; MODESTO, E.C.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. Silagens alternativas de resíduos agro-industriais. **Simpósio sobre utilização de forragens conservadas**, 2001.
- SILVA, W.C.; RIBEIRO, J.D.; SOUZA, H.E.M.; CORRÊA, R.S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta amazônica**, v. 37, n. 2, p. 293-298, 2007.
- TELES, O.S. Extrato aquoso da folha de noni (*Morinda citrifolia* L), no controle de *Plutella xylostella* l. **XXX Congresso Brasileiro de Agronomia**, 2017.
- TORRES, A.L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J.V. Efeito de Extratos Aquosos de Plantas no Desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Departamento de Agronomia/Fitossanidade, Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 151-156, 2001.
- VEIGA-JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- ZANETTI, R.; JAFFÉ, K.; VILELA, F.; ZANUNCIO, J.C.; LEITE, H.G. Efeito da densidade e do tamanho de saúveiros sobre a produção de madeira em eucaliptais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2000.
- ZANUNCIO, J.C.; LARANJEIRO, A.J.; SOUZA, O.F. Controle de *Acromyrmex subterraneus santschi* (Hymenoptera: formicidae) com sulfluramida. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, p. 383-388, 1996.
- ZANUNCIO, J.C.; MOLINA-RUGAMA, A.J.; SANTOS, G.P.; RAMALHO, F.S. Efeito do peso corporal na fecundidade e longevidade do percevejo predador *Podisus rostralis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1225-1230, 2002.

ATIVIDADE INSETICIDA DO BACUPARI (*Garcinia gardneriana* – Clusiaceae) SOBRE OS MOSQUITOS *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Frances T. T. Trindade¹, Valdir A. Facundo², Alexandre A. Silva^{1,3}

1. Laboratório de Bioecologia de Insetos, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Porto Velho, Rondônia, Brasil;
2. Laboratório de Pesquisas Químicas em Produtos Naturais, Departamento de Química, Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Instituto Nacional de Epidemiologia da Amazônia Ocidental (EpiAm), Fiocruz Rondônia, Porto Velho, Rondônia, Brasil;

RESUMO

Malária e dengue são doenças infecciosas transmitidas por insetos vetores. Ambas são responsáveis por causar muitas mortes anualmente, especialmente em países subdesenvolvidos e que se situam em regiões tropicais. A estratégia de combater esses vetores com inseticidas químicos vem causando alguns problemas, como resistência e poluição ambiental, e por isso, os extratos vegetais surgem como alternativas interessantes para bioprospecção de novas moléculas com essa finalidade. Nesse contexto, esse trabalho objetivou investigar a ação larvicida e adulticida da planta *Garcinia gardneriana* contra *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti*, os vetores da malária e dengue, respectivamente. Para avaliar o potencial inseticida de *G. gardneriana*, dois extratos etanólicos de duas partes da planta, i.e., casca e semente, foram preparados. Em seguida, foram avaliados os efeitos contra larvas em solução aquosa e contra adultos por meio de iscas açucaradas, com concentrações que variaram entre 5-75 ppm. A espécie mais suscetível foi *A. darlingi*, com a maioria das concentrações testadas causando mortalidade $\geq 70\%$ após 24 horas. Para *Ae. aegypti*, apenas as concentrações de 50 e 75 ppm causaram mortalidade de 70% ou mais, considerando tanto o estágio larval quanto o estágio adulto. Com relação a diferentes partes da planta, o extrato da casca causou as maiores mortalidades considerando os dois estágios de desenvolvimento. Em conclusão, pode-se observar que *G. gardneriana* tem potencial inseticida a ser explorado para o controle de vetores.

Palavras-chave: *Anopheles*, *Aedes*, Malária, Dengue e *Garcinia*.

ABSTRACT

Malaria and dengue are infectious diseases transmitted by mosquito vectors. Both are responsible for causing many deaths annually, especially in developing countries that are located in tropical regions. The strategy of combating these vectors with chemical insecticides has been causing some problems, such as resistance and environmental pollution, and for

this reason, plant extracts constitute interesting alternatives for this purpose. In this context, this study aimed to investigate the larvicidal and adulticidal activity of the plant *Garcinia gardneriana* against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti*, the vectors of malaria and dengue, respectively. To evaluate the insecticidal potential of *G. gardneriana*, two extracts (from the seeds and barks) were obtained. Then, the effects against larvae in aqueous solutions and adults using sugar baits were evaluated, with concentrations ranging between 5-75 ppm. The most susceptible species was *An. darlingi*, with most tested concentrations causing mortality $\geq 70\%$ after 24 hours. For *Ae. aegypti*, only concentrations at 50 and 75 ppm caused mortality of 70% or more, considering both the larval and adult stages. Concerning different plant parts, the bark extract caused the highest mortality for both developmental stages. In conclusion, the results here obtained suggest that *G. gardneriana* has insecticidal potential to be explored for vector control.

Keywords: *Anopheles*, *Aedes*, Malaria, Dengue and *Garcinia*.

1. INTRODUÇÃO

1.1 MALÁRIA

A malária é uma doença parasitária, causada por protozoários do gênero *Anopheles*, dos quais cinco espécies são conhecidas por infectar humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi* (COX, 2010).

Até 2019, a doença continuava endêmica em 87 países apesar dos progressos significativos. Adicionalmente, é estimado que a doença seja a causa de 435.000 mortes todos os anos e está relacionada a pobreza, afetando majoritariamente, principalmente os países africanos mais pobres e a Índia, regiões caracterizadas por extrema pobreza e desigualdade de renda. Dentro desses países, grupos ainda mais vulneráveis são constituídos de mulheres, crianças e refugiados (REN, 2019).

Com relação aos aspectos clínicos, a forma não-grave da doença é caracterizada por sintomas como febre, dor de cabeça, náuseas e calafrios. A doença ainda possui uma forma grave, causada principalmente por *P. falciparum*, onde há comprometimento de órgãos como rins, pulmões e cérebro, no qual esta última condição pode levar ao coma e morte se não tratada (BARTOLONI; ZAMMARCHI, 2012).

1.2. DENGUE

A dengue é uma doença infecciosa transmitida por artrópodes e que possui um grande impacto socioeconômico em países tropicais e subtropicais, sendo a arbovirose mais prevalente no mundo. Seu principal vetor é o mosquito *Aedes aegypti*, que é capaz de realizar várias picadas em um curto período de tempo e é capaz de se reproduzir em vários artefatos produzidos pelo homem que coletam água. Fatores como o aquecimento global, crescimento populacional e migração da cidade para o campo são fatores que contribuem para a proliferação de mosquitos do gênero *Aedes* e, portanto, para um aumento na incidência da dengue (WILDER-SMITH et al., 2019).

Quanto aos aspectos clínicos, no começo, a dengue pode apresentar uma febre semelhante à da gripe com sintomas semelhantes ao de outras doenças, como zika, chikungunya, febre amarela e malária. Como as manifestações clínicas da doença são bastante diversas, é necessário que o diagnóstico laboratorial seja usado em conjunto com o diagnóstico clínico para uma melhor precisão dos resultados (MULLER; DEPELSENAIRE, YOUNG, 2017).

1.3. CONTROLE DE MOSQUITOS COM EXTRATOS VEGETAIS

Mosquitos são vetores de algumas das doenças infecciosas mais prevalentes no mundo, como malária, dengue, filariose linfática, Chikungunya e zika, causando grande mortalidade em países subdesenvolvidos (BUKAR; TUKUR, 2019). Uma das estratégias para controlar esses mosquitos vetores é o uso de inseticidas sintéticos. Entretanto, essa prática tem causado alguns problemas, como resistência a esses inseticidas e poluição ambiental (NAUEN, 2007; BUKAR; TUKUR, 2019). Em contrapartida, extratos de plantas vem ganhando aceitação em fornecer alternativas para inseticidas tradicionais em controlar doenças transmitidas por vetores devido sua não toxicidade, especificidade e segurança ambiental (BUKAR; TUKUR, 2019). A literatura mostra que vários extratos botânicos e óleos essenciais têm efeito inseticida em mosquitos dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* pela presença de compostos fitoquímicos específicos (BUKAR; TUKUR, 2019; PIPLANI et al. 2019).

Dentre as espécies vegetais com ação inseticida, podemos destacar o gênero *Garcinia*, árvores e arbustos geralmente dióicos, que possuem como algumas das características morfológicas: exsudato amarelado, pecíolos estriados transversalmente e

inflorescências unidas em fascículos axilares (ALENCAR; MARINHO, 2017), cujos extratos e substâncias isoladas de diversas partes são tóxicas para diferentes mosquitos (TORRES; GARBO; WALDE, 2015; NGBOLUA et al., 2016; SASIKUMAR; GHOSH, 2017; MURTHY et al., 2017; KARTHIGA; RAJESHKUMAR; ANNADURAI, 2018; ATABO; MANYI, EGBODO, 2019).

Na literatura, trabalhos com *G. gardneriana* não foram encontrados, porém, considerando o potencial inseticida de outras plantas desse gênero, o presente trabalho objetivou realizar testes larvicidas e adulticidas contra os vetores da malária e dengue, *Aedes aegypti* e *Anopheles darlingi*, respectivamente, com extratos da planta *Garcinia gardneriana*.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

A casca e semente de *Garcinia gardneriana* (Clusiaceae) foram coletadas em Agosto de 2009 em Porto Velho (08° 45' 43" W 63° 54' 14" S), estado de Rondônia, Brasil.

O material vegetal (casca e semente) foi desidratado, macerado, e colocado em erlemeyer e sucessivamente extraídos usando-se 99% de etanol (2.0 L e 2.5 L, respectivamente) a temperatura ambiente ao longo de três dias. O solvente foi destilado sob pressão reduzida em um rotoevaporador, restando 58.0 g de extrato etanólico da casca e 49.5 g de extrato etanólico da semente.

2.2 COLETA DOS MOSQUITOS E CRIAÇÃO DAS LARVAS

As fêmeas adultas de mosquitos *A. darlingi* foram capturados usando uma armadilha sentinela BG modificada em regiões periurbanas de Porto Velho, Rondônia. Os mosquitos *Aedes aegypti* foram obtidos inicialmente através de ovos cedidos da colônia do Laboratório de Ecologia Química de Insetos Vetores, UFMG, Brasil.

Os mosquitos adultos foram alimentados com sangue em coelhos por 15 minutos. Três dias após a alimentação das fêmeas com sangue, estas foram induzidas à oviposição, procedimento que consiste na retirada das asas de *Anopheles darlingi* e para *Aedes aegypti* ocorre naturalmente em copo de papel filtro contendo água destilada. As larvas resultantes

foram mantidas em condições de laboratório (28°C, 80% RU e fotoperíodo de 12h), alimentadas com ração moída para peixes TetraMin Tropical Flakes *ad libitum* até os 3º ou 4º estádios.

2.3 ENSAIOS LARVICIDAS

Os testes larvicidas foram realizados utilizando-se cinco concentrações diferentes (extratos brutos - ppm: 75, 50, 25, 10 e 5) e controle (água + etanol). Estes testes foram repetidos três vezes em momentos diferentes, com 4 replicas para cada concentração (WHO 2005). A mortalidade larval foi anotada diariamente (24-96h) e o intervalo de 24-48h foram utilizados para cálculos das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀), os testes foram finalizados após 96h. Os extratos da casca e da semente de *G. gardneriana* foram diluídos em etanol, pipetado na superfície da água de copos plásticos (150 ml) contendo 100 ml de água destilada e 25 larvas por copo foram introduzidas 30 minutos após a pipetagem.

2.4 ENSAIOS ADULTICIDAS

Para os testes adulticidas, os extratos solubilizados em etanol foram diluídos em sacarose 20% e pipetados sobre as gaiolas (30 gotas de 2 µL/gaiola) contendo 25 mosquitos, mantidos previamente durante 24h sem alimentação. Após 30 min, os mosquitos ingurgitados foram separados e a mortalidade acompanhada de 24-96h. Após isso, os mosquitos foram alimentados diariamente com sacarose 20% até a finalização dos experimentos (96h).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As concentrações letais (CLs) foram calculadas utilizando o programa de Análise (Minitab, Minitab Inc). Os efeitos das concentrações dos extratos na mortalidade de larvas e adultos foi analisada por Anova de dois fatores com medidas repetitivas (parte da planta e tempo) e comparadas pelo teste de Tukey (Prism 8.0. GraphPad Inc).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. AVALIAÇÃO DE MORTALIDADE LARVAL

A mortalidade larval após 48 horas de exposição a extratos da casca variou de 99 a 70% e 85 a 47% para *An. darlingi* e *Ae. aegypti*, respectivamente nas concentrações usadas. Para *An. darlingi* observou-se apenas diferenças na mortalidade entre a menor (5ppm) e as demais concentrações nas primeiras 24 horas de exposição e aumentos graduais para as demais concentrações até as 96 horas, exceto a maior (75ppm) ($F=2035$; $P<0,0001$ e $F=15,98$; $P<0,0001$). Para larvas de *Ae. aegypti* houve diferenças em praticamente todas as concentrações testadas e aumentos graduais de mortalidade ao longo do tempo para a maior parte das concentrações testadas ($F=13312$; $P<0,0001$ e $F=189$; $P<0,0001$) (Figura 1).

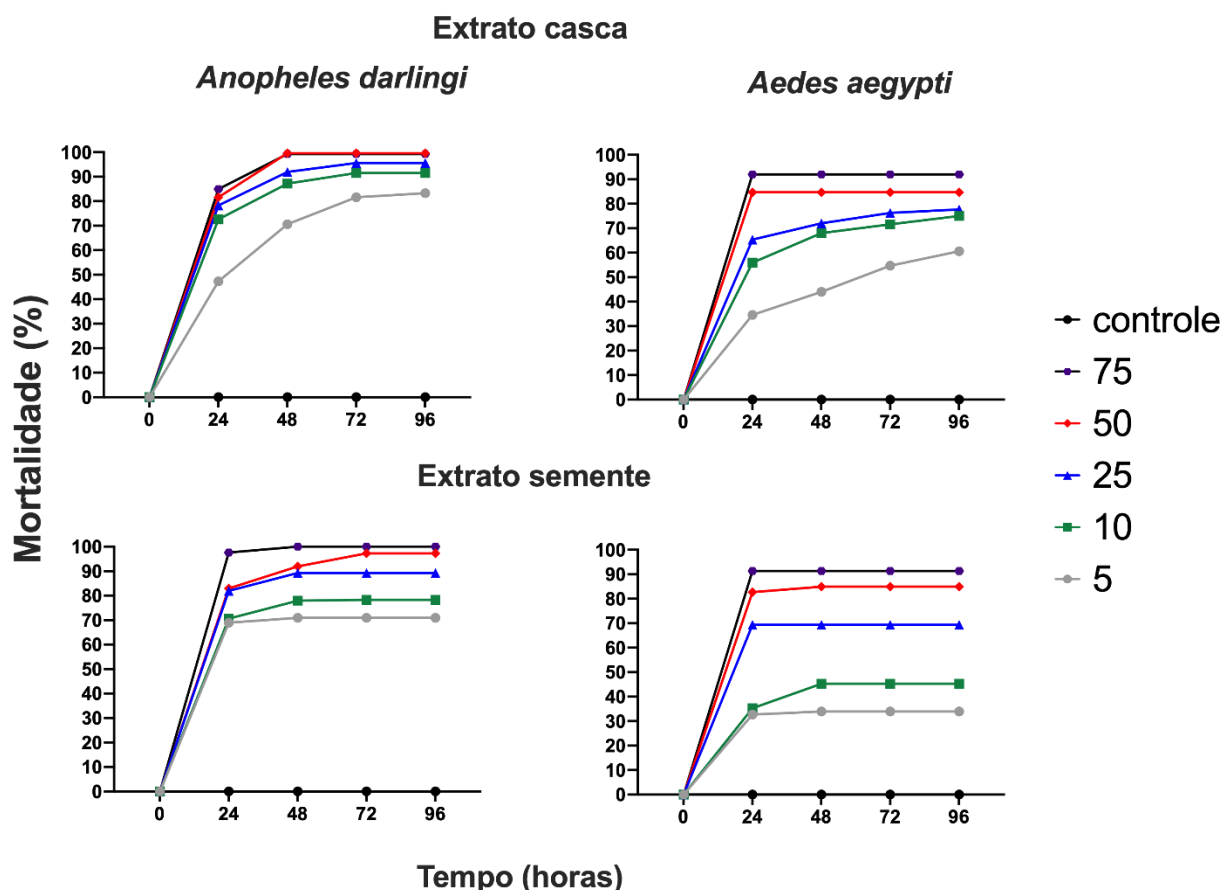


Figura 1. Mortalidade de larvas dos mosquitos *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* expostos a diferentes concentrações dos extratos etanólicos de diferentes partes da planta *Garcinia gardneriana* (bacupari) ao longo do tempo.

De forma semelhante ao extrato da casca, a mortalidade larval após 48 horas de exposição a extratos da semente variou de 97 a 69% e 91 a 34% para *An. darlingi* e *Ae. aegypti*, respectivamente, nas concentrações usadas. Diferentemente do extrato da casca, houve diferenças na mortalidade entre as concentrações de 75-25 ppm em relação as menores (5-10ppm). Para *An. darlingi*, observou-se diferenças na mortalidade entre as concentrações menores (5 e 10 ppm) e com pico de mortalidade observado após 24 horas na maioria das concentrações testadas ($F=3192$; $P<0,0001$ e $F=16,32$; $P<0,0001$). A mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* aumentou de forma significativa para cada concentração testada, atingindo seu pico após 48 horas ($F= 16575$; $P<0,0001$ e $F=8192$; $P<0,0001$) (Figura 1).

Na literatura, estudos apontam que *Garcinia gardneriana* possui atividade antiinflamatória (CASTARDO et al., 2008), antioxidante (SALLEH et al., 2017), anti-melanogênica (CAMPOS et al., 2013), antienzimática (SALLEH et al., 2017; RECALDE-GIL et al., 2017) e antibacteriana (SALLEH et al., 2017). Porém, não encontramos estudos prévios investigando o potencial inseticida de *G. gardneriana* e seus constituintes.

Por outro lado, vários trabalhos indicam o potencial inseticida de diferentes partes de plantas do gênero *Garcinia* contra mosquitos, e.g., frutos (TORRES; GARBO; WALDE, 2015) e compostos isolados (SASIKUMAR; GHOSH, 2017) de *Garcinia mangostana* contra larvas de *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (NGBOLUA et al., 2016), látex de *Garcinia morella* contra larvas de *Culex quinquefasciatus* (MURTHY et al., 2017); sementes de *Garcinia kola* contra larvas de *Anopheles gambiae* (ATABO; MANYI, EGBODO, 2019); nanopartículas do extrato aquoso da cascas de *Garcinia mangostana* contra larvas de *Ae. aegypti* (KARTHIGA; RAJESHKUMAR; ANNADURAI, 2018).

3.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ADULTICIDA POR MEIO DE ISCAS AÇUCARADAS

A mortalidade de adultos que ingeriram iscas açucaradas após 48 horas de exposição a extratos da casca variou de 86 a 54% e 80 a 50% para *An. darlingi* e *Ae. aegypti*, respectivamente nas concentrações usadas. A mortalidade de adultos de *An. darlingi* foi muito semelhante a mortalidade larval, i.e., diferenças entre as maiores concentrações e a menor (5ppm), bem como o aumento gradual da mortalidade ao longo do tempo ($F=382$; $P<0,0001$ e $F=2,48$; $P<0,0057$). Em geral, a mortalidade de adultos de *Ae. aegypti* aumentou

com incrementos de 15-25ppm entre as concentrações testadas, atingindo pico após 48 horas (F=22620; P<0,0001 e F=175; P<0,0001) (Figura 2).

A mortalidade de adultos que ingeriram iscas açucaradas após 48 horas de exposição a extratos da semente variou de 93 a 65% e 81 a 26% para *An. darlingi* e *Ae. aegypti*, respectivamente nas concentrações usadas. A mortalidade de adultos de *An. darlingi* (F=5557; P<0,0001 e F=27,37; P<0,0001) e também de *Ae. aegypti* (F=11858; P<0,0001 e F=534,6; P<0,0001) alimentados com iscas açucaradas contendo o extrato da semente também foi muito semelhante àquela observada para larvas dessas mesmas espécies (Figura 2).

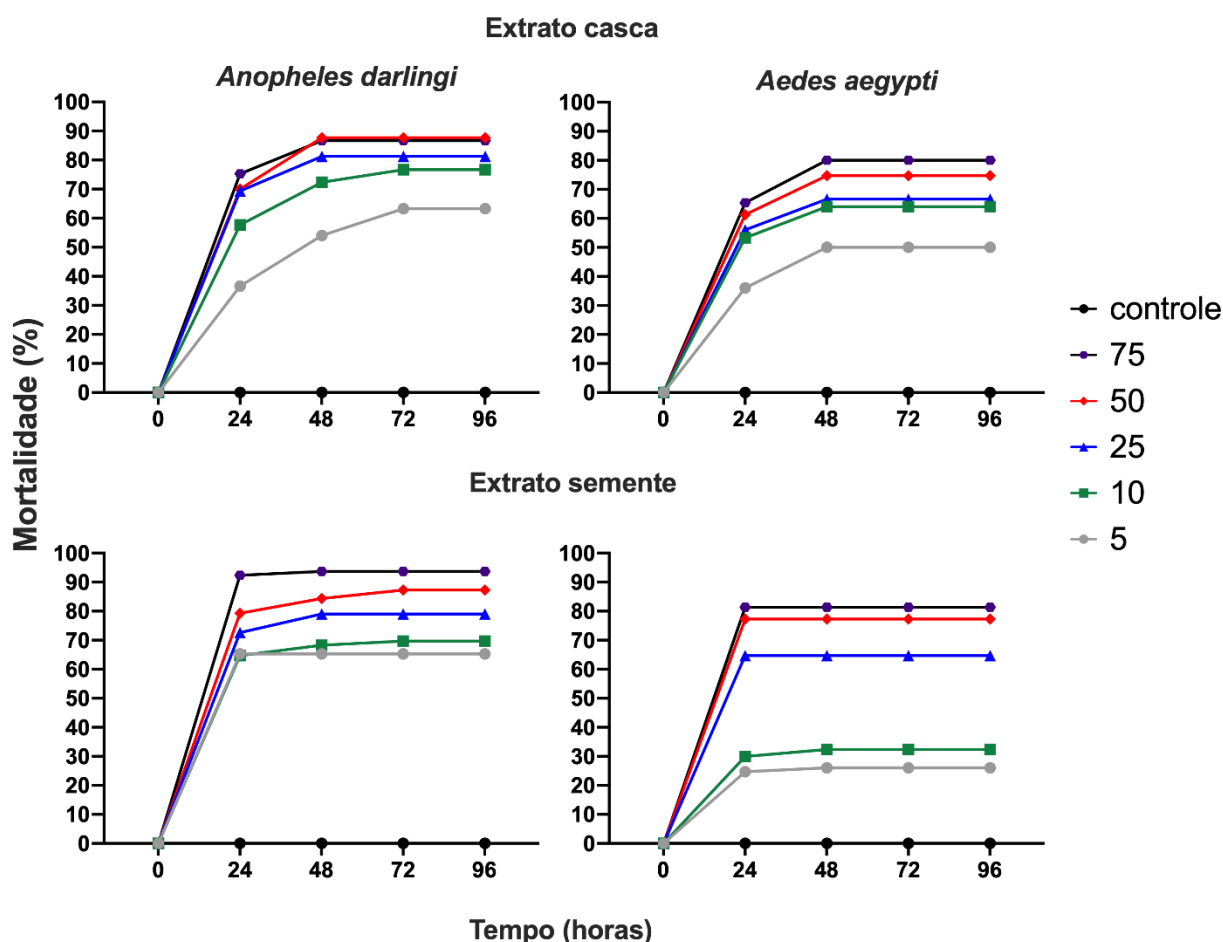


Figura 2. Mortalidade de adultos dos mosquitos *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* alimentados com solução de sacarose a 10% contendo a diferentes concentrações dos extratos etanólicos de diferentes partes da planta *Garcinia gardneriana* (bacupari) ao longo do tempo.

Embora não haja informações sobre o efeito de extratos e substâncias isoladas de plantas do gênero *Garcinia* em adultos de mosquitos, a utilização de iscas açucaradas contendo extratos de *G. gardneriana* é tão eficiente quanto seu uso como larvicida. Dessa forma, a utilização de iscas atrativas açucaradas tóxicas, que conseguem direcionar a toxicidade de compostos inseticidas apenas aos insetos misturando-os com sua fonte de alimento (FIORENZANO; KOEHLER; XUE, 2018) podem ser usadas como forma de controle alternativo desses vetores.

Como já sugerido pelos resultados de mortalidade dos estágios adulto e larval causada por extratos de diferentes partes do bacupari, e analisando-se de forma mais geral, não se observou diferenças entre efeito larvicida ($F=27,11$; $P<0,0001$) e adulticida ($F=16,58$; $P<0,0001$) das diferentes partes da planta para uma mesma espécie testada, mas, em geral, a mortalidade de larvas e de adultos foi maior para *An. darlingi*, exceto para adultos que ingeriram extrato da casca, em relação a *Ae. aegypti* (Figura 3).

Em média, 90% das larvas de *An. darlingi* e 72% de *Ae. aegypti* morreram após 48 horas de exposição ao extrato de casca, ligeiramente menor para aquelas expostas ao extrato da semente, i.e., 86 e 65%, respectivamente. Em relação à atividade adulticida, não se observou diferenças na mortalidade entre as duas espécies de mosquitos que ingeriram soluções açucaradas do extrato da casca e que causaram mortalidades de 67 a 76% para *Ae. aegypti* e *An. darlingi*, respectivamente. Por outro lado, a ingestão do extrato da semente por *An. darlingi* resultou em mortalidade 22% maior em relação a *Ae. aegypti* (Figura 3).

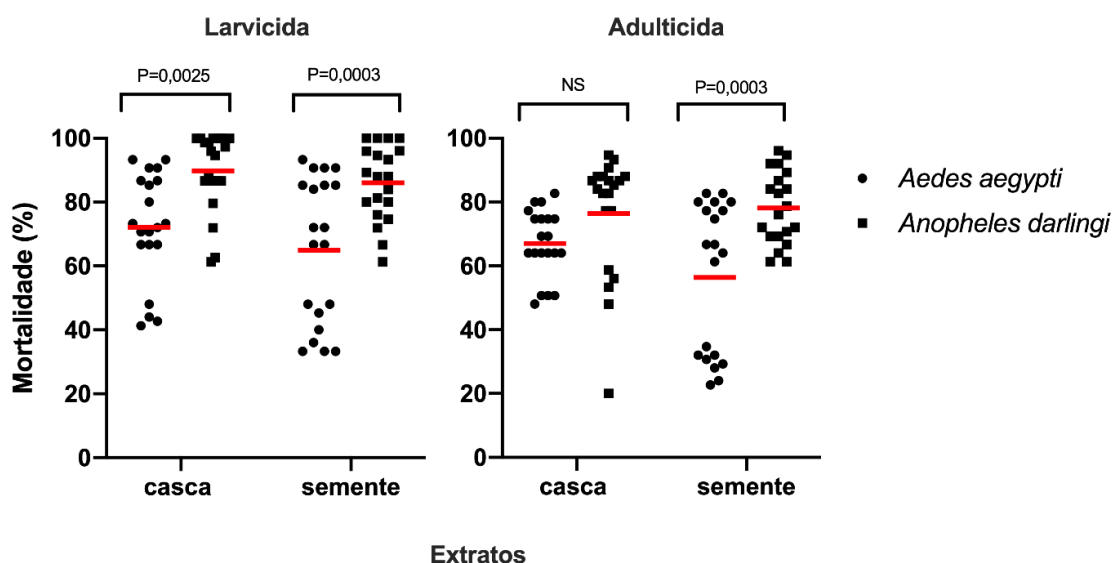


Figura 3. Efeito larvicida e adulticida de extratos de diferentes partes da planta *Garcinia gardneriana* (bacupari) sobre os mosquitos *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* após 48 horas de exposição a concentrações entre 5-75ppm.

Interessantemente, embora as concentrações letais para matar 50% de larvas e adultos utilizando o extrato etanólico de casca sejam baixas e similares entre as duas espécies de mosquito, *Ae. aegypti* precisou de concentrações do extrato da casca cerca de 3 a 6 vezes maiores para atingir a concentração letal necessária pra matar 90% de larvas e adultos. Diferentemente, o extrato da semente resultou em concentrações letais para 50% de mortalidade muito menores para *An. darlingi*, mas a concentração necessária pra matar 90% dos adultos de ambas espécies foi semelhante utilizando esse extrato (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações Letais em parte por milhão de extratos etanólicos da casca e semente de *Garcinia gardneriana* sobre larvas e adultos de *Anopheles darlingi* e *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

| Alvo | <i>Aedes aegypti</i> | | <i>Anopheles darlingi</i> | |
|--------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Casca | | Casca | |
| | LC ₅₀ (IC inf e sup) | LC ₉₀ (IC inf e sup) | LC ₅₀ (ICinf e sup) | LC ₉₀ (ICinf e sup) |
| Larva | 5,5 (4-7) | 70,2 (58-89) | 4,5 (3,1-5,7) | 21,1 (18,9-24,3) |
| Adulto | 5,2 (2,8-7,8) | 257 (159-549) | 2,9 (1,81-4,1) | 56,4 (43,2-82,1) |
| | Semente | | Semente | |
| Larva | 13 (11-15) | 70 (61-81) | 1,4 (0,8-2,1) | 25,5 (21,5-30,9) |
| Adulto | 17 (15-20) | 103 (87-126) | 1,76 (0,88-2,81) | 71 (54-104) |

IC= Intervalo de confiança; inf= Intervalo de confiança inferior e sup= intervalo de confiança superior

A diferença de atividade para diferentes partes da planta é completamente esperada, visto que diferentes solventes utilizados na extração solubilizam uma composição diferente de metabólitos secundários (CECHINEL-FILHO; YUNES, 1998). Sabe-se também que a composição de metabólitos secundários em uma planta pode variar de acordo com vários fatores, como época de coleta, estágio de desenvolvimento, quantidade de radiação solar, nutrientes no solo e diferentes partes da planta (PAVARINI et al., 2012).

Apesar de esse trabalho não investigar o mecanismo de ação no qual os extratos agiram, algumas revisões mostram que alguns dos principais mecanismos de ação de inseticidas de origem vegetal são a inibição da acetilcolinesterase, ativação do receptor de nicotina, disrupção do fluxo de sódio e potássio e interferência com os receptores octopaminérgicos (RATTAN, 2010). Em se tratando especificamente das larvas, Pavela et al. (2019) mencionam que os compostos interferem principalmente no sistema nervoso, na inibição de enzimas detoxificantes, no desenvolvimento larval e causando danos no intestino médio.

Um estudo que investigou a ação de outra espécie do gênero, *G. mangostana* contra *Aedes aegypti*, no qual duas xantonas preniladas tiveram sua ação larvicida testada. As substâncias obtiveram valores de LC₅₀ que variaram de 8,81-59,9 ppm. As xantonas preniladas agem como inibidores de proteínas carreadoras de colesterol, outro mecanismo envolvido em alguns inseticidas (SASIKUMAR; GHOSH, 2017).

Quanto à composição fitoquímica de *G. gardneriana*, o trabalho de Burgos (2010), que realizou uma análise fitoquímica nos extratos de *G. gardneriana*, relatou a presença de 11 triterpenos e 9 biflavonóides nos extratos brutos e frações acetato de etila de galhos e folhas. Já o trabalho de Zan et al. (2018) revelou que *G. gardneriana* é rica em fenóis. A análise fitoquímica revelou a presença de 12 fenóis, incluindo 5 biflavonóides, 4 flavonas, dois flavonóis e uma 3-flavan-3-ol. Um terceiro estudo, realizado por Atabo, Manyi e Egbodo (2019), realizou uma investigação do extrato bruto das sementes e identificou o ácido oléico (38,21%) e n-Propil-9,12-Octadecadienoato (29,60 %) como principais compostos constituintes, os quais são compostos lipofílicos. Os autores hipotetizaram que o mecanismo mais provável desse extrato seja a entrega de quinolinas tóxicas por meio de compostos lipofílicos, que conseguem atravessar a membrana, caracterizando uma interação sinérgica entre essas duas classes de compostos.

Considerando essas informações, é possível que as moléculas responsáveis pelos efeitos larvicidas e adulticidas observados no presente estudo sejam da classe dos flavonóides, quinolinas ou compostos lipofílicos como triterpenos e outras classes.

4. CONCLUSÃO

O potencial inseticida dos extratos de *G. gardneriana* e também de outras espécies do gênero, sugere que essa planta pode ser uma rica fonte para bioprospecção de moléculas inseticidas, com vantagens em relação a inseticidas sintéticos em uso por não apresentam resistência disseminada e por serem biodegradáveis, não causando problemas de poluição ambiental.

5. REFERÊNCIAS

ALENCAR, A. C.; MARINHO, L. C. Flora das cangas da serra dos Carajás, Pará, Brasil: Clusiaceae. **Rodriguésia**, v. 68, n. 3SPE, p. 935-944, 2017.

ATABO, S.; MANYI, M.; EGBODO, S. Evaluation of bioactive composition and larvicidal activities of *Garcinia kola* seeds on F2 *Anopheles gambiae* complex larvae (Diptera: Culicidae). **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 9, n. 4, p. 289-298, 2019.

BARTOLONI, A.; ZAMMARCHI, Lorenzo. Clinical aspects of uncomplicated and severe malaria. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 4, n. 1, p. e2012026, 2012.

BUKAR, A.; TUKUR, Z. Plant extracts as a source of bio-insecticide for mosquito control, review. **International Journal of Mosquito Research**, v. 6, n. 6, p. 81-84, 2019.

BURGOS. **Detecção *in silico*, isolamento e caracterização estrutural dos constituintes micromoleculares antimaláricos e antioxidantes em galhos e folhas de *Garcinia gardneriana* (Clusiaceae)**. (Dissertação) - Mestrado em Química - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, São Paulo, 2010.

CAMPOS, P. M.; HORINOUCI, C.D.S.; PRUDENTE, A.S.; CECHINEL-FILHO, V.; CABRINI, D.A.; OTUKI, M.F. Effect of a *Garcinia gardneriana* (Planchon and Triana) Zappi hydroalcoholic extract on melanogenesis in B16F10 melanoma cells. **Journal of ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 199-204, 2013.

CASTARDO, J. C.; PRUDENTE, A.S.; FERREIRA, J.; GUIMARÃES, C.L.; MONACHE, F.D.; CECHINEL-FILHO, V.; et al. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, n. 3, p. 405-411, 2008.

CECHINEL FILHO, V.; 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**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

COX, F. E. G. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. **Parasites & vectors**, v. 3, n. 1, p. 1-9, 2010.

DEMENCIANO, S. C.; SILVA, M. C. B. L., ALEXANDRINO, C. A. F.; JUNIOR, W. H. K.; FIGUEIREDO, P. O.; GARCEZ, W. S.; et al. Antiproliferative activity and antioxidant potential of extracts of *Garcinia gardneriana*. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3201, 2020.

ESPINOZA-QUIÑONE, F. R.; ZACARKI, C. E.; PALACIO, S. M.; OBREGÓN, C. L.; ZENATTI, D. C.; GALANTE, R. M.; et al. Remoção de elementos traços metálicos usando a macrófita aquática *Salvinia* sp.: **IX Encontro Nacional Sobre Contaminantes inorgânicos**, 2004.

FIORENZANO, J.M.; KOELLER, P.G.; XUE, R. Attractive toxic sugar bait (ATSB) for control of mosquitoes and its impact on non-target organisms: a review. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 4, p. 398, 2017.

FOLETTTO E. L.; ROS, S.; CARLESSO F.; JAHN, S. L. Uso de biomassa como absorvente para a contenção de derramamento de óleo. **Acta Ambiental Catarinense**, v. 6, p. 10-15. 2009.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. Vol. II. Edusp, 2002.

GASPAROTTO JR., A.; BREZZAN, M. A.; PILOTO, I. C.; CORTEZ, D. A.G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D.; et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *Calophyllum brasiliense* CAMB (CLUSIACEAE). **Química Nova**, v. 28, p. 575-578, 2005.

HAY, A. E.; HÉLESBEUX J. J.; DUVAL, O.; LABAIED, M.; GRELLIER, P.; RICHOMME, P. Antimalarial xanthenes from *Calophyllum caledonicum* and *Garcinia vieillardii*. **Life Sciences**, v. 75, p. 3077–3085, 2004.

HIWAT H.; BRETAS G. Ecology of *Anopheles darlingi* Root with respect to vector importance: a review. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 177, 2011.

JAYARAMAN, M.; SENTHILKUMAR, A.; VENKATESALU, V. Evaluation of some aromatic plant extracts for mosquito larvicidal potential against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi*. **Parasitology research**, v. 114, n. 4, p. 1511-1518, 2015.

KANNIS, L. A.; PROPHIRO, J. S.; VIEIRA, E. S.; NASCIMENTO, M. P.; ZEPON, K. M.; KULKAMP-GUERREIRO, I. C. Larvicidal activity of *Copaifera* sp. (Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Parasitology Research**, v. 108, p. 5, 2011.

KARTHIGA, P.; RAJESHKUMAR, S.; ANNADURAI, G. Mechanism of larvicidal activity of antimicrobial silver nanoparticles synthesized using garcinia mangostana bark extract. **Journal of Cluster Science**, v. 29, n. 6, p. 1233-1241, 2018.

MALA, A. O.; IRUNGU, L. W.; SHILILU, J. I.; MUTURI, E. J.; MBOGO, C. C.; NJAGI, J. K.; et al. Dry season ecology of *Anopheles gambiae* complex mosquitoes at larval habitats in two traditionally semi-arid villages in Baringo, Kenya. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 25, 2011.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K.; MSONTHI, J. D. Isolation of antifungal and larvicidal constituents of *Diplolophium buchanani* by centrifugal partition chromatography. **Journal of Natural**, v. 58, p. 128-130, 1995.

MULLER, D. A.; DEPELSENAIRE, A. C. I; YOUNG, P. R. Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 215, n. suppl_2, p. S89-S95, 2017.

MURTHY, H. N.; JOSEPH, K.S.; PAYAMALLE, S.; DALAWAI, D.; GANAPUMANE, V. Chemical composition, larvicidal and antioxidant activities of latex from *Garcinia morella* (Gaertn.) Desr. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, n. 3, p. 666-670, 2017.

NAUEN, R. Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 63, n. 7, p. 628-633, 2007.

NGBOLUA, K. N.; KARUMEL, K.L.; BONGOL, G.N.; MWANZAL, G.B.; TSHILANDA, D.D.; DAMIEN, S.T.; TSHINBAGU, V.M.; MPIANA, P.T. Larvicidal activity validation of *Scorodophleous zenkeri* Harms and *Garcinia mangostana* L. from Democratic Republic of the Congo using *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as model system. **Journal of Advancement in Medical and Life Sciences**. v.4, n.1, p.1-4, 2016.

OSANLOO, M.; DSEDAGHAT, M.M.; SANEI-DEHKORDI, A.; AMANI, A. Plant-derived essential oils; their larvicidal properties and potential application for control of mosquito-borne diseases. **Galen Medical Journal**, v. 8, p. 1532, 2019.

PAVARINI, D. P.; PAVARINI, S.P.; NIEHUES, M.; LOPES, N.P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, n. 1-4, p. 5-16, 2012.

PAVELA, R.; MAGGI, F.; ROMILDE, I.; BENELLI, G. Plant extracts for developing mosquito larvicides: from laboratory to the field, with insights on the modes of action. **Acta tropica**, v. 193, p. 236-271, 2019.

PINHEIRO, L.; CORTEZ, D. A. G.; VIDOTTI, G. J.; YOUNG, M. C. M. FERREIRA, A. G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida de *Kielmeyera variabilis* MART. **Química Nova**, v.26, p. 157-160, 2003

PIPLANI, M.; BHAGWAT, D.P.; SINGHVI, G.; SANKARANARAYANAN, M.; BOLANA-FOUCE, R.; VATS, T.; et al. Plant-based larvicidal agents: An overview from 2000 to 2018. **Experimental parasitology**, v. 199, p. 92-103, 2019.

PONTES, R. J. S.; FILHO, F. F. D.; ALENCAR, C. H. M.; REGAZZI, A. C.F.; CAVALCANTI, L. P. G.; RAMOS-JR, A. N.; et al. O. Impact of water renewal on the residual effect of larvicides in the control of *Aedes aegypti*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.105, p. 220-224, 2010.

RAJJKUMAR, S.; JEBANESAN A. Bioactivity of flavonoid compounds from *Poncirus trifoliata* L. (Family: Rutaceae) against the dengue vetor, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 104 p. 19-25, 2008.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

RECALDE-GIL, M. A.; KLEIN-JÚNIOR, L.C.; PASSAOS, C.S.; SALTON, S.; BORDIGNON, S.A.L.; MONACE, F.D.; et al. Monoamine oxidase inhibitory activity of biflavonoids from branches of *Garcinia gardneriana* (Clusiaceae). **Natural Product Communications**, v. 12, n. 4, p. 505-508, 2017.

REN, M. Greater political commitment needed to eliminate malaria. **Infectious diseases of poverty**, v. 8, n. 1, p. 1-4, 2019.

SALLEH, W.M.N.H. W.; SAZALI, N.S.A.N.; AHMAD, F.; TAHER, M. Biflavonoids from the leaves and stem bark of *Garcinia griffithii* and their biological activities. **Marmara Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 4, p. 889-897, 2017.

SASIKUMAR, K.; GHOSH, A. R. Larvicidal activity of prenyl xanthenes from *Garcinia mangostana* against dengue vector. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 12, n. 3, p. 282-283, 2017.

SCHNEIDER, I.A.H. **Biossorção de Metais Pesados com a Biomassa de Macrófitos Aquáticos**. (Tese) Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1995

SHAALAN, E. A. S.; CANYON, YOUNESC, D. M. W.F.; ABDEL-WAHAB, H.; MANSOURA, A.H. Phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, p.1149–1166, 2005.

SILVA, H. H. G.; SILVA I. G.; SANTOS, R. M. G.; FILHO, E. R.; ELIAS, C. N. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. 59(Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, p. 396-399, 2004.

SILVA, I. G.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; SILVA, H. H. G.; ELIAS, C.N.; MADY, C. M.; et al. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia*

pubescens sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), em criadouros artificiais. **Revista de Patologia Tropical**, v.32, p. 73-86, 2003

TORRES, R. C.; GARBO, A.G.; WALDE, R.Z.M.L. Larvicidal activity of *Garcinia mangostana* fruit wastes against dengue vector *Aedes aegypti*. **Journal of Animal Plant Science**, v. 25, p. 1187-1190, 2015.

VASCONCELOS, J. N.; LIMA, J. Q.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; ALMEIDA M. M. B.; ANDRADE-NETO, M.; et al. Estudo químico e biológico de *Tephrosia toxicaria* Pers. **Química Nova**, v. 32, p. 382-386, 2009.

ZAN, R. A.; FERNANDES, A.; JEDOZ, S.; OLUDEMI, T.; CALHELHA, R.C.; PIRES, T.C.S.; et al. Bioactive properties and phytochemical assessment of Bacupari-anão (*Garcinia brasiliensis* Mart.) leaves native to Rondônia, Brazil. **Food & function**, v. 9, n. 11, p. 5621-5628, 2018.

WHO (World Health Organization). **Guidelines for laboratory and Field testing for mosquito larvicidas.** Disponível em <https://www.who.int/whopes/resources/who_cds_whopes_gcdpp_2005.13/en/>. Acessado em 10/02/2015.

WILDER-SMITH, A.; OOI, E.; HORSTICK, O.; MILLS, B.M.D. Dengue. **The Lancet**, v. 393, n. 10169, p. 350-363, 2019.

EFEITOS BIOLÓGICOS DO CAMU-CAMU: REVISÃO DE LITERATURA E ANÁLISES *in vitro* DOS EFEITOS CICATRICIAIS

Euler Ribeiro-Filho¹, Danieli Monteiro Pillar², Beatriz S Nunes Cunha², Bruna Chitolina², Nathalia Bonotto², Ivana Beatrice Mânica da Cruz^{2,3,4}, Verônica Farina Azzolin^{2,3}, Raquel de Souza Praia⁵, Ednea Aguiar Maia-Ribeiro⁵, Ivo Emílio da Cruz Jung⁴ e Fernanda Barbisan^{1,2,3,4}

1. Especialização em Saúde do Idoso- Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade, Manaus, Amazonas, Brasil;
2. Laboratório de Biogenômica- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil;
3. Programa de Pós-Graduação em Gerontologia- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil;
4. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil;
5. Fundação Universidade Aberta da Terceira Idade, Manaus, Amazonas, Brasil.

RESUMO

Introdução: O Camu-camu (*Myrciaria dúbia*), é um fruto do camucamuzeiro, planta nativa da Região Amazônica. Ainda pouco estudado e explorado, recentemente estudos com modelos de cultura de células, animais e humanos vem possibilitando a descoberta de diversas propriedades biológicas importantes, incluindo a alta quantidade de vitamina C. Uma das hipóteses é que o fruto Camu-camu poderia auxiliar na cicatrização de lesões de pele, uma vez que com o processo de envelhecimento é fisiológica a fragilização da pele, favorecendo o aparecimento de lesões e a dificuldade de cicatrização. **Objetivo:** Buscou-se revisar os efeitos biológicos do Camu-Camu e realizar análises *in vitro* do possível efeito pró-cicatrização deste fruto. **Metodologia:** As plataformas Pubmed e Scielo foram utilizadas como base de dados para a pesquisa, cujo as palavras-chave foram “Camu-camu or *Myrciaria dúbia*”, critérios de inclusão exclusão foram utilizados para a seleção dos artigos. Para as análises *in vitro*, foi utilizada linhagem celular de fibroblastos (HFF-1), obtida comercialmente, as células foram cultivadas em condições estéreis e padronizadas. Foram realizados os ensaios do Stretch Assay (ensaio dos arranhões) e dos níveis de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). **Resultados:** Foram incluídas nesta revisão 18 artigos originais, que relataram diferentes atividades biológicas do Camu-camu como nefroprotetora, hepatoprotetora, antioxidante, anti-inflamatória, hipolipimiente e hipoglicemiante dentre outras. Nos ensaios *in vitro*, o Camu-camu mostrou efeito pró proliferação celular/ cicatrização bem como a modulação dos níveis de EROs. **Conclusão:** Apesar das limitações metodológicas inerentes, nossos resultados mostram uma série de efeitos positivos do Camu-camu, a partir de relatos prévios. Ainda, este é o primeiro estudo, cujo a ação pró-

cicatrização do Camu-camu é testada, e os resultados, mostram-se positivos, entretanto apesar de promissores, precisam ser confirmados por mais estudos.

Palavras- Chave: Envelhecimento, Lesões de pele e Antioxidante.

ABSTRACT

Introduction: Camu-camu (*Myrciaria dubia*), is a fruit of the camucamuzeiro, a plant native to the Amazon Region. Still little studied and explored, however, botanical and chemical research has shown that this fruit has very high levels of vitamin C. Studies with cell, animal and human culture models have enabled the discovery of several important biological properties. It should also be taken into account that Brazil is a country that is aging at an accelerated pace, and that with the aging process, the fragility of the skin is physiological, favoring the appearance of lesions and the difficulty of healing. **Objective:** We sought to review the biological effects of Camu-Camu and perform in vitro analyzes of the possible pro-healing effect of this fruit. **Methodology:** The Pubmed and Scielo platforms were used as a database for the research, whose keywords were “Camu-camu or Myrciaria dubia”, inclusion exclusion criteria were used for the selection of articles. For in vitro analyzes, fibroblast cell line (HFF-1) was used, obtained commercially, the cells were cultured under sterile and standardized conditions. Stratch Assay (scratch test) and Reactive Oxygen Species (ROS) levels were performed. **Results:** 18 original articles were included in this review, which reported different biological activities of Camu-camu as nephroprotective, hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory, hypolipimic and hypoglycemic, among others. In in vitro assays, Camu-camu showed an effect on cell proliferation / healing as well as the modulation of ROS levels. **Conclusion:** Despite the inherent methodological limitations, our results show a series of positive effects of Camu-camu, based on previous reports. This is the first study, whose Camu-camu pro-healing action is tested. Our results, although promising, need to be confirmed by further studies.

Keywords: Aging, Skin lesions and Antioxidant.

1. INTRODUÇÃO

O Camu-camu ou “caçari” ou “araçá d'água”, de nome científico *Myrciaria dubia*, pertencente à família Myrtaceae, é uma fruta nativa da região amazônica ainda não domesticada e em estado rudimentar de cultivo (EMBRAPA, 2012).

É um arbusto ou pequena árvore que pode alcançar de 3 m a 6 m de altura. O fruto é baga globosa com epicarpo liso e brilhante, de cor vermelho-escura até púrpura ao amadurecer, com tamanhos e pesos variados, alcançando entre 2 cm a 4 cm de diâmetro, e massa média variando de 8 g a 10 g, contendo de uma a três sementes por fruto (Figura 1) (EMBRAPA, 2012).



Figura 1. Camu Camu.

(A) Imagem de uma árvore de Camu Camu. (B e C) Detalhes da árvore e do fruto de Camu Camu. Fonte: Embrapa, 2017.

O Camucamuzeiro é típico do clima tropical úmido, encontrado principalmente em regiões de várzea, tendo a capacidade de sobreviver submerso, por até 6 meses. É encontrado naturalmente no Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil. Sendo o Peru o maior produtor e exportador da fruta (EMBRAPA, 2012).

É economicamente relevante para a região amazônica, por crescer em regiões em que outras espécies não conseguem e principalmente, pelo fato de o Camu-camu ter alto teor de vitamina C, tendo até 7355 mg por 100 g de polpa (GRIGIO et al., 2016). Anteriormente, em 2006, Maeda e colaboradores determinaram que a concentração de vitamina C é, 20 vezes maior que a encontrada na acerola e 100 vezes maior que a do limão.

Entretanto, devido a sua acidez o fruto é pouco consumido *in natura*, sendo utilizado na forma de sucos, purês e principalmente a polpa é matéria-prima na produção de bebidas e como ingrediente alimentar. Ainda, pode ser empregado com funções de conservante e aditivo funcional, melhora simultaneamente a estabilidade alimentar e o valor nutricional (CONCEIÇÃO et al., 2020).

Devido às altas quantidades de moléculas bioativas, o camu camu é classificado como um alimento funcional (AKTER et al., 2011). E cada vez mais vem sendo estudado por suas propriedades biológicas benéficas a saúde. Neste sentido, nosso objetivo é revisar estudos sobre os efeitos biológicos do Camu-Camu e realizar análises *in vitro* dos efeitos pró-cicatrização.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 SELEÇÃO DE ARTIGOS

Os artigos analisados nesta revisão foram selecionados a partir de duas plataformas eletrônicas: PUBMED e SCIELO, acessadas em 01 de maio de 2019 e 19 de fevereiro de 2020, usando filtros de pesquisa: “*Myrciaria dúbia* or camu camu”.

Estudos descrevendo informações potencialmente associadas à atividades biológicas do Camu-camu foram selecionados. A maioria dos estudos incluídos foi publicada em inglês, no entanto, estudos publicados em português também foram incluídos.

Foram excluídos artigos de revisão de literatura, bem como aqueles que tratavam de caracterização química, análises ecológicas e de propagação da planta. Também foram excluídos estudos que não utilizassem um modelo experimental de linhagem de células ou microorganismos, ou animais ou incluíssem seres humanos.

2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO

O extrato de camu camu foi obtido comercialmente da Puravida - Comercio De Produtos Naturais LTDA (CNPJ 05.446.519/0001-11) com indústria localizada em Jundiaí-SP. O produto foi obtido via site da loja de produtos naturais disponibilizada no seguinte endereço: <<https://www.fontesipanema.com.br/mercearia/camu-camu-berry-150g>>.

2.3 CULTURA DE CÉLULAS

As células utilizadas neste estudo foram obtidas comercialmente através do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram cultivadas em condição padronizada em

meio de cultura Eagle médio modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado com soro bovino fetal a 15%, 100 unidades / mL de penicilina e estreptomicina. Mantidas a 37 ° C , em ambiente com 5% de saturação de CO₂ e 95% de umidade. O meio de cultura foi suplementado com extrato camu camu que foi dissolvido em meio DMEM não suplementado com soro bovino fetal e filtrado com filtros estéreis com poros de 0,22 µm, antes do uso para evitar a presença de microrganismos.

2.4 PROLIFERAÇÃO/CICATRIZAÇÃO VIA ENSAIO SCRATCH

A migração de células fibroblásticas na região arranhada da cultura foi avaliada após 24 e 72 horas com e sem suplementação de camu camu. O efeito do camu camu na resposta à cicatrização de fibroblastos foi determinado pelo ensaio de cicatrização de arranhões (*Scratch*), conforme realizado em estudos anteriores por Nicolaus et al. (2017) com pequenas modificações. Resumidamente, as células foram semeadas a uma densidade de 1×10^4 células / poço em uma placa de cultura de 12 poços e incubadas por 24 horas. Após a incubação, o meio de cultura DMEM foi aspirado e a camada celular aderente foi arranhada com uma ponteira amarela (0-200 µl) estéril. Além disso, os detritos celulares foram removidos por lavagem com tampão fosfato, pH 7,4. O meio completo com e sem o extrato de camu camu foi então adicionado a cada poço. A imagem da área arranhada foi capturada sob microscopia de campo claro (20 x) e a migração foi analisada usando o software Digimizer (versão 5.3.4), que permitiu medições manuais precisas e detecção automática com medições das características da cultura de células.

2.5 PRODUÇÃO DE EROS

A produção de EROs, foi avaliada via ensaio fluorimétrico da 2,7 diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA), o teste foi realizado conforme descrito em Barbisan et al., 2014.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram inicialmente tabulados em uma planilha Excel e analisados via software *Graph Pad Prism* versão 5.0. Todos os experimentos foram realizadas em triplicatas com um mínimo de cinco repetições para cada tratamento. Os resultados do tratamento foram comparados pela análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste *post*

hoc de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS

De um total de 38 artigos encontrado no Pubmed, 3 foram excluídos por se tratarem de revisão de literatura e 20 por se tratarem de análises químicas ou de caráter ecológico, reprodutivo da planta. Foram incluídos 13 artigos por atenderem os critérios já descritos.

E relação a Scielo, de um total de 55 artigos encontrados, 2 foram excluídos por se tratar de revisão de literatura, 2 por terem duplicidade com outros já incluídos da plataforma Pubmed e 46 excluídos por se tratarem de análises químicas ou de caráter ecológico, reprodutivo da planta. Foram incluídos 5 artigos oriundos da plataforma Scielo. No total esta revisão incluiu 18 artigos que tratam sobre atividades biológicas do camu camu (Figura 2).

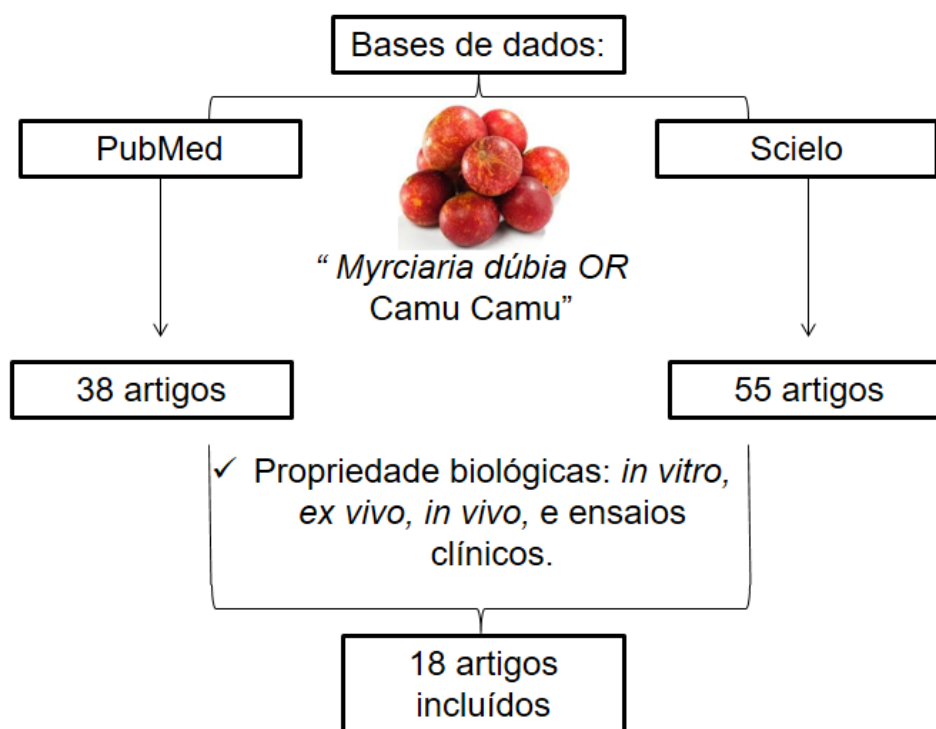


Figura 2. Mecanismos e Plataformas de busca e seleção de artigos.

Diferentes métodos de obtenção do extrato foram empregados, bem como diversos modelos de estudo, como pode ser observado abaixo no quadro 1:

Quadro1. Atividade Biológica do Camu Camu.

| Autor e ano | Modelo do estudo | Composto testado | Atividade Biológica relatada |
|-----------------------------|---|--|--|
| Yazawa et al., 2011 | <i>In vivo</i> (camundongos) e <i>In vitro</i> (macrófagos RAW 264.7) | Extrato metanólico da semente | Anti-inflamatório |
| Correia et al., 2016 | Protozoários, <i>in vitro</i> (câncer hepático HepG2) | Extrato diclorometanólico | Anti-malárico, leishmanicida, não citotóxico |
| Inoue et al., 2008 | Ensaio clínico | Ingestão diária de Suco | Antioxidante e anti-inflamatório. |
| Nascimento et al., 2013 | <i>In vivo</i> (ratos) | Ingestão diária de polpa por 12 semanas | Redução de triacilgliceróis, colesterol total, e do colesterol hepático |
| Yunis-Aguinaga et al., 2016 | <i>In vivo</i> (peixes) | Ração suplementada com extrato de Camu Camu | Antigenotóxico e antioxidante |
| Silva, et al., 2012 | <i>In vivo</i> (camundongos) | Suco da polpa Tratamentos agudos, subagudos e crônicos | Não induziu toxicidade |
| Gonzales et al., 2013 | <i>In vivo</i> (ratos) | Polpa dos Frutos | Pró-espermatogênico |
| Akachi et al., 2010 | <i>In vivo</i> (ratos) | Extrato de camu camu | Hepatoprotetor |
| Kaneshima et al., 2017 | Microorganismos (bactérias e fungos) | Compostos da pele e semente do camu camu | Antimicrobiano e anti-fungico. |
| Miyashita et al., 2018 | Mini Ensaio Clínico | Cápsulas de polpa de camu camu | Possível protetor arterial |
| Fidelis et al., 2019 | <i>In vitro</i> (cultura de células e linhagens bacterianas) | Extrato aquoso e hidroalcoólico de sementes | Anti-hiperglicêmicos, antiproliferativos, antimicrobianos, anti-hemolíticos, anti-inflamatórios e anti-hipertensivos |
| Fidelis et al., 2020 | <i>In vitro</i> (Cultura de células) | Extrato de semente de camu camu | Anti—proliferativo frente a alguns tipos de células cancerosas |
| Carmo et al., 2019 | <i>In vivo</i> (ratos) | Extrato hidroalcoólico da casca de camu camu | O extrato foi eficiente, entretanto não tanto quanto a gastrectomia vertical no controle do peso corporal |

| | | | |
|-----------------------|--------------------------------|---|---|
| Vargas et al., 2015 | Ensaio clínico | Cápsulas extrato da polpa de camu camu | Ação hipolipidêmica e hipoglicemiante |
| Doroteo et al., 2012 | <i>In vitro</i> (Fibroblastos) | Extrato hidroalcoólico do camu camu (fruto inteiro) | Fotoprotetor |
| Schwartz et al., 2012 | <i>In vivo</i> (ratos) | Suco da Polpa | O suco de camu-camu apresentou efeito modulador do perfil lipídico em ratos dislipidêmicos. |
| Alvis et al., 2010 | <i>In vivo</i> (ratos) | Ração suplementada com extrato da polpa | Efeito citoprotetor em células sanguíneas, fígado e rins. |
| Becerra et al., 2019 | <i>In vivo</i> (ratos) | Extrato alcoólico da polpa | Nefroprotetor |

O efeito do extrato de camu camu na migração de fibroblastos foi avaliado através da análise da área arranhada na cultura. A imagem capturada da área de arranhões às 0 h é mostrada na Figura 3A, a Figura 3B mostra a migração de fibroblastos tratados com camu camu após 24 h. A Figura 3C mostra a área arranhada em fibroblastos controle após 72 h, a imagem é clara em demonstrar menor concentração celular em comparação com a concentração celular em células tratadas com camu camu (250µG/mL) (Figura 3D).

Em ambas as concentrações testadas (250 µG/mL e 500 µG/mL), o camu camu induziu aumento na taxa de migração de fibroblastos em comparação com a taxa de migração observada no grupo controle (Figura 3E).

Também foi avaliado o efeito do camu camu na formação de EROs. Ao comparar os diferentes momentos após a arranhadura nas células (Ensaio Stratch), nota-se que ambas as concentrações tiveram resultados similares na diminuição da produção de EROs após 24 horas em relação ao controle, entretanto, após 72 horas a concentração de 500µG/mL teve uma maior efetividade no combate as EROs (Figura 4).

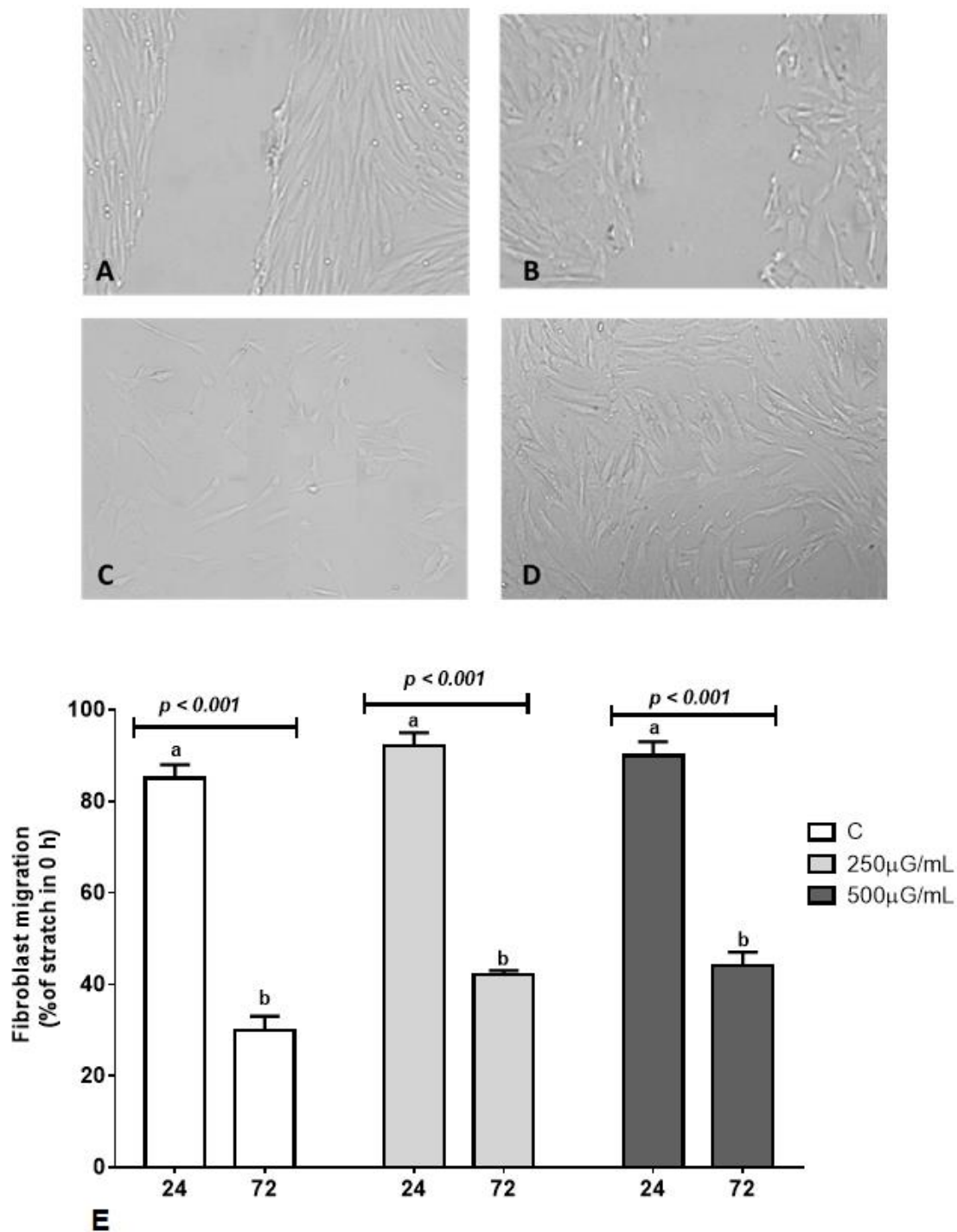


Figura 3. Análise da migração de fibroblastos usando o ensaio de cicatrização Scratch. (A) área arranhada da cultura de fibroblastos; (B) migração de fibroblastos tratados com camu camu após 24 h. (C) mostra a área arranhada em fibroblastos controle após 72 h, (D) tratamento com camu camu (250µg/mL), após 72 h. (E) Migração de fibroblastos do ensaio de cicatrização Scratch expresso como migração celular relativa calculada dividindo a variação percentual na área arranhada das células tratadas com camu camu às 24 h ou 72 h em comparação com a área no tempo 0 h em cada tratamento. O período de tempo de cada tratamento para curar a ferida foi comparado pela análise de variância One-Way seguida pelo teste post hoc de Tukey. As diferenças estatisticamente significativas são indicadas por letras diferentes correspondentes a cada tratamento (a, b, c).

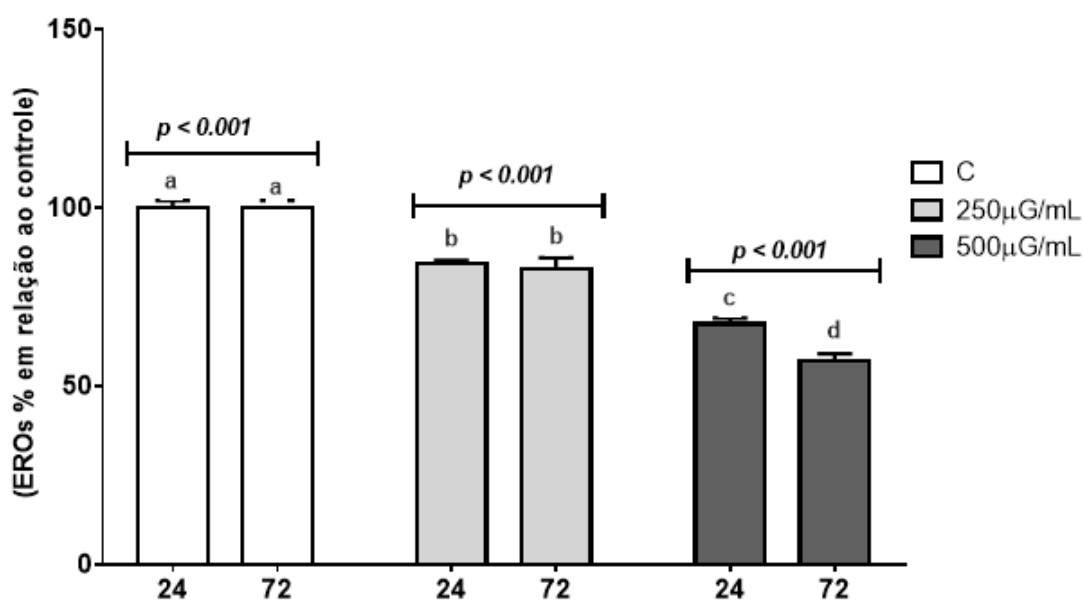


Figura 4. Níveis de EROs.

A formação de EROs, foi avaliada comparando os níveis após os respectivos tempos com a amostra controle por análise de variância One-Way seguida pelo teste post hoc de Tukey. As diferenças estatisticamente significativas são indicadas por letras diferentes correspondentes a cada tratamento (a, b, c).

3.2 DISCUSSÃO

Os estudos incluídos nestas revisão foram provenientes de modelos bastante diversos incluindo diferentes cepas de microorganismos: protozoários e bactérias. Bem como, as linhagens celulares de macrófagos, fibroblastos e câncer hepático, como modelos animais foram incluídos estudos com camundongos, ratos e peixes, além de mini ensaios clínicos com seres humanos.

Em 2012, Doroteo e colaboradores utilizando linhagem comercial de Fibroblastos 3T3, demonstraram que concentração de 200µG/mL de extrato hidroalcoólico de Camu-camu, induziu 43,6% de fotoproteção frente a radiação UV-B. Segundo os autores, este é um bom efeito fotoprotetor. Sendo este o único estudo com linhagem de fibroblastos encontrado em nossas buscas.

Já em 2016, Correia e colaboradores, utilizando linhagens de protozoários, investigaram o efeito do extrato da polpa de Camu-Camu, frente a leishmania utilizando *Leishmania amazonensis*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania chagasi* (promastigotos) e malária com o parasita *Plasmodium falciparum*. O mesmo estudo avaliou o efeito citotóxico do Camu-camu frente a células da linhagem de câncer hepático HepG2. Os resultados

destes estudos mostraram que o Camu-camu poderá ser uma fonte importante para o desenvolvimento de novos medicamentos para tratamento de leishmaniose e malária, já que seu extrato tem ação contra o parasita *P. falciparum*, e apresentou atividade moderada contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e não foi tóxico para as células HepG2 nos testes *in vitro*. Desta forma, é preciso que mais estudos com animais e com diferentes frações do extrato sejam realizados para que em caso de comprovação dos resultados, se possa utiliza-lo como uma nova forma de tratamento a estas doenças parasitárias, ainda comuns na Amazônia.

Com o consumo cada vez maior do Camu-camu, há um aumento na quantidade residual de casca e das sementes, que totalizam cerca de 40% da fruta fresca, que ainda não são utilizados para outras aplicações. Assim, o estudo de Kaneshima et al. (2017), investigou a ação dos constituintes da casca e sementes do camu-camu frente a 9 diferente cepas bacterianas (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*) e os fungos *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*, o estudo concluiu que as cascas e sementes de frutos de Camu-camu apresentam características antimicrobianas.

Fidelis e colaboradores (2019), realizaram um extenso estudo com linhagens celulares e cepas bacterianas em que o o extrato da semente de Camu-camu demonstrou atividades antihiperlipidêmica, antiproliferativas, antimicrobianas, anti-hemolíticas, anti-inflamatórias e anti-hipertensivas.

Ainda em relação as propriedades da semente de Camu-camu, Yazawa et al. (2011), avaliaram o extrato metanólico de sementes quanto à sua atividade anti-inflamatória em um modelo de edema de pata induzido, em camundongos. O extrato suprimiu significativamente a formação de edema em camundongos por administração oral e a liberação de óxido nítrico a partir de macrófagos RAW 264.7.

Seguindo na linha de estudos sobre potencial anti-inflamatório, Innoue et al. (2008), avaliaram as propriedades anti-oxidativas e anti-inflamatórias do camu-camu em 20 voluntários fumantes do sexo masculino, considerados com em um estado de estresse oxidativo acelerado, foram recrutados e designados aleatoriamente para tomar diariamente 70 ml de camu-camu 100% suco, correspondendo a 1050 mg de vitamina C ou 1050 mg de comprimidos de vitamina C por 7 dias. Após 7 dias, os marcadores de estresse oxidativo e marcadores inflamatórios, diminuíram significativamente no grupo camu-camu. Sugerindo que o suco de camu-camu pode ter propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias

poderosas, em comparação com os comprimidos de vitamina C que contêm conteúdo equivalente em vitamina C. Esses efeitos podem ser devidos à existência de substâncias antioxidantes desconhecidas além da vitamina C.

Nascimento e colaboradores 2013, investigaram a ação antiobesidade da ingestão da polpa de Camu-camu em um modelo de rato com obesidade induzida por injeção subcutânea de glutamato monossódico e dieta. Os animais que receberam Camu – Camu tiveram redução do peso corporal e gordura epididimal e visceral, redução de marcadores do metabolismo lipídico, e da gordura depositada no coração e fígado, além de diminuir as proteínas inflamatórias. Assim, os autores sugerem que o Camu-camu pode ser utilizado com um ingrediente alimentar funcional no controle de doenças crônicas ligadas à obesidade.

Por sua vez Vargas e colaboradores 2015, obtiveram um resultado que pode ser considerado complementar ao de Nascimento et al. (2013). Em um estudo com 18 participantes, Vargas e colaboradores avaliaram o efeito da ingestão cápsulas de camu-camu por 15 dias, o qual demonstrou ação hipolipidêmica e hipoglicemiante. Carmo e colaboradores (2019), analisaram os efeitos da suplementação dietética com extrato hidroalcoólico da casca de Camu-Camu comparada à gastrectomia vertical no controle de peso de ratos Wistar. A conclusão do estudo mostrou que apesar da redução de peso, o extrato de Camu-Camu não foi tão eficiente quanto a gastrectomia vertical no controle do peso corporal em ratos Wistar. O resultado não pode ser considerado negativo, uma vez que a gastrectomia vertical se constitui da retirada de parte do estômago.

Recentemente em 2020, Fidelis e colaboradores estudaram efeito do extrato de Camu-camu, o qual inibiu a proliferação celular de Células HepG2 (carcinoma hepático humano) e células Caco-2 (células epiteliais de adenocarcinoma colorretal humano). Demonstrando assim, efeito antiproliferativo frente ao câncer. A figura 5 traz um resumo das propriedades do Camu- camu, compiladas nesta revisão.

Uma vez que a cicatrização da pele é um elemento fundamental para a saúde humana, por desempenhar funções como proteger e interagir com o meio externo. A ocorrência de lesões tanto por acidentes ou pressão, quanto em procedimentos cirúrgicos, pode representar risco a saúde humana. Assim, eficácia do processo de cicatrização pode ainda ser aprimorada através do desenvolvimento de produtos que tenham origem em plantas com uso tradicional, esta importância é potencializada quando levamos em consideração que o Brasil é um país megadiverso, sendo a região Amazônica o grande celeiro desta diversidade. E ainda, o fato de que a população brasileira está envelhecendo em ritmo acelerado, e que com o envelhecimento da pele a cicatrização torna-se cada vez

mais ineficiente (PELLENZ et al., 2018). Neste contexto, buscamos avaliar aqui o efeito do Camu-camu em análises *in vitro* na proliferação e cicatrização.

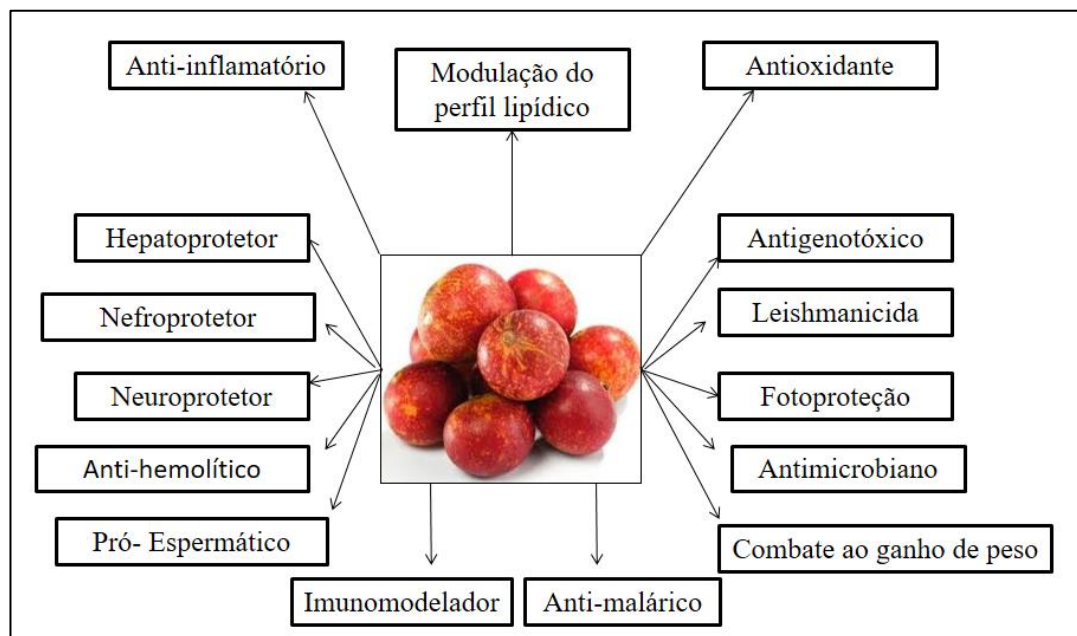


Figura 5. Propriedades do Camu- camu. O diagrama resume propriedades biológicas evidenciadas nos estudos revisados.

O potencial foi avaliado via ensaio de cicatrização de feridas por arranhões (*Scratch assay*). Na presença de tratamentos nas concentrações de 250µG/mL e 500 µG/mL, as culturas de fibroblastos apresentaram, maior proliferação principalmente após 72 horas na concentração de 500µG/mL.

A cicatrização de feridas é um processo complexo que envolve várias etapas e moléculas reguladoras produzidas principalmente por fibroblastos, queratinócitos e células do sistema imunológico. Convencionalmente, o processo é dividido em quatro fases que são conectadas entre si: (1) fase de hemostasia, (2) fase inflamatória, (3) fase proliferativa e (4) fase de maturação e remodelação (Sun et al., 2018). Vários estudos mostraram que os produtos naturais podem ter influência benéfica na cicatrização de feridas devido às suas características de síntese anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e indutora de colágeno (IBRAHIM et al., 2018).

Tais efeitos podem estar associados as moléculas bioativas, encontradas na matriz do Camu-camu. Quando ocorre uma ferida, a primeira fase inflamatória é significativa, pois produz uma matriz temporária que recruta células imunes locais e fibroblastos (MARTIN et

al., 2015). Durante esta fase em um tecido cutâneo lesionado (*in vivo*), as células imunes dos vasos sanguíneos secretam citocinas pró-inflamatórias e aumentam a expressão de EROs. A elevação dos níveis de EROs é essencial como mecanismo de proteção contra infecções microbianas. No entanto, a produção de EROs deve ser altamente regulada, pois altos níveis de EROs podem causar comprometimento da cicatrização e fibrose (BARNES; GORIN, 2011; STUNOVA et al., 2018). Além disso, níveis descontrolados de EROs podem levar ao estresse oxidativo, causando danos irreversíveis às proteínas, lipídios e DNA. Além disso, os danos no DNA promoveriam mutações ou desencadeariam apoptose (MORRY et al., 2017).

4. CONCLUSÃO

A pesquisa botânica e biomédica a cerca do Camu-Camu vem crescendo. Nossos resultados demonstram que o fruto é capaz de ter ação de proteção ao material genético(antigenotóxico), fotoprotetora, antimicrobiana frente a diversas cepas, anti-malária e como leishmanicida. Outras propriedades incluem o combate ao ganho de peso e modulação do perfil lipídico, é pró-espermático, anti-hemolítico, neuroprotetor, nefro e hepatoprotetor, além de imunomodulador. Sua ações antioxidantes e anti-inflamatórias são bastante estudadas e citadas, sendo estas ações bem estabelecidas. Estudos demonstrando efeitos negativo do Camu-camu não foram encontrados, em nenhum modelo seja celular, animal ou humano. Quanto aos efeitos do Camu-camu na cicatrização *in vitro*, o fruto mostrou-se potente indutor de proliferação de fibroblastos quanto estes foram agredidos, além de ter efeito no combate as EROs. Nossos resultados, são os primeiros a serem publicados, acerca do possível efeito cicatricial. Mais estudos precisam ser realizados, entretanto os resultados iniciais mostram o Camu-camu como um possível aliado a cicatrização de lesões.

Cabe ainda ressaltar, que a intensificação dos estudos acerca das propriedades, pode ser bastante benéfica para a economia da região Amazônica, uma vez que poderia contribuir para o fortalecimento da produção e assim ter um impacto econômico positivo.

5. REFERÊNCIAS

- AKACHI, T.; et al. 1-methylmalate from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) suppressed D-galactosamine-induced liver injury in rats. **Biosci Biotechnol Biochem**, v. 74, n. 3, p. 573-578, 2010.
- ALVIS, R.; et al. Citoprotective effect of camu-camu *Myrciaria dubia* on three celular lines of mouse exposed in vivo to potassium bromate. **Revista Peruana de Biología**, v. 17, n. 3, p. 389-392, 2010.
- BARBISAN, F.; et al. Methotrexate-related response on human peripheral blood mononuclear cells may be modulated by the Ala16Val-SOD2 gene polymorphism. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. e107299, 2014.
- BARNES, J.L.; GORIN, Y. Myofibroblast differentiation during fibrosis: Role of NAD(P)H oxidases. **Kidney International**, v.79, p.944–956, 2011.
- BECERRA, B.K.; et al. Nephroprotective effect of Camu Camu (*Myrciaria dubia*) in a model of nephrotoxicity induced by Gentamicin in rats. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 46, n. 3, p. 303-307, 2019.
- CARMO, H.M.O.; et al. Análise dos efeitos da suplementação dietética com Camu-Camu comparada à gastrectomia vertical no controle de peso de ratos Wistar. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 46, n. 4, p. e2238, 2019.
- CONCEIÇÃO, N.; et al. By-Products of Camu-Camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] as promising sources of bioactive high added-value food ingredients: functionalization of yogurts. **Molecules**, v. 25, n.1, p. e70, 2020.
- CORREIA, V.C.S.; et al. Evaluation of the antiplasmodial and leishmanicidal potential of *Myrciaria dubia* (Myrtaceae) extract. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 586-592, 2016.
- DOROTEO, V.H.; et al. Compuestos fenólicos y atividades antioxidante, antielastasa, anticologenasa y fotoproctora *in vitro* de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara). **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v.78, p. 254-263, 2012.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **A cultura do camu-camu**. Embrapa Amazônia Oriental, 2020.
- FIDELIS, M.; et al. Camu-camu seed (*Myrciaria dubia*) – From side stream to an antioxidant, antihyperglycemic, antiproliferative, antimicrobial, antihemolytic, anti-inflammatory, and antihypertensive ingrediente. **Food Chemistry**, v.310, p. e 125909, 2019.
- FIDELIS, M.; et al. From byproduct to a functional ingredient: Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seed extract as an antioxidant agent in a yogurt model. **Journal of Dairy Science**, v.103, n. 2, p. 1131–1140, 2020.
- GONZALES, G.F.; VASQUEZ, V.B.; GASCO, M. The transillumination technique as a method for the assessment of spermatogenesis using medicinal plants: The effect of extracts of black maca (*Lepidium meyenii*) and camu camu (*Myrciaria dubia*) on stages of the spermatogenic cycle in male rats. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 23, n. 3, p. 559-565, 2013.

GRIGIO, M.L.; et al. Determination of harvest time and quality of native camu-camu fruits (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) during storage. **Fruits**, v. 71, n. 6, p. 373-378, 2016.

IBRAHIM, N.; et al. Wound healing properties of selected natural products. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.15, n. 11, p. 2360, 2018.

INOUE, T.; et al. Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. **Journal of Cardiology**, v. 52, p. 127-132, 2008.

KANESHIMA, T.; et al. Antimicrobial constituents of peel and seeds of camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 81, p. 1461-1465, 2017.

MAEDA, R.N.; et al. Determinação da formulação e caracterização do néctar de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 70-74, 2006.

MARTIN, P.; NUNAN, R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. **The British Journal of Dermatology**, v. 173, p. 370-378, 2015.

MIYASHITA, T.; et al. Data on a single oral dose of camu camu (*Myrciaria dubia*) pericarp extract on flow-mediated vasodilation and blood pressure in young adult humans. **Data in Brief**, v. 16, p. 993-999, 2018.

MORRY, J.; NGAMCHERDTRAKUL, W.; YANTASEE, W. Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. **Redox Biology**, n. 11, p. 240-253, 2017.

NASCIMENTO, V.O.; et al. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 85, p. 355-363, 2012.

NICOLAUS, C.; et al. In vitro studies to evaluate the wound healing properties of Calendula officinalis extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 196, p. 94-103, 2017.

SCHWERTZ, M.C.; et al. Efeito hipolipidêmico do suco de camu-camu em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2012

SILVA, F.C.S., et al. Antigenotoxic effect of acute, subacute and chronic treatments with Amazonian camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice on mice blood cells. **Food and Chemical Toxicology**; v. 50, p. 2275-2281, 2012.

STUNOVA, A.; VISTEJNOVA, L. Dermal fibroblasts—A heterogeneous population with regulatory function in wound healing. **Cytokine Growth Factor Reviews**, v. 39, p. 137-150, 2018.

SUN, B.K.; SIPRASHVILI, Z.; KHAVARI, P.A. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. **Science**, v. 346, n. 6212, p.941-945, 2014. .

VARGAS, B.L.; et al. Efecto de las cápsulas de camu-camu en la glucemia y perfil lipídico de los adultos sanos. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 20, p. 48-61, 2015.

YAZAWA, Z.; et al. Anti-Inflammatory effects of seeds of the tropical fruit Camu-Camu (*Myrciaria dubia*). **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 57, p. 104-107, 2011.

YUNIS-AGUINAGA, J.; et al. Dietary camu camu, *Myrciaria dubia*, enhances immunological response in Nile tilapia. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 58, p. 284-291, 2016.

EFEITOS DO BIOCOMPÓSITO DE ZnO/AMEIXA BRAVA (*Ximenia americana* L.) MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM QUEIMADURAS INDUZIDAS EM CAMUNDONGOS

Nayara Mara Santos Ibiapina¹, Renata da Silva Carneiro², Marta Rejane Canuto³,
Valdiléia Teixeira Uchôa², Reginaldo da Silva Santos², Antônio Luis Martins Maia
Filho³ e Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho¹

1. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Centro de Ciências da Saúde - CCS, Teresina, Piauí, Brasil;
2. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Programa de Pós-graduação em Química – GERATEC, Teresina, Piauí, Brasil;
3. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade, Teresina, Piauí, Brasil.

RESUMO

As lesões cutâneas ocasionadas por queimaduras são consideradas um problema de saúde pública e requerem cuidados especiais em seus tratamentos. Além das terapias tradicionais adotadas pelos profissionais de saúde, buscam-se novas substâncias que atuem no processo de cicatrização de forma mais eficaz e que tenham custos reduzidos. A *Ximenia americana* L., conhecida como ameixa brava, é amplamente utilizada na medicina popular com atividades anti-inflamatória e cicatrizante. Nesta pesquisa, a ação cicatrizante de um biocompósito formado por extratos etanólicos das cascas do caule ou folhas de *X. americana* associadas a óxido de zinco (ZnO) e nanopartículas de prata (AgNPs) foram preparados e investigados no tratamento de queimaduras. Para isso, 40 camundongos, divididos aleatoriamente em 4 grupos experimentais, receberam cirurgicamente a indução de queimaduras na região dorsal. Esses animais foram tratados nos períodos de 7 e 14 dias com biocompósitos de *X. americana*/ZnO modificado com AgNPs e tiveram suas lesões avaliadas através de análises morfométricas e histológicas. A avaliação do percentual de regressão das lesões indica que os grupos com o biocompósito da casca (BC) e biocompósito da folha (BF) apresentaram maior regressão nos tempos de 7 e 14 dias de tratamento quando comparados aos grupos controles. Pelas análises histológicas observou-se ainda que o grupo BC atuou positivamente na redução do número de neutrófilos e no aumento da deposição de células fibroblásticas. Os resultados indicam que o biocompósito formado pela associação entre ZnO/AgNPs e extrato das cascas do caule de *X. americana* se mostra um bioproduto promissor no tratamento cutâneo de injúrias por queimaduras.

Palavras-chave: Queimaduras, *Ximenia americana* L. e Biocompósito.

ABSTRACT

Skin lesions caused by burns are considered a public health problem and require special care in their treatments. In addition to the traditional therapies adopted by health professionals, new substances are sought that act in the healing process more effectively and have reduced costs. *Ximenia americana* L., known as wild plum, is widely used in folk medicine with anti-inflammatory and healing activities. In this research, the healing action of a biocomposite formed by ethanolic extracts from the stem bark or leaves of *X. americana* associated with zinc oxide (ZnO) and silver nanoparticles (AgNPs) were prepared and investigated in the treatment of burns. For this, 40 mice, randomly divided into 4 experimental groups, surgically received the induction of burns in the dorsal region. These animals were treated in the periods of 7 and 14 days with biocomposites of *X. americana* / ZnO modified with AgNPs and had their lesions evaluated through morphometric and histological analyzes. The evaluation of the percentage of regression of the lesions indicates that the groups with the bark biocomposite (BB) and leaf biocomposite (LB) showed greater regression in the 7 and 14 days of treatment when compared to the control groups. Through histological analyzes it was also observed that the LB group acted positively in reducing the number of neutrophils and in increasing the deposition of fibroblastic cells. The results indicate that the biocomposite formed by the association between ZnO / AgNPs and *X. americana* stem bark extract is a promising bioproduct in the cutaneous treatment of burn injuries.

Keywords: Burns, *Ximenia americana* L. and Biocomposite.

1. INTRODUÇÃO

As queimaduras são lesões cutâneas que representam a perda da continuidade do tecido epitelial, sendo consideradas um problema de saúde pública com altos índices de mortalidade (BARROS et al., 2016). O sistema público de saúde do Brasil, SUS, indica que nos últimos anos o número de internações hospitalares decorrentes de injúrias por queimaduras alcança a faixa de mais 20 mil anualmente. Esses dados revelam que esse trauma traz consequências negativas que vão além da complicação da qualidade de vida do paciente queimado, sinalizando também elevados custos aos cofres públicos (ALVES et al., 2018).

O reparo de uma lesão cutânea originada por uma queimadura envolve vários esforços do organismo para o reestabelecimento da completude tecidual, sendo esse um processo dinâmico, caracterizado por uma cascata de acontecimentos celulares, enzimáticos e tissulares como inflamação, proliferação e remodelação (CLARK; GHOS; TONNESEN, 2007). Durante esse processo, algumas condições externas podem influenciar no processo de cura, como por exemplo, a infecção por microrganismos patógenos e a resistência bacteriana aos antibióticos (GUO; DI PIETRO, 2010). Nesse contexto, faz-se necessário a

busca e desenvolvimento de produtos terapêuticos alternativos que reduzam a ação desses agentes patogênicos e contribuam para o processo de cicatrização da pele.

O uso de plantas medicinais e outros produtos naturais como tratamentos alternativos ou complementares na cura de doenças é um hábito comum na população brasileira (MATOS, 2007), principalmente em comunidades rurais (ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010). Dentro da rica flora brasileira, que abrange mais de 50 mil espécies de plantas superiores, destaca-se a espécie *Ximenia americana* L., planta popularmente conhecida como ameixa brava e utilizada como anti-inflamatória, antinociceptiva e cicatrizante (BRASILEIRO, 2008; DIAS et al., 2018). A sua composição química, amplamente investigada na literatura, justifica as suas atividades farmacológicas. Os taninos, substâncias corantes avermelhadas, atuam na formação de ligações complexas com proteínas, conferindo a área da lesão uma reepitelização externa mais rápida (RODRIGUES et al., 2013). Já os flavonoides, como (-)-epicatequina, exercem a função de antioxidante (UCHÔA et al., 2016) e anti-inflamatória (LEAL et al., 2016; CARVALHO et al., 2020).

Além dos produtos naturais, os materiais inorgânicos também podem ser encontrados em formulações farmacêuticas e se destacam no tratamento de queimaduras cutâneas, a exemplo do óxido de zinco (ZnO) e nanopartículas de prata (AgNPs) (MAO et al., 2017; LANSDOWN, 2006). O ZnO, material inorgânico com vasta aplicação na indústria, é utilizado como base em cremes e pomadas com fins de proteção solar e cicatrizantes (MAYRINCK et al., 2014). A prata, por sua vez, já é conhecida e inserida em diversas aplicações biomédicas envolvendo o processo de cicatrização de feridas e se destaca quando em escala nanométrica, por ter a sua atividade bactericida potencializada, podendo contribuir para a remodelação da pele lesada (BRETT, 2006).

Nesta pesquisa, o biocompósito formado pela associação entre extratos etanólicos de cascas do caule ou folhas de *X. americana*, ZnO e AgNPs foi investigado quanto à sua atividade cicatrizante em um modelo experimental de queimaduras induzidas em camundongos. O Processo de cicatrização foi avaliado macro e microscopicamente visando o desenvolvimento de novos biomateriais com fins terapêuticos.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi baseado na Lei Federal de Experimentação em Animais nº 11.794/2008, e iniciado após a aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais- CEUA/ Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Teresina, PI sob o número do protocolo 0161/2018 mediante a assinatura do termo de autorização da coleta de dados da instituição.

2.2 MATERIAL VEGETAL E EXTRAÇÃO

As cascas do caule e folhas da *X. americana* foram coletadas no município de Domingos Mourão – Piauí, Brasil (4°09'14.8"S 41°18'28.3"W) em março de 2018. A planta foi identificada por um botânico e um espécime foi depositado no Herbário Afrânio Gomes Fernandes na UESPI sob número HAF 03541. Posteriormente, as cascas e folhas foram secas em temperatura ambiente até a total desidratação e pulverizadas. O material pulverizado foi extraído três vezes consecutivas com etanol a 95% em um extrator de aço inoxidável a uma temperatura ambiente. Os extratos etanólicos das cascas do caule e folhas foram obtidos após concentração no evaporador rotativo a baixa pressão e a eliminação da umidade residual por liofilização. Estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e Laboratório do GERATEC da UESPI.

2.3 OBTENÇÃO DOS BIOCAMPÓSITOS DE ZnO/AgNPs/*X. americana*

Para a obtenção da suspensão de ZnO/H₂O, o ZnO em pó, obtido no laboratório Biodinâmica Ltda, foi solubilizado em água em uma concentração de 25% m/m. Em seguida, uma solução 0,5 mol/L de nitrato de prata (Dinâmica Ltda) foi depositada na suspensão de ZnO/H₂O em uma concentração de 5% e submetida ao processo de fotorredução. O sistema foi irradiado com quatro lâmpadas UV (UV-C Moran Ligth®, Brasil, 15 W, com intensidade máxima a 254 nm) por cinco minutos a fim de promover a separação de cargas no óxido semicondutor e reduzir os íons prata (Ag⁺) a nanopartículas de prata (Ag⁰).

O preparo do biocompósito de ZnO/AgNPs/*X. americana* foi feito pela mistura mecânica dos extratos das cascas do caule e folhas de *X. americana* e de ZnO/AgNPs seguindo a mesma concentração de 5%.

2.4 ANIMAIS

Foram utilizados 40 camundongos machos (*Mus musculus*), clinicamente saudáveis, peso médio de 30 g, obtidos do biotério Núcleo de biotecnologia e biodiversidade –NPBIO- UESPI, Teresina, PI. Os animais foram acondicionados durante todo o estudo em gaiolas de poliestireno individuais, com alimentação e água a vontade em um ciclo de claro e escuro 12/12 horas. Os animais foram distribuídos de forma aleatória em quatro grupos de 5 animais, obedecendo aos tempos experimentais de tratamento por 7 e 14 dias, conforme detalhado na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Divisão dos animais em grupos experimentais.

| Grupos | Descrição Do Tratamento |
|---------------|--|
| CN | Controle negativo (sem tratamento) |
| CP | Controle positivo (Sulfadiazina de prata) |
| BC | Biocompósito casca (ZnO/AgNPs/Extrato das cascas do caule de <i>X. americana</i>) |
| BF | Biocompósito folha (ZnO/AgNPs/Extrato das folhas de <i>X. americana</i>) |

2.5 INDUÇÃO DA QUEIMADURA

Para a realização do procedimento experimental, os animais foram inicialmente anestesiados com administração via intramuscular de cloridrato de ketamina 10% (dose de 0,04 mL/100g), associada à mesma dose de cloridrato de xilazina a 2%. Em seguida, foi realizada a tricotomia da região dorsal em uma área de aproximadamente 4 cm de extensão e 3 cm de largura. Posteriormente, foi realizada a indução da queimadura utilizando suporte de ferro com temperatura a 180 °C e tempo de contato com a pele de 10 segundos

(BRASSOLATTI, 2015). A fim de aliviar a dor ocasionada pela queimadura induzida, foi administrada morfina (dose de 10mg/kg) antes da recuperação anestésica e durante um período de pelo menos de 12–24hs após a recuperação da consciência em via subcutânea (SC). O tratamento dos animais foi feito diariamente nos grupos CP, BC e BF com a aplicação das substâncias testes na dose de 0,2 mL diretamente na área da lesão utilizando seringa plástica sem agulha.

2.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA

Os animais tiveram suas lesões fotografadas no dia da cirurgia e no dia da eutanásia com a ajuda de uma câmera digital (Nikon Coolpix P100, 10,3 MP) fixada em um tripé a 30 cm de distância das feridas. A análise da regressão cicatricial foi realizada pela comparação das áreas iniciais e finais utilizando o software ImageJ® e expressas em porcentagem.

Após o período de tratamento, os animais foram eutanasiados por excesso de anestesia, seguindo as orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Após a eutanásia, foram retiradas peças anatômicas de interesse com ajuda de um bisturi estéril, utilizando uma margem de 1 cm ao redor da lesão e cerca de 3 mm de profundidade, identificadas e fixadas em formol a 10% e encaminhadas para os procedimentos histológicos de rotina. Foram obtidos cortes semi-seriados com aproximadamente 0,5mm, através de micrótomo rotativo e submetidos ao sistema de coloração com hematoxilina-eosina (H.E) e encaminhados às análises histológicas e histomorfométrica.

As lâminas foram examinadas com microscópio trinocular Olympus CX31, modelo YS100, equipado com câmera digital Olympus SC20 (Blue Lagoon Drive, Miami- USA) e conectado a um computador. Para a quantificação das células, três campos microscópicos não coincidentes de cada lâmina foram analisados sob um aumento de 400 vezes e fotografados. As imagens digitalizadas foram analisadas usando o software de análise de imagem Image-J® (versão 1:32 para Windows 10).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi realizada de maneira descritiva, através das médias \pm erro padrão da média e inferencial, utilizando o teste ANOVA seguido de Tukey para comparação entre os grupos investigados. O intervalo de confiança foi de 95% e o nível de

significância $p < 0,05$. Os resultados foram quantificados e expressos no software estatísticos GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Os animais submetidos à indução experimental de queimaduras foram tratados nos períodos de 7 e 14 dias e o processo de cicatrização foi avaliado, inicialmente, através da mensuração da área das lesões nos dias iniciais e finais do pós-operatório. A partir do tratamento estatístico, foi obtido o percentual de regressão das lesões e a comparação morfométrica é apresentada na figura 1.

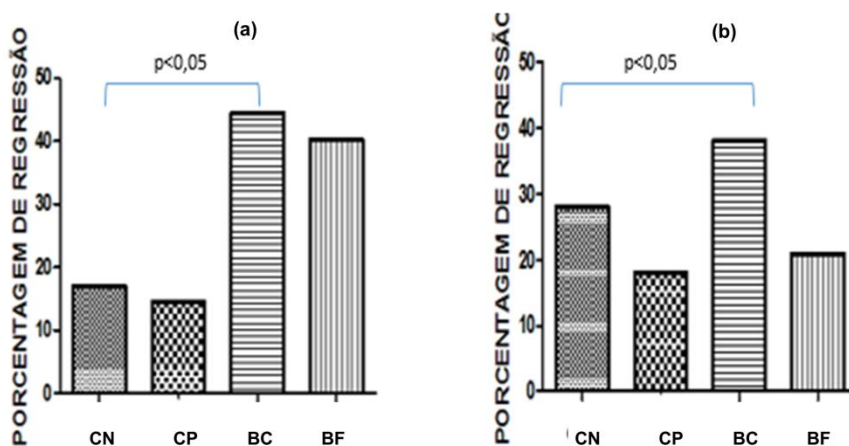


Figura 1. Percentual de regressão das lesões nos grupos estudados em tempo experimental de (a) 7 e (b) 14 dias.

Em análise da figura 1(a) observa-se que, no período de 7 dias de tratamento, os animais tratados com os biocompósitos da casca e folha de *X. americana* apresentaram os maiores percentuais de regressão das lesões quando comparados aos grupos controles. O grupo BC apresentou o maior percentual de regressão nesse período, diferenciando-se significativamente do grupo CN. Aos 14 dias de pós-operatório, o grupo BC destacou-se novamente com o maior percentual de regressão, diferenciando-se de forma significativa do grupo CN. Resultados semelhantes foram encontrados por Palma et al. (2020) e Brasileiro (2008) quando utilizado extratos das cascas do caule e folhas de *X. americana*.

Os maiores percentuais de regressão apresentados pelo grupo BC podem estar associado à presença de taninos na espécie vegetal utilizada. Estudos fitoquímicos preliminares com extratos etanólicos da *X. americana* indicam a presença desse e outras classes de metabólitos secundários, como flavonoides, saponinas e esteroides/triterpenoides (ONGULEYE; IBITOYE, 2003; SHETTAR et al., 2015)

Além disso, a avaliação macroscópica da redução de lesões cutâneas está, microscopicamente, associada à presença de miofibroblastos, que são células diferenciadas a partir dos fibroblastos e que possuem a função contrátil da lesão, contribuindo para o movimento centrípeto das bordas (MAJNO; JORIS, 1996).

3.2 ANÁLISES HISTOLÓGICAS E HISTOMORFOMÉTRICAS

A análise histológica das lâminas coradas com H.E permitiu a avaliação qualitativa do processo cicatricial por meio da investigação do processo inflamatório e de remodelação. Os achados histológicos são mostrados na figura 2 para os dois períodos de tratamento.

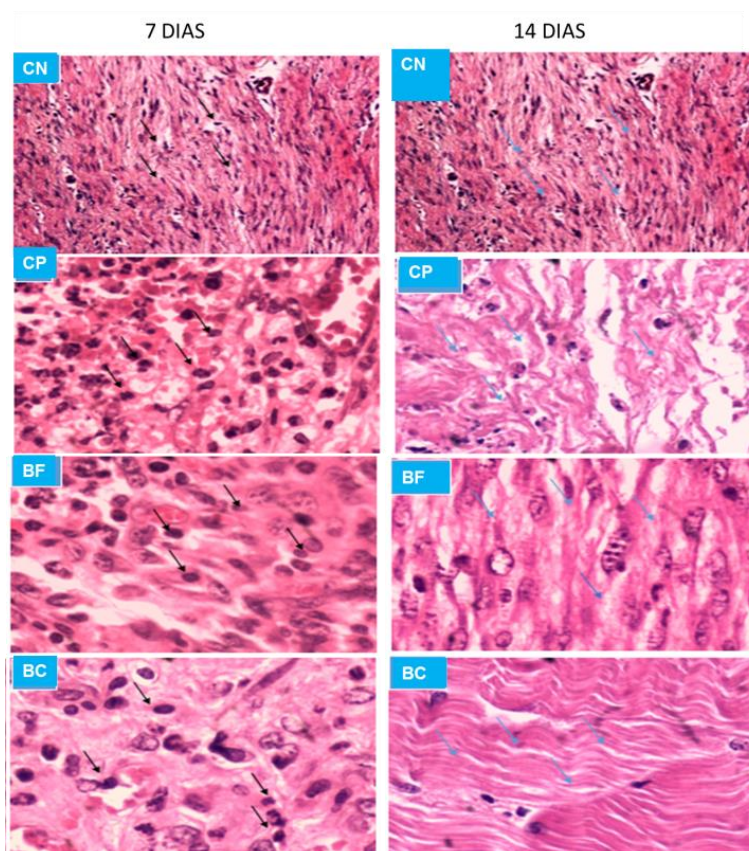


Figura 2. Aspectos qualitativos do processo cicatricial de queimaduras tratadas com Biocompósitos de ZnO/AgNPs/*X. americana* nos períodos experimentais de 7 e 14 dias. As setas indicam células inflamatórias.

No tocante à análise qualitativa do processo inflamatório, observou-se que, no tempo experimental de sete dias, os espécimes do grupo tratado com o biocompósito da casca (BC) apresentaram uma menor quantidade de tecido de granulação, presença de fibroblastos e uma melhor organização das fibras colágenas quando comparados aos animais do grupo BF, caracterizando, portanto, a fase de proliferação no processo de cicatrização.

Aos 14 dias, o processo inflamatório nos animais do grupo CN foi reduzido e o número de fibroblastos foi aumentado, apresentando ainda tecido de granulação. Os animais do grupo BC apresentaram fibroblastos maduros, ausência de infiltrado inflamatório e uma completa modelação das fibras colágenas, quando comparados aos demais grupos, evidenciando nesse tratamento a concretização da fase de remodelação do processo de cicatrização normal do tecido.

O processo de cicatrização foi avaliado ainda de forma quantitativa e o número total de células inflamatórias é apresentado na figura 3.

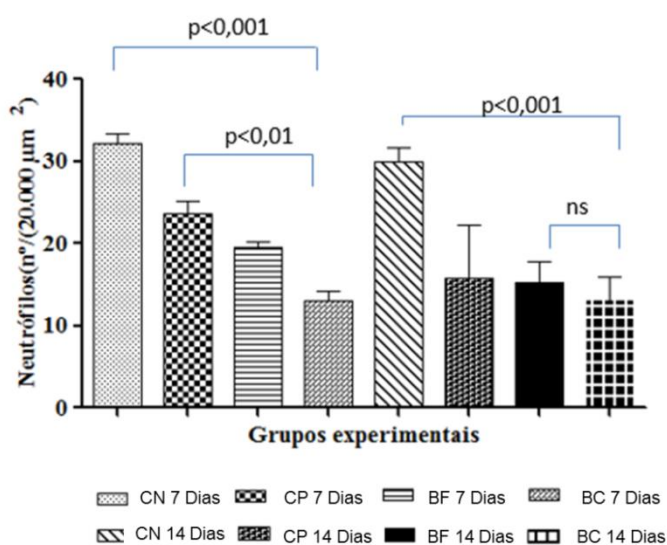


Figura 3. Quantificação do número de células inflamatórias (und/20.000 µm²) nos grupos estudados em períodos experimentais de 7 e 14 dias.

Em análise da figura 3, observa-se que no período de 7 dias, os grupos tratados com os biocompósitos da casca e folha de *X. americana* apresentaram redução no número de neutrófilos quando comparados aos grupos controles. No período de 14 dias, há novamente diminuição no número de neutrófilos, indicando que nos tempos de tratamento investigado, o grupo tratado com a associação ZnO/AgNP/Casca do caule de *X. americana* apresenta a maior redução do processo inflamatório.

A ação anti-inflamatória do biocompósito pode ser associada, por exemplo, à presença de metabólitos secundários na *X. americana*. Estudos anteriores com a mesma espécie reportam a sua ação anti-inflamatória no processo de tendinite experimental em ratos (LEAL et al., 2016). Além disso, as propriedades bactericidas das substâncias inorgânicas utilizadas também podem justificar a redução do processo inflamatório, dado que a ausência de infecção por microrganismos patógenos sinaliza um menor recrutamento de células inflamatórias. A prata já é utilizada na formulação de cremes e pomadas com fins cicatrizantes (CHERNOUSOVA; EPPLE, 2013). No entanto, quando em escala manométrica, seu potencial bactericida é potencializado (MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010). O ZnO também assume propriedades bactericidas, favorecendo junto à prata o processo de cicatrização através da diminuição da infiltração de linfócitos e aumento da reepitelização (PATI et al., 2014).

O processo de cicatrização das queimaduras foi avaliado ainda pela investigação da fase de remodelação. A figura 4 traz a quantificação para o número total de fibroblastos.

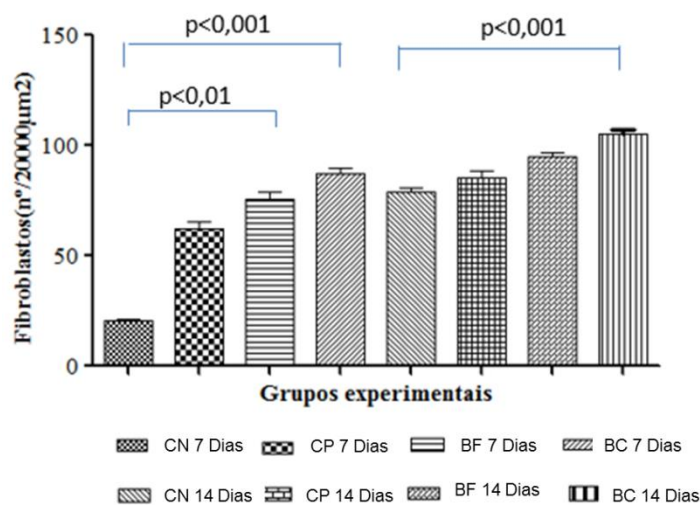


Figura 4. Quantificação do número de fibroblastos (und/20.000 μm²) nos grupos estudados em períodos experimentais de 7 e 14 dias.

Observa-se na figura 4 que no período de 7 dias de tratamento, os grupos biocompósitos da casca e folhas de *X. americana* apresentaram maior número de fibroblastos diferenciando-se significativamente do grupo controle negativo. Aos 14 dias, o aumento no número de células fibroblásticas é novamente maior nos grupos BC e BF, havendo diferença significativa entre BC e CN. Esses dados revelam que o biocompósito

formado por ZnO/AgNPs/Casca do caule de *X. americana* contribui de forma positiva no processo de remodelação do tecido.

Os fibroblastos são os principais responsáveis pela síntese de colágeno e regeneração da matriz extracelular, funcionando como indicadores da evolução do processo de cicatrização em análises histológicas (FERREIRA; PAULA, 2013).

4. CONCLUSÃO

Pela análise dos dados é possível inferir que a associação entre ZnO/AgNPs, extratos etanólicos das cascas do caule e folhas de *X. americana* atuaram positivamente no processo de cicatrização de queimaduras cutâneas induzidas em camundongos. Os achados macros e microscópicos indicam que o biocompósito das cascas do caule da *X. americana* se destacou através da redução da área da lesão em valores significativamente superiores aos grupos controles, além da redução do processo inflamatório e maior deposição de células fibroblásticas de forma organizada à superfície cutânea. Os resultados da pesquisa apontam que a utilização de plantas medicinais associadas a outras substâncias bactericidas mostram-se eficazes no processo de cicatrização de injúrias por queimaduras, podendo se tornar promissores bioprodutos na área biomédica.

5. REFERÊNCIAS

BARROS, E. M. L.; SANTOS, D. K. B.; COELHO, N. P. M. F.; REIS, M. R; BEZERRA, B. G. Efeitos da *Passiflora edulis* S. no processo de cicatrização em queimaduras induzidas em camundongos. **ConScientiae Saúde**, v. 15, n. 1, p. 122-128, 2016.

BRASILEIRO, M. T. **Padronização, atividade biológica e desenvolvimento de formas farmacêuticas semi-sólidas à base de *Ximenia americana* L.** (Dissertação) Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

BRASILEIRO, M. T.; EGITO, A. A.; LIMA, J. R.; RANDAU, K. P.; PEREIRA, G. C.; NETO, P. J. R. *Ximenia americana* L.: botânica, química e farmacologia no interesse da tecnologia farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 164-167, 2008.

BRASSOLATTI, P. **Efeitos da terapia laser de baixa intensidade e de membranas de celulose bacteriana no tratamento de queimaduras de terceiro grau em ratos.** (Tese) Doutorado em Biotecnologia - Universidade Federal de São Carlos – SP, 2015.

BRETT, D. W. A. Discussion of silver as an antimicrobial agent: Alleviating the confusion, **Ostomy Wound Manage**, v. 52, n. 1, p. 34-41, 2006.

CARVALHO, G. F. S.; MARQUES, L. K.; SOUZA, H. G.; SILVA, L. R.; FERREIRA, D. C. L.; AMARAL, F. P. M.; et al. Phytochemical study, molecular docking, genotoxicity and therapeutic efficacy of the aqueous extract of the stem bark of *Ximenia americana* L. in the treatment of experimental COPD in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, p. e112259, 2020.

CHERNOUSOVA, S.; EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. **Angewandte Chemie**, v. 52, p. 1636–1653, 2013.

CLARK, R. A.; GHOSH, K.; TONNESEN, M. G. Tissue engineering for cutaneous wounds. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 5, p. 1018-1029, 2007.

DIAS, T. L. M. F.; MELO, G. M. A.; SILVA, Y. K. C.; QUEIROZ, A. C.; GOULART, H. F.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, of fractions and of epicatechin isolated from the stem bark of *Ximenia americana* L. (Oleaceae). **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, p. 86-101, 2018.

FERREIRA, F. V.; PAULA, L. B. Sulfadiazina de prata versus medicamentos fitoterápicos: estudo comparativo dos efeitos no tratamento de queimaduras. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 12, n. 3, p. 132-139, 2013.

GUO, S. A.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

LANSDOWN, A. B. G. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. **Current Problems in Dermatology**, v. 33, p. 17-34, 2006.

LEAL, S. S.; UCHÔA, V. T.; SILVA, J. F.; SOARES, R. B.; MOTA, D. M.; ALENCAR, R. C.; et al. Eficácia da fonoforese com *Ximenia americana* L. na inflamação de tendão de ratos, **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n. 5, p. 355-360, 2016.

MAJNO, G.; JORIS, I. **Cells, tissues and disease: principles of general pathology**. Blackwell Science: Cambridge, 1996.

MAO, C., XIANG, Y., LIU, X., CUI, Z., YANG, X., YEUNG, K. W. K.; et al. Photo-Inspired antibacterial activity and wound healing acceleration by hydrogel embedded with Ag/Ag@AgCl/ZnO nanostructures. **ACS Nano**, v. 11, p. 9010-9021, 2017.

MARAMBIO-JONES, C.; HOEK, E. M. A. review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, p. 1531–1551, 2010.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 3ª ed, Imprensa Universitária: Fortaleza, 2007.

MAYRINCK, C.; RAPHAEL, E.; FERRARI, J. L.; SCHIAVON, M. A. Síntese, propriedades e aplicações do ZnO nanoestruturado. **Revista Virtual de Química**, v.6, n. 5, p. 1185-1204, 2014.

MOLA, R.; FERNANDES, F. E. C. V.; MELO, F. B. S.; OLIVEIRA, L. R.; LOPES, J. B. S. M.; ALVES, R. P. C. N. Características e complicações associadas às queimaduras de pacientes em unidade de queimados. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 17, n. 1, p. 8-13, 2018.

OGUNLEYE, D.S.; IBITOYE, S.F. Studies of antimicrobial activity and chemical constituents of *Ximenia americana*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 2, p. 239-241, 2003.

PALMA, A. F. M.; MARQUES, L. K. M.; CARNEIRO, R. S.; CARVALHO, G. F. S.; FERREIRA, D. C. L.; SANT'ANA, A. E. G.; et al. avaliação dos extratos hidroalcoólicos do caule e folhas da *Ximenia americana* L. na cicatrização de feridas excisionais aguda em pele de camundongos. **Revista Virtual de Química**, v. 12, p. 37-50, 2020.

PATI, R.; MEHTA, R. K.; MOHANTY, S.; PADHI, A.; SENGUPTA, M.; VASEEHARAN, B.; et al. Topical application of zinc oxide nanoparticles reduces bacterial skin infection in mice and exhibits antibacterial activity by inducing oxidative stress response and cell membrane disintegration in macrophages. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 10, n. 6, p. 1195–1208, 2014.

RODRIGUES, D. F.; MENDES, F. F.; FILHO, A. D. F. N.; SILVA, J. A.; SILVA, L. A. F. O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville, na cicatrização de feridas em animais. **Enciclopedia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v. 9, p. 1586, 2013.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 31-42, 2010.

SHETTAR, A. K.; KOTRESHA, K.; KALIWAL, B. B.; VEDAMURTHY, A. B. Evaluation of in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Ximenia americana* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 11, p. 918-923, 2015.

UCHÔA, V. T.; SOUSA, C. M. M.; CARVALHO, A. A.; SANTANA, A. E. G.; CHAVES, M. H. Free radical scavenging ability of *Ximenia americana* L. stem bark and leaf extracts. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 6, p. 91-96, 2016.

EFEITOS DO EXTRATO DO ABACAXI - *Ananas comosus* (L.) MERRIL NA MIOSITE INDUZIDA EM RATOS

**Isabella Sousa Ramalho¹, Whelen de Sousa Moreira¹, Alessandra Rabelo Viana¹,
Antônio Luiz Martins Maia Filho², Daniel Cabral Leão Ferreira², Francisvaldo Falcão
de Carvalho Júnior³, Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho¹**

1. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Centro de Ciências da Saúde - CCS, Teresina, Piauí, Brasil;
2. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade, Teresina, Piauí, Brasil.
3. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Programa de Pós-graduação em Química – GERATEC, Teresina, Piauí, Brasil;

RESUMO

Introdução: Miosites é a inflamação persistente dos músculos proximais, diminuição da mobilidade e elevação sérica de enzimas musculares. A inflamação é controlada por mediadores químicos, com papéis específicos. O extrato do abacaxi possui bromelina, que é uma enzima proteolítica sulfidrilas, que inibi a agregação plaquetária, atividade fibrinolítica, ação antiinflamatória e antitumoral. **Objetivo:** Analisar os efeitos do extrato do abacaxi na miosite induzida em ratos. **Métodos:** Trata-se de um estudo in vivo, experimental, caso-controle, randomizado, intervencionista, quantitativo e qualitativo, com 30 ratos, tempos experimentais de 7 e 14 dias e grupos controle, miosite e miosite tratada. Os animais foram anestesiados, indução da miosite no membro inferior direito (MID), e foi avaliado no trabalho: aferição dos diâmetros antero-posterior (DAP) e látero-lateral (DLL) no MID, análise qualitativa e quantitativa da presença de células inflamatória e fibroblastos. **Resultados:** Houve progressão no processo de recuperação em miosites induzidas em ratos tratados com extrato do abacaxi.

Palavras-chave: Abacaxi, Miosite e Reparação tecidual.

ABSTRACT

Introduction: Myositis is the persistent inflammation of the proximal muscles, decreased mobility and elevated serum muscle enzymes. Inflammation is controlled by chemical mediators with specific roles. The extract of pineapple has bromelain, which is a proteolytic enzyme sulfhydryl, which inhibits platelet aggregation, fibrinolytic activity, anti-inflammatory and anti-tumor action. **Objective:** To analyze the effects of pineapple extract on induced myositis in rats. **Methods:** This is an in vivo, experimental, case-control, randomized, interventional, quantitative and qualitative study with 30 rats, experimental times of 7 and 14 days, and control, myositis and myositis treated groups. The animals were anesthetized, inducing myositis in the right lower limb (MID), and was evaluated in the work: anteroposterior

(DAP) and latero-lateral (DLL) diameters in the MID, qualitative and quantitative analysis of the presence of inflammatory cells and fibroblasts. Results: There was progression in the recovery process in induced myositis in rats treated with pineapple extract.

Keywords: Pineapple, Myositis and Tissue repair.

1. INTRODUÇÃO

A miosite constitui um grupo diverso de síndromes em que as características são a inflamação persistente dos músculos proximais, com significativa perda da mobilidade na região afetada e elevação sérica de enzimas musculares. Conforme o relatório divulgado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2014, baseado em dados de 2012, doenças inflamatórias são responsáveis por cerca de 3,46 milhões de óbitos, a terceira maior causa de mortes, algo que representou 10,8% do total de mortes (PANDY; COLEY; WEDDERBURN, 2012; REGO, 2014; DIORGE et al., 2015).

A inflamação como principal constituinte na miosite, é definida como uma resposta do tecido vivo vascularizado a um local de lesão, pode ser desencadeada por agentes físicos, uma infecção bacteriana, tecidos necróticos, respostas imunes e produtos químicos. Os processos inflamatórios são necessários para a vigilância imunológica, reparação e regeneração após a lesão (DANKO, 2004). São controlados por mediadores químicos, cada um com seu papel específico, os quais podem desencadear, conduzir, controlar e extinguir a inflamação, atuando em estágios definidos da reação inflamatória. Dentre as células capazes de produzir e liberar diferentes mediadores químicos no local da inflamação estão os macrófagos teciduais, os mastócitos, as células endoteliais, os leucócitos recrutados da corrente sanguínea em direção ao sítio da inflamação (MENDES, 2015).

Muitas destas moléculas são produzidas localmente e possuem participação comprovada na inflamação dos tecidos, e são, portanto, alvos para a intervenção terapêutica em uma diversidade de doenças. Porém os tratamentos medicamentosos nas inflamações por vezes não são satisfatórios, observadas pelas repercussões no organismo decorrentes desta doença e a quantidade de seus sintomas (MEGRAJ et al., 2011).

O uso dos anti-inflamatórios corticóides e imunossupressores, ainda não proporcionam uma eficácia total, pois causam efeitos colaterais ao organismo com seu uso prolongado. Portanto, é fundamental identificar novos e seguros fármacos para a prevenção e tratamento de doenças, incluindo doenças inflamatórias. Dessa forma as plantas medicinais têm sido uma fonte de grande variedade de compostos biologicamente ativos e pesquisas têm

revelado que compostos extraídos de plantas apresentam diversas atividades biológicas (TAN et al., 2009; BRITO et al., 2006).

O abacaxi faz parte da família Bromeliaceae, de gênero *Ananas* Mill, sua composição química varia de acordo com a época em que é produzido, mas é de grande destaque em virtude do seu valor energético, pois possui alta composição de açúcares e um alto valor nutritivo pela presença de sais minerais como, cálcio, fósforo, magnésio, potássio, sódio, cobre e iodo e de vitaminas C, A, B1, B2 e Niacina. A fruta é consumida in natura ou ainda industrializada na forma de sucos, calda e enlatada. Estes processos industriais são responsáveis pela geração de resíduos ricos na enzima bromelina uma mistura de enzimas proteolíticas que transforma as matérias albuminoides em proteoses ou peptona, quando em meio ácido, alcalino ou neutro (DA COSTA, 2014).

A bromelina principal componente do extrato ficou conhecida quimicamente desde 1875 e em 1957 foi introduzida como um composto terapêutico, suas características dependem da fonte que podem ser encontradas em tecidos vegetais como casca, talo, fruto e folhas de espécies dessa. Dessa forma, bromelina compreende uma mistura de diferentes cisteinoproteases, que apresentam sequência de aminoácidos similares, porém distintas na atividade proteolítica quanto na sensibilidade de inativação. Foi introduzida como composto terapêutico, com as seguintes propriedades: inibição da agregação plaquetária, atividade fibrinolítica, ação anti-inflamatória, aumento da absorção de outras drogas, propriedades mucolíticas, acelerador da cicatrização, melhora a circulação e sistema cardiovascular (BRESOLIN, 2013).

O principal mecanismo de ação da bromelina parece estar relacionado à sua natureza proteolítica, apesar de algumas provas sugerirem propriedades imunomoduladoras agindo nas vias de sinalização intracelulares. A enzima encontrada no talo do abacaxi é sulfidrílica e o grupo sulfidril é essencial para a atividade proteolítica, a principal vantagem do uso de proteases do abacaxi quando comparada com proteases de outras plantas é que a enzima não está presente nos primeiros estágios de desenvolvimento da fruta, o abacaxi é a única fruta que tem concentração de protease relativamente elevada no estágio maduro. Está provado que Bromelina é bem absorvido no organismo após a administração oral e tem poucos ou nenhum efeito colateral importante, mesmo após o uso prolongado (FRANÇA-SANTOS et al., 2009; OMOTOYINBO et al., 2017).

Em vista disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do extrato do abacaxi, através de características derivadas de estudos comportamentais e histomorfológicos após a indução da miosite no gastrocnêmio de ratos, uma vez que os

tratamentos medicamentosos atuais, em decorrência das grandes variações de sintomatologias, ainda não conseguem reverter completamente o processo inflamatório da doença, abrindo-se a partir daí a necessidade de novos produtos que possam agir mais satisfatoriamente ante as miosites.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 DESENHO DA PESQUISA

É caracterizada como um estudo in vivo, experimental, caso- controle, randomizado, intervencionista, quantitativo e qualitativo. Procedimentos Éticos - Esta pesquisa está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal definidos pela lei nº 11.794 de outubro de 2008. Foi submetido à apreciação e se iniciou somente após a aprovação pelo Comitê de Ética em Usos de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Piauí- UESPI, Protocolo: 0140/2018.

2.2 ANIMAIS

O estudo foi desenvolvido no laboratório de fisiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Piauí (UESPI). Participaram deste estudo 36 ratos (*Rattus norvegicus*), machos, clinicamente sadios, com peso médio 250 a 300g obtidos do biotério do Centro de Ciências da Saúde da UESPI. Estes animais ao longo do experimento foram alimentados com ração para ratos Labcil® e água ad libitum sendo mantidos no ciclo claro/escuro de 12 horas.

2.3 PREPARO DOS ANIMAIS E INDUÇÃO DA MIOSITE

Os animais foram distribuídos de forma aleatória em três grupos de 6 animais, obedecendo aos tempos experimentais de 7 e 14 dias. Primeiramente, os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina a 10%, administrado 0,1 ml para cada 100 gramas de peso do animal, associado à mesma dose de cloridrato e xilazina a 2% por via intramuscular. Depois de anestesiados, os ratos de todos os grupos foram pesados, e foi

feita a depilação manual da região dorsal do membro posterior direito do animal. Para induzir a miosite experimentalmente, os ratos foram submetidos à injeção de 0,2ml de ácido acético a 1% no membro posterior direito (BRITO et al., 2004) e receberam o tratamento correspondente a cada grupo, denominados da seguinte forma: Grupo I - grupo Controle (C), grupo II - Miosite (M) e o grupo III, Miosite tratada com o extrato (MO).

2.4 EXTRAÇÃO DO EXTRATO DO ABACAXI DO *Ananas comosus* L. MERRILL

Foram coletados abacaxis no Ceapi (Central de abastecimento do Piauí), sendo analisada as polpas, obtidos no estágio de pré-maturação. Após a higienização em água corrente, foram separados em partes, a polpa. Seguidamente cortados em cubos de aproximadamente 1 cm³ e então, adicionadas as amostras fosfato 1,0 M pH 7,5, em concentração de 100g de amostra/100mL de tampão. Depois homogeneizada em um liquidificador doméstico, à velocidade máxima, durante 5 minutos. Posteriormente, o pH do meio foi ajustado para 7,5 com NaOH 1 M e, em seguida, a mistura foi filtrada a vácuo para retenção de sólidos dispersos e fibras, sendo armazenadas em pacotes com aproximadamente 100g cada e acondicionadas em temperatura de -5°C. Para os ensaios, as amostras foram descongeladas e utilizadas no mesmo dia.

2.5 PROTOCOLO DE TRATAMENTO

O tratamento de cada animal teve início 24 horas após a indução da miosite sendo mantidas a cada 24 horas depois da primeira aplicação até o término dos tempos experimentais estudados de 07 e 14 dias. Dar-se-á com o uso do extrato do abacaxi aos animais do grupo miosite tratada (MO) foram posicionados em decúbito ventral com imobilização manual da pata direita para aplicação da terapêutica indicada em contato direto com a área a ser tratada e receberam, de forma tópica, 0,5 ml o extrato do abacaxi. Ao término do protocolo diário os animais foram mantidos em gaiolas individuais sob fluxo aberto de ar e temperatura ambiental, com rações padronizadas e água livre.

2.6 EUTANÁSIA

Os animais foram tratados com uma dose de 0,2ml/100g de cloridrato de morfina a 2% e aplicado uma sobre dose de tiopental, 60mg/Kg. Após a eutanásia, o músculo

gastrocnêmico do membro posterior direito de cada animal foi dissecado e fixado em formol tamponado a 10% por 48 horas.

2.7 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Os músculos retirados foram encaminhados à análise histopatológica e preparados pelo método da hematoxilina-eosina (H/E). Na referida análise foram observados parâmetros que serviram de comparação entre os grupos para a verificação da eficácia do tratamento. Análise macroscópica da miosite - A análise macroscópica da tendinite foi realizada primeiramente: a aferição do tamanho e dos diâmetros ântero-posterior (DAP) e látero-lateral (DLL) do membro inferior direito do animal com a paquímetro. No último dia de experimento de 7 e 14 dias foi feita a aferição do membro posterior direito novamente, e eutanásia dos ratos a partir da análise do o diâmetro dos tendões, em seu terço médio, com paquímetro posicionado médio- lateralmente, fazendo as medidas de acordo com os tempos experimentais estudados e posteriormente a análise estatística.

2.8 ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA

Para contagem do número de células inflamatórias foi utilizado o programa de computador Image J®, na sua função “cell conter”. A avaliação qualitativa foi baseada nos estudos dos cortes histológicos com relação à presença de células inflamatória e fibroblastos em relação ao tempo experimental. Esta foi realizada com o auxílio de microscópio óptico (Olimpus, 2000) acoplado a um sistema de câmera digital. Para tanto, foram obtidas imagens de três regiões das lesões cirúrgicas (margem direita, região central e margem esquerda) de cada animal, na objetiva de 40X, utilizando o programa LeicaQwin.

2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram realizados de maneira descritiva, através do teste ANOVA para comparação entre grupos. O intervalo de confiança foi entre 95% e o nível de significância, ou seja, a probabilidade de erros na análise $p < 0,05$. Os resultados foram quantificados e expressos através de gráficos feitos no software estatísticos GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados qualitativos demonstraram que o extrato do abacaxi no processo inflamatório, no tempo experimental de sete dias, o grupo MO apresentou uma menor quantidade de tecido de granulação, presença de fibroblastos e uma melhor organização das fibras colágenas, quando comparados aos animais do grupo M caracterizando, portanto, a fase de proliferação no processo de cicatrização.

Aos 14 dias como podemos observar na figura 1, o processo inflamatório nos animais do grupo M reduziu e o número de fibroblastos aumentou, porém ainda apresentava tecido de granulação. Os animais do grupo MO, apresentaram ausência de células inflamatórias, fibroblastos maduros, e uma modelação das fibras colágenas, quando comparados com os animais do grupo M, evidenciando a fase de remodelação do processo de cicatrização normal do tecido (Figura 1).

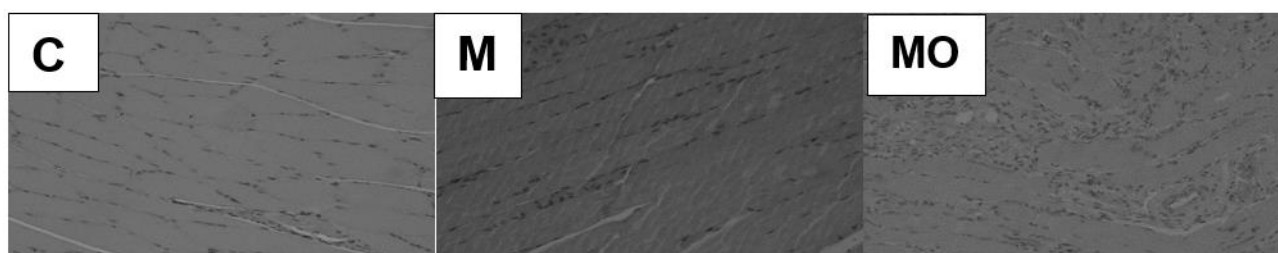


Figura 1: Aspectos qualitativos do processo inflamatório no processo de cicatrização da miosite o extrato do abacaxi (*Ananas comosus*) no tempo experimental de 14 dias.

O cálculo da média do diâmetro do tendão apresentou resultado significativo no período de sete e quatorze dias, ou seja, houve melhora na regressão do edema. Podemos analisar que no dia 1 o diâmetro entre os grupos mostrou-se sem grande diferença estatística, porém nos dias de 7 e 14 dias de experimento dos grupos M e MO comparado com o grupo C houve uma disparidade significativa, ocorrendo assim uma melhor redução do edema nos grupos MO e M (Tabela 1).

Tabela 1. Média da área do membro posterior direito dos ratos submetidos à miosite.

| GRUPOS | Área média do membro posterior direito | | |
|-----------------|--|-------|--------|
| | Dia 1 | Dia 7 | Dia 14 |
| Controle | 46,9 | 38,7 | 24,8 |
| Miosite | 44,3 | 22,4 | 13,6 |
| Miosite tratada | 47,2 | 19,9 | 11,4 |

Grupos controle (C), miosite (M) e miosite tratada (MO), em tempos experimentais de 7 e 14 dias. Unidade de medida utilizada: mm.

Com relação à análise quantitativa, o número de células inflamatórias, observou-se diferença significativa entre os grupos controle C e grupo MO comparado com o Grupo M com $p < 0,001$ no tempo experimental de sete dias o que permite afirmar a presença do processo inflamatório. Os animais do grupo M no tempo experimental de 14 dias comparados aos do grupo M, apresentaram diferença estatisticamente significativa com $p < 0,05$ havendo, portanto, uma redução do processo inflamatório. Quando se relacionam os números de fibroblastos presentes nos grupos C, grupo M com MO aos sete dias, há diferença estatística significativa $p < 0,001$. No tempo experimental de 14 dias os mesmos grupos verificam-se uma diferença significativa ($p < 0,001$), ou seja, uma maior presença de fibroblastos, caracterizando a fase de proliferação do processo de cicatrização normal tecidual.

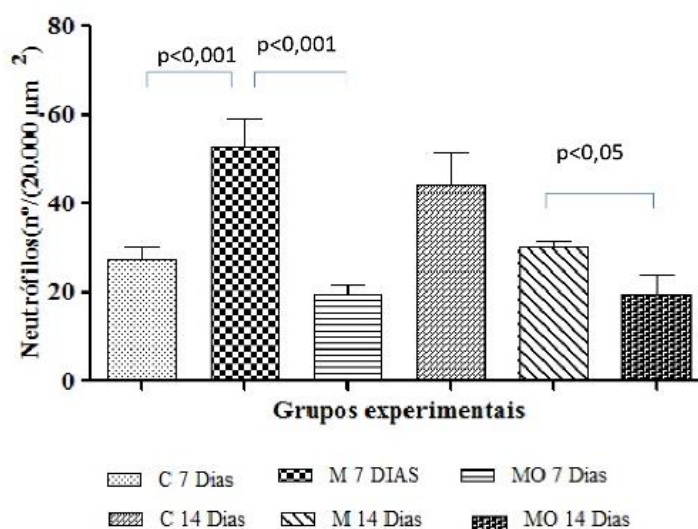


Figura 3. Número de células inflamatórias (20.000und/µm²) nos grupos estudados em tempos experimentais de 7 e 14 dias tratados com o extrato do abacaxi.

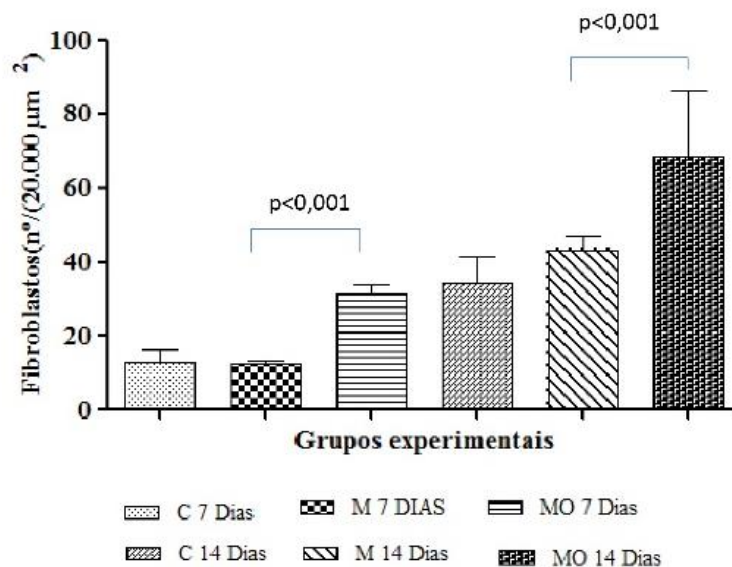


Figura 4. Número de fibroblastos (20.000und/ μm^2) nos grupos estudados em tempos experimentais de 7 e 14 dias tratados com o extrato do abacaxi.

As miosites, caracterizadas pelo processo inflamatório muscular e limitação funcional do membro acometido, possuem um ciclo de pouca inflamação, pouca restrição nas atividades de vida diária, porém complicações secundárias à miosite, podem levar a óbito como a pneumonia, devido ao enfraquecimento muscular provocado pelo desuso em decorrência do processo inflamatório limitante. Dessa forma a cicatrização dessa patologia é de suma importância (BARCA et al., 2012).

A inflamação trata-se de um processo de mecanismo de defesa, e a reparação pode causar cicatrizes e comorbidades que afetam a fisiologia e estética dos tecidos, como músculos e articulações. Nesse processo de defesa há uma distribuição variável de exsudados inflamatórios que altera a funcionalidade do fascículo muscular, impedindo a adequada nutrição muscular e a sua continuidade podendo levar até a necrose do local afetado (DE OLIVEIRA; PINHEIRO, 2013). Estes dados corroboram com os resultados encontrados quando observadas ao microscópio, os grupos induzidos por ácido acético, apresentaram edema, inflamação, acúmulo de células inflamatórias linfocíticas. Esse processo inflamatório passa por várias etapas, várias células com suas formas e funções específicas agem de modo a defender e equilibrar o organismo de ataques de agentes patógenos, essas células são os fibroblastos, eosinófilos, macrófagos, neutrófilos, entre outras (DELLÚ FRANCO et al., 2017).

O primeiro evento dessa cascata é o deslocamento de células à região agredida como os leucócitos que iram fagocitar ou produzir substâncias nocivas aos antígenos e tecidos necróticos (COELHO; REZENDE; TENORIO,1999). Os neutrófilos, linfócitos e eosinófilos chegam ao processo inflamatório através da corrente sanguínea e tem como função também proteger o organismo de agentes invasores após os primeiros dias da lesão, porém com o passar dos dias esse número de células vai sendo substituído por fibroblastos e tramas de elastina e colágeno (MUQARRABUN et al., 2014). Estas células foram objetos de estudo para mensurar o processo de inflamação induzido em ratos.

Na análise qualitativa e quantitativa nos mostrou que nos grupos de 7 dias de tratamento, houve uma redução do número da quantidade de tecido de granulação, presença de fibroblastos e uma organização das fibras colágenas, quando comparadas aos grupos C e M. No tempo experimental de 14 dias o grupo MO apresentou ausência de células inflamatórias, fibroblastos maduros, e uma trama de colágeno já desenvolvida, em comparação ao grupo M que ainda possuía células de defesa e poucos fibroblastos. Portanto, evidencia-se conforme o estudo que tanto o grupo de 7 quanto o de 14 dias houve diferença significativa entre os grupos tratados e não tratado com o extrato.

Juntamente com a locomoção das células, ocorre a contração arteriolar transitória estimula a liberação de mediadores químicos, como prostaglandinas que dá início à dilatação subsequente das arteríolas e levam a hiperemia ativa, outros mediadores também atuam como a histamina e bradicinina, levam ao aumento das vênulas com a consequente exsudação de um líquido plasmático rico em proteínas, comumente chamada de edema (COELHO; REZENDE; TENORIO,1999). Ao avaliar o membro posterior direito dos animais macroscopicamente, observou-se uma evolução do processo com redução da área do membro posterior direito de forma acentuada no grupo tratado, ou seja, mostrou que o extrato foi eficaz na redução do edema, pois esse é considerada um indicativo do potencial de cicatrização, ou seja, quanto melhor a cicatrização maior é a percentagem da diminuição.

Segundo estudos o edema pode manter-se e se prolongar por vários dias em situações em que a lesão foi mais grave pois nelas ocasionam destruição de capilares, vênulas e arteríolas. Nesses casos o edema dura o tempo necessário para o trombosamento ou o repara das paredes vasculares (DURVAL; LÍGIA, 2001). Na nossa pesquisa o tempo de inflamação não foi prolongado, dessa forma a lesão muscular induzida no estudo não foi agressiva ao ponto de danificar nenhum tecido vascular e durou poucos dias.

Em estudos recentes foi comprovado que a enzima bromelina encontrada no extrato, obteve resultados mais evidentes em doenças que envolvem reparação tecidual (ABÍLIO et

al., 2009; COELHO et al., 2011). Nesse contexto no estudo proposto evidenciou-se que o extrato do abacaxi foi responsável pela ação anti-inflamatória tendo, portanto, capacidade de substituir fármacos anti-inflamatórios que exercem inúmeros efeitos colaterais que podem restringir seu uso, além de ser uma planta nativa e de fácil acesso e produção em nosso país.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que a aplicação do extrato do abacaxi em musculatura acometida por miosite foi satisfatória no processo inflamatório, melhorando a função do membro acometido. Houve uma redução do número de células inflamatórias no tempo de 7 dias e um aumento do número de fibroblastos e uma maior deposição e organização das fibras colágenas nos animais do grupo tratado com o óleo no tempo experimental de 14 dias.

Pode-se inferir do texto indícios da possibilidade terapêutica utilizando-se do extrato desta fruta, necessitando para tanto de novos e mais abrangentes estudos para confirmação destes achados em outros modelos experimentais.

5. REFERÊNCIAS

ABÍLIO, G.M.F.; HOLSCHUH, H.J.; BORA, P.S.; OLIVEIRA E.F. Extração, atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 4, p. 1117-1121, 2009.

BARCA, E.; AGUENNOUZ, M.; MAZZEO, A.; MESSINA, S.; TOSCANO, A.; VITA, G.L.; et al. ANT1 is reduced in sporadic inclusion body myositis. **Neurological Sciences**, v. 34, n. 2, p. 217-224, 2012.

BRESOLIN, I.R.A.P. **Purificação da enzima bromelina de resíduos de abacaxi para estudo de estabilidade em bases dermatológicas**. (Tese) Doutorado em Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

BRITO, M.V.H.; FIGUEIREDO, R.C.; TAVARES, M.L.C.; SILVEIRA, T.S.; CANTANHÊDE, G. Efeito dos óleos de andiroba e copaíba na miosite induzida em ratos. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, n. 2, p.17-24, 2006.

COELHO, D.F.; PAULO, A.G.; SOARES, E.S.; JÚNIOR, A.P.; TAMBOURGI, E.B. Purificação de bromelina dos resíduos de abacaxi (*Ananas comosus* L. Merril) por sistemas bifásicos aquosos PEG/Sal. **Exacta**, v. 9, n. 3, p. 333-338, 2011.

COELHO, M.C.O.; REZENDE, C.M.F.; TENORIO, A.P.M. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 297-303, 1999.

COLEY, W.; RAYAVARAPU, S.; PANDEY, G.S.; SABINA, R.L.; MEULEN, J.H.V.; AMPONG, B.; et al. The molecular basis of skeletal muscle weakness in a mouse model of inflammatory myopathy. **Arthritis & Rheumatism**, v. 64, n. 11, p. 3750-3759, 2012.

DA COSTA, H.B. **Desenvolvimento de processo para a purificação de bromelina a partir de resíduos de abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *comosus*) cv. Vitória.** (Tese) Doutorado em Biotecnologia- Universidade Federal do Espírito Santo, 2014.

DANKÓ, K.; PONYI, A.; CONSTANTIN, T.; BORGULYA, G.; SZEGEDI, G. Long-term survival of patients with idiopathic inflammatory myopathies according to clinical features. **Medicine**, v. 83, n. 1, p. 35-42, 2004.

DIORGE, J.; MARMIT, T.; REMPEL, C.; GOETTERT, M.; SILVA, A. plantas medicinais da renisus com potencial anti-inflamatório: revisão sistemática em três bases de dados científicas. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, p. 73-159, 2015.

FRANÇA-SANTOS, A.; ALVES, R. S.; LEITE, N.S; FERNANDES, R.P.M. Estudos bioquímicos da enzima bromelina do *Ananas comosus* (abacaxi). **Scientia Plena**, v. 5, n. 11, 2009.

FRANCO, A.D.; PEREIRA, L.E.; GROSCITZ, M.; AIMBIRE, F.; MARTINS, R.A.B.L.; CARVALHO, R.A.. Análise do efeito do ultra-som no edema inflamatório agudo – estudo experimental. **Fisioterapia em Movimento**, v. 18, n. 2, 2017.

MEGRAJ, K.V.K.; RAJU, K.; BALARAMAN, R.; MEENAKSHISUNDARAM, K. Biological activities of some Indian medicinal plants. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v.1, p. 2-44, 2011.

MENDES, D.A.G.B. **Ação anti-inflamatória cutânea de uma planta nativa brasileira: *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax.** (Tese) Doutorado em Farmacologia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MUQARRABUN, L.M.R.; AHMAT, A.L.; ARIS, S.; RUZAINA, S. A review of the medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Sapium*. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 155, n. 1, p. 9-20, 2014.

OLIVEIRA, M.L.M.; PINHEIRO, D.C.S.N. Cellular and molecular biomarkers involved in immune-inflammatory response modulated by unsaturated fatty acids. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 2, p. 1-12, 2013.

OMOTOYINBO, O. V; SANNI, D. M. characterization of bromelain from parts of three different pineapple varieties in Nigeria. **American Journal of Bioscience**, v. 5, n. 3, p. 35-41, 2017.

PALHARES, D.B.; LEME, L.M. Miosite ossificante progressiva: uma perspectiva no controle da doença. **Jornal de Pediatria**, v. 77, n.5 p. 431-434, 2001.

REGO, L.M. **Avaliação do efeito anti-inflamatório do óleo essencial da alpínia zerumbet na miosite induzida por carragenina no tecido muscular do gastrocnêmio em ratas.** (Dissertação) Mestrado em Saúde e Ambiente - Universidade Tiradentes Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente, Aracaju, 2014.

TAN J.A.; ROBERTS-THOMSON P.J.; BILIMBERGS P.; HAKENDORT P.; COX S.R.; LIMAYE V. Incidence and prevalence of idiopathic inflammatory myopathies in South Australia: a 30-year epidemiologic study of histology-proven cases. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 16, n. 3, p. 331-338, 2011.

EFEITOS DO ÓLEO DA GRAVIOLA (*Annona muricata*) EM TENDINITE INDUZIDA EM RATOS

Whelen de Sousa Moreira¹, Isabella Sousa Ramalho¹, Antônio Luiz Martins Maia Filho², Daniel Cabral Leão Ferreira², Francisvaldo Falcão de Carvalho Júnior³, Esmeralda Maria Lustosa Barros⁴, Nayana Pinheiro Machado de Freitas Coelho¹

1. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Centro de Ciências da Saúde - CCS, Teresina, Piauí, Brasil;
2. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade, Teresina, Piauí, Brasil.
3. Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Programa de Pós-graduação em Química – GERATEC, Teresina, Piauí, Brasil;
4. Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil;

RESUMO

A tendinite ocorre nas estruturas periarticulares, caracterizada pela inflamação do tecido conjuntivo, ocorrendo em qualquer tendão do corpo a partir de uma lesão. Espécies do gênero Annonaceae possuem atividade antinociceptiva e antioxidante, e também sobre o sistema nervoso central em roedores. Este estudo analisou os efeitos do óleo da semente da *Annona muricata* em tendinite induzida em ratos. Estudo in vivo, experimental, caso-controle, randomizado, intervencionista, qualitativo e quantitativo com 30 ratos, distribuição aleatória em três grupos de cinco animais nos tempos experimentais de 7 e 14 dias: Controle, Tendinite e Tendinite tratada com o óleo. A tendinite foi induzida por tenotomia do membro inferior direito e foi avaliado no trabalho: diâmetro do tendão e análise histomorfométrica. A terapia com óleo apresentou efeito anti-inflamatório na fase aguda do processo inflamatório com redução significativa de neutrófilos ($p < 0,001$), aumento de fibroblastos (responsável por produzir colágeno e matriz extracelular durante o processo de reparação tecidual) com $p < 0,05$, além de redução do edema no grupo tratado e presença de tecido de granulação em amadurecimento e vasos neoformados, mais organizados. Houve regressão significativa da tendinite induzida em ratos tratados com óleo da semente da *Annona muricata*.

Palavras-chave: *Annona muricata*, Fitoterapia e Tendinite.

ABSTRACT

Tendinitis occurs in the periarticular structures, characterized by inflammation of the connective tissue, occurring in any tendon of the body from an injury. Species of the genus Annonaceae possess antinociceptive and antioxidant activity, and also on the central nervous system in rodents. Analysis of the effects of *Annona muricata* seed oil on induced tendinitis in rats. In vivo, experimental, case-control, randomized, interventionist, qualitative and quantitative study with 30 rats, random distribution in three groups of five animals in the experimental times of 7 and 14 days: Control, Tendinitis and Tendinitis treated with oil.

Tendinitis was induced by tenotomy of the right lower limb and was evaluated at work: tendon diameter and histomorphometric analysis. Oil therapy had an anti-inflammatory effect in the acute phase of the inflammatory process with significant reduction in neutrophils ($p < 0.001$), increased fibroblasts (responsible for producing collagen and extracellular matrix during the tissue repair process) with $p < 0.05$, in addition to reducing edema in the treated group and the presence of maturing granulation tissue and more organized new vessels. There was a significant regression of tendonitis induced in rats treated with *Annona muricata* seed oil.

Keywords: *Annona muricata*, Phytotherapy and Tendinopathy

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Sociedade Brasileira de Artroscopia e Traumatologia do Esporte – SBRATE (2018), os tendões exercem importante função nos movimentos, são estruturas complexas formadas de células inseridas em uma matriz de proteínas e de fibras de colágeno na sua composição básica. É inviável que ocorra movimento sem a participação dos tendões na transmissão de forças geradas pelos músculos.

A tendinite é um reumatismo que ocorre nas estruturas periarticulares, caracterizada pela inflamação do tecido conjuntivo, podendo ocorrer em qualquer tendão do corpo a partir de uma lesão (WU et al., 2016).

Predominantemente encontrada em atletas e pessoas de meia idade, prevalente também nas academias gerando dor e limitação do movimento, e ocorre com maior frequência quando há o uso de cargas máximas para determinado exercício, treinamento excessivo, incorreto e/ ou sem nenhuma orientação específica, além de equipamentos ergonomicamente mal projetados (MOREIRA; BOERY; BOERY, 2010).

As condições para a tendinite incluem atividades físicas extenuantes, envelhecimento, diabetes, obesidade, hipertensão, entre outros. Seu quadro clínico agudo característico é de dor, calor, sensibilidade, tumefação e crepitação (MÜLLER, 2015).

Quando o tendão é exposto a uma sobrecarga ele perde a sua capacidade reparadora fundamental podendo induzir à microtraumas cumulativos que levam à atenuação das ligações do colágeno, a matriz não colágena e os elementos vasculares do tendão. O desempenho do ciclo inflamatório, as alterações histopatológicas e a patogênese da lesão recorrente do tendão não estão completamente compreendidos (NUNES DA SILVA et al., 2010).

Atualmente, encontra-se facilmente em jornais, revistas e também em publicações da área da saúde uma variada gama de artigos sobre plantas medicinais, que estão sendo utilizadas, cada vez mais, com respaldo científico (MILLER et al., 2012).

A grande parte dos princípios ativos de importância farmacológica encontrada nos extratos vegetais, de modo geral, é oriunda de uma variedade de metabólitos secundários que possuem uma constituição complexa, alcançando alvos terapêuticos nas doenças humanas e que são produzidos para modular seus próprios metabolismos (CHATROU et al., 2012).

A família Annonaceae compreende um grande número de gêneros e espécies, cuja maioria é nativa das regiões tropicais. No Brasil foram registrados 29 gêneros, compreendendo aproximadamente 392 espécies. A maioria das espécies dessa família são frutíferas e encontradas com frequência em regiões de clima subtropical e tropical (FERREIRA; PINTO, 2010).

Muitas espécies desse gênero possuem atividade farmacológica, tais como atividade antinociceptiva e antioxidante, e também atividade sobre o sistema nervoso central em roedores. Tradicionalmente, as folhas são usadas para cefaleias, insônia, cistite, problemas de fígado, diabetes, hipertensão, e como anti-inflamatórias (BAHMANI et al, 2014).

No entanto, é um exemplo que caracteriza a escassez de conhecimentos científicos acerca do seu potencial terapêutico. Poucos trabalhos são encontrados na literatura disponível e nem todos trazem as informações completas, o que justifica o objetivo do artigo em questão: analisar os efeitos do óleo da semente da *Annona muricata* em tendinite induzida em ratos, por meio da avaliação qualitativa e quantitativa do processo inflamatório e mensuração do edema utilizando-se o paquímetro.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 DESENHO DA PESQUISA

Esta pesquisa é caracterizada como um estudo in vivo, experimental, caso- controle, randomizado, intervencionista, quantitativo e qualitativo.

2.2 PROCEDIMENTOS ÉTICOS

Esta pesquisa está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal definidos pela lei nº 11.794 de outubro de 2008. Foi submetido à apreciação e iniciado somente após a aprovação pelo Comitê de Ética em Usos de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Piauí-UESPI sob o protocolo 0141/2018.

2.3 ANIMAIS

O estudo foi desenvolvido no laboratório de fisiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Piauí (UESPI). Participaram deste estudo 30 ratos (*Rattus norvegicus*), machos, clinicamente sadios, com peso médio de 250 a 300g, obtidos do biotério do Centro de Ciências da Saúde da UESPI. Esses animais, ao longo do experimento, foram alimentados com ração para ratos Labcil® e água ad libitum, sendo mantidos no ciclo claro/escuro de 12 horas. Todo o protocolo contido no Comitê de Ética em Experimentação Animal foi cumprido, garantindo o bem-estar dos animais utilizados.

2.4 EUTANÁSIA

Os animais de todos os grupos foram tratados com uma dose de 0,2mL/100g de cloridrato de morfina a 2% e aplicado uma sobredose de tiopental, 60mg/kg. Após a eutanásia dos animais, foi retirada a peça anatômica de interesse (tendão), com ajuda de um bisturi estéril, utilizando uma margem de 1cm ao redor da lesão e cerca de 3mm de profundidade, suficientes para retirada do tecido na dimensão da área lesada. Foram fixados em formol a 10% e encaminhados para os procedimentos histológicos de rotina, para colorações especificadas.

2.5 PREPARO DOS ANIMAIS E INDUÇÃO DA TENDINITE

Foram divididos três grupos de cinco ratos, distribuídos aleatoriamente, obedecendo aos tempos experimentais de sete (7) e quatorze (14) dias. O primeiro grupo foi o grupo controle (C) e não apresentou tendinite (sadio). No segundo grupo (T) foi induzida a tendinite no tendão do calcâneo direito e não recebeu tratamento. O terceiro grupo (TO) apresentou tendinite induzida e recebeu tratamento com o óleo da semente da *Annona muricata*.

Primeiramente, os animais foram anestesiados com ketamina (100 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg) e, posteriormente, submetidos à indução da tendinite. Para induzir experimentalmente a tendinite, foi realizada a secção parcial no tendão do calcâneo direito dos ratos. A tenotomia foi realizada no primeiro dia e foram sacrificados com dose excessiva de anestésico (tiopental), sete (7) e quatorze (14) dias após a indução da tendinite.

2.6 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA SEMENTE DA *Annona muricata*

Foram compradas 6kg da fruta em um supermercado e retiradas as sementes íntegras, em seguida, colocadas para secar por duas semanas, à temperatura ambiente. Após esse procedimento, foram colocadas em estufa de secagem para a retirada da umidade em temperatura de 45 a 50°C, por 24 horas.

Posteriormente, as sementes foram submetidas ao processo de moagem, em liquidificador industrial (METVISA–26FEV14). Após a moagem, foi obtido um pó de coloração marrom, ao qual foi adicionado Álcool Etílico Absoluto para extração do óleo. A mistura obtida foi agitada manualmente por cinco minutos, a cada duas horas, durante 12 horas e filtrada em funil de vidro simples e algodão por três vezes consecutivas. O extrato etanólico foi concentrado em evaporador rotativo (IKA RV-10) sob pressão reduzida e temperatura controlada (50 °C – 55 °C) (E).

O material resultante ficou conservado em geladeira durante todo o desenvolvimento. O produto obtido depois da concentração se apresentou em forma de pasta, sendo desta retiradas as amostras para os testes farmacológicos. Para uso tópico foi retirado 1g de extrato bruto de *Annona muricata*, diluída em 100mL de solução salina, resultando em concentração final de 10mg/mL.

2.7 PROTOCOLO DE TRATAMENTO

O tratamento iniciou 24 horas após a indução da tendinite. Os animais do grupo tendinite tratada com o óleo (TO) foram posicionados em decúbito ventral com imobilização manual da pata direita para aplicação da terapêutica indicada em contato direto com a área a ser tratada e receberam, de forma tópica, 0,5 mL do óleo.

Ao término do protocolo diário, os animais eram mantidos em gaiolas sob fluxo aberto de ar e temperatura ambiente, com rações padronizadas e água livre.

2.8 ANÁLISE MACROSCÓPICA DA TENDINITE

A análise macroscópica da tendinite foi realizada a partir da verificação do edema, medindo o diâmetro dos tendões em seu terço médio, com paquímetro posicionado médio lateralmente do membro posterior direito, fazendo as medidas no primeiro e no último dia de acordo com os tempos experimentais estudados (7 e 14 dias) e posteriormente a análise estatística.

2.9 ANÁLISE HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA

Os tendões foram seccionados longitudinalmente, desidratados em soluções crescentes de álcool e diafanizados em xilol; em seguida, incluídos em parafina. Foram obtidos em micrótomo American Optical quatro cortes semisseriados com 5µm de espessura, sendo dois corados com hematoxilina-eosina (HE), e dois pelo Tricrômico de Masson (TM), o qual permitiu visualizar as fibras colágenas. O material foi examinado com um microscópio óptico Olympus 2000, equipado com câmera digital e acoplado a um microcomputador. Foi realizada uma avaliação histomorfométrica nas lâminas coradas com o tricrômico de Masson, quantificando o número de neutrófilos e fibroblastos. As imagens digitalizadas foram avaliadas com auxílio do programa de análise computacional de imagens Image-J® (Versão 1,32 para Windows) de domínio público, para contagem do número de células inflamatórias na função "cell conter". Para tanto, foram obtidas imagens de três regiões das lesões cirúrgicas (margem direita, região central e margem esquerda) de cada animal, na objetiva de 40X, utilizando o programa LeicaQwin.

2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados coletados foi realizada de maneira descritiva, por meio do teste ANOVA, para comparação entre grupos. O intervalo de confiança foi de 95% e o nível de significância, ou seja, a probabilidade de erros na análise $p < 0,05$. Os resultados foram quantificados e expressos através de gráficos feitos no software estatísticos GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa mostraram que a terapia com óleo da *Annona muricata* apresenta efeito anti-inflamatório significativo na fase aguda do processo inflamatório, no que diz respeito à variação de neutrófilos e fibroblastos (Figuras 1 e 2), análise histológica qualitativa (Figuras 3A e 3B) e avaliação do edema (Quadro 1) tratado por um período de sete e quatorze dias.

A análise da figura 1 revela significativa variação do número de neutrófilos ($p < 0,001$), comparando-se o grupo controle (C) com o grupo em que foi induzida a tendinite (T), tanto em sete como em quatorze dias. Essa variação, como mostrado na figura, revela que o grupo em que foi induzida a tendinite apresentou aumento significativo do número de células inflamatórias, ou seja, do processo inflamatório.

Também foi considerada estatisticamente significativa comparando-se o grupo controle (C) com o grupo tratado com o óleo (TO) após sete e quatorze dias; contudo, neste último, a variação mostrou-se mais significativa ($p < 0,001$) do que aos sete dias. Com isso, observa-se que o grupo que foi tratado com o óleo por 14 dias apresentou maior diminuição do número de células inflamatórias.

Quanto ao número de fibroblastos (Figura 2), os resultados também foram significativos, apresentando $p < 0,05$ comparando-se o grupo que apresentou tendinite (T) com o grupo tratado com o óleo (TO) em sete e em quatorze dias. Tal resultado significa, como mostrado na figura, que houve aumento significativo deste tipo de célula, responsável por produzir colágeno e matriz extracelular durante o processo de reparação tecidual.

Quanto à análise histológica qualitativa (Figuras 3A e 3B), houve melhora significativa no grupo tratado com o óleo (TO) aos quatorze dias de tratamento, evidenciando presença de tecido de granulação em amadurecimento e vasos neoformados, mais organizados e proliferação de fibroblastos com deposição de matriz extracelular (ME). Este resultado evidencia maior efetividade do óleo quando o tempo de tratamento é maior.

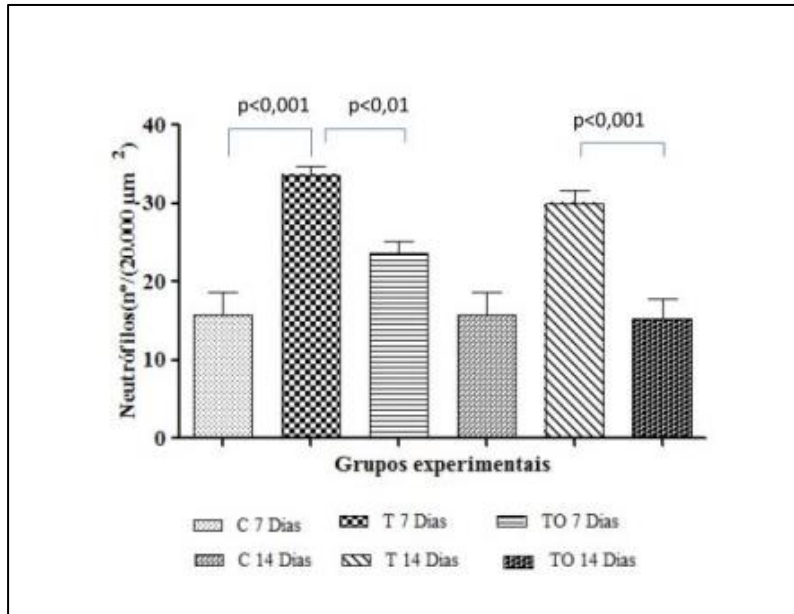


Figura 1. Gráfico comparativo da variação (Δ) do número de neutrófilos após sete e quatorze dias de tratamento.

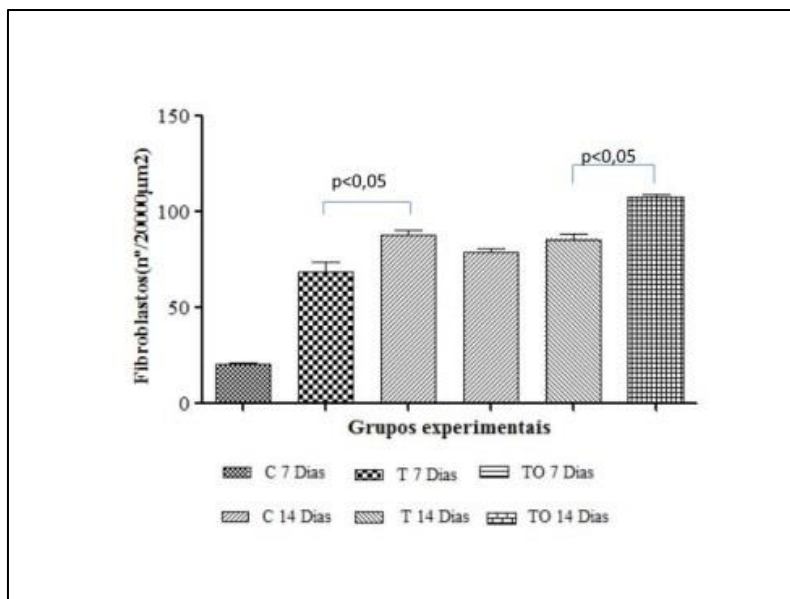


Figura 2. Gráfico comparativo da variação (Δ) do número de fibroblastos após sete e quatorze dias de tratamento.

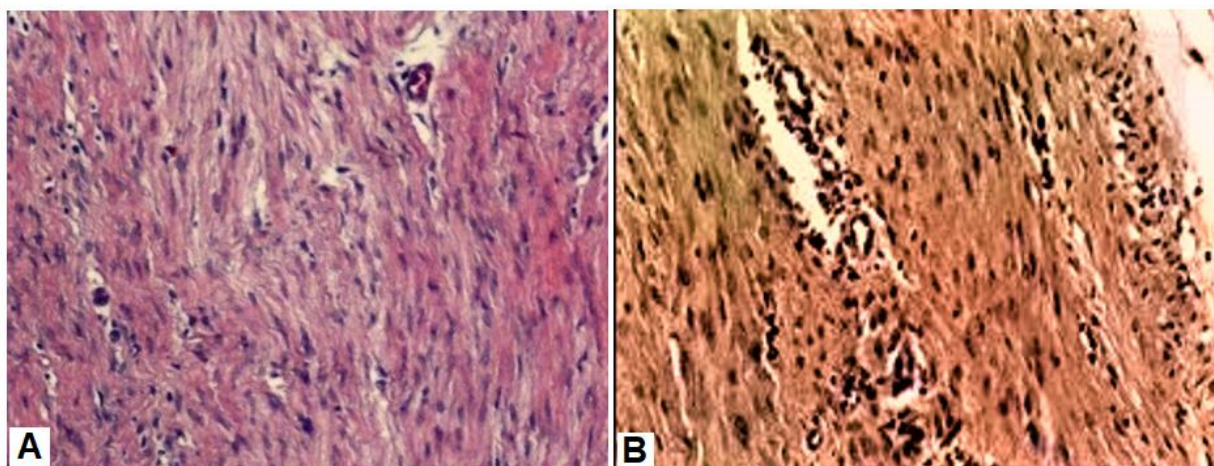


Figura 3. A) Grupo tratado com o óleo (TO) por 7 dias; B) Grupo tratado com o óleo (TO) por 14 dias

A terapia com o óleo *Annona muricata* também apresentou resultado significativo no período de sete e quatorze dias no que diz respeito ao edema. Aos 14 dias de tratamento, observou-se maior redução do diâmetro do membro direito no grupo tratado com o óleo (TO) que em 7 dias e também se comparado aos grupos T (tendinite) e C (controle).

Quadro 1. Tabela comparativa do diâmetro dos tendões (em milímetros) após sete e quatorze dias de tratamento.

| Grupos | Dia 1 | Dia 7 | Dia 14 |
|------------------|--------------|--------------|---------------|
| Controle | 36 | 36 | 32 |
| Tendinite | 62 | 58 | 55 |
| Óleo | 59 | 48 | 41 |

Os resultados obtidos demonstraram que a utilização do óleo da semente da *Annona muricata* em ratos, aplicado de forma tópica, no tratamento da tendinite por um período de sete e quatorze dias produz redução significativa do processo inflamatório.

A inflamação é uma resposta a um microrganismo invasor, substância química, reação imune ou a uma necrose; e pode ser tanto benéfica quanto maléfica para o organismo. Pode ser classificada em aguda e crônica, neste trabalho foi considerada a inflamação aguda (SERRA; CAMPOS, 2010).

A inflamação aguda é um processo natural do organismo que visa recuperá-lo por meio de mecanismos de fagocitose e mediadores químicos. Sua duração é curta e envolve a liberação de exsudato. Os cinco sinais mais comuns da inflamação são: dor, calor, rubor, edema e perda de função (BERTOLINI et al., 2012).

Muitos mediadores químicos estão envolvidos no processo inflamatório na inflamação aguda, uma das primeiras células a participar desse processo é o leucócito (mais especificamente do tipo neutrófilo) (MÜLLER, 2015). Isso justifica seu aumento significativo no grupo que foi induzida a tendinite.

Durante o período da inflamação aguda, ocorre inicialmente uma resposta vascular, com produção de vasoconstrição pela ação da noradrenalina e contração do endotélio, seguida de vasodilatação, e as células inflamatórias (leucócitos e neutrófilos) são atraídos para a área da lesão. Nesse momento, os macrófagos removem os restos celulares e componentes extracelulares alterados, e os fibroblastos iniciam a síntese de colágeno (VIEIRA et al., 2008) evidenciando, portanto, o porquê do aumento significativo de fibroblastos em 7 e 14 dias de tratamento.

Durante o processo inflamatório ocorre também sobrecarga na reabsorção do líquido tecidual e, com isso, formação do edema. Os capilares normais e as vênulas de menor calibre, permitem passar livremente através de suas paredes água, sais, aminoácidos, glicose e outras pequenas moléculas. Os segmentos mais próximos às arteríolas formam líquido tecidual e os que estão em continuidade com as vênulas reabsorvem; os principais fatores envolvidos na formação e reabsorção do líquido tecidual são as pressões osmótica e hidrostática (NUNES DA SILVA et al., 2010).

Na inflamação a pressão hidrostática aumenta e a osmótica tende a diminuir, devido a saída de proteínas para o espaço intersticial. Revertido ou minimizado o processo inflamatório, ocorre retorno das pressões e conseqüente redução do edema, como ocorreu no presente estudo tanto no grupo tratado com o óleo (TO) em 7 dias como em 14 dias.

Por fim, buscou-se na literatura artigos que demonstrassem outros efeitos encontrados pela *Annona muricata* e encontrou-se que os extratos de graviola (sejam da polpa, da semente ou da folha), apresentam papel importante na área medicinal sendo, então, usados como antiviral, antiparasita, adstringente, antirreumático, antileishmania (LIAW et al., 2002) e, corroborando com o evidenciado no presente estudo apresenta efeitos benéficos na redução do processo inflamatório da tendinite.

4. CONCLUSÃO

A pesquisa revelou que os animais tratados com óleo (O) por 14 dias, apresentaram maior ação anti-inflamatória, quando comparados ao grupo controle (C7 e C14) e ao grupo óleo (O7). A análise histológica e histomorfométrica demonstraram qualitativa e quantitativamente aumento no número de fibroblastos e das fibras colágenas, aos 14 dias, para o grupo óleo (O), quando relacionadas com as dos grupos controle e óleo (7 dias); além disso, houve redução significativa do edema para o grupo tratado com óleo, seja no período de sete dias, seja no período de quatorze dias, evidenciando, portanto, efetividade no tratamento da tendinite.

5. REFERÊNCIAS

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ARTROSCOPIA E TRAUMATOLOGIA DO ESPORTE. **Atualização em ortopedia e orumatologia do esporte: As tendinopatias do joelho.** Disponível em <<https://www.institutosport.com.br/wp-content/uploads/2017/08/Tendinopatias-do-joelho.pdf>> acesso em: 11/04/2018.

WU, P.T.; JOU, I.M.; KUO, L.C.; SU, F.C. Intratendinous injection of hyaluronate induces acute inflammation: a possible detrimental effect. **PloS one**, v. 11, n. 5, p. e0155424, 2016.

MOREIRA, R.M.; BOERY, E.M.; BOERY, R.N. Lesões corporais mais frequentes em alunos da academia de ginástica e musculação de Ituaçu, Bahia. **EFDeportes.com**, v. 15, n. 151, 2010.

MÜLLER, S.A. Tendon healing: an overview of physiology, biology, and pathology of tendon healing and systematic review of state of the art in tendon bioengineering. **Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc**, v. 23, n. 7, p. 2097-2105, 2015.

REES, J.D.; STRIDE, M.; SCOTT, A. Tendons – time to revisit inflammation. **British Journal of Sports Medicine**, v. 48, n. 21, p. 1553-1557, 2014.

WÆRSTED, M.; HANVOLD, T.N.; VEIERSTED, K.B.; Computer Work and Musculoskeletal Disorders of the Neck and Upper Extremity: A Systematic Review. **Musculoskeletal Disorders**, v. 11, p. e79, 2010.

SILVA, J.M.N.; et al. Estudo da ação do ultrassom terapêutico em modelo experimental de tendinite em ratos Wistar. **Conscientiae Saúde**, v. 9, n. 4, p. 625-632, 2010.

MAFFULLI, N.; LONGO, U.G.; LOPPINI, M.; DENARO, V. Current treatment options for tendinopathy. **Expert Opinion On Pharmacotherapy**, v. 11, n. 13, p. 2177-86, 2010.

ENNIS, W.J.; LEE, C.; PLUMER, M.; MENESES, P. Current status of the use of modalities in wound care: electrical stimulation and ultrasound therapy. **Plastic Reconstr Surg**, v. 127, n. 1sup, p. 93-102, 2011.

MILLER, D.L.; SMITH, N.B.; BAILEY, M.R.; CZARNOTA, G.J.; HYNEN, K.; MAKIN, I. Overview of therapeutic ultrasound applications and safety considerations. **Journal Ultrasound Med**, v. 31, p. 623-34, 2012.

CHATROU, L.W.; et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, p. 5-40, 2012.

MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB110219>> acesso em: 02/11/2018.

FERREIRA, V.F.; PINTO, A.C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. e1829, 2010

OLSSON, D.C.; et al. Marcadores fluorescentes coloidais: conceitos e aplicações. **Ciencia Rural**, v. 41, n. 6, p. 1043-1050, 2011.

VASCONCELOS, D.A.; ALCOFORADO, G.G.; LIMA, M.M. Plantas medicinais de uso caseiro: conhecimento popular na região do centro do município de Floriano/PI. **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Medicamentos fitoterápicos.** Brasília, DF, 2018.

LIMA, L.A.A.S.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1129-1138, 2010.

BAHMANI, M.; et al. Medicinal plants and secondary metabolites for diabetes mellitus control. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. sup.2, p. S687-S692, 2014.

SERRA, B.V.; CAMPOS, L.O. Polinização Entomófila de Abobrinha, *Cucurbita moschata* (Cucurbitaceae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 2, p. 153-159, 2010.

MAIA-FILHO, A.L.M.; et al. Efeito do gel da babosa (*Aloe barbadensis* Mill.) associado ao ultrassom em processo inflamatório agudo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, p. 146-150, 2011.

VIEIRA, R.C.; et al. Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 8, p. 358-366. 2008.

BERTOLINI, G.R.F.; SILVA, T.S.D.; CIENA, A.P.; ARTIFON, E.L. Comparação do ultrassom pulsado e contínuo no reparo tendíneo de ratos. **Fisioterapia e Pesquisa**, v. 19, n. 3, p. 242-247, 2012

ARAUJO C.S.; et al. Phytochemical screening and central nervous system effects of ethanolic extract of *Annona vepretorum* (Annonaceae) in mice. **Journal of Medicinal Plants Research**. v. 7, n. 37, p. 2729-2735, 2013.

ALMEIDA, J.R.G.S.; et al. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2012, p e 859210, 2012

LIAW, C.C.; et al. New cytotoxic monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 470-475, 2002.

BIOMARCADORES DE FATORES DE ESTRESSE PARA SAÚDE HUMANA

José Williams Gomes de Oliveira Filho¹, Teresinha de Jesus Aguiar dos Santos Andrade², Nerilson Marques Lima³, Leandro de Sousa Dias⁴, Ana Carolina Soares Dias⁵, Lis Cardoso Marinho Medeiros⁶ e Francisco Soares Santos Filho⁷

1. Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Instituto Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil;
2. Núcleo de Investigação Aplicado as Ciências-NIAC, Instituto Federal do Maranhão, Presidente Dutra, Maranhão, Brasil;
3. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
4. Núcleo de Investigação Aplicado as Ciências-NIAC, Instituto Federal do Maranhão, Maranhão, Timon, Maranhão, Brasil;
5. Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, Brasil;
6. Núcleo de Estudos, Pesquisa e Extensão em Educação Permanente para o SUS, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil;
7. Centro de Ciências da Natureza, Universidade Estadual do Piauí. Teresina, Piauí, Brasil.

RESUMO

A genotoxicidade ao material genético pode induzir alterações ao DNA de organismo a elas expostos. Essas alterações são responsáveis pelo desenvolvimento de diversos efeitos nocivos à saúde, principalmente a incidência de neoplasias. Vários tipos de agentes químicos - como medicamentos, inseticidas, fungicidas, herbicidas, fertilizantes e outros produtos têm contribuído para que sejam um dos principais problemas de saúde pública. Biomarcadores citogenéticos têm sido aplicados, na vigilância da exposição humana, além dos efeitos iniciais de carcinógenos genotóxicos. Esse capítulo discute indicadores biológicos que avaliam lesão primária no DNA, genotoxicidade e mutagenicidade. Esses bioindicadores têm como objetivo detectar agentes mutagênicos e carcinogênicos, além de elucidar mecanismos de como ocorrem a formação de lesões no material genético e a origem de mutações. Desta maneira, contribuem para revelar os riscos que determinado composto poderia trazer à saúde humana.

Palavras-chaves: Biomarcadores citotóxicos, Biomarcadores toxicogênicos, Genotoxicidade e Mutagenicidade.

ABSTRACT

Genotoxicity to genetic material can induce changes to the DNA of the organism exposed to them. These changes are responsible for the development of several harmful effects to health, mainly the incidence of cancers. Various types of chemicals - such as drugs, insecticides, fungicides, herbicides, fertilizers and other products have contributed to make it a major public health problems. Cytogenetic biomarkers have been applied to monitor human

exposure, in addition to the initial effects of genotoxic carcinogens. Cytogenetic biomarkers have been applied to monitor human exposure, in addition to the initial effects of genotoxic carcinogens. This chapter discusses biological indicators that assess primary DNA damage, genotoxicity and mutagenicity. These bioindicators aim to detect mutagenic and carcinogenic agents, in addition to elucidating mechanisms of how the formation of lesions in the genetic material and the origin of mutations occur. In this way, they contribute to reveal the risks that a certain compound could bring to human health.

Keywords: Cytotoxic biomarkers, Toxicogenetic biomarkers, Genotoxicity and Mutagenicity.

1. INTRODUÇÃO

As mutações são modificações ocorridas na molécula do DNA durante o processo da divisão celular. Além de um processo necessário para a evolução e variabilidade das espécies, as mutações ocorrem em todos os seres vivos, do mais simples ao mais complexo. Nesse contexto, agentes mutagênicos são os responsáveis por provocar alterações na sequência de bases da molécula do DNA acelerando o aparecimento de mutações responsáveis pelo processo da carcinogênese.

Curiosamente, muitos danos ao DNA relacionados a inflamação são responsáveis pelo aparecimento do câncer (MURATA, 2018), constantes alterações nas proteínas antioxidantes da célula podem desencadear estresse oxidativo e contribuir para um ciclo vicioso de estresse celular, o que leva ao desenvolvimento do câncer (OLIVEIRA FILHO et al., 2020a). Diversos agentes estressores da célula, como os eventos epigenéticos, provocados pela metilação ao DNA, são responsáveis por desencadear patogênese.

Diversos são os fatores estressantes da célula, fatores endógenos como idade, sexo e carga genética, além dos exógenos como exercícios físicos exagerados e poluição acabam determinando um nível de severidade ao estresse celular e respostas do sistema biológico de defesa. Um exemplo é o exercício físico exagerado, pois este aumenta o consumo drástico de oxigênio o que promove o aumento de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) contribuindo para o aumento de danos celulares (OLIVEIRA FILHO et al., 2020b). Uma sugestão das principais fontes, em potencial, de exposição aos agentes estressantes ou mutagênicos estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Principais fontes de exposição humana a agentes mutagênicos.

| Tipos de Fatores | Exemplos |
|-------------------------|---|
| Ambiental (Poluição) | Efluentes industriais |
| | Gases emitidos pelos motores de veículos |
| | Defensivos usados na agricultura |
| | Gases liberados a partir da incineração do lixo |
| Ocupacional | Produtos petroquímicos |
| | Produção de energia nuclear |
| Nutricionais | Mutágenos gerados durante o cozimento de alimentos (hidrogenação de gorduras) |
| | Mutágenos gerados no processo de preservação dos alimentos (defumação) |
| Biológicos | Infecções provocadas por vírus e bactérias |

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BIOMARCADORES CITOTÓXICOS E TOXICOGENÉTICOS PARA O MONITORAMENTO DA SAÚDE HUMANA

Várias respostas celulares funcionam como biomarcadores de estresse, prevê-los ou monitorá-los constitui uma importante premissa para a saúde humana. Biomarcadores citogenéticos têm sido aplicados, há muito tempo, na vigilância da exposição genotóxica humana, além dos efeitos iniciais de carcinógenos genotóxicos. A genotoxicidade ao material genético pode ser induzida por agentes químicos e/ou físicos que interagem ao DNA, além de outros caminhos celulares, podendo gerar adutos, quebras de fitas simples e duplas, mutações pontuais e alterações estruturais aos cromossomos, bem como numéricas (GUNASEKARANA; CHAND, 2015). Cabe evidenciar que essas alterações podem propiciar o desenvolvimento do câncer, contribuindo para alterações hereditárias, prejudicando a

saúde e bem-estar do indivíduo. As agressões geradas ao material genético podem ser detectadas com a aplicação de biomarcadores citogenéticos e/ou moleculares.

Investigações para a detecção de danos ao material genético, comumente, são realizadas com aplicação de vários testes não clínicos, tanto em estudos *in vitro* quanto em estudos *in vivo*, a exemplo do teste cometa, teste de micronúcleos, teste de micronúcleos com bloqueio de citocinese, *Allium cepa* e teste com *Saccharomyces cerevisiae* (KANG et al., 2013; GUNASEKARANA; CHAND, 2015; MORAES et al., 2019). Na avaliação da citotoxicidade, o ensaio com o microcrustáceo *Artemia salina* permite conquistar respostas para a detecção de estresses celulares em populações humanas, muito embora o invertebrado *A. salina* seja restrito a um ambiente único, mas permite analisar processos de interesse biológico geral (GAJARDO; BEARDMORE, 2012). Cistos de *Artemia salina* apresentam baixo custo e são facilmente encontrados no comércio, além de permanecerem viáveis por anos no estado seco. Essas vantagens contribuíram para a popularização desse bioensaio, especialmente a partir da década de 90 (OLIVEIRA FILHO et al., 2020b).

Plantas superiores são reconhecidas como excelentes modelos para estudos de monitoramento ambiental, investigação da atividade biológica de metabólitos secundários e demais agentes biológicos indutores de danos ao material genético (GÓMEZ-ARROYO et al., 2018). O ensaio com *Allium cepa* vem sendo utilizado na avaliação de danos ao DNA e é capaz de avaliar diferentes alterações ocorridas ao material genético com base em marcadores macroscópicos e microscópicos, como a investigação da toxicidade pela inibição do crescimento dos meristemas das raízes desse organismo, das alterações cromossômicas, que são identificadas como consequências de danos genotóxicos (DORNELLES et al., 2017). Além disso, o teste *A. cepa* detecta efeitos tóxicos, citotóxicos, por meio da investigação das alterações no índice mitótico e mutagenicidade, pela formação de micronúcleos (DE LIMA et al., 2019). Cabe também destacar que o ensaio com o organismo *A. cepa* apresenta reconhecida correlação envolvendo resultados em outros sistemas teste, que utilizam células procariotas e eucariotas (FISKESJÖ, 1985; YILDIZ et al., 2009). A genotoxicidade de efluentes com resíduos de indústrias farmacêuticas vem sendo investigada com o ensaio *A. cepa* (BAKARE et al., 2009).

A atividade biológica, de células eucarióticas, é constantemente investigada e confrontada, através da ação de agentes químicos (endógenos e exógenos), e físicos (NIKLAS; SCHNEIDER; HEINZLE, 2010). Esses agentes são responsáveis por promover alterações genômicas que levam à manutenção genética e/ou mutações, que envolvem variações no ciclo mitótico, permitindo avaliações detalhadas da bioatividade de candidatos

a antineoplásicos (OLIVEIRA FILHO et al., 2020c). Nesse contexto, o teste com o organismo eucarioto *Saccharomyces cerevisiae* é importante para mensurar mecanismos de alterações na fidelidade de replicação, sensibilidade a lesões ao material genético, bem como os mecanismos de respostas celulares a danos ao DNA (SKONECZNA; KANIAK; SKONECZNY, 2015; OLIVEIRA FILHO et al., 2020b). Algumas mutações aparecem de forma espontânea durante vários eventos, tais como as que ocorrem durante os mecanismos moleculares de replicação, durante o metabolismo que promove a geração de espécies reativas de oxigênio, durante a segregação de cromossomos e por erros durante o ciclo celular (OSSOWSKI et al., 2010). Desta forma *Saccharomyces cerevisiae* é um modelo ideal para estudar as respostas ao estresse oxidativo por várias razões: a) apresentar genoma com alto grau de homologia com o genoma humano; b) produzir proteínas que apresentam elevada homologia funcional com proteínas humanas específicas; c) ser um sistema cuja manipulação genética é razoavelmente fácil e mais barata que outros modelos; d) apresentar base de dados mais completa, comparado a outros os modelos eucarióticos (DE LA TORRE-RUIZ; PUJOL; SUNDARAN, 2015).

Eventos genotóxicos são conhecidos como cruciais para o início do câncer e para avaliar o risco de uma neoplasia, ensaios de genotoxicidade, incluindo cometa e micronúcleos (MN), são perfeitamente aceitos (KANG et al., 2013). A combinação do ensaio cometa *in vivo* com o teste de MN tem sido considerada como uma importante metodologia para avaliar danos genéticos, além de ser usada na avaliação do potencial de carcinogenicidade. No campo da genotoxicologia, o teste cometa *in vivo* tem sido considerado como uma poderosa ferramenta para distinguir entre carcinógenos genotóxicos e carcinógenos não-tóxicos, bem como para identificar mutágenos, além de propriedades de candidatos a antitumorais (IMANIKIA et al., 2016; DE LIMA et al., 2020). Além do teste cometa, o teste de MN foi desenvolvido para detecção de genotoxicidade e mutagenicidade de produtos naturais e/ou químicos que induzem a formação de pequenos fragmentos de DNA ligados à membrana nas células (micronúcleos) (FENECH, 2007). Presumivelmente, o teste de MN é capaz de detectar potenciais substâncias genotóxicas que podem modificar a estrutura dos cromossomos e induzir erros de segregação (LEE et al., 2014). Estudos utilizando o teste de MN, têm mostrado que o aumento significativo da frequência de MN está relacionado ao risco direto de danos ao DNA, apoiando a evidência de que o ensaio de MN é um importante biomarcador de mutagenicidade (KANG et al., 2013; DE LIMA et al., 2020).

Por fim, a combinação dos ensaios cometa e MN consiste na premissa de que não há nenhum ensaio, que sozinho forneça todos os aspectos necessários para uma completa investigação da genotoxicidade e mutagenicidade de compostos naturais e poluentes ambientais (GRUJIČIĆ et al., 2016; STORNETTA et al., 2017).

2.1.1 Biomarcadores em Cultura de Células

O ensaio Cometa ou SCGE - *Single Cell Gel Electrophoresis assay* - vem sendo proposto devido suas peculiaridades e vantagens, entre elas; a alta sensibilidade, exigência de poucas células por amostra, baixo custo e facilidade de aplicação (COLLINS, 2015). Tais características elegem este ensaio para a avaliação de produtos químicos em grande escala. Tem finalidade de identificar lesões genômicas provocadas por agentes genotóxicos, que alteram o DNA, porém passíveis de reparo (NERI et al., 2015). Essas alterações, chamadas de danos genotóxicos, podem ou não ser fixadas no DNA resultando em uma mutação. O ensaio tem sido utilizado com sucesso na avaliação das interações entre antioxidantes e compostos genotóxicos (KOPPEN et al., 2017).

O princípio de ensaio avalia a estrutura do nucleoide que é uma série de alças supernoveladas de DNA desprovidas de histonas, retiradas durante o processamento. Caso existam quebras na molécula de DNA, a estrutura do nucleoide sofre mudanças, visto que as alças de DNA se desenrolam formando o cometa, permitindo a identificação de quebras de fitas simples e sítios álcali-lábeis no DNA, associações do tipo DNA/DNA e proteína/DNA, SSBs associados com sítios de reparo incompleto por excisão de base, além das quebras de fita dupla. Os segmentos gerados migram do núcleo de acordo com o dano ocorrido na molécula (ENCISO et al., 2015; KOPPEN et al., 2017; MØLLER, 2018). Modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* podem ser utilizados na realização do ensaio. Para estudos *in vivo* é recomendado utilizar camundongos ou ratos sendo que o número experimental pode variar de espécie para espécie (ENCISO et al., 2018).

Existem dois protocolos principais para a execução do teste: a versão neutra, conforme o método original aprimorado por Ostling e Johanson em 1984, no qual se utiliza eletroforese em tampão de pH entre 7 e 8 para detecção de quebras duplas nas fitas de DNA e ligações cruzadas DNA-DNA, DNA-proteína (OSTLING; JOHANSON, 1984); e a versão alcalina, que realiza eletroforese em pH maior que 13, desnaturando o DNA, detectando quebras de fita dupla, fita simples, sítios álcali-lábeis, sítios de reparo por excisão

incompletas, danos oxidativos em bases do DNA, *crosslinks* em DNA-DNA, DNA-proteína e DNA-xenobiótico (BOLOGNESI et al., 2004; WITTE et al., 2007).

É possível observar lesões genômicas, que, após serem processadas pelo aparato enzimático celular, podem iniciar o processo de reparo ou darem origem a mutações e danos cromossômicos, como quebras, dicêntricos e micronúcleos. As lesões genômicas detectadas fornecem informações importantes sobre a cinética e o tipo de lesão que ocorrem previamente a diversos tipos de desfechos relacionados a danos celulares e, conseqüentemente, à saúde dos seres que as sofrem genotoxicidade *in vitro*, *in vivo* e no monitoramento populacional humano (AZQUETA; COLLINS, 2013; MØLLER, 2018).

Outra aplicação comum é a avaliação da capacidade antioxidante das células pela sua resistência a danos causados por espécies reativas de oxigênio, como o H₂O₂ (DOAK E DUSINSKA, 2017; GERIC et al., 2018). Alguns trabalhos indicam que as espécies reativas de oxigênio (ERO's), por intermédio de danos oxidativos no DNA (quebras, adutos), estejam associadas ao aparecimento de várias doenças. (COLLINS et al., 2014; DEL BO' et al. 2015; ANLAR et al., 2018; HANSEN et al., 2018; KOPPEN et al., 2018; AKHTAR, 2020).

Portanto, é importante considerar a aplicabilidade de indicadores sensíveis, como o ensaio cometa, no monitoramento populacional. Um bom grau de eficácia permite o uso do teste para avaliar o nível dos efeitos sobre o DNA provocados por exposição ambiental e ocupacional a agentes de risco; estudar os efeitos ou fatores que contribuem para o aparecimento de doenças; investigar variações individuais, como por exemplo, a capacidade de reparação do DNA e a resistência antioxidante (ANDERSEN et al., 2018; LEBEDOVA et al., 2018; MØLLER, 2018; AKHTAR ET AL., 2020; COLLINS et al., 2020).

O princípio desse ensaio leva em conta o comportamento do DNA em células individualizadas e sua organização no núcleo celular. Para a realização do ensaio, as células são embebidas em agarose, suas membranas são rompidas com uso de detergentes em pH alcalino e as proteínas nucleares são removidas com uso de altas concentrações salinas. Dessa maneira, em lâmina resta apenas o nucleóide que permanece íntegro. Quando a lâmina é submetida ao campo elétrico, o DNA do nucleóide migra no gel de acordo com seu tamanho. Os fragmentos pequenos migram com uma velocidade maior que a matriz nuclear. Assim, as células com DNA danificado formam, após a migração, um aspecto de um cometa e a extensão da migração correlaciona-se diretamente com a quantidade de dano ocorrido (Figura 1) (BOLOGNESI et al., 2004; WITTE et al., 2007, ANDERSEN et al., 2018; MØLLER, 2018).

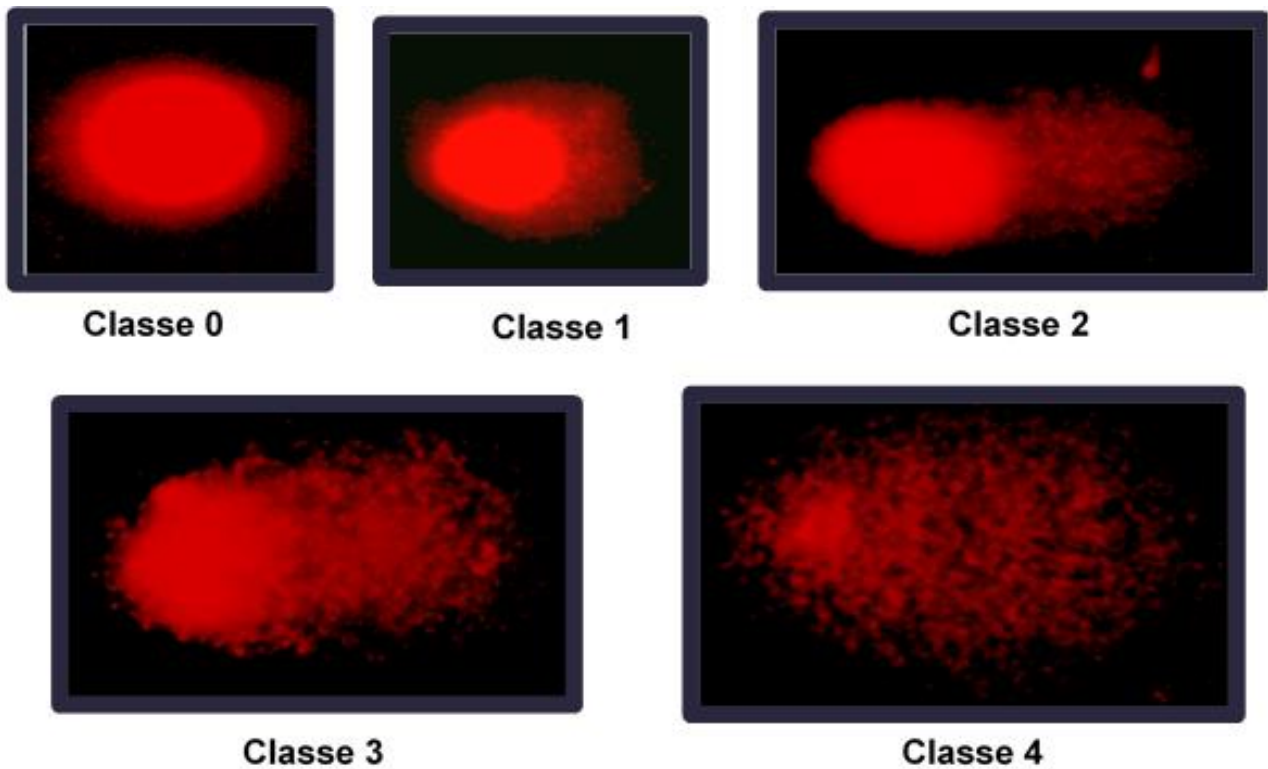


Figura 1. Fotomicrografia obtidas de nucleoides seguindo a classificação de cometas de acordo com a migração do DNA.

O ensaio cometa pode ser realizado tanto *in vitro* como *in vivo* e as suas vantagens incluem a aplicabilidade em diferentes órgãos, sensibilidade na detecção de baixos níveis de lesões, análise de pequeno número de células por amostra, fácil execução, curto período para conclusão dos experimentos e custo relativamente baixo (SINGH et al., 1988; COLINS et al., 2015; ÖNER et al., 2018; BENDETTI et al., 2018, BAJPAYEE et al., 2019).

2.1.2. Teste do Micronúcleo

Entre os mais bem estabelecidos bioindicadores citogenéticos destaca-se o teste do micronúcleo, sendo internacionalmente aceito como parte da bateria de testes recomendados para avaliação do potencial mutagênico (BOLOGNESI et al., 2017; BERND-WOLFGANG et al., 2019; LOVELL et al., 2020).

Micronúcleos são estruturas que medem de 1/3 a 1/5 do tamanho do núcleo, contidas por envoltório nuclear e que apresentam material cromatídico distribuído de forma similar ao do núcleo. São formados durante a telófase da mitose, quando o envelope nuclear é reconstituído ao redor dos cromossomos das células filhas. São resultantes de fragmentos cromossômicos acêntricos ou de cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal. Assim, o micronúcleo representa perda de cromatina em consequência de dano cromossômico estrutural (fragmento) ou dano no aparelho mitótico revelando, portanto, a ação de agentes clastogênicos e aneugênicos (HEDDLE, 1973; SCHMID, 1975; FENECH, 2000).

É importante ressaltar que os micronúcleos são formados durante a mitose, independentemente do tipo de dano ocorrido durante o ciclo, a partir de fragmentos de cromossomos acêntricos ou cromossomos inteiros que não foram incluídos no núcleo principal depois da anáfase (Figura 2) (HEDDLE, 1973; SCHMID, 1975).

Na anáfase, cromátides acêntricas e fragmentos de cromossomos ficam para trás quando os elementos centrais se movem para os pólos do fuso; depois da telófase, os cromossomos não danificados, bem como os fragmentos centrais, dão origem a núcleos-filhos regulares; os elementos atrasados também são incluídos nas células-filhas, mas uma proporção considerável é transformada em um ou vários núcleos secundários que são, via de regra, muito menores que o núcleo principal e, portanto, chamados de micronúcleos (HEDDLE, 1973; SCHMID, 1975; FENECH, 2000).

Este teste foi inicialmente desenvolvido em eritrócitos de medula óssea de camundongos e a presença de (MN) é analisada em eritrócitos policromáticos (PCE, eritrócitos jovens) de medula óssea, mas pode, também, ser analisada em eritrócitos normocromáticos (NCE, eritrócitos maduros). Os animais são expostos à substância teste pela via mais adequada e sacrificados em tempos apropriados após o tratamento, para a coleta da medula óssea. As preparações celulares são coradas com Giemsa e analisadas para a presença de micronúcleos (RIBEIRO et al., 2003; KARAMAN et al., 2015).

Para identificação dos micronúcleos são considerados todas as pequenas inclusões de material nuclear no citoplasma com as seguintes características: estar claramente separado do núcleo principal, estar no mesmo foco, ter a mesma cor e até 1/3 do tamanho núcleo (EMAM et al., 2014).

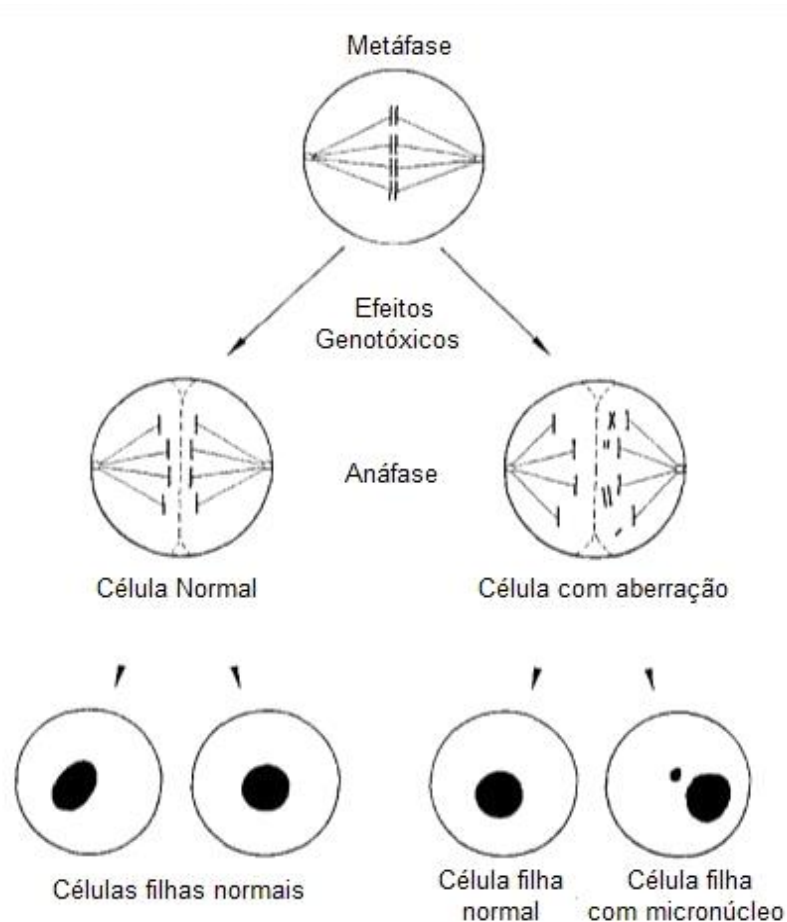


Figura 2. Esquema do mecanismo de formação de micronúcleo em células.
 Fonte: Adaptado de EMAM et al., 2014.

O teste consiste na mensuração da frequência de micronúcleos em situações de exposição a ambientes e substâncias com poder genotóxico. Este teste citogenético é um biomarcador capaz de fornecer informações para avaliar lesões cromossômicas oriundas de ações genotóxicas (TOMAZ; FERRI; BOSCHINI-FILHO, 2016). Através deste é possível detectar agentes clastogênicos (promotores de quebras cromossômicas) ou aneugênicos (indutores de aneuploidia ou promotores de segregação cromossômica anormal) (HEDDLE, 1973).

Algumas vantagens fazem este teste (Figura 3) se destacar entre os demais, como por exemplo: seu baixo custo, sua rapidez de análise e por ser um procedimento técnico simples (TERRADAS et al., 2010). Ele ainda se sobressai pela sua sensibilidade e precisão para detecção de perda cromossômica (KARAMAN et al., 2015, CUSTER et al., 2016).

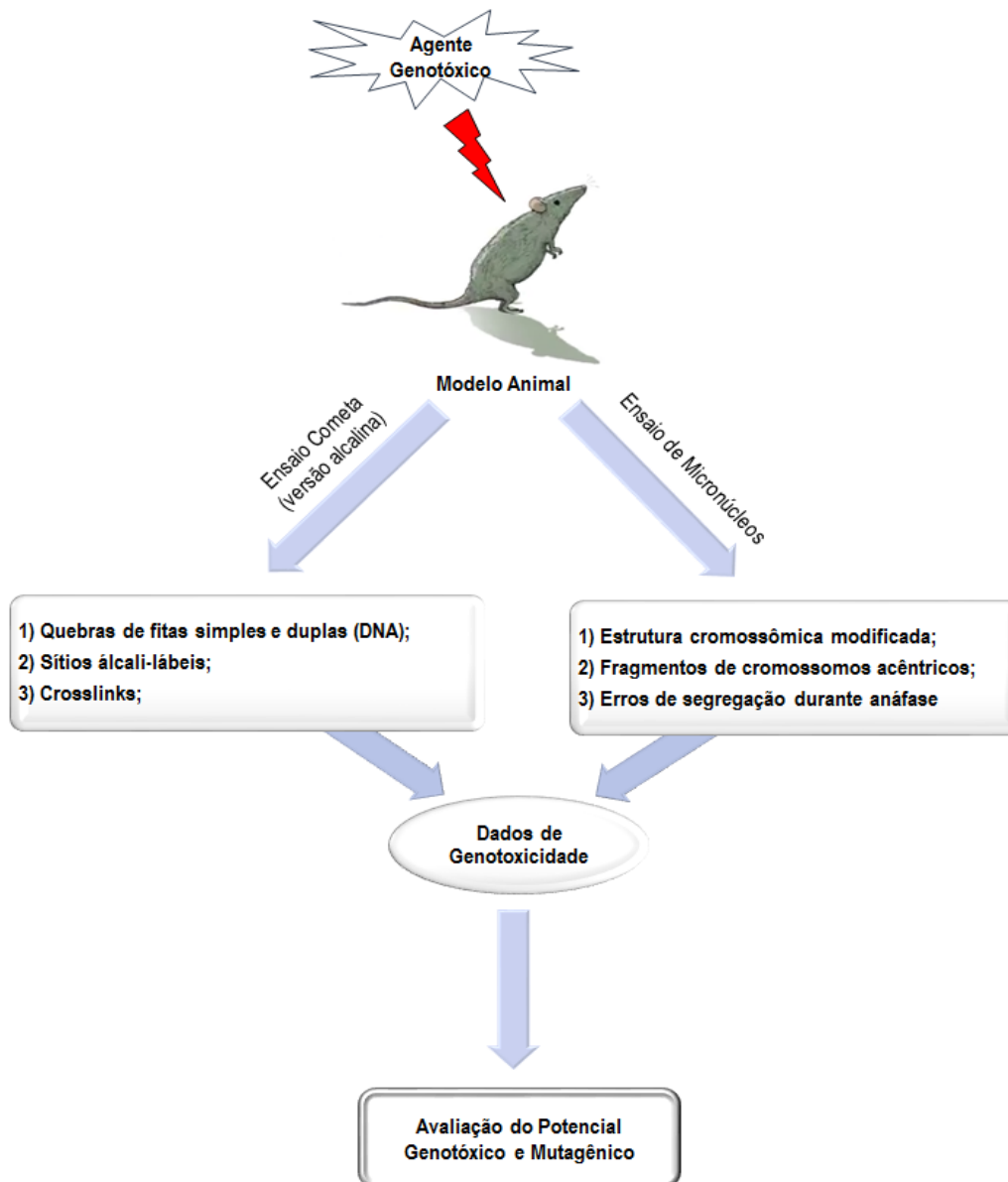


Figura 3. Perfil geral do ensaio cometa e teste de micronúcleos em modelo animal.
 Fonte: Adaptado de Kang et al., 2013.

2.2. PERSPECTIVAS FUTURAS PARA MONITORAMENTO DA SAÚDE HUMANA

A carcinogênese está diretamente relacionada ao acúmulo de danos ao material genético, no entanto desenvolver hábitos que promovam proteção da célula, através do bloqueio de certas mutações, ou reversão do dano causado, parece ser o caminho a ser seguido.

Danos ao DNA são condutores especiais para o envelhecimento celular acelerado, disfunção mitocondrial, processos inflamatórios e câncer. O estresse crônico em ambientes

sociais e de trabalho, exposição a agentes químicos e físicos em casa, no trabalho ou até mesmo em atividades de lazer funcionam como estressores ambientais que merecem atenção especial para o monitoramento da saúde humana (BELYAEV et al., 2016).

Com muita frequência, a suscetibilidade do indivíduo e fatores ambientais são negligenciados. Vivemos em um século com novas tecnologias como roteadores com pontos de acesso a *wi-fi*, dispositivos *bluetooth*, TVs *smart*, tablets e smartphones, todos eles, de alguma forma, têm promovido um aumento de dispositivos emissores de radiação não ionizante. Nesse contexto, uma ligeira preocupação social sobre a possível malignidade dessa exposição tem aumentado o interesse pela pesquisa (BELYAEV et al., 2016; PAREJA-PEÑA et al., 2020).

A Comissão Internacional de Proteção contra Radiação Não Ionizante incluiu o campo eletromagnético de radiofrequência de telefones celulares em uma categoria de “possivelmente” cancerígeno para humanos. Estudos epidemiológicos observaram associação causal entre a exposição a radiofrequência de telefones celulares e a incidência de neoplasias cerebrais em diferentes populações, por ser este o órgão com maior taxa de absorção específica (DERUELLE, 2020).

Por fim, desenvolver uma atenção peculiar e protetiva, além da seleção de bons agentes antimutagênicos (facilmente encontrados na alimentação saudável) capazes de alterar significativamente os padrões de expressão gênica, podem ser decisivos para uma vida que promova o pleno trabalho celular.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inflamação e estresse oxidativo são responsáveis por vários danos às biomoléculas de monitoramento celular, além de induzir apoptose em vários tecidos e contribuir para a instalação de neoplasias e doenças neurodegenerativas. Outro fator importante é que tanto a inflamação quanto o estresse oxidativo são responsáveis pela promoção de mutações cromossômicas e eventos epigenéticos (como as metilações ao DNA). Portanto os testes de avaliação genotóxica, mutagênica e de estresse oxidativo são importantes biomarcadores do estado fisiológico da célula, bem como marcadores de doenças e estilo de vida.

5. REFERÊNCIAS

AKHTAR S.; NAJAFZADEH, M.; ISREB, M.; NEWTON, L.; GOPALAN, R.C.; ANDERSON, D. An *in vitro* investigation into the protective and genotoxic effects of myricetin bulk and nano forms in lymphocytes of MGUS patients and healthy individuals. **Toxicology Letters**, v. 327, p. 33-40, 2020.

AKHTAR, S.; NAJAFZADEH, M.; ISREB, L.; NEWTON, L.; RAJENDRAN, R.C.; ANDERSON D. ROS-induced oxidative damage in lymphocytes ex vivo/in vitro from healthy individuals and MGUS patients: protection by myricetin bulk and nanoforms. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 2, p. 1229-1239, 2020.

ANDERSEN, M.H.G.; SABER, A.T., CLAUSEN; P.A.; PEDERSEN, J.E.; LØHR, M.; KERMANIZADEH, A.; et al. Association between polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and peripheral blood mononuclear cell DNA damage in human volunteers during fire extinction exercises. **Mutagenesis**, v. 33, p. 105-115, 2018.

ANDRADE, R.J.; CHALASANI, N.; BJÖRNSSON, E.S.; SUZUKI, A.; KULLAK-UBLICK, G.A.; WATKINS, P.B.; et al. Drug-induced liver injury. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1, p. 1-22, 2019.

ANLAR, H.G.; TANER, G.; BACANLI, M.; IRIRTAS, S.; KURT, T.; TUTKUN, E.; et al. Assessment of DNA damage in ceramic workers. **Mutagenesis**, v. 33, p. 97-104, 2018.

AZQUETA, A.; COLLINS, A.R. The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. **Archives of Toxicology**, v. 87, n. 6, p. 949-968, 2013.

BAJPAYEE, M.; KUMARALOK, A.; DHAWAN, A. The comet assay: assessment of in vitro and in vivo DNA damage. **Genotoxicity Assesment**, v. 2031, p. 237-257, 2019.

BAKARE, A.A.; OKUNOLA, A.A.; ADETUNJI, O.A.; JENMI, H.B. Genotoxicity assessment of a pharmaceutical effluente using four bioassays. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 373-381, 2009.

BELYAEV, I.; DEAN, A.; EGER, H.; HUBMANN, G.; JANDRISOVITS, R.; KERN, M.; et al. EUROPAEM EMF Guideline 2016 for the prevention, diagnosis and treatment of EMF-related health problems and illnesses. **Reviews on environmental health**, v. 31, n. 3, p. 363-397, 2016.

BENDETTI, D.; ALDERETE, B. L.; SOUZA, C. T.; DIAZ, J. F.; NIEKRASZEWICZ, L.; CAPPETTA, M.; et al. DNA damage and epigenetic alterations in soybean farmers exposed to complex mixtures of pesticides. **Mutagenesis**, v. 33, p. 87-95, 2018.

BOLOGNESI, C.; BUSCHINI, A.M.; BRANCHI, E.; CARBONI, P.; FURLINI, M.; MARTIN, A.; et al. Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants. **Science of the Total Environment**, v. 333, n. 1-3, p. 127-136, 2004.

BOLOGNESI, C.; BRUZZONE, M.; CEPPI, M.; KIRSCH-VOLDERS, M. The lymphocyte cytokinesis block micronucleus test in human populations occupationally exposed to vinyl chloride: A systematic review and meta-analysis. **Mutation Research**, v. 774, p. 1-11, 2017.

COLLINS, A.R. The comet assay: a heavenly method. **Mutagenesis**, v. 30, p. 1–4, 2015.

COLLINS, A.; KOPPEN, G.; VALDIGLESIAS, V.; DUSINSKA, M.; KRUSZEWSKI, M.; MØLLER, P.; et al. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: the ComNet project. **Mutation Research**, v. 759, p. 27-39, 2014.

COLLINS, A.; VETTORAZZI, A.; AZQUETA, A. The role of the enzyme-modified comet assay in in vivo studies. **Toxicology Letters**, v. 327, p. 58-68, 2020.

CUSTER, L.; DOHERTY, A.; BEMIS, J.; PROUDLOCK, R. The in vivo rodent micronucleus assay genetic toxicology testing. **Genetic Toxicology Testing**, p. 269-322, 2016.

DE LA TORRE-RUIZ, M.A.; PUJOL, N.; SUNDARAN, V. Coping with oxidative stress. The yeast model. **Current Drug Targets**, v. 16, p. 2-12, 2015.

DEL BO', C.; FRACASSETTI, D.; LANTI, C.; PORRINI, M.; RISO, P. Comparison of DNA damage by the comet assay in fresh versus cryopreserved peripheral blood mononuclear cells obtained following dietary intervention. **Mutagenesis**, v. 30, p. 29–35, 2015.

LIMA, R.M.T.; REIS, A.C.; SANTOS, J.V.O.; FERREIRA, J.R.O.; BRAGA, A.L.; OLIVEIRA FILHO, J.W.G.; et al. Toxic, cytogenetic and antitumor evaluations of [6]-gingerol in non-clinical in vitro studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 115, p. 108873, 2019.

LIMA, R.M.T.; REIS, A.C.; SANTOS, J.V. O.; FERREIRA, J.R.O.; OLIVEIRA FILHO, J.W.G.; DIAS, A.C.S.; et al. Antitumoral effects of [6]-gingerol [(S)-5-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-decanone] in sarcoma 180 cells through cytogenetic mechanisms. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 126, p. 110004, 2020.

MORAES, G.P.; ALENCAR, M. V.O.B.; ARAÚJO, L.S.; GOMES, D.C.V.; PAZ, M.F.C. J.; ISLAM, M.T.; et al. Cytogenotoxic study of aqueous fruit extract of *Morinda citrifolia* in Wistar albino rats. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 19, n. 3, p. 311-321, 2019.

DERUELLE, F. The different sources of electromagnetic fields: Dangers are not limited to physical health. **Electromagnetic Biology and Medicine**, v.39, n.2 p. 166-175, 2020.

DOAK, S.H.; DUSINSKA, M. NanoGenotoxicology: present and the future. **Mutagenesis**, v. 32, n. 1, p. 1–4, 2017.

DORNELLES, R.C.; LEAL, G.C.; DECIAN, A.C.S.; SANTOS, D.D.; RADISKE, G.A.; et al. Antiproliferative and genotoxic potencial from extracts and fractions of *Richardia brasiliensis* Gomes (*Rubiaceae*) by the *Allium cepa* L. test system. **Lheringia**, v. 72, n. 3, p. 424-431, 2017.

ENCISO, J.M.; GÜTZKOW, K.B.; BRUNBORG, G.; OLSEN, A.K.; LOPEZ DE CERAIN, A.; AZQUETA, A. Standardisation of the in vitro comet assay: influence of lysis time and lysis

solution composition on the detection of DNA damage induced by X-rays. **Mutagenesis**, v. 33, p. 25–30, 2018.

ENCISO, J.M.; SÁNCHEZ, O.; LÓPEZ DE CERAIN, A.; AZQUETA, A. (2015) Does the duration of lysis affect the sensitivity of the *in vitro* alkaline comet assay? **Mutagenesis**, v. 30, p. 21–28, 2015.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, n. 5, p. 1084-1104, 2007.

FISKESJÖ, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

GAJARDO, G.M.; BEARDMORE, J.A. The brine shrimp artemia: adapted to critical life conditions. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 1-8, 2012.

GERIC, M., GAJSKI, G., ORESCANIN, V. AND GARAJ-VRHOVAC, V. Seasonal variations as predictive factors of the comet assay parameters: a retrospective study. **Mutagenesis**, v. 33, p. 53–60, 2018.

GÓMEZ-ARROYO, S.; CORTÉS-ESLAVA, J.; LOZA-GÓMEZ, P.; ARENAS-HUERTERO, F.; LA MORA, M. G.; BERMEA, O. M. *In situ* biomonitoring of air quality in rural and urban environments of Mexico Valley through genotoxicity evaluated in wild plants. **Atmospheric Pollution Research**, v. 9, p. 119-125, 2018.

GRUJIČIĆ, D.; RADOVIĆ, M.; ARSENIJEVIĆ, S.; MILOŠEVIĆ-DJORDJEVIĆ, O. Cytogenetic biomarkers in detection of genotoxic effects of gestagens in peripheral blood lymphocytes *in vitro* and *in vivo*. **European Journal of Medical Genetics**, v. 59, n. 12, p. 624-633, 2016.

GUNASEKARANA, V.; RAJ, G.V.; CHAND, P.A comprehensive review on clinical applications of comet assay. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 9, n. 3, p. 1-5, 2015.

HANSEN, S.H., PAWLOWICZ, A.J., KRONBERG, L., GÜTZKOW, K.B., OLSEN, A.K.; BRUNBORG, G. Using the comet assay and lysis conditions to characterize DNA lesions from acrylamide metabolite glycidamide. **Mutagenesis**, v. 33, p. 31–39, 2018.

HAYASHI, M. The micronucleus test-most widely used *in vivo* genotoxicity test. **Genes and Environment**, v. 38, n. 18, p. 1-6, 2016.

IGI, B.; BITSCH, A.; BRINGEZU, F.; CHANG, S.; DAMMANN, M.; FRÖTSCH, R.; et al. The rat bone marrow micronucleus test: Statistical considerations on historical negative control data. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 102, p. 13-22, 2019.

IMANIKIA, S.; GALEA, F.; NAGY, E.; PHILLIPS, D. H.; STÜRZENBAUM, S. R.; ARLT, V. M. The application of the comet assay to assess the genotoxicity of environmental pollutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 45, p. 356-361, 2016.

KANG, S.H.; KWON, J.Y.; LEE, J.K.; SEO, Y.R. Recent advances in in vivo genotoxicity testing: prediction of carcinogenic potential using comet and micronucleus assay in animal models. **Journal of Cancer Prevention**, v. 18, n. 4, p. 277-288, 2013.

KARAMAN, A.; AYDIN, H.; GEÇKINLI, B.; ÇETINKAYA, A.; KARAMAN, S. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 782, p. 30-35, 2015.

KOPPEN, G.; AZQUETA, A.; POURRUT, B.; BRUNBORG, G.; COLLINS, A.R.; LANGIE, S.A.S. The next three decades of the comet assay: a report of the 11th international comet assay workshop. **Mutagenesis**, v. 32, p. 397-408, 2017.

KOPPEN, G.; DE PRINS, S.; AN, J.; VERA N.; SCHOETERS, G.; LANGIE, S.A.S. The comet assay in human biomonitoring: cryopreservation of whole blood and comparison with isolated mononuclear cells. **Mutagenesis**, v. 33, p. 41-47, 2018.

LEBEDOVA, J.; HEDBERG, Y.; WALLINDER, I.O.; KARLSSON, H.L. Size-dependent genotoxicity of silver, gold and platinum nanoparticles studies using the mini-gel comet assay and micronucleus scoring with flow cytometry. **Mutagenesis**, v. 33, p. 77-85, 2018.

LEE, W.J.; KIM, S.C.; LEE, S.J.; LEE, J.; PARK, J.H.; YU, K.S.; et al. Investigating the different mechanisms of genotoxic and non-genotoxic carcinogens by a gene set analysis. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. e86700, 2014.

LOVELL, D.P.; FELLOWS, M.; SAUL, J.; WHITWELL, J.; CUSTER, L.; DERTINGER, S.; et al. Analysis of historical negative control group data from the rat in vivo micronucleus assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology/Environmental Mutagenesis**, v. 849, p. 1-14, 2020.

MØLLER, P. The comet assay: ready for 30 more years. **Mutagenesis**, v. 33, n. 1, p. 1-7, 2018.

MURATA, M. Inflammation and cancer. **Environmental health and preventive medicine**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2018.

NABILE, A.E.; GIRGIST, E.; KHALIL, W.K.B.; MOHAMED, B. Toxicity of plasmonic and their hybrid nanocomposites. **Advances in Molecular Toxicology**, v. 8, p. 173-202, 2014.

NERI, M.; MILAZZO, D.; UGOLINI, D.; MILIC, M.; CAMPOLONGO, A.; PASQUALETTI, P.; BONASSI, S. Worldwide interest in the comet assay: a bibliometric study. **Mutagenesis**, v. 30, p. 155–163, 2015.

NIKLAS, J.; SCHNEIDER, K.; HEINZLE, E. Metabolic flux analysis in eukaryotes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 63-69, 2010.

OLIVEIRA FILHO, J.W.G.; ANDRADE, T. J.A.S.; LIMA, R.M.T.; REIS, A.C.; HAMEED, A.; SANTOS, J.V.O.; et al. Antitumor effects of citrinin in an animal model of Sarcoma 180 via cytogenetic mechanisms. **Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)**, v. 66, n. 4, p. 120-126, 2020a.

OLIVEIRA FILHO, J.W.G.; ANDRADE, T.J.A.S.; LIMA, R.M.T.; SILVA, D.H.S.; REIS, A.C.; SANTOS, J.V.O.; et al. Cytogenotoxic evaluation of the acetonitrile extract, citrinin and dicitrinin-A from *Penicillium citrinum*. **Drug and Chemical Toxicology**, p. 1-10, 2020b.

OLIVEIRA FILHO, J.W.G.; ANDRADE, T.J.A.S.; LIMA, R.M.T.; REIS, A.C.; SILVA, D.H.S.; et al. Citrinina contra o câncer de mama: um estudo citogenotoxicológico. *Phytotherapy Research*, in press, 2020c.

ÖNER, D.; MOISSE, M.; GHOSH, M.; DUCA, R.C.; POELS, K.; LUYTS, K.; et al. Epigenetic effects of carbon nanotubes in human monocytic cells. **Mutagenesis**, v. 32, p.181-191, 2017.

OSSOWSKI, S. SCHNEEBERGER, K.; LUCAS-LLEDÓ, J.I.; WARTHMAN, N.; CLARK, R.M.; SHAW, R.G.; et al. The rate and molecular spectrum of spontaneous mutations in *Arabidopsis thaliana*. **Science**, v. 327, n. 5961, p. 92-94, 2010.

OSTLING, O; JOHANSON, K.J. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 123, n. 1, p. 291-298, 1984.

SKONECZNA, A.; KANIAK, A.; SKONECZNY, M. Genetic instability in budding and fission yeast-sources and mechanisms. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 39, n. 6, p. 917-967, 2015.

SPEIT, G.; KOJIMA, H.; BURLINSON, B.; COLLINS, A.R.; KASPER, P.; PLAPPERT-HELBIG, U.; et al. Critical issues with the in vivo comet assay: A report of the comet assay working group in the 6th International workshop on genotoxicity testing (IWGT). **Mutation Research/Genet. Toxicology/ Environmental Mutagenesis**, v. 783, p. 6-12, 2015.

STORNETTA, A.; ZIMMERMANN, M.; CIMINO, G. D.; HENDERSON, P. T.; STURLA, S. J. DNA Adducts from Anticancer Drugs as Candidate Predictive Markers for Precision Medicine. **Chemical Research in Toxicology**, v. 30, n. 1, p. 388-409, 2017.

TERRADAS, M.; MARTÍN, M.; TUSELL, L.; GENESCÀ, A. Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell?. **Mutation Research**, v. 705, p. 60-67, 2010.

WITTE, I.; PLAPPERT, U.; WALL, H.; HARTMANN, A. Genetic toxicity assessment: employing the best science for human safety evaluation part III: the comet assay as an alternative to in vitro clastogenicity tests for early drug candidate selection. **Toxicological Science**, v. 97, n. 1, p. 21-26, 2007.

YILDIZ, M.; CİĞERCİ, I.H.; KONUK, M.; FIDAN, A.F. TERZI, H. Determination of genotoxic effects of copper sulfate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays. **Chemosphere**, v. 75, n. 7, p. 934-938, 2009.

ANÁLISE FATORIAL E SUA APLICAÇÃO EM ESTUDOS INTERDISCIPLINARES EM SAÚDE E MEIO AMBIENTE NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves¹, Allan Kardec Duailibe Barros Filho¹, Fabrício Moraes de Almeida² e Lenita Rodrigues Moreira Dantas³

1. Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil;
2. Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia (AICSA), Porto Velho, Rondônia, Brasil.

RESUMO

Objetivo: demonstrar a eficiência da análise fatorial na construção de índices de desempenho e sua aplicação em estudos interdisciplinares em saúde e meio ambiente na Amazônia Brasileira. **Materiais e Método:** o método adotado seguiu a lógica de análise fatorial e os níveis de escala adotada é baseada no modelo de Hair et al. (2005). **Resultados:** 1 caso: o índice de desempenho da condição de saúde (IDCS) está escalonado em índice Ruim (entre 0,306 e 0,301) no Arco Norte e índice Regular (entre 0,601 e 0,596) no Arco Central. 2 caso: com as instalações das UHE's os resultados apontam muito mais para os aspectos negativos com o agravamento dos problemas já existentes e a incerteza de suas soluções. Houve queda significativa do IQVU na cidade de Porto Velho. 3 caso: o índice de desenvolvimento sustentável por bacias hidrográficas em Rondônia que já eram classificados em ruim, depois de 10 anos tendeu a piorar. Todas as bacias apresentam índices Ruim ou Péssimo, com exceção da bacia do rio Mamoré (0,527) com índice Regular. **Conclusões:** a análise fatorial demonstrou eficiência como método estatístico multivariado na construção de índices de desempenho e sua aplicação em estudos interdisciplinares em saúde e meio ambiente na Amazônia Brasileira.

Palavras-chave: Análise Fatorial, Estudos Interdisciplinares, Saúde e Meio Ambiente.

ABSTRACT

Objective: to demonstrate the efficiency of factor analysis in the construction of performance indexes and their application in interdisciplinary studies in health and environment in the Brazilian Amazon. **Materials and Methods:** the method adopted followed the logic of factor analysis and the scale levels adopted are based on the model by Hair et al. (2005). **Results:** 1 case: the health condition performance index (IDCS) is staggered in the Bad index (between 0.306 and 0.301) in the North Arc and Regular index (between 0.601 and 0.596) in the Central Arc. 2 case: with the installations of the UHE's the results point much more to the negative aspects with the aggravation of the already existing problems and the uncertainty of their

solutions. There was a significant drop in IQVU in the city of Porto Velho. 3 case: the index of sustainable development by river basins in Rondônia that were already classified as bad, after 10 years tended to worsen. All basins have bad or very poor indexes, with the exception of the Mamoré River basin (0.527) with a regular index. Conclusions: the factor analysis demonstrated efficiency as a multivariate statistical method in the construction of performance indexes and its application in interdisciplinary studies in health and environment in the Brazilian Amazon.

Keywords: Factor analysis, Interdisciplinary Studies, Health and Environment.

1. INTRODUÇÃO

A Análise Fatorial (AF) é utilizada para investigar os padrões ou relações latentes para um número grande de variáveis e determinar se a informação pode ser resumida a um conjunto menor de fatores (MATOS; RODRIGUES, 2019). Através da AF é possível reduzir o número de dimensões necessárias para se descrever dados derivados de um grande número de medidas (URBINA, 2007). De acordo com Matos e Rodrigues (2019) o fator pode ser definido como uma combinação linear das variáveis originais. Os fatores representam as dimensões latentes (construtos) que resumem o conjunto original de variáveis, mantendo a representatividade das características das variáveis originais. Para Hair et al. (2005), a AF é usada para investigar as relações entre um grande número de variáveis e organizá-las em um conjunto menor de fatores. Assim sendo, segundo Matos e Rodrigues (2019), os dois principais usos da AF são resumo e redução dos dados, que podem ser muito úteis à medida que o número de variáveis utilizadas em técnicas multivariadas aumenta. Ainda de acordo com Matos e Rodrigues (2019) a AF é diferente de métodos de dependência, como a regressão múltipla, nos quais uma variável é considerada como dependente (resposta) e as outras independentes (explicativas). A AF é um método de interdependência, no qual todas as variáveis são consideradas simultaneamente. Cada variável é prevista por todas as outras. Hair et al. (2005) explicam que técnicas de dependência visam à previsão e à explicação, e as de interdependência visam à identificação de estrutura.

Para Matos e Rodrigues (2019) a AF trás consigo grandes vantagens, como por exemplo, as técnicas fatoriais podem atingir seus objetivos por uma perspectiva exploratória (análise fatorial exploratória – AFE) ou por uma perspectiva confirmatória (análise fatorial confirmatória – AFC). Na AFE, deixamos os dados observados determinarem o modelo fatorial subjacente *a posteriori* (raciocínio indutivo para inferir um modelo a partir dos dados observados). Segundo Bryant e Yarnold (2000) na AFC, deriva-se um modelo fatorial *a priori*

(raciocínio dedutivo para fazer hipóteses de uma estrutura antecipadamente). Seria então, segundo Matos e Rodrigues (2019) uma técnica exploratória que permite os dados falarem por eles mesmos, onde não existe uma intervenção do pesquisador predeterminando uma estrutura. No caso em que AF desempenha uma função confirmatória, Klem (2000) afirma que a AFC determina como um modelo testado consegue se ajustar aos dados. Para Urbina (2007) a AFC é uma perspectiva mais nova e busca hipóteses ou confirmar teorias a respeito de fatores presumidamente existentes, enquanto a AFE tem por finalidade descobrir quais fatores (variáveis latentes ou constructos) subjazem às variáveis em análise. Importantes autores como Lattin, Carrol e Green (2011); Fávero et al. (2009); Corrar, Paulo e Dias Filho (2007); Johnson (1992) discorrem com propriedade e competência a utilização da AF e de forma didática traçam o principal objetivo da análise fatorial como o de descrever um conjunto de variáveis originais através da criação de um número menor de variáveis (fatores). Os fatores são variáveis hipotéticas que explicam parte de variabilidade total dos dados. De acordo com Hair et al. (2005) em termos gerais, a AF aborda o problema de analisar a estrutura das inter-relações (correlações) entre um grande número de variáveis, definindo um conjunto de dimensões latentes comuns, chamadas fatores. Com a AF, o pesquisador pode primeiro identificar as dimensões separadas da estrutura e então determinar o grau em que cada variável é explicada por cada dimensão. Uma vez que essas dimensões e a explicação de cada variável sejam determinadas, os dois principais usos da AF - resumo e redução de dados - podem ser alcançados. Ao resumir os dados, a AF obtém dimensões latentes que, quando interpretadas e compreendidas, descrevem os dados em um número de conceitos muito menor do que as variáveis individuais originais. Santana (2005a); Santana (2005b); Santana (2006); Santana (2007); Cavalcante (2011), são outros trabalhos importantes que corroboram com Hair et al. (2005). De forma mais simples e compreensível pode-se dizer que AF é um nome genérico dado a uma classe de métodos estatísticos multivariados cujo objetivo principal é definir a estrutura subjacente em uma matriz de dados.

Na Amazônia Ocidental alguns trabalhos interdisciplinares foram analisados a partir da análise fatorial. Podem-se destacar o estudo sobre o processo de formulação do Índice de Desempenho da Condição de Saúde (IDCS), constituído pelos índices de desempenho “ambiental, socioeconômico e demográfico, financeiro e administrativo”, cujo escopo foi de fornecer informações para o processo de formulação de políticas públicas de saúde da faixa de Fronteira do Arco Norte e Central do Brasil, de autoria de Paraguassu-Chaves et al. (2019). Outras referências são resultados do esforço do grupo de pesquisadores coordenados por Paraguassú-Chaves. Entre estes estudos estão, Paraguassu-Chaves et al.

(2020a), “Quantitative methods and analysis of health performance and environmental conditions in the city of Porto Velho: 6 years after the hydroelectric dams of Jirau and Santo Antônio, on the Madeira River”, Paraguassu-Chaves et al. (2020b) “Factor analysis as a tool for building the sustainable development index of river basins in Rondônia, Western Amazon”, Paraguassú-Chaves et al. (2020c), “Factor Analysis Applied in the Construction of the Socio-Environmental Performance Index (IDRSA) in the Guajará-Mirim Free Trade Area, Brazil / Bolivia Border”, Paraguassu-Chaves et al. (2020d), “Quantitative methods and study of the parth dependence effect of Douglass North from the cocoa production index (CPI) in Rondônia, Brazil”, Paraguassu-Chaves et al. (2018a), “Environmental Education Perception Index (IPEA) headed for sustainable development: A study in Elementary Schools in the city of Guajará-Mirim, Rondônia (Brazil)” e Paraguassu-Chaves et al. (2018b) “Factor Analysis and the Social Capital Index: A Study at the Brazil / Bolivia Border”. Apesar do esforço, o uso da AF como ferramenta de análise em estudos interdisciplinares no meio acadêmico da Amazônia ainda é incipiente e com pouca aplicação prática. Diante deste contexto, o que se pretende com este manuscrito é demonstrar a eficiência da análise fatorial na construção de índices de desempenho e sua aplicação em estudos interdisciplinares em saúde e meio ambiente na Amazônia Brasileira.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. MODELO ANALÍTICO

O método adotado seguiu a lógica de AF, a qual pode ser apresentada na forma matricial como em Dillon; Goldstein (1984):

$$X = \alpha F + \varepsilon \quad (1)$$

Sendo, X = é o p-dimensional vetor transposto das variáveis observáveis, denotado por $X = (x_1, x_2, \dots, x_p)$; F = é o q-dimensional vetor transposto de variáveis não-observáveis ou variáveis latentes chamadas de fatores comuns, denotado por $F = (f_1, f_2, \dots, f_q)$, sendo que $q < p$; ε = é o p-dimensional vetor transposto de variáveis aleatórias ou fatores únicos, denotado por $\varepsilon = (\varepsilon_1, \varepsilon_2, \dots, \varepsilon_p)$; α = é a matriz (p,q) de constantes desconhecidas, chamadas de cargas fatoriais.

Conforme Gama et al. (2007); Santana (2007), no modelo de AF pressupõe-se que os fatores específicos são ortogonais, entre si, com todos os fatores comuns. Normalmente, $E(\varepsilon) = E(F) = 0$ e $Cov(\varepsilon, F) = 0$.

De acordo com os mesmos autores, a estrutura inicial utilizada para determinar a matriz de cargas fatoriais, em geral, pode não fornecer um padrão significativo de cargas das variáveis, por isso não é definitiva. A confirmação ou não, dessa estrutura inicial pode ser feita por meio de vários métodos de rotação dos fatores, conforme Dillon; Godstein (1984); Johnson; Wichern (1988). Para efeito destas pesquisas foram utilizados o método VARIMAX de rotação ortogonal dos fatores.

O método VARIMAX é um processo em que os eixos de referência dos fatores são rotacionados em torno da origem até que alguma outra posição seja alcançada. O objetivo é redistribuir a variância dos primeiros fatores para os demais e atingir um padrão fatorial mais simples e teoricamente mais significativo (REIS, 2001; HAIR et al., 2005; SANTANA, 2005b; GAMA et al., 2007; SANTANA, 2007).

A escolha dos fatores foi realizada por meio da técnica de raiz latente. Assim, a matriz de cargas fatoriais, que mede a correlação entre os fatores comuns e as variáveis observáveis, é determinada por meio da matriz de correlação, conforme Dillon; Goldstein (1984).

Para a determinação dos foi adotada a matriz de escores fatoriais estimados pelo processo de rotação ortogonal de base fatorial, conforme apontada por Santana (2006). O escore fatorial, por definição, situa cada observação no espaço dos fatores comuns. Para cada fator f_j , o i -ésimo escore fatorial extraído é definido por F_{ij} , expresso da seguinte forma (DILLON; GOLDSTEIN, 1984; SPSS, 1997):

$$F_{ij} = b_1 x_{i1} + b_2 x_{i2} + b_p x_{ip} \quad (2)$$

Sendo que: b_i = São os coeficientes de regressão estimados para os n escores fatoriais comuns; x_{ij} = São as n observações das p variáveis observáveis. $i = 1, 2, \dots, n$. $j = 1, 2, \dots, p$.

Para se chegar a equação que representa o índice, Gama et al. (2007); Santana (2007), mostram a sequencia evolutiva das fórmulas a partir da equação anterior. Assim, verifica-se que embora a variável F_{ij} não seja observável, a mesma pode ser estimada por meio das técnicas de análise fatorial, utilizando-se a matriz de observações do vetor x de variáveis observáveis. Em notação fatorial, a equação 2, torna-se:

$$F_{(n,q)} = X_{(n,q)} b_{(p,q)} \quad (3)$$

Na equação 3, F é a matriz da regressão estimada a partir dos n escores fatoriais e que podem ser afetados tanto pela magnitude quanto pelas unidades de medida das variáveis x . Para contornar esse tipo de problema, substitui-se a variável x pela variável padronizada w , dada pela razão entre o desvio em torno da média e o desvio padrão de x , como a seguir:

$$\frac{x_i - \bar{x}}{S_x}$$

Com esses valores, a equação 3 é modificada tornando possível a equação 4, a seguir:

$$F_{(n,q)} = W_{(n,q)} \beta_{(p,q)} \quad (4)$$

Com base na equação 4, a matriz de pesos beta (β) com q coeficientes de regressão padronizados, substitui b , dado que as variáveis estão padronizadas em ambos os lados da equação. Pré-multiplicando ambos os lados da equação 4 pelo valor $\frac{1}{n} w'$, em que n é o número de observações e w' é a matriz transposta de w , possibilita chegar a seguinte equação:

$$\begin{aligned} \frac{1}{n} w'_{(p,n)} F_{(n,q)} &= \frac{1}{n} w'_{(p,n)} W_{(n,p)} \beta_{(p,q)} = R_{(p,p)} \beta_{(p,q)} \\ \frac{1}{n} w'_{(p,n)} F_{(n,q)} &= \frac{1}{n} w'_{(p,n)} W_{(n,p)} \beta_{(p,q)} = R_{(p,p)} \beta_{(p,q)} \quad (5) \end{aligned}$$

A matriz $\frac{1}{n} w' w$, portanto, se constitui na matriz de variáveis inter-correlacionadas ou matriz de correlação entre as observações da matriz x , designada por R . A matriz $\frac{1}{k} w' F$ representa a correlação entre os escores fatoriais e os próprios fatores, denotada por Λ . Com isso, reescrevendo a equação 5, tem-se que:

$$\Lambda_{(p,q)} = R_{(p,p)} \beta_{(p,q)} \quad (6)$$

Se a matriz R for não-singular, pode-se pré-multiplicar ambos os lados da equação 6 pela inversa de R , obtendo-se:

$$\beta = R^{-1} \Lambda \quad (7)$$

Substituindo o vetor β na equação 4, obtém-se o escore fatorial associado a cada observação, como a seguir:

$$F_{(n,q)} = W_{(n,p)} R_{(p,p)}^{-1} \Lambda_{(p,q)} \quad (8)$$

Desse modo, chega-se a fórmula principal do índice, onde o IP é definido como uma combinação linear desses escores fatoriais e a proporção da variância explicada por cada fator em relação à variância comum. A expressão matemática passa a ser representada pela seguinte fórmula:

$$IP_i = \sum_{j=1}^q \left(\frac{\lambda_j}{\sum_j \lambda_j} FP_{ij} \right) \quad (9)$$

Onde: $i = 1, 2, \dots, n$.

λ = é a variância explicada por cada fator;

$\sum \lambda$ = é a soma total da variância explicada pelo conjunto de fatores comuns.

O escore fatorial foi padronizado (FP) para se obter valores positivos dos escores originais e permitir a hierarquização dos municípios já que os valores do índice de desempenho estão situados entre zero e um. A fórmula que permite essa hierarquização pode ser vista pela equação seguinte:

$$FP_i = \left(\frac{F_i - F_{\min}}{F_{\max} - F_{\min}} \right)$$

Percebe-se, assim, que F_{\min} e F_{\max} são os valores máximos e mínimos observados para os escores fatoriais associados aos parâmetros observados.

2.1.1. Testes de adequação do método fatorial à massa de dados

Conforme Gama et al. (2007); Santana (2007), os dois principais testes com o objetivo de aferir a adequação do método à massa dizem respeito, primeiramente, ao teste de esfericidade de Bartlett, que tem a propriedade de avaliar a significância geral da matriz de correlação, isto é, testa a hipótese nula de que a matriz de correlação é uma matriz identidade. Além do teste de Bartlett, o teste de Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) é também muito utilizado e se baseia no princípio de que a inversa da matriz de correlação se aproxima da matriz diagonal, nesse caso, ele procura comparar as correlações entre as variáveis observáveis. Assim, os dois métodos foram utilizados por esta pesquisa como técnicas de aferição de adequação do método ao banco de dados levantados.

De acordo com Dillon; Goldstein (1984); Reis, (2001); Mingoti, (2005); Gama et al. (2007); Santana, (2007), as fórmulas matemáticas destes testes podem ser vistos pelas seguintes equações:

$$KMO = \frac{\sum_i \sum_j r_{ij}^2}{\sum_i \sum_j r_{ij}^2 + \sum_i \sum_j a_{ij}^2} \quad KMO = \frac{\sum_i \sum_j r_{ij}^2}{\sum_i \sum_j r_{ij}^2 + \sum_i \sum_j a_{ij}^2} \quad (10)$$

Assim, r_{ij} = é o coeficiente de correlação da amostra entre as variáveis x_i e x_j ; a_{ij} = é o coeficiente de correlação parcial entre as mesmas variáveis que é, simultaneamente, uma estimativa das correlações entre os fatores, eliminando o efeito das demais variáveis. De

acordo com Hair et al. (2005), os a_{ij} deverão assumir valores próximos de zero, uma vez que se pressupõe que os fatores são ortogonais entre si. Desse modo, segundo este mesmo autor, valores deste teste abaixo de 0,50 são inaceitáveis.

O teste de Bartlett de esfericidade testa a hipótese nula de que as variáveis são independentes, contra a hipótese alternativa de que as variáveis são correlacionadas entre si. Ou seja, $H_0: R = 1$ ou $H_0: \lambda_1 = \lambda_2 = \dots = \lambda_p$, o que permite chegar à seguinte fórmula matemática:

$$X^2 = - \left[n - 1 - \frac{1}{6}(2p + 5) \right] \cdot |R| \text{ ou}$$

$$X^2 = - \left[n - 1 - \frac{1}{6}(2p + 5) \right] \cdot \sum_{j=1}^p \ln \lambda \quad X^2 = - \left[n - 1 - \frac{1}{6}(2p + 5) \right] \cdot \sum_{j=1}^p \ln \lambda \quad (11)$$

Onde, $|R|$ = é o determinante da matriz de correlação da amostra; λ = é a variância explicada por cada fator; n = é o número de observações; p = é o número de variáveis. A estatística tem uma distribuição assintótica de χ^2 com $[0,5p(p - 1)]$ graus de liberdade. O Teste de Bartlett é o método mais comum aplicado para testar a homogeneidade das variâncias (ZAR, 1996).

2.1.2. Ferramenta de Análise

Como ferramenta de análise foi usada o programa SPSS, em sua versão 17, que possibilitou a aplicação dos conhecimentos matemáticos e permitiu a construção de índices com base em cada parâmetro analisado. Este programa estatístico (pacote estatístico SPSS *software*, versão 17.0) é grandemente aplicado para análise de dados, o que possibilitou a análise fatorial dos dados e a geração dos índices, que subsidiaram as discussões e às principais conclusões deste trabalho.

2.2. NÍVEIS DE ESCALA

O dimensionamento dos índices é baseado no modelo de Hair et al. (2005). A classificação utilizada pela pesquisa para expressar os resultados alcançados está descrita na escala: excelente (índice 0,801-1,000); bom (índice 0,601-0,800); regular (índice 0,401-0,600); ruim (índice 0,201-0,400) e péssimo (índice 0,000-0,200).

2.3. ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa está de acordo com a Resolução nº 196 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil (CNS). O coordenador da pesquisa pediu ao Comitê de Ética em Pesquisa dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido, porque os estudos não exigiram intervenções ou coletas de materiais biológicos. As pesquisas trabalham com banco de dados primários de fonte oficial do governo brasileiro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proposta em estudo visa estabelecer um parâmetro de análise quantitativa envolvendo diversas questões interdisciplinares inerentes a 3 (três) estudos realizados na Amazônia brasileira, capaz de gerar índices. Para tanto, a AF foi utilizada como mecanismo de construção de índices para cada parâmetro estudado. A seguir apresentamos os resultados dos estudos realizados que comprovam a eficiência da análise fatorial como ferramenta de construção de índices e análise de desempenho de parâmetros, indicadores e fatores (variáveis) envolvidos.

3.1. ÍNDICE DE DESEMPENHO DA CONDIÇÃO DE SAÚDE – IDCS NOS MUNICÍPIOS DE FRONTEIRA DO ARCO NORTE E ARCO CENTRAL DO BRASIL

O Índice de Desempenho da Condição de Saúde (IDCS) se constrói cruzando os dados de informativos do DATASUS e IBGE em um período de 10 anos, igualmente, fruto da correlação dos índices ambiental, sociodemográfico e financeiro administrativo ou institucional. O conhecimento ambiental é a primeira área de discussão, de modo a sistematizar os dados de saneamento básico (distribuição de água, coleta de lixo e tratamento de esgoto). A formulação do Índice de Desempenho Ambiental – IDA se dá com a junção dos indicadores: 1. Domicílios com abastecimento de água; 2. Domicílios com coleta de lixo e 3. Domicílios com esgoto sanitário.

O Índice de Desempenho Socioeconômico e Demográfico é segunda etapa para a efetivação do Índice de Desempenho da Saúde, disponibilizando as informações sobre a sociedade. A formulação do Índice de Desempenho Sociodemográfico (IDSD) se constrói

com a junção dos indicadores: indicador 1: taxa de analfabetismo; Indicador 2: esperança de vida ao nascer; indicador 3: índice de Geni da renda familiar *per capita*; indicador 4: expectativa de anos de estudos; indicador 5: percentagem de pobres; indicador 6: renda média domiciliar *per capita*; indicador 7: taxa de desemprego.

O Índice de Desempenho Financeiro Administrativo (IDFA) tem como principal função quantificar os recursos materiais, financeiros e humanos dos serviços de saúde, de modo a especificar se os atuais recursos são adequados para viabilização do processo de recuperação da saúde eficaz, eficiente e, efetivo. Neste momento, trabalha-se com indicadores da administração física e humana dos hospitais, posto e estabelecimentos de assistência, priorizando o processo de recuperação da saúde do cidadão brasileiro ou estrangeiro, estabelecido pelo artigo 196 da constituição. A formulação do Índice de Desempenho Financeiro Administrativo (IDFA) se dá com a junção dos indicadores: 1. percentual do gasto público em saúde em relação ao gasto público total; 2. gasto público em saúde *per capita*; 3. número de cirurgião (por 1000 hab.); 4. número de médico clínico geral (por mil hab.); 5. número de enfermeiro (por mil hab.); 6. número de médico ginecologista-obstetra (por mil hab.); 7. número de leitos hospitalares (por mil hab.); 8. número de odontólogo (por mil hab.); 9. número mamógrafo (por mil hab.); 10. número de raio X (por mil hab.); 11. número tomógrafo computadorizado (por mil hab.); 12. número ressonância magnética (por mil hab.); 13. número ultrassom (por mil hab.); 14. número de equipo odontológico (por mil hab.).

3.1.1 Índice de Desempenho da Condição de Saúde (IDCS)

O equilíbrio dos conhecimentos ambiental, social e econômico da saúde é a base instrumental do processo de elaboração do índice de desempenho da condição de saúde, em uma visão holística e sistemática dos problemas, soluções e possibilidades (CAPRA, 1982). Já, a base ideológica e jurídica do IDCS é o artigo 196 da constituição federal do Brasil, que diz: a saúde é direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação.

O processo de formulação do Índice de Desempenho da Condição de Saúde (IDCS) é constituído pelos índices de desempenho “ambiental, socioeconômico e demográfico, financeiro e administrativo”. Portanto, o IDCS é constituído dos índices IDA + IDSD + IDFA.

O escopo do IDCS é fornecer informações para o processo de formulação de políticas públicas de saúde da faixa de Fronteira do Arco Norte e Arco Central do Brasil.

3.1.1.1. Índice de Desempenho da Condição de Saúde nos Municípios do Arco Norte da Fronteira

No Estado do Acre, o município de Sena Madureira nos dois períodos de pesquisa, apresenta IDCS 0,279 (desempenho ruim) e IDCS 0,353 (desempenho ruim). O município de Tarauacá no primeiro período da pesquisa apresenta IDCS 0,199 (desempenho péssimo) e mantém desempenho péssimo IDCS 0,180, no momento atual. O município de Feijó obtém os piores índices de desempenho da saúde no Estado do Acre, com IDCS 0,123 (desempenho péssimo) e no segundo momento manteve desempenho péssimo (IDCS 0,135). No Estado de Amazonas, o município de Tabatinga, obtém desempenho regular (0,410 e 0,444) respectivamente nos dois períodos. O município de Lábrea demonstra índices ruins nos dois períodos, como também o município de Benjamin Constant, com IDCS 0,350 e 0,311 respectivamente. O município de São Paulo de Olivença obtém os piores desempenhos do Estado do Amazonas, no primeiro momento em 2010 apresenta o desempenho péssimo (IDCS 0,135), e na atualidade recua para 0,064. No Estado do Amapá, o município de Laranjal do Jari, obtém índice 0,399 (desempenho ruim), e melhora seu índice para IDCS 0,535 (regular). No Estado do Pará, o município de Almeirim é o detentor dos melhores índices de desempenho da saúde do Estado, com desempenho regular (0,559 e 0,536), respectivamente. O município de Óbidos apresenta IDCS 0,310 (desempenho ruim), e regride seu índice para 0,269, na atualidade. Da mesma maneira o município de Alequer obtém nos dois momentos da pesquisa (IDCS 0,269, e 0,296) respectivamente (desempenhos ruim) (Tabela 1).

3.1.1.2. Índice de Desempenho da Condição de Saúde dos Municípios do Arco Central da Fronteira

O melhor desempenho no Estado de Mato Grosso do Sul e o melhor entre todos do Arco Central da Fronteira é o município de Aquidauana com IDCS excelente (0,822) na atualidade, promovendo aos seus cidadãos as condições de saúde de boa qualidade e satisfatório. Os municípios de Maracaju e Naviraí apresentam bons desempenhos nos dois períodos, assim dispõem de condições de saúde coerentes com as suas realidades

socioeconômica, ambiental e demográfica. O município de Sindrolândia obtém os piores desempenhos no Estado do Mato Grosso do Sul nos dois períodos, apresentando desempenhos regulares, assim fornecendo serviços intermediários para sua sociedade. No Estado de Mato Grosso, o município de Barra de Bugres apresenta o melhor índice do Estado (0,671) no momento e na atualidade o índice caiu para o desempenho regular (0,551), reduzindo a qualidade das condições de saúde de promoção, proteção e recuperação da saúde. O município de Pontes e Lacerda se classifica em desempenho regular (0,584), no primeiro momento, promovendo aos seus cidadãos serviços de saúde intermediários, e na atualidade melhorou seu índice para o desempenho bom com IDCS de 0,637, ampliando o campo de atuação das políticas públicas de saúde. O município de Poconé, apresenta desempenhos regulares com IDCS (0,451 e 0,448) respectivamente nos dois períodos de análise. Em Rondônia, o município de Pimenta Bueno consegue os melhores índices do Estado nos dois períodos. No primeiro momento apresenta o IDCS bom (0,601), e na atualidade o desempenho avança para 0,636, assim dispondo de serviços ambientais, sociodemográficos, financeiros e administrativos de saúde satisfatórios e coerentes com a demanda de sua sociedade. O município de Guajará-Mirim consegue o desempenho bom de 0,601 e na atualidade o IDCS regride para desempenho regular (0,529). O município de Rolim de Moura apresenta IDCS nos dois momentos pesquisados desempenhos regulares, dispondo de serviços de promoção, proteção e recuperação da saúde ineficiente e incoerente com o quantitativo cidadão. O município de Buritis obtém os piores desempenhos do Estado, com desempenho ruim de 0,230 e 0,328. Apesar do avanço os serviços de promoção, proteção e recuperação da saúde continuam incoerentes e ineficientes (Tabela 1).

Os melhores índices de desempenhos da saúde são apresentados pelo Arco Central, em que no primeiro momento alcança IDCS 0,601 (desempenho bom), dispondo de serviços coerentes com a demanda da sua sociedade, e no atual momento o desempenho cai para IDCS 0,596 (desempenho regular), assim diminui o quantitativo de cidadãos beneficiados com os serviços de saúde. O Arco Norte da Fronteira consegue nos dois períodos da pesquisa de índices de desempenhos da saúde ruins, assim, necessita de mudança nas políticas públicas de saúde para viabilizar a melhora dos serviços de saúde prestados pelo Estado, igualmente, promover a universalidade e integralidade da saúde (Tabela 1).

O Índice de Desempenho Ambiental – IDA demonstrou que as questões ambientais são de extrema importância para o planejamento eficiente, eficaz e efetiva das condições de saúde. A partir do IDA se conclui que os municípios do Arco Central da Fronteira apresentam sistemas ambientais sanitários mais eficientes e coerentes com as necessidades de sua

sociedade. Já, os municípios do Arco Norte da Fronteira dispõe de serviços ineficientes e incoerentes com a demanda local. O IDSD demonstra a realidade socioeconômica dos municípios de fronteira, no qual é possível verificar que as condições de vida (educação, renda, pobreza, desemprego) do Arco Norte atingiram níveis de desempenho considerados “baixos” por esta pesquisa, demonstrando uma realidade preocupante em relação aos municípios do Arco Central, que apresentaram desempenhos “bons”, de acordo com a escala adotada. O IDFA indicou que o atual sistema administrativo financeiro de recuperação do sistema da saúde é incoerente com as demandas sociais, sendo este considerado como um dos principais obstáculos que impacta, de forma significativa, a realidade de grande parte dos municípios brasileiros, decorrente da atual política do pacto federativo em vigor no país, que tende a impactar a saúde financeira, principalmente dos pequenos e médios municípios do território nacional.

Analisando em conjunto os desempenhos apresentados dos índices anteriores, os quais integraram o cálculo para a determinação dos IDCS dos municípios pesquisados, foi possível observar que em geral os municípios do Arco Norte apresentaram níveis “baixos” de desempenho, e no Arco Central foram observados níveis “regulares” de desempenhos, indicando, assim as condições de saúde aquém da demanda da sociedade. Pode-se afirmar que os municípios do Arco Norte e Central da Fronteira, apresentam grandes dificuldades em prover e viabilizar o completo bem estar ambiental, social, e, econômico. Portanto, é necessário que os municípios da fronteira elaborem políticas públicas específicas de promoção, proteção e recuperação da saúde.

Tabela 1. IDCS dos Municípios e IDCS Geral da Fronteira do Arco Norte e Arco Central

| Municípios do Acre | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|
| Feijó | 0,123 | 0,135 | Péssimo |
| Sena Madureira | 0,279 | 0,353 | Ruim |
| Tarauacá | 0,199 | 0,180 | Péssimo |
| Municípios do Amazonas | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Benjamin Constant | 0,350 | 0,311 | Ruim |
| Lábrea | 0,260 | 0,246 | Ruim |
| São Gabriel da Cachoeira | 0,345 | 0,285 | Ruim |
| São Paulo de Olivença | 0,135 | 0,064 | Péssimo |
| Tabatinga | 0,396 | 0,401 | Regular |
| Municípios de Amapá | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Laranjal do Jari | 0,399 | 0,535 | Regular |
| Municípios do Pará | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Óbidos | 0,269 | 0,296 | Ruim |
| Almeirim | 0,559 | 0,536 | Regular |
| Alenquer | 0,196 | 0,161 | Péssimo |
| Municípios de Mato Grosso do | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Amambai | 0,747 | 0,587 | Regular |

| | | | |
|----------------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------|
| Aquidauana | 0,753 | 0,822 | Excelente |
| Maracaju | 0,681 | 0,722 | Bom |
| Naviraí | 0,770 | 0,739 | Bom |
| Sidrolândia | 0,576 | 0,576 | Regular |
| Municípios de Mato Grosso | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Barra do Bugres | 0,671 | 0,551 | Regular |
| Poconé | 0,451 | 0,448 | Regular |
| Pontes e Lacerda | 0,584 | 0,637 | Bom |
| Municípios de Rondônia | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Buritis | 0,230 | 0,328 | Ruim |
| Guajará-Mirim | 0,601 | 0,529 | Regular |
| Pimenta Bueno | 0,601 | 0,636 | Bom |
| Rolim de Moura | 0,552 | 0,579 | Regular |
| FRONTEIRA GERAL | Ano de referência | 10 anos depois | Índice atual |
| Arco Norte | 0,306 | 0,301 | Ruim |
| Arco Central | 0,601 | 0,596 | Regular |

3.2. MÉTODOS QUANTITATIVOS E ANÁLISE DO DESEMPENHO DE SAÚDE E DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA CIDADE DE PORTO VELHO: 6 ANOS APÓS A CONSTRUÇÃO DAS HIDRELÉTRICAS DE JIRAU E SANTO ANTÔNIO, NO RIO MADEIRA

Os parâmetros e indicadores (modelo criado por Paraguassú-Chaves et al. 2020a) está estruturado com dois parâmetros e 18 indicadores. O primeiro parâmetro teve como objetivo identificar o desempenho em saúde, o segundo para identificar as condições ambientais. O parâmetro performance de saúde está constituído dos seguintes indicadores: número de Unidades de Saúde (hospitais, centro de saúde, unidades de saúde mistas); distribuição geográfica das unidades de saúde (distribuição espacial por bairro e zona); níveis de atenção à saúde (primário, secundário ou terciário); acesso ao serviço público de saúde; tempo de espera para atendimento médico; distribuição gratuita de medicamentos; grau de satisfação com os serviços prestados pelo serviço público; o serviço público de saúde melhorou nos últimos 6 anos?; quantidade de profissionais de saúde nas unidades de saúde (suficiente para atender a demanda da população?); despesa *per capita* com saúde pública; equipamentos adequados para atender a demanda da população (radiografia, mamografia, tomografia, ressonância magnética, aparelhos odontológicos); número de leitos hospitalares e, equipamentos e testes de laboratório. O parâmetro de desempenho ambiental se compõe dos indicadores: domicílios com abastecimento de água; domicílios com coleta de lixo; domicílios com esgoto; coleta, transporte e destinação final do lixo e, número de pessoas consumindo água não tratada.

3.2.1 Análise dos Parâmetros de Saúde e Meio Ambiente por Áreas Urbanas do Município de Porto Velho.

Para o parâmetro Saúde e Meio Ambiente, a tabela 2 e a figura 1 demonstram o desempenho deste parâmetro para as quatro zonas do perímetro urbano da cidade de Porto Velho. Antes das Hidrelétricas do Rio Madeira (UHE's), as 4 zonas apresentavam desempenho considerado regular.

Segundo Silva (2013), após as UHE's houve uma piora do IQVU. A Zona Sul diminuiu de desempenho regular para ruim. Todas as zonas também sofrem alterações no Índice de Qualidade de Vida Urbana (IQVU). Os valores da escala de classificação do índice diminuíram da primeira fase (antes da construção das UHE's) para a fase 1 (um) anos após a conclusão das UHE's: Zona Urbana Leste de 0,529 para 0,407; Zona Centro de 0,491 a 0,481; Zona Sul de 0,527 a 0,340 e Zona Norte de 0,452 a 0,419. As 4 (quatro) Zonas, em geral, estão na mesma classe de parâmetros analisados (IQVU Regular), com exceção da Zona Sul (SILVA, 2013). Após 6 anos, os índices de qualidade de vida encontrados nesta pesquisa são semelhantes aos encontrados anteriormente. Zona Centro (IQVU 0,456), Zona Leste (IQVU 0,406), Zona Norte (IQVU 0,428) e Zona Sul (IQVU 0,393), sendo regular a médio do IQVU (0,420) da cidade de Porto Velho.

A construção de hidrelétricas na Amazônia chama mais a atenção para os problemas socioambientais envolvidos do que para as vantagens relativas que esses projetos trazem para a sociedade local. Pelo menos é o que se observou até agora com o parâmetro Saúde e Meio Ambiente. Os resultados apontados por Silva (2013) mostram que houve diminuição do IQVU da fase anterior às UHE's para 1 (um) ano depois. A Zona Sul foi a mais afetada negativamente, passando de IQVU regular para IQVU ruim. A diferença negativa do período de referência antes das usinas hidrelétricas para o período de referência após a construção das UHE's foi de IQVU 0,088 e que corrobora com todas as conclusões dos últimos 6 anos. Após 6 (seis) anos, o IQVU médio da cidade de Porto Velho ficou em 0,420, assim distribuído: Zona Central (0,456) regular, Zona Leste (0,406), Zona Norte (0,428) e Zona Sul (0,393). A diferença entre o IQVU médio 6 anos depois em relação às condições de vida da população no período anterior à construção das hidrelétricas é de - 0,079.

O que já era o indicador negativo depois que as hidrelétricas se agravaram mais negativamente. Porto Velho ao longo de sua história apresentou sérios problemas de infraestrutura e serviços públicos ineficientes. Com as instalações das UHE's os resultados

apontam muito mais para os aspectos negativos com o agravamento dos problemas já existentes e a incerteza de suas soluções. Pode-se afirmar que houve queda significativa do IQVU na cidade de Porto Velho. O IQVU, que já apresentava desempenho negativo, piorou com a chegada das UHEs de Jirau e Santo Antônio ao rio Madeira, em Porto Velho - Rondônia, Amazônia Ocidental.

Tabela 2. Parâmetro de Saúde e Meio Ambiente por Zona Urbana (IQVU).

| Zona Urbana | Antes | Depois da construção | 6 anos depois |
|-------------|--------------|----------------------|---------------|
| Leste | 0.529 | 0.407 | 0.406 |
| Sul | 0.527 | 0.340 | 0.393 |
| Central | 0.491 | 0.481 | 0.456 |
| Norte | 0.452 | 0.419 | 0.428 |
| IQVU | 0.499 | 0.411 | 0.420 |

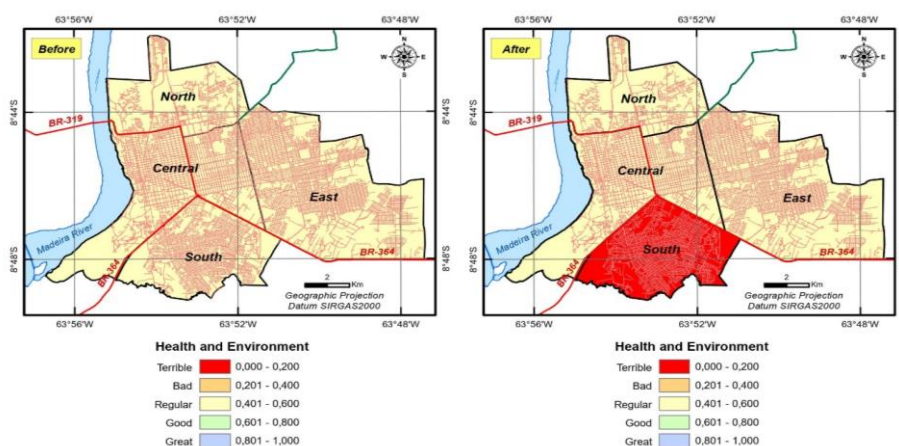


Figura 1. Cartograma dos parâmetros de saúde e ambiente por zona.

3.2. ANÁLISE FATORIAL COMO FERRAMENTA PARA CONSTRUÇÃO DO ÍNDICE DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DE BACIAS HIDROGRÁFICAS EM RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL

O modelo foi construído com base nos seguintes índices: ambientais, econômicos, sociais e políticos institucionais. A combinação desses quatro índices resultou no índice de desenvolvimento sustentável, conforme indicado na metodologia (roteiro metodológico). São Indicadores de Índice Ambiental e suas respectivas fontes de dados: desmatamento;

porcentagem da área do município ocupada por unidades de conservação; porcentagem da área do município ocupada por terras indígenas. São Indicadores de Índice Econômico: produto interno bruto per capita; número de gado bovino; produção de arroz em % em relação ao Estado; produção de café em % em relação ao Estado de Rondônia; valor da produção de castanha do Brasil em R\$ mil; valor da produção de madeira não processada em R\$ mil; produção de cacau em % em relação ao Estado de Rondônia. São Indicadores de Índice Social: domicílios com acesso a água em %; domicílios com acesso a esgoto em %; domicílios com acesso à eletricidade em %; taxa de analfabetismo; renda familiar média *per capita*; índice de Gini de renda domiciliar *per capita*; proporção de pessoas com baixa renda; % da população com renda <1/2 SM; % da população com renda <1/4 SM; proporção de crianças em situação familiar de baixa renda; % crianças com renda <1/2 SM; % de renda de crianças com renda <1/4 SM; taxa de desemprego 16a e +; taxa de trabalho infantil; número de unidades de saúde por mil habitantes; número de leitos hospitalares por mil habitantes e número de médicos por mil habitantes e, fazem parte dos Indicadores de Índice Político Institucional: receita de orçamento per capita; % receita própria; despesa de investimento *per capita*; despesas de investimento sobre despesas realizadas; educação e cultura; saúde e saneamento e número de câmaras municipais.

A seguir, serão descritas as etapas percorridas neste trabalho, consideradas essenciais para a consolidação do processo de construção de índices de desenvolvimento sustentável em função do objeto do presente estudo. Fase 1: classificação dos municípios do Estado de Rondônia por bacias hidrográficas. Fase 2: levantamento dos dados oficiais de cada município enquadrado por bacias hidrográficas. Fase 3: elaboração de planilha Excel com os dados disponíveis de acordo com a estrutura recomendada pelas fases 1 e 2. Fase 4: utilizar a ferramenta SPSS, por meio de análise fatorial, baseada no método Varimax. Fase 5: observar os critérios de adequação de dados para análise fatorial. Fase 6: determinar os índices de desempenho por municípios agregados por bacias hidrográficas. Fase 7: a partir dos índices médios de desempenho dos municípios, determinar os índices de cada parâmetro para cada bacia hidrográfica e, Fase 8: usando a média dos parâmetros, determinar o índice de desenvolvimento sustentável por bacias hidrográficas.

Tabela 3. Índice de Desenvolvimento Sustentável por Bacias Hidrográficas em Rondônia.

| Bacia hidrográfica | Índice (ano de referência) | Índice 10 anos depois |
|--------------------|----------------------------|-----------------------|
| Rio Guaporé | 0,347 | 0,287 |
| Rio Mamoré | 0,547 | 0,527 |
| Rio Madeira | 0,400 | 0,338 |
| Rio Jamari | 0,293 | 0,256 |
| Rio Machado | 0,322 | 0,247 |
| Rio Roosevelt | 0,234 | 0,187 |

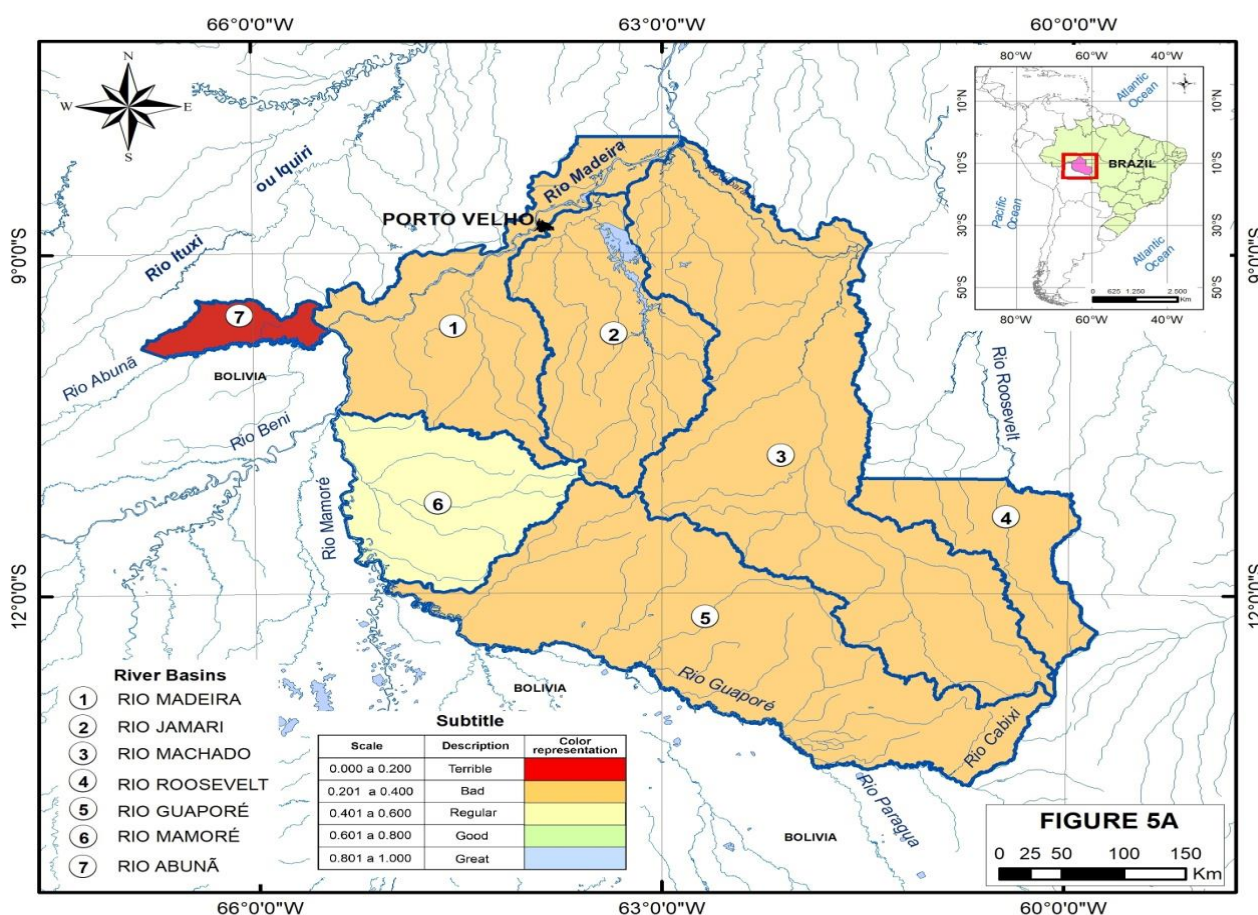


Figura 2. Mapa de Índice de Desenvolvimento Sustentável para as Bacias Hidrográficas de Rondônia, 10 Anos Depois.

A bacia hidrográfica do rio Mamoré apresentou um melhor índice de desenvolvimento sustentável (0,527), porém, este índice apenas indicou uma situação “regular”, de acordo com a escala adotada, que aliada ao “fraco” desempenho das demais bacias hidrográficas, aponta para uma situação preocupante no Estado de Rondônia. Verificou-se também que a incipiente política pública de fortalecimento do paradigma do desenvolvimento sustentável

ao nível das bacias hidrográficas em Rondônia, tem contribuído para o avanço do desmatamento em Rondônia.

A queda generalizada dos índices sociais, em todas as bacias hidrográficas estudadas, reflete que o atual modelo hegemônico de desenvolvimento regional não está, de fato, trazendo uma melhoria na qualidade de vida nas respectivas regiões geográficas das bacias hidrográficas, o que, com isso, desencadearia, entre outros aspectos, o enfraquecimento social e o esforço coletivo do poder local, reduzindo assim os critérios de fortalecimento do capital social endógeno. É necessário reconhecer que o trade-off “conservação e desenvolvimento” está latente em Rondônia e que as políticas de desenvolvimento regional não estão sendo suficientes para resolver os problemas de desigualdade regional no Estado de Rondônia. Fica evidente, portanto, com este trabalho, que mesmo com a Lei de Recursos Hídricos do Estado de Rondônia, aprovada no início dos anos 2000, os resultados apresentados demonstram que a gestão das bacias hidrográficas de forma efetiva e plena ainda não foi efetivada. Isso porque existem outros fatores que dificultam, como a lógica geopolítica instaurada em Rondônia, onde uma região é praticamente toda preservada em detrimento do desenvolvimento econômico mesmo sendo considerada produtiva. Assim, verifica-se que o comércio-off “conservação e desenvolvimento” é o maior desafio para a gestão ambiental em Rondônia, como apontado por Cavalcante (2011); Cavalcante; Silva (2011); Cavalcante; Góes (2011a); Cavalcante; Góes (2011b); Cavalcante; Góes (2013), fato agravado no contexto de áreas de bacias hidrográficas, onde a complexidade de interesses atinge uma dimensão ainda maior. A análise fatorial demonstrou eficiência como método estatístico multivariado na construção de índices de desenvolvimento sustentável para as bacias hidrográficas de Rondônia. Por fim, é altamente recomendável institucionalizar políticas públicas regionais na forma de Plano Diretor da Bacia Hidrográfica de Rondônia como mecanismo de planejamento e gestão das respectivas áreas, na perspectiva do desenvolvimento sustentável, integrado e indissociável de suas comunidades locais.

4. CONCLUSÃO

No primeiro estudo a AF foi utilizada para a construção de Índice de Desempenho da Condição de Saúde (IDCS) a partir da correlação dos índices ambiental, sociodemográfico e financeiro administrativo. Analisou-se o IDCS nos municípios do Arco Norte e Central da

Fronteira do Brasil, visando identificar a eficiência, eficácia e efetividade das políticas públicas de saúde das 3 esferas de governo. A escala de classificação de Hair adaptada foi adotada para expressar os resultados. Pode-se mensurar que os municípios do Arco Norte e Central da Fronteira apresentam grandes dificuldades em prover e viabilizar o completo bem estar ambiental, social, e, econômico. Portanto, é necessário que os municípios da fronteira elaborem políticas públicas específicas de promoção, proteção e recuperação da saúde.

No segundo estudo apresentado, a AF foi empregada para calcular Índice de Qualidade de Vida Urbana (IQVU) da cidade de Porto Velho, a partir dos índices das condições ambientais e de saúde. A escala de classificação de Hair adaptada foi adotada para expressar os resultados alcançados por cada bairro e zona urbana da cidade de Porto Velho. Os dados são correspondentes ao período antes da construção de duas grandes hidrelétricas, um após a construção das hidrelétricas e 6 anos depois do último estudo. Pode-se constatar que após 6 anos, os índices de qualidade de vida encontrados são semelhantes aos encontrados anteriormente. O IQVU, que já havia sofrido impacto negativo durante a construção das barragens e 1 ano depois, piorou seis anos depois.

O terceiro estudo teve como objetivo construir um Índice de Desenvolvimento Sustentável para as bacias hidrográficas de Rondônia, utilizando a análise fatorial como modelo analítico. A análise fatorial foi utilizada como ferramenta para a construção de índices de desempenho ambiental, econômico, social e institucional. A escala de classificação de Hair adaptada foi adotada para expressar os resultados alcançados por cada bacia hidrográfica. Houve queda nos índices 10 anos após o ano inicial da pesquisa, mostrando que, em termos de desenvolvimento sustentável, não houve melhora em Rondônia no contexto geográfico das bacias hidrográficas.

Pode-se concluir por estes estudos que a análise fatorial (AF) demonstrou eficiência como método estatístico multivariado na construção de índices de desempenho e sua aplicação em estudos interdisciplinares em saúde e meio ambiente na Amazônia Brasileira.

4. REFERÊNCIAS

BRYANT, F.B.; YARNOLD, P.R. **Principal-components analysis and exploratory and confirmatory factor analysis**. In: GRIMM, L. G.; YARNOLD, P. R. (Eds.). Reading and understanding multivariate statistics, APA, 2000.

CAPRA, F. **O ponto de mutação: a ciência, a sociedade e a cultura emergente.** Cultrix, 1982.

CAVALCANTE, F.R.C. **Análise da desigualdade regional no estado de Rondônia à luz da teoria institucionalista de Douglass North.** (Tese) Doutorado em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido - Universidade Federal do Pará, Núcleo de Altos Estudos Amazônicos, 2011.

CAVALCANTE, F.R.C.; SILVA, F.C. Desenvolvimento e conservação no Estado de Rondônia: uma análise a partir do institucionalismo de Douglass North. **Papers do NAEA (UFPA)**, v. 285, p. 3-29, 2011.

CAVALCANTE, F.R.C.; GÓES, S.B. O Desafio da gestão ambiental em Rondônia: um estudo sobre a pressão agropecuária nos municípios com e sem unidades de conservação da natureza. **II Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, 2011.

CAVALCANTE, F.R.C.; GÓES, S.B. Pressão agropecuária nos municípios com e sem unidades de conservação: um estudo mesorregional rondoniense em relação ao desmatamento e extração de madeira. **V Seminário Brasileiro sobre Áreas Protegidas e Inclusão Social**, 2011b.

CAVALCANTE, F.R.C.; GÓES, S.B. Correlação entre desflorestamento e pecuária bovina no estado de Rondônia: um estudo sob a perspectiva microrregional. **IV Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental**, 2013.

CORRAR, L.J.; PAULO, E.; DIAS FILHO, J.M. **Análise multivariada para cursos de administração, ciências contábeis e economia.** Atlas, 2007.

DILLON, W.R.; GOLDSTEIN, M. **Multivariate analysis: methods and applications.** Wiley, 1984.

FÁVERO, L.P.; BELFORE, P.; DA SILVA, F.L.; CHAN, B.L. **análise de dados: modelagem multivariada para tomada de decisões.** Elsevier, 2009.

GAMA, Z.J.C.; SANTANA, A.C. de.; MENDES, F.A.T.; KHAN, A.S. Índice de desempenho competitivo das empresas de móveis da região metropolitana de Belém. **Revista de Economia e Agronegócio**, v. 5, p. 127-159, 2007.

HAIR, J.F.; et al. **Análise multivariada de dados.** 5ª ed. Bookman, 2005.

JOHNSON, R.A. **Applied multivariate statistical analysis.** Prentice Hall, 1992.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis.** 2ª ed. Prentice Hall International, 1988.

KLEM, L. **Structural equation modeling.** In: GRIMM, L.G.; YARNOLD, P.R. (Eds.). Reading and understanding more multivariate statistics. APA, 2000,

LATTIN, J.; CARROL, J.D.; GREEN, P.E. **Análise de dados Multivariados.** Cengage Learning, 2011.

MATOS, D.A S.; RODRIGUES, E.C. **Análise fatorial.** Enap, 2019.

URBINA, S. **Fundamentos da testagem Psicológica.** Artmed, 2007.

MINGOTI, S.A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. UFMG, 2005.

PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; et al. Health condition performance index (idcs) in the municipalities of the Border of the North and Central Arc of Brazil. **InterSciencePlace – International Scientific Journal**, v. 14, n. 1, p. 170-212, 2019.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Quantitative methods and analysis of health performance and environmental conditions in the city of Porto Velho: 6 years after the hydroelectric dams of Jirau and Santo Antônio, on the Madeira River. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. 8, n. 6, p. 90-112, 2020.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Factor analysis as a tool for building the sustainable development index of river basins in Rondônia, Western Amazon. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 7, p. 220-237, 2020b.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Factor analysis applied in the construction of the socio-environmental performance index (idrsa) in the Guajará-Mirim free trade area, Brazil / Bolivia Border. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 7, p. 312-324, 2020c.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Quantitative methods and study of the parth dependence effect of Douglass North from the cocoa production index (CPI) in Rondônia, Brazil. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. 8, p. 469-493, 2020d.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Environmental Education Perception Index (IPEA) headed for sustainable development: a study in elementary schools in the city of Guajará-Mirim, Rondônia (Brazil). **International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)**, v. 5, n. 7, p. 38-50, 2018a.

PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; et al. Factor analysis and the social capital index: a study at the Brazil / Bolivia Border. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)**, v. 5, n. 10, p. 41-51, 2018b.

REIS, E. **Estatística multivariada aplicada**. 2ª ed. Silabo, 2001.

SANTANA, A.C. **Métodos quantitativos em economia: elementos e aplicações**. UFRA, 2003.

SANTANA, A.C. **Elementos de economia, agronegócio e desenvolvimento local**. UFRA, 2005.

SANTANA, A.C. Análise do desempenho competitivo das agroindústrias de frutas do Estado do Pará: **XLIV Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural**, 2006.

SANTANA, A.C. Análise do desempenho competitivo das agroindústrias de polpas de frutas do Estado do Pará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 45, n. 3, 2007.

SILVA, R.C.P. **Qualidade da Vida em Porto Velho: perspectiva do processo de desenvolvimento regional**. (Tese) Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido - Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

STATISTICAL package for social sciences: base 7.5 applications guide. Chicago: [s. n], 1997.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3ª ed. Prentice Hall International, 1996.

MAPEAMENTO DA CONTAMINAÇÃO POR NITRATO (NO₃-) EM ÁGUAS SUBTERRÂNEAS DE ÁREA URBANA DE UMA REGIÃO DA AMAZÔNIA OCIDENTAL

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves¹, Allan Kardec Duailibe Barros Filho¹, Fabrício Moraes de Almeida² e Lenita Rodrigues Moreira Dantas³

1. Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil;
2. Universidade Federal de Rondônia (UFRO), Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia (AICSA), Porto Velho, Rondônia, Brasil.

RESUMO

Objetivo: mapear a concentração da contaminação por N nitrato (NO₃-), nas águas subterrâneas urbanas de Nova Mamoré, Estado de Rondônia, localizada na região Sul da Amazônia Ocidental, na fronteira Brasil/Bolívia. **Materiais e Método:** procedeu-se na primeira pesquisa as coletas de 80 amostras e na segunda pesquisa, 40 amostras de água de acordo com a metodologia da CETESB e da ANA. O segundo método foi Aleatório Estratificado, proposto por Yamamoto e Landim (2015). Os locais foram georreferenciados utilizando-se o Global Positioning System (GPS). Para mensuração do nitrato foi usado o método de espectrofotometria com uso do Espectrofotômetro. Foi confeccionado mapa com informação georreferenciadas, para localizar as áreas de maior e menor potencial de contaminação. O uso de geoestatística (método da Krigagem) foi utilizado na espacialização das amostras e nas análises dos padrões espaciais. **Resultados:** na primeira amostragem, 62,5% das amostras de 80 poços cacimbas apresentaram teores de nitrato > que 10 mg/L, a tornando água imprópria para o consumo humano. Na segunda pesquisa 73% da amostragem apresentaram teores > que 10 mg/L de nitrato. **Conclusões:** a população está consumindo água com alto grau de contaminação de Nitrato (NO₃-). Faz-se necessário, a urgente inserção de políticas públicas no setor de saneamento básico e alerta-se para uma questão de saúde pública.

Palavras-Chave: Nitrato (NO₃-), Água Subterrânea Urbana e Amazônia Ocidental.

ABSTRACT

Objective: to map the concentration of contamination by N nitrate (NO₃-) in the urban groundwater of Nova Mamoré, State of Rondônia, located in the southern region of the Western Amazon, on the Brazil / Bolivia border. **Materials and Methods:** In the first survey, 80 samples were collected and in the second survey, 40 water samples according to the methodology of CETESB and ANA. The second method was Stratified Random, proposed by Yamamoto and Landim (2015). The locations were georeferenced using the Global Positioning System (GPS). To measure nitrate, the spectrophotometry method was used with

the use of the Spectrophotometer. A map was made with georeferenced information to locate the areas of greatest and least potential for contamination. The use of geostatistics (Krigagem method) was used in the spatialization of samples and in the analysis of spatial patterns. Results: in the first sampling, 62.5% of the samples from 80 wells in cacimbas had nitrate contents > 10 mg / l, making water unfit for human consumption. In the second survey, 73% of the sample had levels > 10 mg / L of nitrate. Conclusions: the population is consuming water with a high degree of Nitrate contamination (NO₃-). It is necessary, the urgent insertion of public policies in the sector of basic sanitation and alert to a public health issue.

Key words: Nitrate (NO₃-), Urban Groundwater and Western Amazon.

1. INTRODUÇÃO

Em Rondônia, na Amazônia Ocidental as águas subterrâneas representam um importante recurso no abastecimento humano (PARAGUASSU-CHAVES et al., 2018a; 2018b; 2015). Aproximadamente 35% da água distribuída pela Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia (CAERD) é originada do manancial subterrâneo. De acordo com IBGE (2014; 2018) no Brasil, o aquífero subterrâneo abastece aproximadamente 20% do total de domicílios e, destes, 68,78% estão localizados na área rural, abrangendo 12% de toda a população do país. Campos (2003) argumenta que o alto consumo de água subterrânea, tem como justificativa uma alternativa do baixo custo, e porque é acessível a todos, especialmente à população de baixa renda, tanto na complementação diária como na substituição total da água fornecida pelo serviço público e/ou privado. De acordo com Varnier e Hirata (2002) em função do baixo custo e facilidade de perfuração, a captação de água livre, mesmo que mais vulnerável à contaminação, é mais frequentemente utilizada no Brasil. Cagnon e Hirata (2004) explicam que a utilização das águas subterrâneas no Brasil tem aumentado em decorrência da concentração demográfica e da expansão econômica, devido às suas vantagens qualitativas e quantitativas sobre as águas superficiais. A lógica desta demanda influenciou diretamente na sua qualidade e, conseqüentemente, na saúde das populações, uma vez que estes mananciais se encontram degradados, é que afirmam Cagnon e Hirata (2004) em seus estudos.

O Brasil apresenta uma das maiores bacias hidrográficas do mundo e é considerado um país onde os recursos hídricos são abundantes. Segundo Campos (2003) o potencial hídrico subterrâneo na Amazônia possui importante contribuição no abastecimento humano. Porém, sua utilização é feita de forma não planejada e sem conhecimento adequado das suas potencialidades e qualidades. O que coloca a Região entre a de menor oferta na

prestação de serviços de saneamento básico, e a coloca no ranking da pior região brasileira neste indicador. Mindrisz (2006); Klock et al. (2014); Brito (2013); Libânio (2010) são alguns importantes autores que questionam a qualidade da água consumida em áreas urbanas e em núcleos rurais brasileiros.

De acordo com Paraguassu-Chaves et al. (2018a; 2018b) a preocupação com a qualidade da água deve ser observada a partir do momento a que se destina, seja para o sistema produtivo, dessedentação de animais ou diretamente para o consumo humano. Este autor e seus colaboradores avaliaram as consequências da baixa qualidade da água, considerando as análises realizadas nos pequenos núcleos urbanos da região Norte do Brasil, especificamente, no Estado de Rondônia, onde a captação da água, na maioria das suas cidades é realizada através de poços cacimbas, ou seja, com o uso de água subterrânea. Segundo Paraguassu-Chaves (2019); Paraguassu-Chaves et al. (2019); Costa, Paraguassu-Chaves e Oliveira (2019) o manancial subterrâneo é um recurso amplamente utilizado por uma parcela da população brasileira, principalmente nas cidades amazônicas. Segundo Paraguassu-Chaves et al. (2019) a água subterrânea pode ser captada no aquífero confinado ou artesianos, localizado entre duas camadas relativamente impermeáveis, o que dificulta a sua contaminação. A água subterrânea captada no aquífero não confinado ou livre, que fica próximo à superfície, está mais suscetível à contaminação.

Brasil (2011) estabelece que água para o consumo humano é a água potável destinada à ingestão, preparação de alimentos e à higiene pessoal, independentemente de sua origem, e água tratada, é a água submetida a processos físicos, químicos ou uma combinação destes, com o propósito de atender ao padrão de potabilidade. O padrão de potabilidade é definido como sendo o conjunto de valores permitidos como parâmetro de qualidade da água destinada ao consumo humano. O sistema de legislação de saúde relaciona às características físicas, organolépticas e químicas da água; seus valores máximos permissíveis (VMP) e as características de qualidade microbiológicas e radioativas. Silva e Brotto (2014) acrescentam a esta relação, os tempos de contato mínimos a serem observados para a desinfecção por cloração, em função da temperatura e do pH da água; e os números mínimos de amostras e frequência para o controle de qualidade da água dos sistemas de abastecimento, para várias finalidades. De acordo com Brasil (2011) a concentração superior a 10 mg/L, de Nitrogênio (N) na forma de Nitrato (NO₃-), é imprópria para consumo humano. Portanto, a legislação brasileira é taxativa: “água contendo concentrações superiores a 10 mg/L de Nitrogênio (N) na forma de Nitrato (NO₃-) é imprópria para o consumo humano”. As concentrações superiores a 3 mg/L de nitrogênio na forma de

Nitrato (NO_3^-) são indicativos de contaminação devido às atividades antropogênicas, também indicadores de contaminação bacteriana e por fertilizantes. Um alerta de segurança para a saúde das pessoas que estão submetidas a tal situação (PARAGUASSU-CHAVES, et al., 2015; 2018a; 2018b; 2019). Praticamente todas as atividades humanas oferecem algum risco de poluição ambiental e, muitas vezes, transformam-se em fontes de contaminação das águas subterrâneas. Alaburda e Nishihara (1998) incluem os compostos de nitrogênio nos seus diferentes estados de oxidação: nitrogênio amoniacal e albuminóide, nitrito e nitrato, dentre as substâncias que podem constituir risco para a saúde humana. Para Foster; Ventura e Hirata (1993) o nitrato é o contaminante mais comum encontrado nas águas subterrâneas e sua concentração raramente ultrapassa 5 mg/L em águas não poluídas e concentrações acima de 10 mg/L representam forte indicação de contaminação nas águas. Para Freeze e Cherry (1979) o nitrato é encontrado naturalmente em águas subterrâneas, mas a sua presença em concentrações elevadas é resultante de atividades humanas, principalmente devido ao uso de sistemas de saneamento *in situ* as substâncias nitrogenadas dos resíduos orgânicos são oxidadas por reações químicas e biológicas e o resultado é a presença de nitrato no solo e conseqüentemente até as águas subterrâneas. Freezer e Cherry (1979) afirmam que o nitrato é extremamente solúvel na água e pode se mover facilmente, contaminando o aquífero a longa distância, devido a sua persistência e mobilidade. O nitrato presente no solo ou diretamente na água tem muita facilidade de contaminar as águas subterrâneas. Barbosa (2019) também afirma que o nitrato é extremamente solúvel na água e pode mover-se facilmente e contaminar o aquífero a longa distância, devido sua persistência e mobilidade.

De acordo com Campos e Rohlfis (2019) o nitrato é encontrado de forma natural na água e no solo em baixas concentrações. A deposição de material orgânico no solo aumenta drasticamente a quantidade de nitrogênio. A contaminação da água subterrânea urbana por nitrato são resultados da ineficiência de serviços de saneamento básico e a falta de esgotamento sanitário na área urbana. A ineficiência desses serviços obriga a população local a construir fossas negras e sépticas para deposição de efluentes dentro das imediações de seus terrenos, que na prática, esse processo se traduz em contaminação das águas subterrâneas (MELO JUNIOR et al., 2006). Aproximadamente 41% da população brasileira utilizam fossas rudimentares ou não possuem qualquer sistema de saneamento e somente 32%, estão conectadas corretamente à rede de esgotos. Este procedimento se manifesta na deposição inadequada dos efluentes, os quais, muitas vezes, são lançados diretamente no aquífero, como alternativa, tendo em vista a baixa oferta de rede coletora de esgoto sanitário

em todos os municípios do Estado de Rondônia, cujo possui um percentual de 2% de atendimento.

Paraguassu-Chaves et al. (2015); Paraguassú-Chaves et al. (2018a; 2018b); Barata (2016); Paraguassu-Chaves (2019) já faziam um alerta de segurança para a saúde das pessoas que estão submetidas a tal situação na grande maioria das cidades da Amazônia dotada de serviços de saneamento e esgotamento sanitário precário ou praticamente inexistente. Que o universo da população dessas cidades consomem água com concentrações superiores a 3 mg/L de nitrogênio na forma de nitrato (NO₃-) o que por si já é indicativo de contaminação devido às atividades antropogênicas, também indicadores de contaminação bacteriana e por fertilizantes.

Na cidade de Nova Mamoré, Rondônia, Amazônia Ocidental, na fronteira com a República da Bolívia, o esgotamento sanitário praticamente inexistente. O esgotamento é efetuado apenas por fossas negras ou sépticas ou irregularmente nos igarapés que cortam a área urbana, fato que compromete a qualidade dos recursos hídricos locais. O saneamento básico, especificamente, abastecimento de água e coleta de esgoto sanitário do município é coordenado pela Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia (CAERD). A quantidade de domicílios com acesso a rede geral de água tratada ainda é muito baixa: apenas 16,88% dos domicílios. Enquanto que 83,91% são abastecidos por poços ou nascente na propriedade, apenas 4,84 poços ou nascente localizam-se fora da propriedade. A proporção de domicílios com saneamento adequado era apenas de 1,13%, bem inferior à proporção do Estado (11,62%), enquanto que 49,08% semi-adequado e 49,79% inadequado. Na cidade não existe rede coletora de esgotamento sanitário, indicando, assim, que o saneamento básico da cidade ainda é muito precário (PLANO DIRETOR, 2012; CAERD, 2014a; 2014b; 2014c; PARAGUASSU-CHAVES et al., 2015; 2018a; 2018b; BARATA, 2016). De acordo com Barata (2016) a deficiência no saneamento básico pode acarretar problemas de saúde pública, pois, a poluição das águas pode gerar doenças como: disenteria bacilar, dengue, febre amarela, leptospirose, hepatite A, e outras. A falta de saneamento básico torna-se ainda mais agravante devido ao fato da grande maioria dos domicílios ser abastecidos por poços ou nascente sem a devida preocupação ambiental. Portanto, a cultura local de usar, basicamente, os poços abertos em seus imóveis para consumo humano é algo extremamente perigoso que requer estudos mais aprofundados como avaliação dos impactos socioambientais decorrentes dessa prática, sobre a saúde humana.

Rodrigues (2008); Lima (2008); Riquelme (2015); Paraguassu-Chaves et al. (2015; 2018a; 2018b); Barata (2016) e Paraguassu-Chaves (2019); são autores que contribuem

para o conhecimento da contaminação da água subterrânea na área de fronteira. Estudos sobre agentes causadores de contaminação nas águas subterrâneas vêm ocorrendo gradualmente na região Norte, segundo estes autores. Considerando a questão do risco a saúde populacional e a questão socioambiental envolvida, o estudo tem como objetivo mapear a concentração da contaminação por nitrato no aquífero livre, da cidade de Nova Mamoré, no Estado de Rondônia, localizada na região Sul da Amazônia Ocidental, fronteira com a Bolívia.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

2.1.1 Procedimentos de Campo e Laboratório

Para o cadastramento dos poços e coletas e amostras de água foram utilizados dois métodos. O Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras de Água da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB (1987) e da Agência Nacional de Águas – ANA (2011). O segundo método foi Aleatório Estratificado, proposto por Yamamoto; Landim (2015). As águas foram coletadas na saída do poço, utilizando as bombas elétricas do local. A água extraída nos três minutos iniciais é desprezada para eliminar a água estagnada, logo em seguida, as amostras de água foram acondicionadas em garrafas plásticas de 500 ml, esterilizadas e adequadamente identificadas por Poço Amostral (PA), numeradas conforme a sequência de coletas, em ordem crescente, e conservadas, aproximadamente, 4°C em uma caixa de isopor com gelo para que sejam mantidas as características originais das águas. Pelas Fichas Individuais de Amostragem de Água, elaboradas e disponibilizadas conforme as instruções contidas no Guia da CETESB foram coletados os dados dos poços, bem como local da coleta, data e hora, profundidade, chuvas nas últimas 24 horas, condições higiênicas do poço, fossas, animais e esgotos nas proximidades. Em cada ponto de coleta de água foram georreferenciadas as coordenadas UTM, utilizando o Global Positioning System (GPS). As garrafas com amostras de água foram transportadas para o Laboratório, onde foram determinados os teores de Nitrato, conforme recomendação de Barata (2016). As amostras de água foram previamente filtradas em filtros de acetato celulose de 0,22, µm de porosidade e 13 mm de diâmetro (Sartorius Biolab Products) e analisadas por

cromatografia iônica com detector de condutividade (Cromatógrafo de íons com detector de condutividade iônica, METROHM – 882 Compact IC plus). A calibração do equipamento foi realizada por uma curva de calibração com padrões específicos, sendo as concentrações dos íons presentes calculadas por comparação com padrões externos. As colunas analíticas empregadas foram: Metrosep A Supp. 5 – 150/4.0 e Metrosep C 4 –150/4.0 (METROHM), tendo o volume fixo de injeção de 100 µL e vazão sempre mantida em 0,7 mL min⁻¹. Os padrões de ânions e de cátions foram introduzidos, separadamente, com uma seringa hipodérmica descartável de 5 ml, no sistema de injeção do cromatógrafo de íons, em conformidade a técnica de Cromatografia de Íons com Detector de Condutividade, segundo Barata (2016).

2.1.2 Distribuição Espacial da Amostragem

Na primeira pesquisa através da amostragem aleatória estratificada na área urbana de cidade da fronteira Brasil/Bolívia, selecionou-se 80 poços cacimba que são utilizados continuamente no abastecimento de água local para a população. Na segunda pesquisa os pontos de coletas de água para análise se deram também na área urbana de Nova Mamoré, Rondônia, na fronteira com a Bolívia. Foram feitas 40 coletas de amostras. Os pontos amostrais já haviam sido objeto de coleta de água e análise na pesquisa anterior. A amostragem da segunda pesquisa sobrepondo os pontos de coleta objetivava confirmar ou refutar os resultados encontrados anteriormente. De um total de 13 bairros que compõem a área urbana da cidade de Nova Mamoré, foram selecionados 9 (nove) bairros para fazer parte da distribuição espacial das amostras: Centro, Chacareiro, Cidade Nova, João Francisco Clímaco, Nossa Senhora de Fátima, Novo Horizonte, Planalto, Santa Luzia e, São José. Entre os critérios utilizados para a seleção dos bairros, estão o tempo de ocupação humana, atividades econômicas, acesso ao bairro, cadastramento dos imóveis junto a prefeitura, oferta dos serviços essenciais pelos órgãos públicos (proximidade com escolas, unidade de saúde, distribuição de energia elétrica) entre outros.

2.1.3 Mapeamento da Contaminação

O método geoestatístico da krigagem foi adotado neste estudo, por ser um dos métodos mais eficientes para caracterização da pluma de contaminação no aquífero livre e possibilitou a identificação de duas áreas anômalas de ocorrências de nitrato (NO₃⁻). Os

resultados foram espacializados em forma de Mapas com o uso de Geoestatística, através do software “ArcGIS for Desktop Advanced 10.2” (2020), de forma que, posteriormente, possam servir de base para o desenvolvimento de políticas públicas na prevenção da contaminação de águas subterrâneas em Rondônia, Amazônia Ocidental, na fronteira com a Bolívia.

2.1.4 Método Geoestatístico da Krigagem

Conforme Isaak e Srivastava (1998) a Krigagem é denominada como estimador espacial de variáveis regionalizadas, a partir de valores adjacentes enquanto considerados independentes na análise variográfica. Por meio dela, pode-se obter: a) A previsão do valor pontual de uma variável regionalizada e em um local específico dentro do espaço geométrico, trata-se de um procedimento exato de interpolação que leva em consideração todos os valores observados. b) O cálculo médio de uma variável regionalizada para um volume maior do que o suporte geométrico e a estimação da tendência principal (*drift*), de modo similar à superfície de tendência. A Krigagem fornece, em geral, estimativas não tendenciosas e com variação mínima, reunindo diversos tipos de métodos de estimação, como: krigagem simples, ordinária, universal, indicativa, disjunta e cokrigagem (LANDIM, 2003). Para a elaboração do mapa temático optou-se pela Krigagem Indicativa.

De acordo com Landim (2003) e Barata (2016) é por meio da Krigagem, que é possível obter a previsão do valor pontual do teor de nitrato no lençol freático, o que admite-se realizar a interpolação que leva em consideração todos os valores observados. Para Simão (2011) e Landim e Sturaro (2019), “assim sendo a Krigagem Ordinária considera a média flutuante, ou móvel, por toda a área, tornando-se importante ferramenta para mapear indicadores de contaminação nas águas subterrâneas”. Para elaboração da estimativa dos valores de nitratos, utilizou-se o método da Krigagem Indicativa do mesmo modo foi possível elaborar estimativas de proporções para os valores que estão abaixo ou acima do nível de corte (percentis) da distribuição acumulada do aquífero livre de Nova Mamoré, onde os valores foram transformados nos indicadores 0 a 1, onde o valor quando se aproximar de 1, estima-se maior teor.

2.1.5 Aspectos Éticos

Os proprietários ou responsáveis pelos imóveis, nos locais dos poços selecionados, foram cadastrados e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira pesquisa realizada em 2016, através da amostragem aleatória, estratificada na área urbana da Nova Mamoré, Rondônia, na fronteira Brasil / Bolívia, selecionou-se 80 poços cacimba que são utilizados continuamente no abastecimento local. Nove bairros fazem parte da distribuição espacial das amostras: Centro, Chacareiro, Cidade Nova, João Francisco Clímaco, Nossa Senhora de Fátima, Novo Horizonte, Planalto, Santa Luzia e, São José. O adensamento populacional mais antigo da cidade associa-se a teores de Nitrato da ordem de 21,51mg/L a 45,77 mg/L, havendo uma diminuição gradual nas áreas de ocupação mais recentes (Tabela 1). Valores extremos de 42,0 e 45,8 mg/L, são observados na área urbana de mais antiga ocupação humana, contrapondo-se com valores mínimos de 0 e 2 mg/L, localizados fora da área central da cidade e associados ao setor chacareiro, com baixa densidade demográfica. Ainda com base nos bairros existentes em Nova Mamoré: Cidade nova; Chacareiro; Novo Horizonte e Ambrósio, encontramos teores de Nitrato (NO₃⁻) abaixo de 9,70 mg/L e, portanto, inferiores ao limite máximo de 10 mg/L determinado pela Portaria do Ministério da Saúde nº 2.914/2011. Com isso os demais bairros, num total de oito, apresentaram teores superiores ao indicado pela referida Portaria (BARATA, 2016).

Os achados referentes à isoprobabilidade de ocorrência de valores acima de 10 mg/L, constatou que a área de maior ocorrência de teores de nitrato e com probabilidade de ocorrência num percentual entre 70 a 100% é a do núcleo urbano central de Nova Mamoré. No conjunto das amostras, 62,5% das apresentam teores >10 mg/L de Nitrato (NO₃⁻). Uma situação extremamente preocupante e de saúde pública.

O histograma confirma a distribuição heterogênea dos teores das amostras, variando no comportamento da pluma de contaminação em que 37,5% das amostras apresentam teores < 10 mg/L de Nitrato e 62,5% das amostras apresentam teores >10 mg/L de Nitrato (NO₃⁻) (Figura 1). De acordo com Paraguassu-Chaves et al. (2018a; 2018b; 2015) a elevada concentração de nitrato em águas subterrâneas urbanas em cidades da Amazônia brasileira,

coloca em risco à saúde de grande parte da população que se abastece desse tipo de recursos hídricos para o consumo humano.

Tabela 1. Localização, Coordenadas, Teor de Nitrato e Profundidade dos PA's

| BAIRRO | UTM Leste | UTM Norte | Poço | Teor Nitrato (NO ₃ ⁻) | Profundidade (m) |
|----------------------|------------|-------------|------|--|------------------|
| Centro | 244893,205 | 8848763,191 | 21 | 23,072 | 7 |
| Centro | 244781,464 | 8848640,577 | 41 | 34,125 | 8 |
| Centro | 244700,527 | 8848621,249 | 42 | 42,084 | 13 |
| Centro | 244538,652 | 8848324,077 | 51 | 12,772 | 10 |
| Centro | 244718,647 | 8848319,848 | 52 | 16,332 | 10 |
| Centro | 244584,557 | 8848027,206 | 53 | 13,353 | 12 |
| Centro | 244527,78 | 8848134,72 | 54 | 31,249 | 8 |
| Centro | 244456,574 | 8847911,841 | 65 | 13,375 | 10 |
| Centro | 244832,419 | 8847905,172 | 13 | 23,415 | 10 |
| Centro | 245220,796 | 8848533,642 | 9 | 40,295 | 6 |
| Centro | 245273,949 | 8848645,686 | 10 | 13,873 | 11 |
| Chacareiro | 243782,501 | 8847849,628 | 72 | 11,815 | 14 |
| Chacareiro | 243448,484 | 8847767,181 | 78 | 9,292 | 12 |
| Chacareiro | 243636,935 | 8847687,452 | 77 | 9,429 | 12 |
| Chacareiro | 243563,246 | 8847592,018 | 79 | 9,819 | 14 |
| Cidade Nova | 244409,462 | 8847764,463 | 64 | 13,459 | 7 |
| Cidade Nova | 244254,836 | 8847822,448 | 66 | 3,164 | 16 |
| Cidade Nova | 244182,959 | 8847878,016 | 67 | 3,234 | 15 |
| Cidade Nova | 244079,069 | 8847908,217 | 68 | 3,281 | 16 |
| Cidade Nova | 243875,518 | 8847981,302 | 69 | 3,141 | 13 |
| Cidade Nova | 243796,997 | 8847768,087 | 73 | 11,543 | 13 |
| Cidade Nova | 243825,386 | 8847606,515 | 80 | 9,369 | 12 |
| Cidade Nova | 243919,661 | 8847563,781 | 76 | 0,684 | 15 |
| Cidade Nova | 244365,319 | 8847686,244 | 74 | 11,484 | 7 |
| Cidade Nova | 244230,424 | 8847585,576 | 75 | 9,413 | 8 |
| Cidade Nova | 244546,521 | 8847628,46 | 62 | 12,917 | 10 |
| Cidade Nova | 244490,147 | 8847391,89 | 61 | 12,44 | 13 |
| Cidade Nova | 244585,677 | 8847738,623 | 63 | 11,792 | 8 |
| João F. Climaco | 244612,56 | 8847390,481 | 18 | 1,032 | 12 |
| João F. Climaco | 244740,609 | 8847345,784 | 19 | 1,512 | 18 |
| João F. Climaco | 244986,642 | 8847257,599 | 17 | 8,297 | 13 |
| João F. Climaco | 245198,246 | 8847360,457 | 1 | 2,062 | 11 |
| João F. Climaco | 245409,246 | 8847310,928 | 6 | 15,136 | 14 |
| João F. Climaco | 245459,581 | 8847483,674 | 5 | 2,311 | 10 |
| João F. Climaco | 245200,864 | 8847621,288 | 7 | 14,236 | 14 |
| João F. Climaco | 245052,882 | 8847678,366 | 15 | 16,945 | 9 |
| João F. Climaco | 244859,599 | 8847729,707 | 14 | 19,761 | 8 |
| João F. Climaco | 245067,437 | 8847476,37 | 16 | 11,621 | 12 |
| Nossa Sra. de Fátima | 245951,161 | 8849279,089 | 20 | 8,939 | 17 |
| Nossa Sra. de Fátima | 245147,107 | 8848730,851 | 11 | 35,786 | 6 |

| | | | | | |
|----------------|------------|-------------|----|--------|----|
| Novo Horizonte | 243958,804 | 8848637,255 | 48 | 4,432 | 6 |
| Novo Horizonte | 243892,968 | 8848791,277 | 45 | 0 | 9 |
| Novo Horizonte | 243833,775 | 8848965,835 | 44 | 14,625 | 7 |
| Novo Horizonte | 243997,461 | 8848298,406 | 59 | 0,399 | 12 |
| Novo Horizonte | 244087,458 | 8848082,775 | 58 | 4,986 | 3 |
| Novo Horizonte | 243781,897 | 8847933,585 | 70 | 3,236 | 14 |
| Novo Horizonte | 243555,998 | 8848016,032 | 71 | 2,043 | 20 |
| Planalto | 245011,591 | 8849566,522 | 12 | 2,866 | 6 |
| Planalto | 244783,88 | 8849468,672 | 31 | 0,815 | 10 |
| Planalto | 244475,232 | 8849423,372 | 29 | 10,601 | 3 |
| Planalto | 244696,299 | 8849361,763 | 30 | 13,138 | 7 |
| Planalto | 244608,113 | 8849320,69 | 27 | 8,662 | 7 |
| Planalto | 244332,082 | 8849344,851 | 28 | 2,798 | 3 |
| Planalto | 244943,338 | 8849222,841 | 26 | 9,742 | 7 |
| Planalto | 244406,979 | 8849279,618 | 32 | 15,325 | 10 |
| Planalto | 244680,594 | 8849176,332 | 34 | 23,091 | 13 |
| Planalto | 244779,652 | 8849100,227 | 35 | 12,273 | 9 |
| Planalto | 244890,185 | 8849054,323 | 25 | 0,006 | 12 |
| Planalto | 244994,075 | 8849027,142 | 24 | 23,605 | 13 |
| Planalto | 245044,811 | 8849013,854 | 23 | 20,932 | 10 |
| Planalto | 245018,235 | 8848933,219 | 22 | 5,474 | 15 |
| Planalto | 244821,932 | 8848951,339 | 36 | 12,012 | 13 |
| Planalto | 244714,419 | 8848910,871 | 37 | 28,486 | 10 |
| Planalto | 244486,708 | 8848972,479 | 38 | 22,169 | 8 |
| Planalto | 244277,117 | 8849183,58 | 33 | 15 | 8 |
| Planalto | 244249,332 | 8849080,899 | 39 | 19,924 | 3 |
| Santa Luzia | 245520,384 | 8847770,78 | 4 | 28,038 | 12 |
| Santa Luzia | 245312,605 | 8847784,672 | 8 | 27,175 | 16 |
| Santa Luzia | 245365,758 | 8848067,952 | 2 | 35,65 | 10 |
| Santa Luzia | 245678,634 | 8847993,961 | 3 | 45,776 | 5 |
| São José | 244222,152 | 8848949,829 | 40 | 25,366 | 7 |
| São José | 244186,516 | 8848848,658 | 43 | 19,108 | 10 |
| São José | 244385,838 | 8848609,772 | 47 | 16,78 | 5 |
| São José | 244284,969 | 8848649,637 | 46 | 19,937 | 10 |
| São José | 244223,36 | 8848644,503 | 49 | 19,577 | 8 |
| São José | 244222,756 | 8848255,824 | 57 | 18,345 | 10 |
| São José | 244345,37 | 8848348,841 | 50 | 25,707 | 10 |
| São José | 244364,698 | 8848176,396 | 55 | 12,571 | 16 |
| São José | 244310,337 | 8848151,028 | 56 | 16,548 | 12 |
| São José | 244273,493 | 8848061,635 | 60 | 8,695 | 12 |

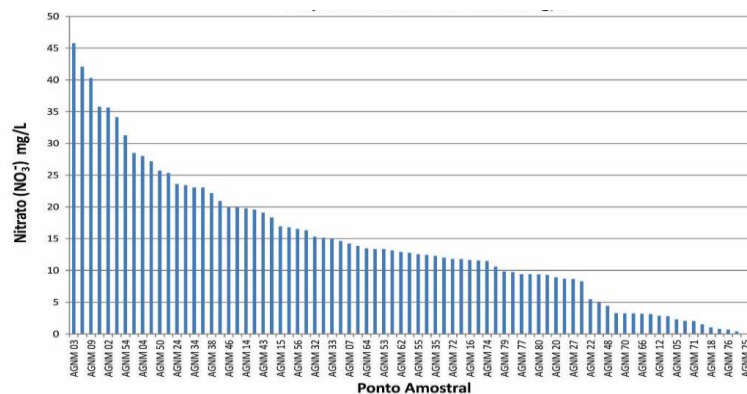


Figura 1. Histograma de concentração de nitrato (NO₃⁻) na área de estudo.

Na segunda pesquisa realizada em 2019 por Costa et al. (2019) em “Nitrate Concentration (NO₃⁻) in Groundwater of the Urban Area of Nova Mamoré – Rondônia in the Brazil / Bolivia Border” e Paraguassu-Chaves (2019) em “Amazonian Studies of Medical and Health Geography”, a coleta foi de 40 amostras de água subterrânea. No levantamento amostral dos bairros Centro, São José, Santa Luzia, Nossa Senhora de Fátima e Chacareiro já demonstram que em 100% das amostras foram detectadas elevados teores de N nitrato (NO₃⁻), acima de 10 mg/L, caracterizando uma grande área de risco à saúde da população da cidade de Nova Mamoré que consume água captada desses poços de abastecimento domiciliar (residencial) e comercial. Conforme a figura 3, em 100% das amostras foram detectados elevados teores de N nitrato (NO₃⁻). Sendo que > que 10 mg/L foram detectados em 100% dos poços e pontos de coletas. Todos 5 bairros estão com suas águas subterrâneas com alto grau de contaminação por N nitrato (NO₃⁻), ou seja, água imprópria para o consumo humano. No bairro Centro, os teores de N nitrato (NO₃⁻) são extremos. Os sete (7) pontos de amostragens variam de 42,298 mg/L o maior valor e 12,123 mg/L o menor valor, com uma média de > que 27 mg/L. Os PAs (pontos de amostras) 1, 2, 3, 4 e 5 apresentam respectivamente os teores de 42,298 mg/L, 41,335 mg/L, 35,145 mg/L, 24,011 mg/L e 23,086 mg/L. Os menores teores foram encontrados nos PA5, 16,441 mg/L e Pa7 12,123 mg/L. No bairro São José, os teores de N nitrato (NO₃⁻) apresentam-se como de alto risco para a saúde humana. 100% estão com teores maiores que 10 mg/L, com média de > que 19 mg/L. Em situação extrema encontra-se os PA14 com 26,067 mg/L e PA10 com 25,899 mg/L. Das duas amostras coletadas no bairro Santa Luzia, foram encontradas no PA8, 45,779 mg/L e no PA9, 36,065 mg/L de nitrato com a média no bairro de > que 40 mg/L. No bairro Nossa Senhora de Fátima, a média encontrada média de > que 22 mg/L. No bairro

Chacareiro a média de teores encontrado foi de > que 11 mg/L (PARAGUASSU-CHAVES, 2019; COSTA; PARAGUASSU-CHAVES; OLIVEIRA, 2019).

Conforme a tabela 2, os bairros Planalto, Novo Horizonte, João Francisco Clímaco e Cidade Nova fizeram parte dessa amostra. As amostras detectadas apresentam elevados teores de N nitrato (NO₃-), acima de 10 mg/L, característica de águas com alto grau de contaminação. No bairro Planalto, 100% das amostras foram detectadas elevados teores de N nitrato (NO₃-), acima de 10 mg/L, com média de > que 21 mg/L. Os PAs 21, 22, 23, 24 e 25 respectivamente foram encontrados os teores de 28,466 mg/L, 22,079 mg/L, 23,780 mg/L, 20,332 mg/L e 15,198 mg/L de nitrato. No bairro Novo Horizonte, diferentemente dos demais bairros da cidade, apenas 20% das amostras apresentam teores > que 10 mg/L. Os demais, 80% das amostras apresentam teores inferiores a 10 mg/L de nitrato. No bairro João Francisco Clímaco, 60% das amostras apresentam teores maiores que 10 mg/L de nitrato. A média encontrada foi de > que 12 mg/L. Porém encontrou-se diferenças marcantes como a do PA 31, 19,665 mg/L e o PA 34, com 2,166 mg/L de nitrato. No bairro Cidade Nova, 80% das amostras apresentam teores de N nitrato (NO₃-) maiores de 10 mg/L. A média teores de N nitrato (NO₃-) encontrada foi de > que 11 mg/L (COSTA et al., 2019; PARAGUASSU-CHAVES, 2019).

Tabela 2. Concentração de Nitrato (NO₃-) detectado em pontos amostrais de coleta de água.

| Ponto Amostral | Bairro | Ponto Amostral | Bairro | Ponto Amostral | Bairro | Ponto Amostral | Bairro |
|----------------|--------------------|----------------|--------------------------|----------------|-----------------------|----------------|-------------------------------|
| PA | Centro | PA | São José | PA | Planalto | PA | João Francisco Clímaco |
| PA1 | 42.298 | PA10 | 25.899 | PA21 | 28.466 | PA31 | 19.665 |
| PA2 | 41.335 | PA11 | 19.300 | PA22 | 22.079 | PA32 | 17.019 |
| PA3 | 35.145 | PA12 | 19.766 | PA23 | 23.780 | PA33 | 15.223 |
| PA4 | 24.011 | PA13 | 18.555 | PA24 | 20.332 | PA34 | 2.166 |
| PA5 | 23.086 | PA14 | 26.067 | PA25 | 15.198 | PA35 | 8.458 |
| PA6 | 16.441 | PA15 | 12.445 | PA | Novo Horizonte | PA | Cidade Nova |
| PA7 | 12.123 | PA16 | 16.600 | PA26 | 13.655 | PA36 | 12.498 |
| PA | Santa Luzia | PA | N. Sra. de Fátima | PA27 | 4.788 | PA36 | 13.917 |
| PA8 | 45.779 | PA17 | 35.575 | PA28 | 0.332 | PA38 | 12.045 |
| PA9 | 36.065 | PA18 | 10.019 | PA29 | 3.336 | PA39 | 9.566 |
| | | PA | Chacareiro | PA30 | 2.145 | PA40 | 11.002 |
| | | PA19 | 12.080 | | | | |
| | | PA20 | 10.119 | | | | |

De acordo com Costa et al. (2019) na primeira análise pode-se afirmar que a água subterrânea utilizada pela população de Nova Mamoré para o consumo humano e outras utilidades, estão impactadas com elevadas teores de N nitrato (NO₃-). 73% das amostras apresentam teores > que 10 mg/L de nitrato. Esses locais constituem-se em áreas urbanas de alto risco ambiental para a saúde humana, uma questão de saúde pública. Apenas 17% apresentam teores < 10 mg/L de nitrato. Somente 7,5% das amostras são inferiores a 3 mg/L de nitrato.

Paraguassú-Chaves et al. (2015; 2018a; 2018b) ao estudar a concentração de N nitrato em águas subterrâneas urbana na região da fronteira Brasil/Bolívia já havia encontrado que na primeira grande área de risco antes da enchente/inundação do rio Madeira e seus afluentes em 50% das amostras foram detectados elevados teores de N nitrato (NO₃-), acima de 10 mg/L, característica de águas com alto grau de impactação. Água imprópria para o consumo humano. 40% apresentava teor > que 3 mg/L, somando-se ao 50% > que 10 mg/L, torna-se evidente a contaminação total do aquífero. E após a enchente/inundação da área o grau de contaminação elevou-se de forma assustadora, onde 100% das amostras foram detectados elevados teores de N nitrato (NO₃-) > que 10 mg/L. Foram detectados 80% dos poços e pontos de coletas com teores > que 10 mg/L. Situação extrema de teores foram encontrados como 156,74 mg/L; 70,08 mg/L; 67,36 mg/L; 63,27 mg/L e 56,67 mg/L de nitrato. Toda característica de águas com alto grau de impactação. De acordo com Paraguassu-Chaves et al. (2015; 2018a; 2018b) em outros pontos de coletas de água que não teve influência direta pela enchente/inundação os teores de nitratos não sofreram variações significantes. Nesta área em 30% das amostras foram detectados teor de (NO₃-) maior que 10mg/L. Água imprópria para o consumo humano. Em 70% das amostras foram detectadas teor maior que 3 mg/L, o que caracteriza águas com alto grau de impactação, sem contudo aproximar-se dos resultados encontrados nas áreas da situação I, área impactada pela enchente/inundação do Rio Madeira. Paraguassu-Chaves et al. (2018a; 2018b) já chamava atenção das autoridades de saúde e ambiental do estado de Rondônia apontando que as precárias condições de infraestrutura, a utilização de água de poço amazônico e poços tubulares sem manutenção e próximos as fossas negras e sépticas são condicionantes e/ou determinantes para construção de um cenário insalubre e de risco para a saúde da população.

Para Barata (2016); Paraguassu-Chaves et al. (2018a; 2018b); Paraguassu-Chaves et al. (2019); Paraguassu-Chaves (2019) entre as condicionantes que agravam a situação da contaminação da água por N nitrato (NO₃) na área urbana de Nova Mamoré, está a

ineficiência do saneamento básico (abastecimento de água e coleta de esgoto sanitário) na cidade. A ineficiência de infraestrutura urbana básica é intrínseca à qualidade de vida dos moradores de qualquer bairro da cidade de Nova Mamoré. Pode-se constatar pelo próprio Diagnóstico do Plano Diretor Participativo de Nova Mamoré (2012), que a quantidade de domicílio com acesso a rede geral de água ainda é muito baixa, apenas 10,88% dos domicílios e 83,91% dos domicílios (residências) são abastecidos por poços ou nascente na propriedade e o tipo de esgotamento sanitário predominante é a fossa rudimentar (80,73%) e apenas 0,10% tem acesso a rede geral de esgoto ou pluvial. De acordo com o Diagnóstico do Plano Diretor Participativo de Nova Mamoré (2012), a deficiência no saneamento básico pode acarretar problemas de saúde pública, pois a poluição das águas pode gerar doenças tais como: disenteria bacilar, dengue, febre amarela, leptospirose e outras. A falta de saneamento no município, ainda torna-se mais agravante devido o fato da grande maioria dos domicílios (residências) do município ser abastecidos por poços ou nascente. Outra implicação decorrente da falta de saneamento se refere aos danos ambientais, como enchentes, assoreamento dos cursos de água (devido ao desmatamento e ocupação das margens), desaparecimento de áreas verdes, desmoronamento de encostas, comprometimento dos cursos de água que viram depósitos de lixo e canais de esgoto. De acordo com Hirata et al. (1997) áreas densamente povoadas e com sistema de saneamento *in situ* constitui fontes geradoras de nitrogênio no ambiente. Varnier e Hirata (2002) fazem a seguinte observação sobre as fossas rudimentares e sépticas. Segundo estes autores, mesmo a fossa estando longe do poço, em torno de dez metros, comprimento comumente observado, não diferencia o grau de impactação nas águas subterrâneas.

Lima (2008) encontrou 68% de amostras de água com teores maiores que 3 mg/L, o que indica alteração na composição química da água por atividades antropogênicas. Em 33% das amostras de água foram detectados teores de nitrato acima ou muito próximos do limite de 10 mg/L, valor máximo permitido no Brasil para águas destinadas ao consumo humano, conforme a Portaria nº. 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde. Lima (2008) demonstrou os elevados teores de nitrato nas águas subterrâneas urbanas da zona 3 da cidade de Porto Velho, em Rondônia. Campos (1999) encontrou elevados teores de nitrato nas águas subterrâneas na cidade de Mirante da Serra, em Rondônia. Inclusive chama atenção para os elevados níveis de teores de nitrato na área rural.

Na pesquisa de Barata (2016) em águas subterrâneas urbanas de Nova Mamoré, os resultados apresentaram distribuição heterogênea, variando no comportamento da pluma de contaminação em que 37,5% das amostras apresentam teores < 10mg/l de Nitrato e 62,5%

das amostras apresentam teores $>10\text{mg/l}$ de Nitrato (NO_3^-). Campos (1999) encontrou elevados teores de nitrato (NO_3^-) nas áreas urbanas mais densamente povoadas em um município de Rondônia. Paraguassu-Chaves et al. (2017) anuncia uma série de doenças condicionadas ou determinadas pela contaminação de nitrato e faz uma análise mais detalhada sobre os cânceres do sistema digestivo e sua possível associação ao nitrato. Segundo Paraguassu-Chaves et al. (2017) estes agentes são causadores de diversas doenças, principalmente a diarreia aguda e, na forma de nitrato, é indicador carcinogênico. O excesso de íon nitrato em água potável é preocupante por causa de sua potencial ligação com câncer de estômago, mas as pesquisas realizadas ainda são insatisfatórias para esclarecerem esta relação. Autores como Baird e Cann (2011) afirmam que trabalhos publicados mostram que mulheres que beberam água de abastecimento público com elevado nível de nitrato ($> 2,46 \text{ mg/L}$) apresentam três vezes mais probabilidade de serem diagnosticadas com câncer de mama do que as menos expostas ($< 0,36 \text{ mg/L}$ na água potável). Para Alaburda e Nishihara (1998) as crianças são susceptíveis ao desenvolvimento da metahemoglobinemia pela exposição ao consumo de água com alta concentração de nitrato e os idosos e adultos em desenvolveram cânceres de estômago.

Havendo a presença de nitrato nas águas, mesmo em concentrações baixas, além de indicar que a contaminação é antiga no ambiente, revela a presença de matéria orgânica associada a bactérias, vírus e parasitas, vivos ou em algum dos estágios de decomposição é o que afirma Lima (2008). Esse autor identificou agravos a saúde com as doenças diarreicas e as gastroenterites relatadas e registradas no sistema de atenção à saúde dos municípios com significativas concentrações de nitrato em águas subterrâneas urbanas. Queiroz; Heller e Silva (2009) ao analisarem a correlação de ocorrência de doença diarreica aguda com a qualidade da água para consumo humano, manifestam uma preocupação com a saúde da população exposta ao risco de consumir água imprópria.

O mapa (Figura 2) da concentração de nitrato (NO_3^-) com nível de corte $>10\text{mg/L}$ confirma a espacialidade dos elevados teores nitrato. Grande parte da população de Nova Mamoré está consumindo água com alto grau de contaminação, ou seja, água imprópria para o consumo humano. Um eminente problema de saúde pública (BARATA, 2016).

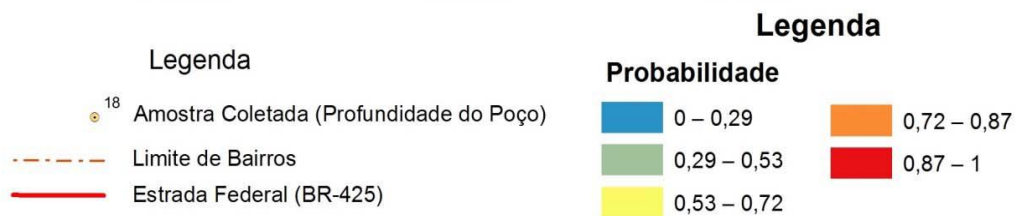
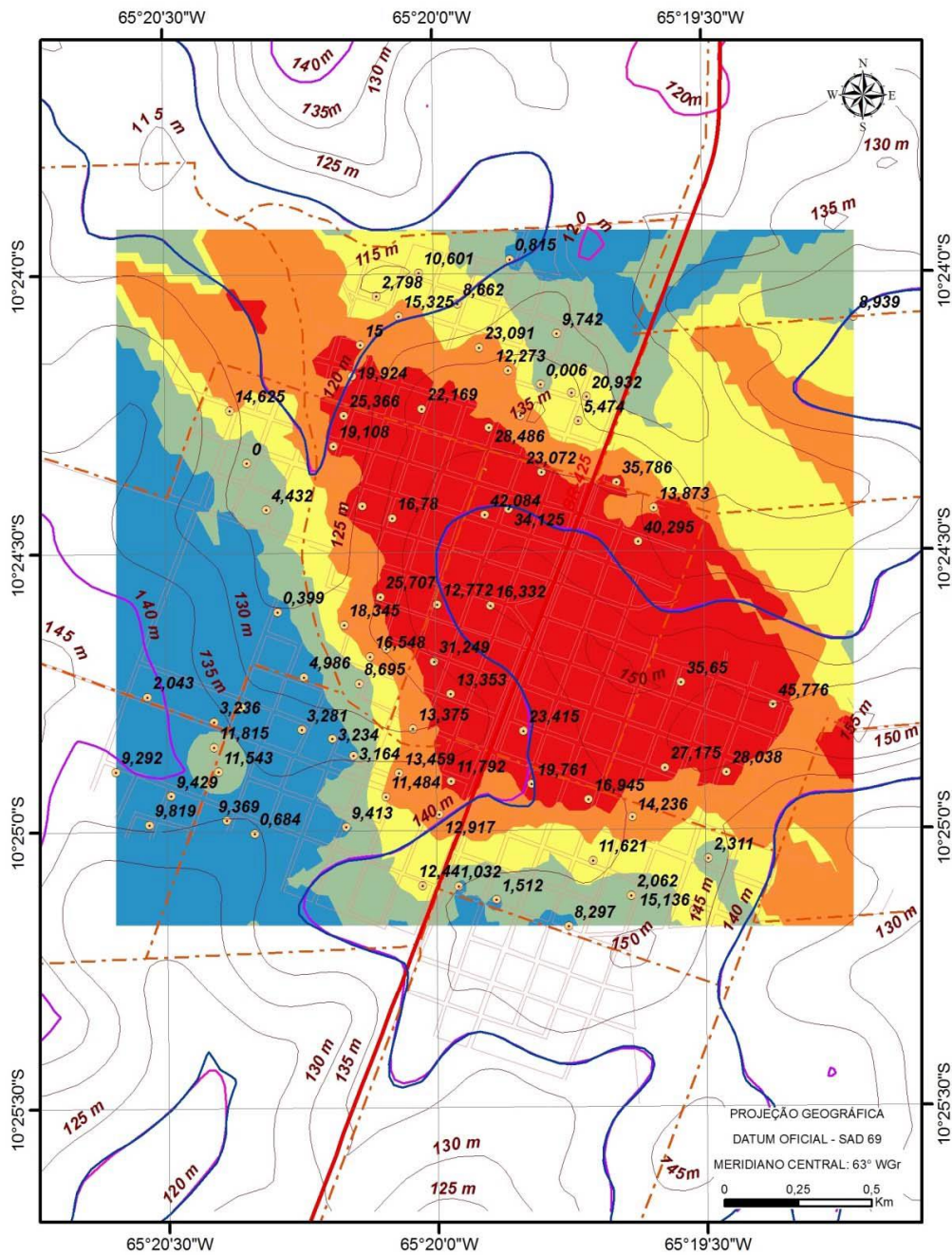


Figura 2. Mapa da concentração de nitrato (NO₃⁻) com nível de corte >10mg/l

4. CONCLUSÃO

Na primeira pesquisa foram cadastrados 80 poços cacimba, na área urbana de Nova Mamoré, Estado de Rondônia e na segunda pesquisa foram corroborados com amostra de 40 poços cacimba. Os locais das amostras foram espacializados através do método de amostragem aleatória estratificada, com realização de coleta de água e análise química do parâmetro Nitrato (NO_3^-), onde se detectou elevados índices de contaminação na área mais urbanizada. Os locais pesquisados estão amplamente contaminados por nitrato. Os principais condicionantes apontam-se como fontes de contaminação a ação antrópica e multi-pontual do sistema de saneamento *in situ*, tipo fossa séptica e fossas negras, a exposição e precariedade dos poços, exposição dos resíduos sólidos, despejo de esgoto de toda natureza.

Na primeira pesquisa 62,5% das amostras apresentaram teores de nitrato acima de 10 mg/L, limite máximo permitido para consumo humano conforme Portaria do Ministério da Saúde nº 2.914/2011, que rege as normas de padronização e de potabilidade da água no Brasil. Na segunda pesquisa 73% das amostras apresentam teores > que 10 mg/L de nitrato. Esses locais constituem-se em áreas urbanas de alto risco ambiental para a saúde humana, uma questão de saúde pública. Somente 7,5% das amostras são inferiores a 3 mg/L de nitrato.

A população está consumindo água com alto grau de contaminação de Nitrato (NO_3^-). Faz-se necessário, a urgente inserção de políticas públicas no setor de saneamento básico e alerta-se para uma questão de saúde pública. A aplicação do método de geoestatística, através da Krigagem não-linear indicadora, por meio do estudo da sua distribuição e variabilidade espaciais, identifica áreas de teores anômalos de Nitrato (NO_3^-): uma até 3 mg/L e outra acima de 10 mg/L, comprovando sua eficiência para análise espacial e comportamental do Nitrato (NO_3^-) em áreas subterrâneas urbanas na Amazônia Ocidental.

REFERÊNCIAS

- AGUDO, E.G. **Guia nacional de coleta, preservação de amostras de água**, CETESB: São Paulo; 1987.
- ALABURDA, J.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poço. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 2, p. 160-165, 1998.
- APHA. American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of water and wastewater**. 17 ed. Washington, 1998.

- ARCGIS FOR DESKTOP ADVANCED. **Arcgis for Desktop Advanced**. version 10.2, 2020.
- BAIRD, C.; CANN, M. **Química Ambiental**. 4. ed. Bookman: Porto Alegre, 2011.
- BARATA, C. S. **Mapeamento da contaminação por nitrato (NO₃ -) em poços rasos na área da sede do município de Nova Mamoré – Rondônia**. (Dissertação) Mestrado em geografia - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2016.
- BARBOSA, C.F. **Hidrogeoquímica e a contaminação por nitrato em água subterrânea no bairro Piranema, Seropédica – RJ**. (Dissertação) Mestrado em Geociências - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- BRASIL. ANA. Agência Nacional de Águas. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidas de água da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB e Agência Nacional de Águas-ANA**, Brasília, 2011
- BRASIL. Portaria do Ministério da Saúde nº. 2914 de 25 de dezembro de 2011. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Diário Oficial da União, Brasília, 2011.
- BRITO, P.N.F. **Qualidade da água de abastecimento em comunidades rurais de várzea do baixo Rio Amazonas**. (TTC) Bacharelado em Ciências Ambientais - Fundação Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2013.
- CAERD. Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia. **Diagnóstico técnico operacional sistemas de abastecimento de água e esgotamento sanitário: programa de saneamento básico do estado de Rondônia**. Gerência de Projetos e Obras: Porto Velho, 2014.
- CAERD. Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia. **Relatório de monitoramento ambiental de Nova Mamoré-RO**. Porto Velho, 2014b.
- CAERD. Companhia de Águas e Esgotos de Rondônia. **EBITDA de janeiro a dezembro de 2014**. Superintendência de Planejamento. Porto Velho, 2014c.
- CAGNON, F.; HIRATA, R. 2004. Source of Nitrate in the Groundwater of Adamantina Aquifer in Urania, SP – Brazil. **XXXIII International Association of Hydrogeologists**, 2004.
- CAMPOS, J.C.V. A problemática dos recursos hídricos subterrâneos na Amazônia na visão do Serviço Geológico do Brasil. **I SIMPÓSIO DE HIDROGEOLOGIA DO SUDESTE**, 2003.
- CAMPOS, J.C.V. **Contaminação das águas subterrâneas na cidade de Mirante da Serra (RO)**. Serviço Geológico do Brasil: Porto Velho, 1999.
- CAMPOS, T.S.; ROHLFS, D.B. **Avaliação dos valores de nitrato em águas subterrâneas e sua correlação com atividades antrópicas no município de Águas Lindas de Goiás. Goiânia**. Disponível em: <<http://www.cpgls.ucg.br/arquivosUpload/1/File/.../SAUDE/86.pdf>>. Acessado em: 20/09/2019.
- COSTA, V.A.U.; et al. Groundwater of the urban area of Nova Mamoré - Rondônia in the Brazil / Bolivia Border. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 6, n. 1, p. 99-108, 2019.

FOSTER, S.; VENTURA, M.; HIRATA, R.C.A. **Poluição das águas subterrâneas**. Série Manuais. Instituto Geológico. Secretaria do Meio Ambiente: São Paulo, 1993.

FREEZE, R.A.; CHERRY, J.A. **Groundwater Contamination**. Prentice Hall: New Jersey, 1979.

HIRATA, R.C.A.; BASTOS, C.R.A.; ROCHA, G.A. **Mapeamento da vulnerabilidade e risco de poluição das águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. Páginas e Letras: São Paulo, 1997.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estimativa do Censo Demográfico**. Rio de Janeiro, 2014.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em <<http://www.cidades.ibge.gov.br/v3/cidades/home-cidades>>. Acesso em 20/12/2018.

ISAAK, E.; SRIVASTAVA, R. **An introduction to applied geostatistic**. Oxford University Press: New York, 1989.

KLOCK, A.L.S.; GUARDA, J.S.; CELLA, J.; SILVA, M.L.; FILHO, L.P.K. Qualidade das águas de poços profundo do município de águas Frias-SC em relação a portaria 2.914 do Ministério da Saúde. **XVIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas**, 2014.

LANDIM, P.M.B. **Análise estatística de dados geológicos**. 2ª ed. Unesp: São Paulo, 2003.

LANDIM, P.M.B.; STURARO, J.R. **Krigagem indicativa aplicada à elaboração de mapas probabilísticos de riscos**. Disponível em <<http://www.rc.unesp.br/igce/aplicada/textodi.html>>. Acessado em: 10/11/2007.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 3ª ed. Editora Átomo: Campinas, SP, 2010.

LIMA, M.L.A. **Águas subterrâneas potencialmente impactadas por nitrato (NO₃-) na área urbana da cidade de Porto Velho; Um estudo da geografia da saúde**. (Dissertação) Mestrado em geografia - Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, 2008.

MELO JUNIOR, H.R. et.al. Avaliação da qualidade das águas subterrâneas em uma zona urbana da Amazônia brasileira: estudo de caso do bairro Eletronorte, Porto Velho (RO). **XIV Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas**, 2006.

MINDRISZ, A.C. **Avaliação da Contaminação da Água Subterrânea de poços tubulares, por combustíveis fosséis, no município de Santo André, São Paulo: uma contribuição à Gestão Ambiental**. (Tese) Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2006.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A. **Amazonian studies of medical and health geography**. Temática editora: Porto Velho, 2019.

PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; et al. Mapping of nitrate contamination (no₃-) in na urban area on the Brazil/Bolivia Border. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v.6, p. 359-372, 2019.

PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; et al. Groundwater quality: study of the Nitrate(NO₃-) concentration in the Urban Area of the Brazil/Bolivia Border. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 5, n. 10, p. 19-23, 2018a.

PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; BARATA, C.S; SILVA FILHO, E.P; ALMEIDA, F. M; DANTAS, L.R.M. Mapeamento da contaminação por Nitrato (NO₃-) em uma área urbana na fronteira Brasil/Bolívia. **Debate em Ação: discussão científica**. Publicação preliminar. 2018b.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; CAVALCANTE, F.R.C.; UCHOA, M. R.; BARATA, C. S.; SILVEIRA, E.G.; DANTAS, L. R. M. Possível concentração de Nitrato (NO₃-) na área urbana da fronteira de Rondônia. **Debate em ação: discussão científica**, v. 1, p. 70-79, 2015.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A. et al. **Epidemiologia do câncer em Rondônia**. AICSA: Porto Velho, 2017.

PLANO DIRETOR. NOVA MAMORÉ. **Diagnostico do plano diretor participativo de Nova Mamoré**. Prefeitura Municipal de Nova Mamoré, 2012.

QUEIROZ, J.T.M.; HELLER, L.; 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 Sociedade**, v.18, n.3, p.479-489, 2009.

RIQUELME, A.M. **Avaliação da contaminação por Nitrato (NO₃-) em poços cacimba no perímetro urbano do município de Rolim de Moura**. (Dissertação) Mestrado em Geografia - Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, 2015.

RODRIGUES, E.R.D. **Avaliação espacial da qualidade da água subterrânea na área urbana de Porto Velho-Rondônia – Brasil**. (Dissertação) Mestrado em Geografia - Universidade Federal de Rondônia. Porto Velho, 2008. 85 p.

SILVA, L.C.M; BROTTTO, M.E. **Nitrato em água: ocorrência e consequências**. Escola Superior de Química, Faculdade Oswaldo Cruz: São Paulo. 2014.

SIMÃO, F.B. **Mapeamento de risco de malária na área urbana de Porto Velho - RO, pela krigagem indicativa**. (Tese) Mestrado em Geociências - Universidade Estadual de São Paulo, Rio Claro, 2001.

VARNIER, C.L.; HIRATA, R. Contaminação da água subterrânea por nitrato no parque ecológico do Tietê. **Revista da Associação Brasileira de Águas Subterrâneas**, v. 16, p. 97-104, 2002.

YAMAMOTO, J.K.; LANDIM, P.M.B. **Geoestatística: Conceitos e Aplicações**. 1ª ed. Editora Oficina de Textos: São Paulo, 2015.

GERAÇÃO ENERGIA ELÉTRICA SOLAR POR MEIO DE UM SISTEMA FOTOVOLTAICO ISOLADO NO IFG - CAMPUS JATAÍ

José Antonio Lambert¹, Fernando Nunes Marques¹, Fausto Oliveira Carvalho¹, Bruno Marcos de Jesus Terra¹ e Ghunter Correia da Costa Júnior¹

1. Instituto Federal de Goiás (IFG), Câmpus Jataí, Departamento de Áreas Acadêmicas, Jataí, Goiás. Brasil.

RESUMO

O Brasil tem nas usinas hidrelétricas a sua principal fonte de energia. Entretanto, os níveis de seus reservatórios têm sofrido um decréscimo elevado devido à diminuição da incidência de chuvas nos últimos anos. Haja vista esta problemática, a busca por fontes alternativas de energia ganha cada vez mais força, sendo a energia provinda do sol uma possibilidade altamente rentável. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo dimensionar e implementar uma bancada didática com sistema fotovoltaico isolado no Campus IFG no Município de Jataí – GO. Com o sistema montado será realizado uma análise dos dados com o auxílio de um kit que conta com sensores de corrente e tensão enviando sinais analógicos para um micro controlador, o mesmo é equipado com certa extensão que armazenará os dados de variação de tensão, corrente e potência para determinado bloco de anotações, contido em cartão de memória. Neste sentido, este trabalho de conclusão de curso visa além do dimensionamento, implantação e análise dos dados obtidos, a abertura de uma linha de estudo sobre energia solar para o Campus, despertando o interesse dos discentes por este segmento, que está em franca expansão, por meio da bancada didática com monitoramento digital.

Palavras-chave: Geração Solar, Energia Renovável, Sistema Isolado e Fotovoltaico.

ABSTRACT

Brazil has the hydroelectric plants their main source of energy. However, the levels of its reservoirs have suffered a large decrease due to decreased rainfall in recent years. Considering this issue, the search for alternative energy sources is becoming increasingly harder, being the energy supply from the sun a highly profitable possibility. Thus, this study is designed to measure and implement a didactic bench with photovoltaic isolated system in Campus IFG in the municipality of Jataí - GO. With the assembled system is performed an analysis of the data with the aid of a kit that includes current and voltage sensors send analog signals to a micro controller, the same is equipped at some length that will hold the voltage variation data stream and power for a given notebook, contained in the memory card. Thus, this course conclusion work aims beyond the design, implementation and analysis of data, opening a line of study on solar energy for the campus, arousing the interest of students for this segment, which is booming, through didactic bench with digital monitoring.

Keywords: Solar Generation, Renewable Energy, Isolated System and Photovoltaics.

1. INTRODUÇÃO

A matriz energética brasileira é fundamentada em fonte hidráulica e representa mais de 50% de seu total (BRASIL, 2015). Porém, nos últimos anos o número de chuvas tem diminuído consideravelmente, principalmente na região sudeste do país, com isto o nível de água nas barragens hidrelétricas também tem caído, causando uma grave escassez de energia. Nesta conjuntura de possível crise energética, o embate sobre a necessidade imediata do país em diversificar suas fontes de energia ganha cada vez mais adeptos.

Porém para se obter essa diversidade energética, faz-se necessário o conhecimento sobre como podem ser obtidos estes recursos. Em sua grande parte, estas fontes são compostas por combustíveis fósseis, que causam sérios impactos ao meio ambiente (MME, 2015). Em alternativa, temos outras fontes com alto potencial de exploração, Figura 1, como as renováveis, onde a energia solar e a eólica tem se destacado. Neste contexto, a energia solar ganha maior notoriedade por seu alto potencial de exploração quando comparada com todas as fontes disponíveis no globo terrestre.

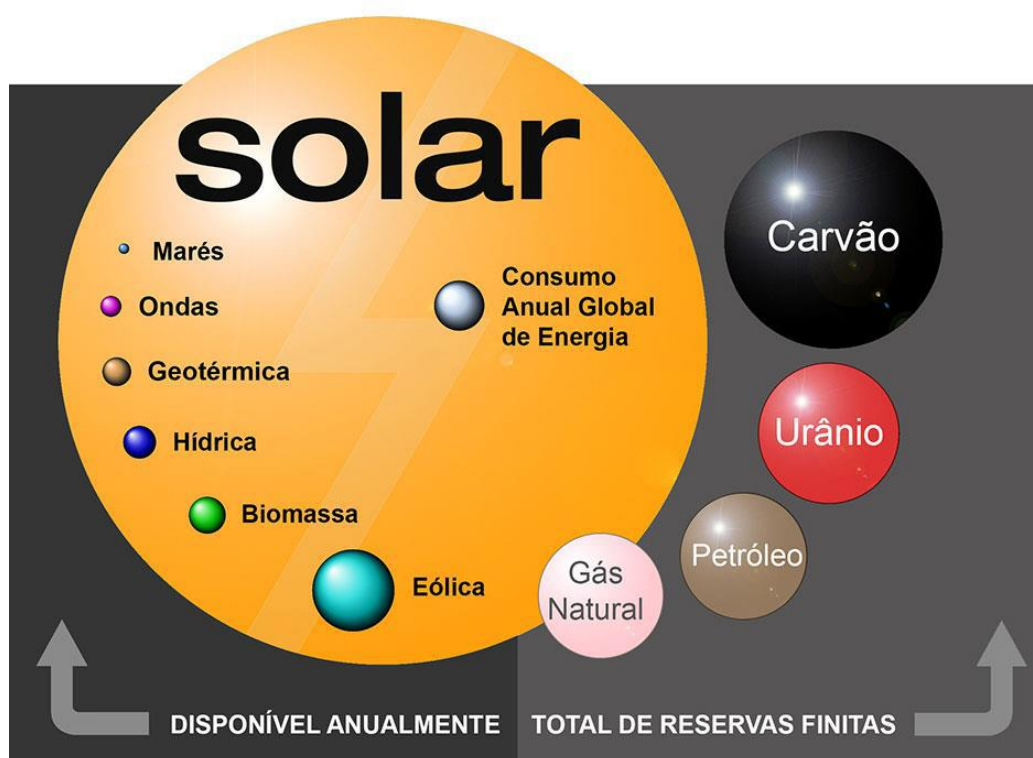


Figura 1: Fontes de Energia.
Fonte: Portal do Sol, 2016.

De forma indireta, quase todas as fontes de energia são provenientes do sol, como a energia hidráulica, biomassa, eólica e entre outras. Além disto, a radiação solar pode ser utilizada diretamente como fonte de energia térmica, empregando o seu uso para aquecimento de fluidos e para geração de potência mecânica ou elétrica.

O aproveitamento térmico para ambiente pode ser realizado com o auxílio de técnicas mais sofisticadas de arquitetura e construção, de modo a aquecer o ambiente através de absorção ou penetração da radiação solar nas edificações, reduzindo as necessidades até mesmo de iluminação.

O aproveitamento térmico para aquecimento de fluidos é realizado através do uso de coletores solares. Com a incidência da luz solar em sua superfície exposta ao sol, a água armazenada em seu interior aquece e diminui de densidade, tornando-se mais leve que a água fria. Assim, a água presente no interior dos coletores se movimenta para o reservatório e simultaneamente a água estocada no reservatório flui em direção ao coletor. As suas aplicações são mais comuns em residências e comércios.

O aproveitamento térmico também se dá com o uso de concentradores solares destinados a aplicações que requerem temperaturas elevadas, como a secagem e produção de vapor, sendo que a produção de vapor pode-se gerar energia mecânica e posteriormente, eletricidade, por meio de um gerador movido a vapor.

O efeito fotovoltaico é o processo de aproveitamento da luz solar como fonte de energia elétrica. Seu estudo tem ganhado maior publicidade recentemente, porém sua história é datada de mais de 100 anos, quando Edmond Becquerel em 1839 observou o aparecimento de uma diferença de potencial nos extremos de um semicondutor, quando esse absorvia a luz visível (PINHO; GALDINO, 2014).

A energia solar é produzida a partir da conversão direta da radiação do sol em energia elétrica. Essa energia é gerada por meio de painéis fotovoltaicos, que são compostos por arranjos de células de um determinado semicondutor capaz de converter a radiação solar diretamente em energia elétrica. Trata-se de uma fonte abundante, renovável, limpa e disponível em toda superfície terrestre.

Segundo Pinho e Galdino (2014), a primeira geração de produção de células fotovoltaicas representa mais de 85% do mercado, por ser considerada uma tecnologia consolidada e confiável, e por possuir a melhor eficiência comercial disponível. Desta forma a primeira geração é dividida em duas cadeias produtivas: silício monocristalino (m-Si) e silício policristalino (p-Si).

Os sistemas fotovoltaicos são classificados em dois tipos, sistemas isolados e sistemas interligados à rede. A diferença entre os dois dá-se por meio da forma como é implementado o sistema, se com armazenagem ou injeção direta a rede.

Os sistemas isolados são classificados em autônomo puro quando não possuem outra forma de geração de eletricidade, sendo composto por um arranjo com acumuladores de energia para os períodos sem sol, as baterias. Outra classificação é o autônomo sem armazenamento, que funciona somente durante as horas de sol, como exemplo, o sistema de bombeamento de água.

A composição do sistema autônomo ou isolado conta com painéis fotovoltaicos, controladores de carga, acumuladores de energia e inversores autônomos para carga em CA.

Em contrapartida aos sistemas autônomos temos os sistemas interligados, que fornecem energia para as redes de distribuição, de modo que todo o potencial gerado é rapidamente escoado para a rede, que age como uma carga, absorvendo a energia. A composição do sistema interligado conta com painéis fotovoltaicos e inversores capazes de transformar a corrente contínua oriunda dos painéis em corrente alternada de 127 V / 220 V e 60 Hz, compatível com a frequência e tensão da rede.

O Brasil apresenta um grande potencial de aproveitamento da energia solar devido à alta incidência solar sobre o país, característica de sua posição geográfica privilegiada. Neste cenário, grandes centrais solares podem ser conectadas à rede de distribuição brasileira, uma vez que apresentam compatibilidade para suprir o Sistema Interligado Nacional (SIN). Ademais, a presença de pequenas centrais, por sua vez, destinadas ao atendimento de eletricidade a comunidades ou sistemas isolados surgem como alternativa para integrar todo o país ao sistema, provendo dignidade e igualdade a todos.

Os sistemas fotovoltaicos são classificados de acordo à forma como é feita a geração ou entrega da energia elétrica, como ilustra a figura 2.

O sistema fotovoltaico conectado à rede, tem duas maneiras de funcionamento sendo que a primeira a energia elétrica gerada é entregue diretamente à rede, onde a energia é rapidamente escoada para o sistema. Outra maneira é onde a energia elétrica gerada é consumida pela residência e somente o excedente é fornecido à rede. O dispositivo responsável pela injeção de energia a rede é um inversor diferente dos inversores autônomos, pois esse apresenta um alto grau de tecnologia para realizar o controle sobre a tensão, fase e frequência.

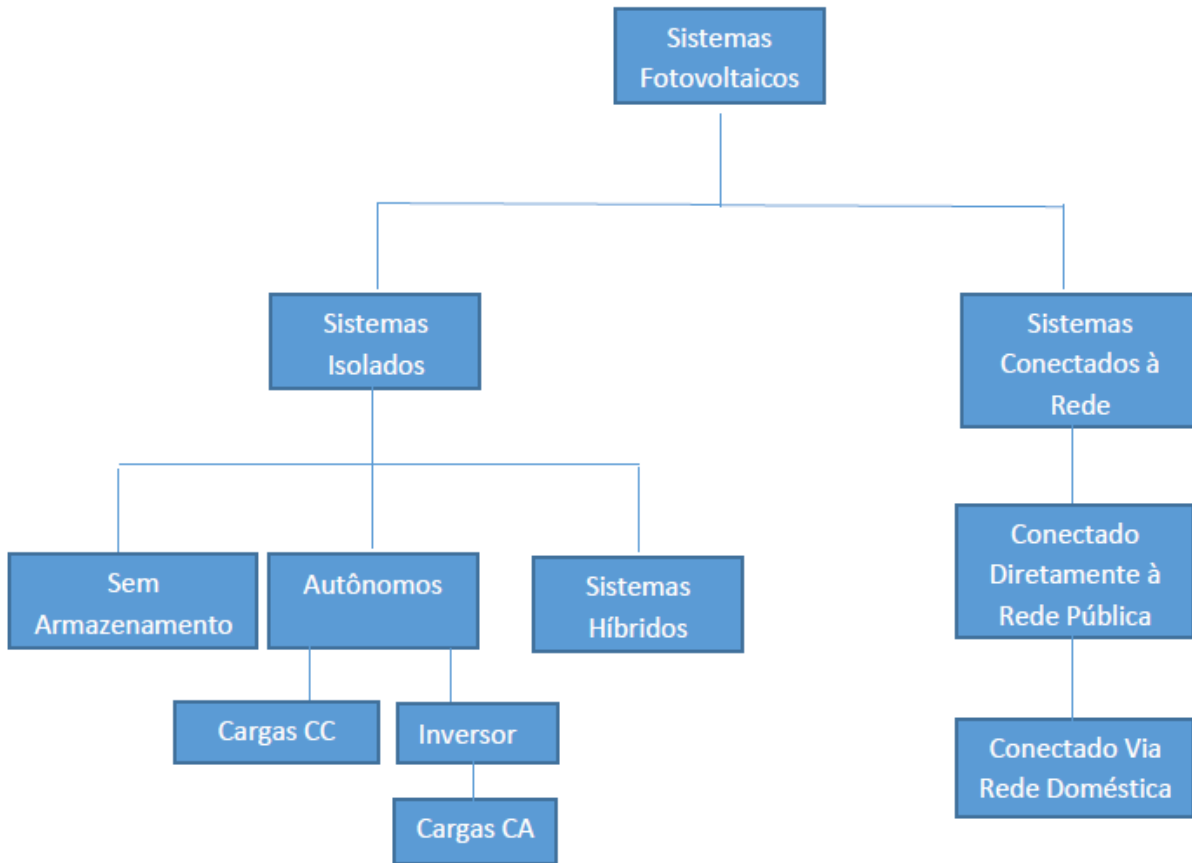


Figura 2. Tipos de sistemas fotovoltaicos

O sistema fotovoltaico autônomo é aquele que não está em contato com a rede elétrica da concessionária, por isso o pode ser considerado um sistema isolado. Porém o que difere um sistema autônomo isolado dos demais é o banco de bateria o qual garante o fornecimento de energia mesmo sem a energia solar. O sistema fotovoltaico autônomo pode alimentar tanto cargas em corrente contínua como em corrente alternada com o uso de um inversor.

Apesar de se tratar de um tema que possui uma vasta produção científica e tecnológica em nível mundial, observa-se uma deficiência de informação para o consumidor final e uma necessidade de tornar esta fonte mais atrativa para o mesmo. Desta forma o presente trabalho, tem como um objetivo não somente levar conhecimento técnico de forma acessível aos discentes e prover uma conscientização para a busca por fontes renováveis de energia, mas também esclarecer dúvidas sobre a operabilidade desta tecnologia através de uma bancada didática para averiguação operacional de um sistema fotovoltaico isolado.

2. MATERIAIS E MÉTODO

Nesta seção, será abordada a teoria referente aos equipamentos que serão utilizados para o dimensionamento do sistema fotovoltaico autônomo ou isolado e, toda a metodologia usada para dimensionar o sistema e montar a bancada didática.

2.1 TIPO E LOCAL DO ESTUDO

Foi realizado um estudo de aproveitamento de energia solar fotovoltaica, para melhorar eficiência energética do sistema elétrico. O presente estudo foi realizado no Instituto Federal de Goiás – Campus Jataí, foi utilizado o laboratório de Engenharia Elétrica para a instalação dos componentes do sistema e a coleta de dados em uma bancada didática, já o painel fotovoltaico foi posicionado próximo ao laboratório da bancada didática.

O município de Jataí – GO, de acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia, Jataí situa-se a 87 km a Sul-Oeste de Rio Verde. Situado a 670 metros de altitude, suas coordenadas geográficas são: Latitude igual $17^{\circ} 89' 33''$ Sul e sua Longitude é $51^{\circ} 73' 17''$ Oeste.

2.2 BANCADA DIDÁTICA

A bancada didática é composta por uma placa de fibra de madeira de média densidade, na qual é usada para a fixação dos seguintes componentes: inversor, controlador de carga e terminais de conexão (Figura 3). A bancada também conta com um banco de baterias e espaço para o uso de diversos tipos de carga. A bancada possui espaço para futuras ampliações do sistema, sendo possível colocar mais aparelhos, como inversores que têm a função de converter a energia de corrente contínua para corrente alternada. Também podem ser fixados outros tipos de aparelhos como controladores de carga e medidores de energia.

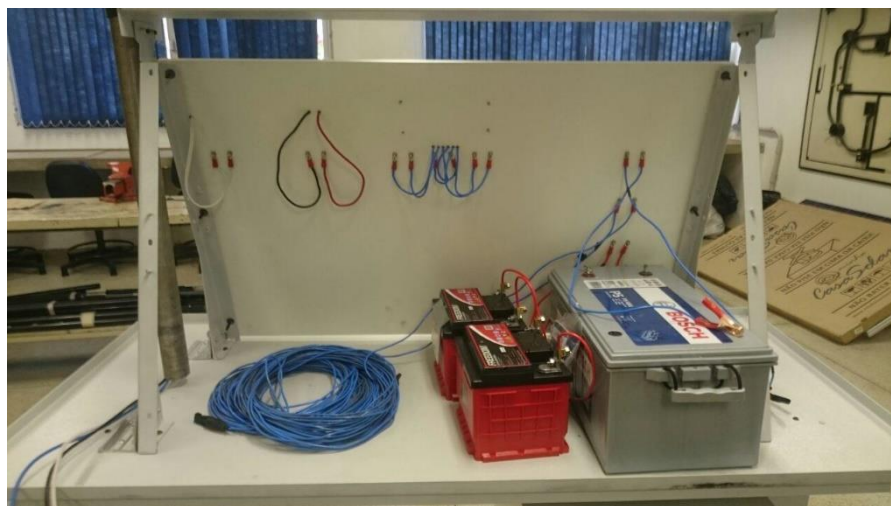


Figura 3. Bancada didática.

2.3 PAINEL FOTOVOLTAICO

Segundo a norma NBR 10899 (2013), o módulo fotovoltaico é uma unidade básica formada por um conjunto de células fotovoltaicas, interligadas eletricamente e encapsuladas, com o objetivo de gerar energia elétrica.

Para o dimensionamento do painel fotovoltaico de um sistema autônomo, deve ser levado em consideração o menor valor de irradiação, que no caso de Rio Verde é 4,22 kWh/m² por dia no plano horizontal, que é o pior caso. O potencial energético do local da instalação, no plano do painel é calculado por meio do produto da irradiação com o fator k, que é fornecido pelo conjunto de tabelas “Fator de Correção k para superfícies inclinadas” (CRESESB, 2014).

Como a latitude de Jataí é de $17^{\circ} 89$, o fato de correção k para Junho é de 0,76, logo o potencial energético dado por hora de sol pleno (HSP) de Jataí é de 3,21 kWh/dia.

O tempo médio de insolação de Jataí é de 6 horas, como o painel fotovoltaico escolhido tem uma potência de pico de 260 W, a sua geração diária estimada será de aproximadamente 1560 Wh/dia, o consumo da carga é de 1060,77 Wh/dia, logo um painel será o suficiente para o sistema fotovoltaico projetado.

O painel fotovoltaico escolhido para compor o sistema é do fabricante Canadian Solar do modelo CSI CS6P-260P, suas características principais fornecidas pelo fabricante são: potência de pico de 260 W, tensão em máxima potência de 30,4 V, a corrente em máxima potência de 8,56 A, tensão em circuito aberto de 37,5 V e corrente de curto circuito de 9,12 A.

2.4 CONTROLADOR DE CARGA

O controlador de carga opera com tensões de carga maiores que a tensão nominal da bateria. O aumento da temperatura nos módulos diminui o nível de tensão gerado pelo sistema, porém mesmo sob essas condições essa tensão deve ser maior que a tensão de carga do banco de baterias, para isso utilizam diodos de bloqueio integrados.

O controlador de carga é responsável por proteger o processo de carga das baterias, tendo em vista a diferença da tensão entregue pelo gerador fotovoltaico e a tensão de alimentação da bateria e, a possibilidade de submeter o acumulador a sobrecargas e descargas excessivas.

Os reguladores de carga devem desconectar o arranjo fotovoltaico quando o banco de baterias atingir carga plena, ajustar a tensão do arranjo, como fazem os controladores seguidores de ponto de máxima potência (MPPT) e, interromper o fornecimento de energia proveniente do acumulador quando este atingir um nível mínimo de segurança, padronizado em 80% de descarga.

Os critérios levados em consideração para a escolha do controlador de carga do projeto foram os seguintes:

a) Tensão Nominal do Sistema: como no sistema dimensionado tem apenas uma bateria, a tensão nominal do sistema é de 12 V.

b) Corrente de Curto Circuito do Arranjo Fotovoltaico: o painel escolhido tem uma corrente de curto circuito de 9,12 A.

Logo, o controlador de carga deve ser de 12 V, mas a corrente deve-se considerar um fator de segurança entre 10 e 25%, então, a corrente do mesmo deve ser de 11,4 A.

O controlador de carga escolhido, foi da fabricante Micro C, modelo MPPT 30. Foi escolhido um controlador de carga do tipo MPPT, pois era necessário a máxima potência do sistema. No controlador de tipo MPPT quem determina a tensão de operação do arranjo fotovoltaico é a tensão das baterias. Este controlador de carga satisfaz a condição do sistema projetado que é de operar em 12 V.

Este controlador de carga possui uma tela de LCD, na qual é possível visualizar a corrente do arranjo fotovoltaico, tensão do arranjo, tensão do banco de bateria, tensão e corrente da carga. Podendo configurar manualmente a tensão de operação do sistema.

As características deste controlador de carga MPPT 30 fornecida pelo fabricante são dadas por: tensão de operação 12 V / 24 V, corrente máxima de 30 A, potência máxima para 12 V de 380 W, potência máxima para 24 V de 760 W.

2.5 BATERIA

Baterias são unidades de vasos eletroquímicos, conectados em disposições série e/ou paralelo, capazes de armazenar energia elétrica por processos eletroquímicos em seu interior. As baterias são fabricadas em tensões padronizadas de 12, 24, 36, 48 e até 60 V. Podem ser do tipo recarregáveis, comumente chamadas de baterias de armazenamento ou não recarregáveis, utilizadas em calculadoras e outros aparelhos portáteis de baixa potência.

O banco de baterias é um elemento fundamental em sistemas fotovoltaicos isolados, pois garantirão o funcionamento das cargas para períodos onde não há geração de energia por meio dos módulos solares. Estes períodos sem geração são os períodos noturnos, porém em dias nublados ou chuvosos, com baixa irradiância solar, o banco de baterias deve suprir a demanda da carga.

As baterias de sistemas isolados apresentam outras funções como estabilizar a tensão, haja vista a grande variação de leituras que os módulos atuam em seu processo de geração de acordo com irradiância solar. Neste contexto, as baterias têm por utilidade suprir, com uma faixa de tensão mais estreita e uniforme, as cargas.

Outra função do banco de baterias é o fornecimento de correntes elevadas para suprir a demanda de potência das cargas. Como citado anteriormente, por apresentarem uma faixa uniforme do fornecimento de tensão, normalmente entre 12 V e 24 V, as baterias operam como um *buffer*, fornecendo correntes de partidas elevadas.

Dos vários tipos de acumuladores eletroquímicos, a bateria de Chumbo-ácido (Pb-ácido), tem seu destaque acentuado, devido principalmente a preço de aquisição.

O grande problema das baterias é a sua vida útil, ou seja, entre 2 e 6 anos, para baterias estacionárias, e de 2 anos para baterias automotivas. Esta é uma característica intrínseca ao seu uso, haja vista as perdas no processo de conversão de energia elétrica em energia elétrica e vice-versa.

Para prolongar ao máximo sua vida útil, o projetista deve levar em consideração alguns aspectos, como evitar descargas diárias maiores que 30% de profundidade e instalar o banco de baterias em locais ventilados.

Para o dimensionamento do banco de baterias foi levado em consideração a escolha do inversor, como o inversor é de 12 V em corrente contínua, o banco de baterias deve ser de 12 Volts.

Nos sistemas fotovoltaicos as baterias trabalham com ciclagem diária, ou seja, são descarregadas diariamente. Para profundidade de descarga maior as baterias recomendadas são as estacionárias.

Como o consumo diário é de 1060,77 Wh/dia (CD) e a autonomia é de 0,33 dia (N), sendo essa autonomia calculada em função das horas desejadas de consumo em vista ao total diário disponível, no caso 8 horas dividido por 24 horas, e a tensão nominal da bateria deve ser de 12V (V_i), logo a fórmula para definir a capacidade útil (CU) é dada por:

$$CU = \frac{CD * N}{V_i} \quad (1)$$

Foi encontrado um valor de 30Ah (Ampére-hora), este valor representa uma descarga do banco total, porém como as baterias não podem ser descarregas totalmente, pois ocasionaria o fim da sua vida útil, deve ser calculado uma profundidade de descarga de no máximo 80%. O valor adotado foi de 20% de descarga para garantir maior vida útil do banco de baterias. Dessa forma a capacidade real da bateria será dada pelo quociente de uso da bateria total, ou seja, os 100% dividido por 20%, que representa o novo valor requerido de descarga, totalizando um fator igual a cinco. O cálculo limita-se ao produto deste fator pelo valor encontrado de CU a 100% de descarga, 30Ah, totalizando uma bateria requerente de 150Ah.

Como se trata de um sistema didático, e o valor do frete do produto é o mesmo para baterias comerciais de 150Ah e 220Ah, e para que haja a possibilidade de ampliação do mesmo, foi escolhido uma bateria de 220Ah da Bosch modelo P5 4081.

2.6 INVERSOR

O processo de geração de energia elétrica por meio de células fotovoltaicas é na forma de corrente contínua (c.c.), porém as cargas dos consumidores em sua grande maioria operam em corrente alternada (c.a.), desta maneira se faz necessária a utilização de conversores para transformar tensões da ordem 12 a 48 V em corrente contínua em tensões de 110 V ou 220 V em corrente alternada. Neste contexto, destaca-se a utilização *choppers* e inversores.

Estes conversores têm como fonte de alimentação tensões em corrente contínua, podendo ser proveniente dos módulos fotovoltaicos em sistemas interligados a rede, ou de controladores de carga em sistemas e saída na forma de tensão em corrente alternada. Esta diferença quanto a fonte de alimentação interfere nas características distintas para os dois tipos de sistemas fotovoltaicos, tanto isolado como os conectados à rede.

O dimensionamento do sistema fotovoltaico autônomo, para a bancada didática proposta, foi realizado considerando o aproveitamento máximo do recurso financeiro disponível. Outro ponto levado em consideração foi ao tipo de demanda e a autonomia do sistema. A proposta leva em consideração uma autonomia de 8 horas para uma carga de 120 Watts de potência em corrente alternada.

Como a proposta é de uma carga de 120 Watts, antes de se escolher o inversor é necessário calcular o potencial elétrico que o sistema fotovoltaico deverá fornecer às cargas. Desta maneira, basta que se multiplique a potência da carga para o tempo de uso diário em horas, que no caso é o mesmo tempo que se deseja de autonomia.

$$\text{Consumo diário} = 120 \text{ Watts} * 8 \text{ horas} = 960 \text{ Wh/dia} \quad (2)$$

Essa carga é de uso comum e funciona em corrente alternada em 220 V. Portanto o inversor escolhido deve ser capaz de fornecer em sua saída 220 V. A potência que o inversor deverá trabalhar será de 120 W, como os conversores de corrente, tem sua máxima eficiência ao trabalho na faixa entre 50% e 70% da sua capacidade máxima, deve ser previsto uma potência superior do inversor na faixa citada.

O inversor autônomo escolhido foi do fabricante Knup, modelo KP-507A, com as seguintes características fornecida pelo fabricante: máxima potência contínua de 300 W, potência de surto/pico de 500 W, tensão de saída CA de 220 V, tensão de entrada CC de 12 V, eficiência máxima de 90,50% e o formato de onda de saída é onda senoidal modificada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados dados de corrente e tensão da entrada do controlador de carga. Para realizar a coleta dos dados de tensão, foi necessário um sensor de tensão, que é baseado no princípio de divisor de tensão resistivo, o qual recebe uma tensão de entrada da ordem de 12 V a 18 V e a rebaixa para uma tensão de saída inferior na faixa entre 0 V a 5 V. O micro controlador recebe esse sinal e realiza uma conversão para o valor real de tensão, esse valor será armazenado em um cartão de memória integrado ao micro controlador.

Em relação a corrente na entrada do controlador de carga, o sensor utilizado foi por meio de um Efeito Hall modelo LEM 1:1000, o sinal analógico é enviado para o micro controlador, convertido em valor real da corrente da entrada no controlador de carga e armazenado.

Os valores coletados de tensão e de corrente (Figura 4), foram em momento de pleno sol, durante uma hora.

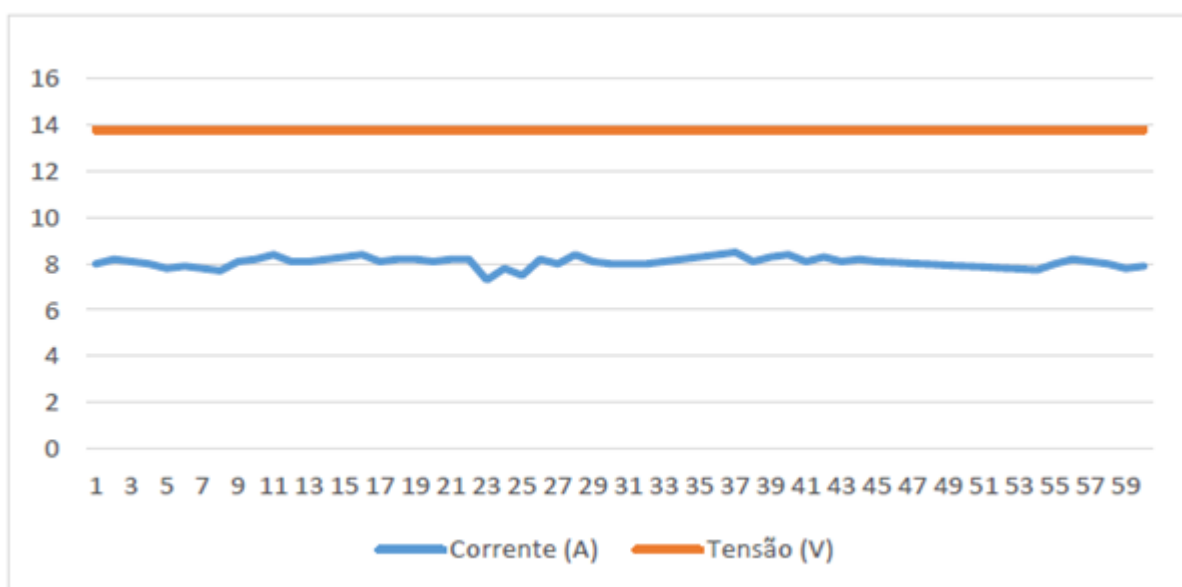


Figura 4: Gráfico de tensão e corrente de entrada no controlador de carga em função do tempo.

Na figura 5, a tensão está abaixo da tensão nominal do painel, pois o controlador de carga rebaixa a tensão a nível operacional do banco de baterias. Entretanto, analisando o valor de tensão de 14 V e de corrente aproximadamente 8,5 A, o nível de potência gerada pelo painel fotovoltaico é de 120 W.

Na saída do inversor é colocado um osciloscópio para verificar os sinais de tensão e de corrente na carga, para medir a corrente de saída é usado um derivador de corrente (*shunt*), é uma resistência elétrica de baixo valor ôhmico que ao passar uma corrente elétrica pela resistência, cria-se uma diferença de potencial geralmente normalizada.

Estas formas de onda estão expostas na figura 5, onde a onda de tensão de saída do inversor é uma onda quadrada, pelo fato de ser um inversor de onda senoidal modificada. A onda de corrente foi captada através de um resistor *shunt* de 1 Ω /10 W.

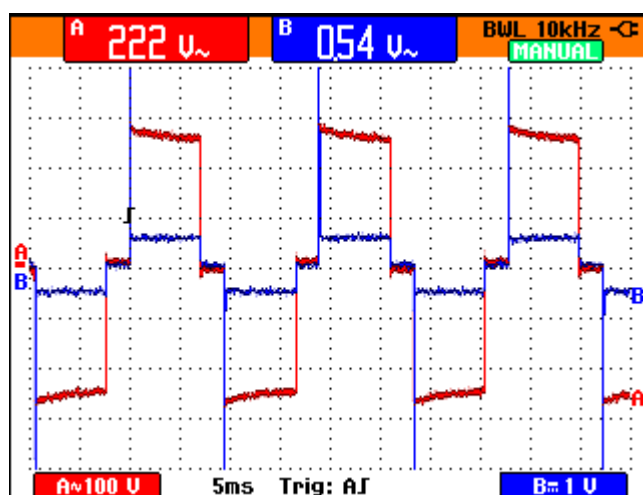


Figura 5. Formas de ondas de tensão e corrente na saída do inversor.

Dessas formas de onda captada pelo osciloscópio mostram que a tensão de saída é de 222 Vrms e a onda de corrente é de 0,54 Arms. Realizando o produto desses valores encontramos um valor aproximado de 120 W.

4. CONCLUSÃO

O sistema fotovoltaico isolado é uma ótima saída para localidades isoladas, onde a energia elétrica não existe ou para regiões que apresentam baixo índice de qualidade com interrupções no seu fornecimento.

Este sistema necessita de certo grau de investimento financeiro, ficando a cargo do projetista o seu dimensionamento de forma a garantir o seu retorno de forma eficiente.

Com a implementação de um sistema fotovoltaico isolado real, suas particularidades de instalação tornam-se empecilhos para leitura de seus dados, como a geração, taxa de descarga dos acumuladores, e formas de onda de inversores. Neste contexto, a execução de uma bancada didática resolve essa problemática, proporcionando aos discentes o contato de forma mais acessível a essa tecnologia.

Ainda sobre a facilidade que a bancada didática proporciona, destacam-se o contato direto com um sistema de conversão de energia solar em energia elétrica, buscando o discente do mundo teórico de fontes alternativas para o mundo prático.

Salve estas ressalvas, o projeto de dimensionamento e implementação de uma bancada didática para um sistema fotovoltaico isolado no Instituto Federal de Goiás – Campus Jataí proporcionará aos professores e continuidade de pesquisa sobre a geração de energia elétrica a partir de painéis solares fotovoltaicos.

5. REFERÊNCIAS

ABNT, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR-10899 - Energia solar fotovoltaica – Terminologia**. 2013.

CENTRO DE PESQUISA DE ENERGIA ELÉTRICA. **Centro de Referência para Energia Solar e Eólica**. Disponível em: <[http:// www.cresesb.cepel.br](http://www.cresesb.cepel.br)>. Acessado em 18/06/2016.

BRASIL. MME, MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Balanco Energético Nacional**. MME: Brasília, 2015.

PINHO, J. T.; GALDINO, M. A. **Manual de Engenharia para Sistemas Fotovoltaicos**. ed. **revisada e atualizada**. Rio de Janeiro. 2014.

PORTAL DO SOL. **Energia Fotovoltaica**. Disponível em: <<http://www.portaldosol.com.br>>. Acessado em 02/05/2016.

GEOEPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER EM RONDÔNIA, AMAZÔNIA OCIDENTAL

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves¹, Allan Kardec Duailibe Barros Filho¹, Fabrício Moraes de Almeida² e Lenita Rodrigues Moreira Dantas³

1. Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil;
2. Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia (AICSA), Porto Velho, Rondônia, Brasil.

RESUMO

Objetivo: analisar o perfil geopidemiológico dos 10 (dez) tipos de câncer mais frequentes em homens e mulheres atendidos em 2 (dois) hospitais de referência para tratamento oncológico no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental (Brasil), durante um período de 2 (dois) anos. **Materiais e Método:** trata-se de um estudo epidemiológico, descritivo, transversal e quantitativo, com sistematização de dados primários e de acordo com o modelo metodológico recomendado por Paraguassu-Chaves et al. (2015a; 2017). **Resultados:** os 10 tipos de câncer mais comuns em homens foram: próstata, pele não melanoma, estômago, brônquios e pulmões, cólon, leucemias, esôfago, sistema nervoso central, reto e bexiga e, nas mulheres, os mais comuns são, mama, colo do útero, pele não melanoma, glândula tireóide, estômago, cólon, ovário, brônquios e pulmões, reto e fígado. A faixa de idade, a baixa escolaridade, o tabagismo e o alcoolismo e história familiar de câncer são fatores de risco. O diagnóstico tardio e estágio clínico avançado da doença são determinantes para o quadro de câncer que se apresenta em Rondônia e que leva aos óbitos por câncer. **Conclusões:** os resultados apresentados estão de acordo com os dados da maioria dos estudos realizados por Paraguassu-Chaves et al. (2020a; 2017; 2015a) e Paraguassu-Chaves (2016). O câncer em Rondônia como no Brasil aumenta de forma exponencial. O cenário de projeção do câncer em homens e mulheres em Rondônia é preocupante e requer um (re)direcionamento urgente de planejamento das ações e estratégias de prevenção, controle, assistência e tratamento do câncer.

Palavras-chave: Câncer, Geopidemiologia e Rondônia.

ABSTRACT

Objective: to analyze the geopidemiological profile of the 10 (ten) most common types of cancer in men and women treated at 2 (two) referral hospitals for cancer treatment in the State of Rondônia, Western Amazon (Brazil), during a period of 2 (two) years. **Materials and Methods:** this is an epidemiological, descriptive, transversal and quantitative study, with systematization of primary data and according to the methodological model recommended by Paraguassu-Chaves et al. (2015a; 2017). **Results:** the 10 most common types of cancer in

men were: prostate, non-melanoma skin, stomach, bronchi and lungs, colon, leukemia, esophagus, central nervous system, rectum and bladder and, in women, breast, cervix, skin not melanoma, thyroid gland, stomach, colon, ovary, bronchi and lungs, rectum and liver. The age range, low education, smoking and alcoholism and family history of cancer are risk factors. The late diagnosis and advanced clinical stage of the disease are decisive for the cancer that appears in Rondônia and which leads to cancer deaths. Conclusions: the results presented are in accordance with data from most studies carried out by Paraguassú-Chaves et al. (2020a; 2017; 2015a) and Paraguassú-Chaves (2016). Cancer in Rondônia as in Brazil increases exponentially. The scenario of cancer projection in men and women in Rondônia is worrying and requires an urgent (re) direction in planning actions and strategies for the prevention, control, assistance and treatment of cancer.

Keywords: Cancer, Geoepidemiology and Rondônia.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo e já está entre as quatro principais causas de morte prematura na maioria dos países. Isso significa que o câncer é responsável pela quarta causa de morte na população com menos de 70 anos. A incidência e a mortalidade por câncer aumentaram em todo o mundo. Uma explicação para o aumento significativo na incidência de câncer está no aumento da exposição aos fatores de risco do câncer (INCA, 2019a). Atualmente, há uma transição dos principais tipos de câncer observados nos países em desenvolvimento, com diminuição dos tipos de câncer associados às infecções e aumento daqueles associados à melhoria das condições socioeconômicas com a incorporação de hábitos e atitudes associados à urbanização (sedentarismo, alimentação inadequada, entre outros) (BRAY et al., 2019).

A estimativa global mais recente apontou que 18 milhões de novos casos de câncer ocorreram no mundo (17 milhões sem contar os casos de câncer de pele não melanoma) e 9,6 milhões de mortes (9,5 milhões excluindo câncer de pele não melanoma) (INCA, 2019a). De acordo com Bray et al. (2019), o câncer de pulmão é o mais incidente no mundo (2,1 milhões), seguido pelo câncer de mama (2,1 milhões), câncer retal e de cólon (1,8 milhões) e próstata (1,3 milhão). A incidência nos homens (9,5 milhões) representa 53% dos casos novos, um pouco maior que nas mulheres, com 8,6 milhões (47%) dos casos novos. Mundialmente, os tipos de câncer mais comuns em homens foram câncer de pulmão (14,5%), câncer de próstata (13,5%), cólon e reto (10,9%), estômago (7,2%) e fígado (6,3%). Nas mulheres, as maiores incidências foram câncer de mama (24,2%), cólon e reto (9,5%), pulmão (8,4%) e colo do útero (6,6%).

Segundo estimativa do INCA (2019a) para cada ano do período 2020-2022, ocorrerão 625 mil novos casos de câncer no Brasil. O câncer de pele não melanoma será o mais incidente (177 mil), seguido pelo câncer de mama e próstata (66 mil cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e estômago (21 mil). Os tipos de câncer mais comuns em homens, com exceção do câncer de pele não melanoma, são próstata (29,2%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%). Os tipos de câncer mais comuns em mulheres, exceto o câncer de pele não melanoma, serão de mama (29,7%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,4%), pulmão (5,6%) e glândula tireóide (5,4%). As taxas de incidência ajustadas por idade, com exceção do câncer de pele não melanoma, em mulheres (145,00 / 100 mil) são consideradas intermediárias e compatíveis com as apresentadas para países em desenvolvimento.

Na região Norte do Brasil as taxas de incidência por 100 mil habitantes e o número de novos casos de câncer em homens são estimados para 2020, de acordo com a principal localização da neoplasia (exceto câncer de pele não melanoma), na seguinte ordem decrescente: próstata 2.770 novos casos (28,7), estômago 1.110 (11,5), traqueia, brônquios e pulmões 870 (9,0), cólon e reto 490 (5,1), leucemia 410 (4,2), cavidade oral 340 (3,5), sistema nervoso central 300 (3,1), esôfago 250 (2,6), laringe 240 (2,5) e linfoma não Hodgkin 210 novos casos (2,2) (INCA, 2019a).

O INCA estimou para o Estado de Rondônia, para o ano de 2020, as taxas de incidência por 100 mil habitantes e o número de casos novos de câncer em homens (exceto câncer de pele não melanoma), de acordo com a localização primária do malignidade, os seguintes cânceres: próstata 310 casos novos (32,40), traqueia, brônquios e pulmões 110 (11,85), estômago 80 (8,90), cólon e reto 60 (6,36), cavidade oral 50 (5,71), leucemia 40 (4,61), esôfago 40 novos casos (4,52), sistema nervoso central 40 novos casos (4,26), laringe 30 (3,28), bexiga 30 (2,86) e linfoma não Hodgkin 20 novos casos (2,46). As estimativas para as mulheres segundo a localização da neoplasia são: câncer de mama com 220 novos casos, colo do útero (130), traqueia, brônquios e pulmões (70), cólon e reto (70), estômago (40), câncer de ovário (30), glândula tireóide (30) e câncer de pele com melanoma com 20 novos casos (INCA, 2019a).

Estudos epidemiológicos, sociodemográficos e clínicos sobre o câncer em Rondônia e na Amazônia brasileira ainda são escassos. Poucas referências são conhecidas para esse conjunto de doenças que se apresenta em um cenário de agravo à saúde pública para a população residente nesta Região do Brasil (PARAGUASSU-CHAVES et al., 2020a). Embora com escassas referências de literatura, existe o reconhecimento do esforço para

compreender a produção social e distribuição territorial e espacial do câncer em Rondônia, Amazônia brasileira. Dentre estes trabalhos estão as pesquisas “Perfil epidemiológico do câncer em Rondônia: Amazônia brasileira”, de Paraguassú-Chaves et al. (2015a) e “Epidemiologia do câncer em Rondônia”, de Paraguassu-Chaves et al. (2017), onde este autor e seus colaboradores destacaram os pontos-chave para a compreensão do câncer em Rondônia, como a descrição da distribuição e magnitude do câncer na população de Rondônia, a sistematização de dados essenciais para o planejamento, execução e avaliação das ações de promoção, prevenção, controle e tratamento do câncer em Rondônia, bem como para o estabelecimento de prioridades, a aproximação da identificação dos fatores etiológicos na gênese dos cânceres em Rondônia, o fornecimento de uma ferramenta e produto educacional que pode ser usado como material de instrução para fins de ensino ao alcance de todas as pessoas, independentemente do nível de escolaridade ou cultura, e por fim a disponibilidade de dados e informações para subsidiar o desenvolvimento de estudos e pesquisas aplicadas à produção e distribuição de cânceres em Rondônia.

De acordo com Paraguassu-Chaves et al. (2017) o INCA reconhece que a prevenção e o controle do câncer em nosso país, de dimensões continentais e fortes diferenças regionais, por abrigar uma população de comportamentos, crenças e atitudes de forma bastante diversa, atualmente representa grandes desafios saúde pública. A descrição da distribuição dos tipos de câncer mais incidentes, ao longo do tempo, tem sido uma das principais estratégias para o estabelecimento de diretrizes em políticas públicas e, principalmente, para o planejamento de ações de prevenção e controle do câncer.

Diante deste cenário, o objetivo desta pesquisa foi analisar o perfil geopidemiológico dos 10 (dez) tipos de câncer mais frequentes em homens e mulheres atendidos em 2 (dois) hospitais de referência para tratamento oncológico no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental (Brasil), no período equivalente a 2 (dois) anos.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo epidemiológico, descritivo, transversal e quantitativo, com sistematização de dados primários de acordo com o modelo metodológico recomendado por Paraguassu-Chaves et al. (2015a). Os dados foram organizados pelo Núcleo Hospitalar de

Epidemiologia - NHE do maior hospital público de referência do Estado de Rondônia e sistematizados a partir dos dados primários com base nos diagnósticos realizados, por um período de 2 (dois) anos.

2.2 MODELO DE INSTRUMENTO SEMIESTRUTURADO

Foi utilizado um instrumento desenvolvido por Paraguassu-Chaves et al. (2017), semiestruturado dividido em 2 blocos: Bloco I - Perfil socioedemográfico com as seguintes variáveis: faixa etária durante o diagnóstico de câncer, etnia / cor da pele, grau de escolaridade, tabagismo, alcoolismo e história familiar de câncer; Bloco II – Perfil clínico e epidemiológico com as seguintes variáveis: distribuição dos principais tipos de câncer por localização do tumor primário, clínica de entrada por diagnóstico e tratamento prévios, primeiro tratamento recebido, estágio clínico, exames realizados e número de tumores primário e óbitos por câncer.

Esses dados foram inseridos em plataformas estatísticas, revisados, classificados e interpretados segundo os métodos descritivos e analíticos, utilizando a distribuição de frequência relativa (Fr%), segundo instrumento desenvolvido por Paraguassú-Chaves et al. (2015a).

2.3 AMOSTRA

A pesquisa foi realizada com o banco de dados de 1.163 pacientes do sexo masculino com diagnóstico de câncer em Rondônia, correspondente ao período de 2 anos, correspondendo aos 10 (dez) principais tipos de câncer diagnosticados pela localização do tumor primário (74.9%) do universo total de câncer em homens diagnosticados no período. Em relação as mulheres, a pesquisa foi realizada com banco de dados de 1.837 pacientes do sexo feminino diagnosticadas com câncer, correspondendo aos 10 (dez) principais tipos de câncer diagnosticados pela localização do tumor primário (50%) do universo total de câncer em mulheres diagnosticadas no período.

2.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos todos os prontuários completos com dados ou mais de 80% das variáveis. Foram excluídos os prontuários e protocolos sem informação ou dados que não

se aplicam (descartados) por inconsistência ou registros incompletos. Os cânceres do sistema hematopoiético e rediculoendotelial foram excluídos devido à sua extrema frequência em crianças e adolescentes.

2.5 ASPECTOS ÉTICOS

O coordenador da pesquisa solicitou ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, pois o estudo não exigia intervenção do paciente ou coleta de material biológico e não havia possibilidade de constrangimento para o paciente e sua família. A pesquisa trabalha com dados primários de fonte oficial do serviço público de saúde de Rondônia. Não há conflito de interesse.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo permitiu conhecer o perfil sociodemográfico, clínico e epidemiológico (geoepidemiológico) de homens e mulheres com diagnóstico dos principais tipos de câncer no Estado de Rondônia, Amazônia Ocidental (Brasil). De um total de 1.552 casos novos de câncer diagnosticados em homens no período do estudo, 1.163 (74,9%) correspondem aos 10 (dez) principais tipos de câncer diagnosticados pela localização do tumor primário em homens. Nas mulheres foi utilizado o banco de dados de 1.837 (50%) de mulheres diagnosticadas com câncer, correspondendo aos 10 (dez) principais tipos de câncer em mulheres diagnosticados no período, de um universo amostral de 3.674 casos novos de câncer em mulheres. A frequência de câncer encontrada na população estudada é muito próxima à encontrada por Paraguassu-Chaves et al. (2020a; 2020b; 2015a; 2015b; 2017) e Paraguassu-Chaves (2016), também no Estado de Rondônia.

3.1 PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO DE HOMENS E MULHERES COM CÂNCER EM RONDÔNIA

Em Rondônia, a faixa etária de 50 a 79 anos atinge 76,4% dos 10 principais tipos de câncer em homens, com respectivamente 20,4% (50-59 anos), 26% (60-69 anos) e 30% (70-79 anos). O câncer de próstata tem alta frequência a partir dos 50 anos. O câncer de pele

não melanoma com 37% (70-79 anos), câncer de estômago a partir dos 40 anos, o câncer de brônquios e pulmões é mais prevalente com 45,8% (60-69 anos), o câncer de cólon 23,1% (50-59 anos), o câncer de esôfago com 40,9% (50-59 anos), o câncer retal com 30% (60-69 anos), o câncer de bexiga com 27,3% (50-59 anos) e a mesma frequência relativa (70-79 anos). A idade ainda é um dos fatores de risco mais importantes para o câncer em homens, segundo a literatura nacional e internacional. No estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2015a), houve predominância no perfil de pacientes do sexo masculino com idade entre 55 e 74 anos (54,5%). Em outro estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2020a), houve predomínio do câncer em homens, com idades entre 55 e 59 anos (14,6%), 60 a 64 anos (14%), 65 a 69 anos (12,2%), 70 a 74 anos (12%) e estende-se até 75 a 79 anos (11,3%).

A idade ainda é um dos fatores de risco mais importantes para o câncer em mulheres. As taxas de incidência aumentaram rapidamente após os 40 anos. Em Rondônia, a faixa etária de câncer na faixa de 40 a 59 anos atinge 48,8% dos 10 principais tipos de câncer em mulheres. Dentre as 10 principais neoplasias femininas por idade em Rondônia, o câncer de mama tem as maiores frequências entre 30 e 79 anos, distribuídas nas frequências relativas de 21,6% (30-39 anos), 49,2% (40-49 anos), 37% (50-59 anos), 32,2% (60 a 69 anos) e 21,1% (70-79 anos). O câncer do colo do útero tem alta frequência em mulheres menores de 29 anos (52,3%), na faixa etária entre 30 e 39 anos (41,8%) e na faixa etária de 70 a 79 anos (22,8%). O câncer de pele não melanoma aumenta a frequência em mulheres de 60 a 69 anos (20,5%) e acima de 80 anos (47,8%), enquanto o câncer de estômago aumenta na idade de 70 a 79 (17,5%) e o câncer de fígado aumenta na faixa etária acima de 80 anos (21,7%). Em pesquisa sobre câncer no Estado de Rondônia, Paraguassu-Chaves et al. (2017) encontraram em mulheres com câncer, a frequência relativa na faixa etária de 45 a 59 anos (35,7%) na primeira fase da pesquisa e 45,8 % na faixa etária de 45 a 64 anos na segunda fase (segundo ano). Mascarello et al. (2012), Ribeiro et al. (2015); INCA (2014), confirmam a evidencia da faixa etária encontrada nesta pesquisa. Um estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2015b) encontrou resultados semelhantes, independentemente do tipo de câncer. De acordo com INCA (2019a; 2009; 2019b), Paraguassu-Chaves et al. (2020a; 2015a; 2015b; 2017) e Paraguassu-Chaves (2016) a idade se confirma com o fator de risco para a maioria dos cânceres estudados neste trabalho.

Os cânceres diagnosticados em homens pardos (64,6%) e brancos (28%) são mais frequentes do que em outras etnias. Dos 10 principais tipos de câncer, os homens pardos predominaram em todos os tipos na seguinte ordem decrescente: esôfago (77,3%), cólon (69,2%), estômago (67,9%), brônquios e pulmões (66,6%), pele não melanoma (66%), reto

(65%) e próstata (63,3%). A única exceção foi o câncer de bexiga, que predominou em pacientes brancos. Essa distribuição proporcional por etnia / cor da pele é semelhante às encontradas por Paraguassu-Chaves et al. (2020b; 2020a; 2017; 2015a; 2015b). Em praticamente todos os tipos de câncer, houve predomínio de pacientes pardos, justificado pelo fato de Rondônia abrigar a maioria da população dessa etnia (PARAGUASSU-CHAVES, 2015b). Para Nakandi et al. (2013), a cor da pele é relevante na etiologia do câncer de próstata. Os cânceres diagnosticados em mulheres pardas (64,2%) e brancas (30,9%) são mais frequentes. Nas mulheres pardas predominam o câncer de mama (36,8%), colo do útero (20,1%) e pele não melanoma (12,7%), e nas mulheres brancas, o câncer de mama (39,4%), colo do útero (15,9%). Mulheres negras foram mais frequentes nos cânceres de mama (44,4%), colo do útero (27,8%) e de cólon (11,1%). Nas mulheres indígenas as maiores frequências foram cânceres de mama, estômago, reto e fígado. Os estudos de Beleza et al. (2014) corroboram esses achados. Paraguassú-Chaves et al. (2020a) ao estudar a distribuição do câncer na função da pele encontraram a cor parda com maior frequência relativa (46,9%) do universo total estudado, seguida pela cor branca (21,6%). Na pesquisa de Paraguassú-Chaves et al. (2017) predominou a cor parda (68,5%) e branca (21,4%). Araújo et al. (2009) recomendam a variável raça / cor para ser usada como marcador demográfico das desigualdades em saúde como grupos sociais expostos. É, portanto, uma variável que deve ser utilizada como marcador social mais relacionado aos fatores aos quais essas mulheres estão expostas.

A escolaridade dos homens com diagnóstico de câncer é de 18,3% analfabetos, 43,6% com ensino fundamental incompleto, 18,5% com ensino fundamental completo, 15,6% com ensino médio e 4% com ensino superior completo. A frequência de câncer em homens com menor escolaridade é muito maior do que os casos diagnosticados em homens com maior escolaridade. O câncer de próstata concentra sua maior incidência em pacientes com baixa escolaridade (76,5%), o nível de escolaridade está associado ao fator de risco para câncer de estômago e com o câncer de pele não melanoma (79,8%) dos pacientes com baixa escolaridade. Os pacientes com câncer de estômago são 26,8% analfabetos, 32,1% possuem ensino fundamental incompleto, pacientes com câncer brônquicos e de pulmões, 91,6% eram pacientes com escolaridade até o ensino fundamental completo, pacientes com câncer de cólon (88,6%) com escolaridade até o ensino fundamental completo, câncer de esôfago com 86,4% até o ensino fundamental completo, câncer retal com 60% dos pacientes com ensino fundamental e câncer de bexiga com 81,8% dos pacientes com ensino fundamental completo. Alicandro et al. (2017) e Reques et al. (2014) confirmam esses

escores. Esses achados são corroborados por Paraguassu-Chaves et al. (2020b; 2020a; 2017; 2015a; 2015b).

A escolaridade das mulheres com diagnóstico de câncer é baixa, o que representa pessoas com baixa escolaridade. Porém, o câncer de mama teve participação independente no nível de escolaridade, assim como a alta frequência do câncer de colo do útero também independe do grau de escolaridade. As maiores frequências de câncer de pele não melanoma foram diagnosticadas em mulheres com baixa escolaridade, enquanto o câncer de cólon é mais frequente em mulheres com ensino fundamental completo e ensino superior completo. Estudos de Mascarello et al. (2012) e de Paraguassú-Chaves et al. (2017) confirmam os achados da pesquisa. Segundo Leite et al. (2010) e Ramos et al. (2006), mulheres com baixa escolaridade têm maior risco de desenvolver câncer de colo uterino e, segundo Peres; Santos (2007), quanto menor a escolaridade, maior o risco diagnóstico estágio avançado desses tumores. Amorim et al. (2011), demonstram que a baixa escolaridade dificulta a captação de informações sobre a prevenção e detecção precoce de doenças, além de dificultar o acesso aos serviços de saúde. Os resultados desta pesquisa também estão próximos aos encontrados por Schneider; d'Orsi (2009); Dugno et al. (2014).

Os homens que declararam fumantes foi de 22,8% e ex-fumantes 20,9%. A soma de fumantes e ex-fumantes atinge uma frequência relativa de 43,7% dos homens com câncer em Rondônia. A soma de fumantes (29,2% e ex-fumantes (45,8%) representa a maior incidência relativa em pacientes com câncer brônquico e de pulmão. O câncer de esôfago tem frequência relativa (fumantes 45,4% e ex-fumantes 27,3%). Os principais tipos de câncer em homens estão diretamente relacionados ao tabagismo, assim distribuídos: câncer brônquios e de pulmões (29,2% fumantes e 45,8% ex-fumantes); câncer de esôfago (45,4% fumantes e 27,3% ex-fumantes); câncer de estômago (23,2% fumantes e 19,6% ex-fumantes); câncer de cólon (23,1% fumantes e 19,2% ex-fumantes); câncer de bexiga (18,2% fumantes e 22,7% ex-fumantes); câncer retal (20% fumantes e 10% ex-fumantes); câncer de pele não melanoma (9,2% fumantes e 17,4% ex-fumantes); e câncer de próstata (14,5% fumantes e 5,4% ex-fumantes). Maule e Merletti (2012), Stewart e Wild (2014); Wang et al. (2014), INCA (2019b; 2019); Bray et al. (2019); Domper Arnal et al. (2015); Thun et al. (2017) fazem relação do tabagismo como principal fator de risco para os cânceres estudados nesta pesquisa. O tabagismo como fator de risco para alguns tipos de câncer foi identificado na Amazônia. Os estudos de Paraguassu-Chaves et al. (2020b; 2020a; 2017; 2015a; 2015b) já mostraram o tabagismo como fator direto para as principais neoplasias em homens em Rondônia.

Dos homens com diagnóstico de câncer, 19,5% consomem bebidas alcoólicas e 17,2% são ex-consumidores. A frequência de homens que nunca consumiram bebida alcoólica é de 63,3%. Homens com diagnóstico de câncer que consomem bebidas alcoólicas estão distribuídos na seguinte ordem decrescente: câncer de esôfago (36,4%), câncer de brônquios e pulmões (25%), câncer de estômago (24,6%), câncer de cólon (23,1%), próstata (14,5%), bexiga (13,6%), câncer retal (10%) e câncer de pele não melanoma (9,2%).

Os estudos de Paraguassu-Chaves et al. (2020b; 2020a; 2017; 2015a; (2015b) corroboram esses achados. Autores como Stewart; Wild (2014); Wang et al. (2014); INCA (2019a); Paraguassu-Chaves (2020a); Bray et al. (2019); Domper Arnal (2015) associam o consumo de bebidas alcoólicas como fator de risco para o desenvolvimento de câncer em homens.

A frequência relativa de mulheres que declararam fumantes foi de 89,3% e 10,7% ex-fumantes. As mulheres que declaram fumantes (35%) diagnosticadas com câncer de mama e 20% das fumantes com câncer do colo do útero, 34% das mulheres com câncer de mama e 16,4% com câncer do colo do útero são ex-fumantes. Aproximadamente 35% das mulheres com câncer de cólon e 11,5% com câncer de pulmão são ex-fumantes. Os de Haddad, Carvalho e Novaes (2014) e de Dugno et al. (2014), são referências para uma interpretação aos achados nesta pesquisa. No estudo de Souza et al. (2017) 29% das mulheres com câncer eram fumantes.

Esta pesquisa considerou a distribuição das 10 principais neoplasias em mulheres devido ao alcoolismo. A frequência de mulheres que nunca consumiram bebida alcoólica é de 81,2% e de 10,5% de ex-consumidoras. Houve consumo de álcool, com 36,2% em mulheres com câncer de colo uterino, 25,5% de mama, 14,9% de ovário e 10,6% de estômago. Souza et al. (2017) em estudo sobre câncer de mama em mulheres jovens encontrou 57% das mulheres com câncer consumiam álcool. No estudo de Haddad, Carvalho e Novaes (2014) o consumo de álcool, foi declarado por 37,3% das mulheres contra 62,7% que não faziam uso de álcool. Em contraste, Iwasaki; Tsugane (2011) apontam que as pessoas que consomem bebidas alcoólicas correm um risco maior de desenvolver câncer de mama. Para Pirhardt; Mêrces (2009), o uso de álcool está associado a um aumento proporcional no desenvolvimento do câncer nas mulheres, ou seja, quanto mais é consumido, maiores são as chances de seu aparecimento.

Foram notificados pelo Sistema Único de Saúde - SUS, 99,8% dos pacientes homens e 99,2% das pacientes mulheres internados no Hospital de Barretos e no Hospital de Base Dr. Ary Pinheiro / RO. No estudo de Soares et al. (2012) 68,1% dos pacientes com câncer

vêm do Sistema Único de Saúde. O estudo de Mascarello et al. (2012) constatou que 84,2% dos pacientes com câncer são encaminhados pelo Sistema Único de Saúde (SUS). A Política Nacional de Prevenção e Controle do Câncer garante atendimento integral a qualquer paciente com câncer, por meio das Unidades de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON) e dos Centros de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia (CACON), o que leva à procura de atendimento pelo SUS. Essa situação exige que os gestores do Sistema Único de Saúde (SUS) façam um imenso esforço para oferecer um atendimento adequado à população. Essa perspectiva deixa clara a necessidade de grandes investimentos na promoção da saúde, na busca pela modificação dos padrões de exposição aos fatores de risco para o câncer.

Em relação ao histórico familiar de câncer, 45,6% dos homens com câncer em Rondônia possuem histórico familiar de câncer. A maior evidência de câncer com história familiar foi encontrada no câncer de esôfago com 63,7% e no reto com 50%. Todos os 10 principais tipos de câncer em homens estão relacionados à história familiar de câncer, na seguinte ordem: câncer de esôfago (63,2%), câncer retal (50%), câncer de estômago (48,2%), câncer de cólon (46,2%), câncer de brônquios e pulmões (45,8%), câncer de bexiga (45,5%), câncer de pele não melanona (34%) e câncer de próstata (31,9%). Esses achados são corroborados por Paraguassu-Chaves et al. (2020b; 2020a; 2017; 2015a; 2015b). A American Cancer Society (2019) reconhece a história familiar e os fatores genéticos hereditários como um fator de risco para o câncer de próstata. Para a American Cancer Society, uma história familiar de câncer de pele é um importante fator de risco para câncer de pele não melanoma. De acordo com Stewart; Wild (2014), o histórico familiar de câncer contribui menos para o câncer de estômago (2%). De acordo com Boyle; Leon (2002); Sandler (1996), o câncer de cólon e reto é uma doença multifatorial e é influenciada por fatores genéticos. A história familiar foi vista como um fator de risco para leucemia (INCA, 2019a). O INCA (2019b) atribui a predisposição genética como fator de risco para câncer de esôfago. Portanto, a história familiar de câncer é um dos fatores de risco para a maioria das neoplasias deste estudo. Aproximadamente 24% das mulheres com câncer têm história familiar de câncer. 30% das mulheres com câncer de mama têm histórico familiar de câncer. No caso do câncer cervical, essa proporção relativa é de 18%. O estudos de Soares et al. (2012), Hoskins et al. (1995), Pinho; Coutinho (2005); Pharoad; Day e Duffy et al. (1997), Maiser et al. (2000) e de Souza et al. (2017), confirmam a relação da história familiar de casos de câncer na família. Segundo o INCA (2014); INCA (2016), o histórico familiar aumenta o risco de desenvolver câncer de mama em 2 a 3 vezes. Outros estudos

importantes como o Haddad, Carvalho e Novaes (2014), Nelson, Zakher e Cantor et al. (2012), Hoskins et al. (1995); Molina (2006) afirmam que, em mulheres com história familiar de câncer existe um risco maior para o desenvolvimento do câncer.

3.2 PERFIL CLÍNICO E EPIDEMIOLÓGICO DE HOMENS E MULHERES COM CÂNCER EM RONDÔNIA

Da distribuição proporcional dos cânceres mais frequentes em homens no período de dois anos relatados no hospital de Barretos (Unidade Porto Velho) e no hospital base Dr. Ary Pinheiro, o câncer de próstata tem a maior frequência (30,9%), seguido por câncer de pele não melanoma (22,9%) e câncer de estômago (11,7%). A distribuição proporcional dos 10 (dez) tipos de câncer mais comuns em homens foi: próstata (30,9%), pele não melanoma (22,9%), estômago (11,7%), brônquios e pulmões (6,7%), cólon (5,8%), leucemias (5,8%), esôfago (4,4%), sistema nervoso central (4,2%), reto (3,9%) e bexiga (3,6%). Seguindo a tendência no Brasil, o câncer de mama é o que apresenta o maior número de casos novos registrados no Estado de Rondônia no período estudado. O câncer de mama é mais frequente com 33,5% dos casos novos, seguido pelo câncer de colo do útero com 22,6% dos casos e o câncer de pele não melanoma com 16,5% dos casos. O câncer da glândula tireóide (6,7%), estômago (5,6%), cólon (4,1%), ovário (3,8%), brônquios e pulmões (3,3%), reto (1,4%) e fígado (1,2%) completam o quadro das 10 neoplasias mais comuns em mulheres em Rondônia.

Tabela 1. Distribuição proporcional dos 10 (dez) tipos de câncer mais frequentes em homens e mulheres por localização do tumor primário.

| Localização do tumor primário em homens | Fr% | Localização do tumor primário em mulheres | Fr% |
|--|--------------|--|--------------|
| Próstata | 30.9 | Mama | 33.5 |
| Pele Não Melanoma | 22.9 | Colo do Útero | 22.6 |
| Estômago | 11.7 | Pele Não Melanoma | 16.5 |
| Brônquios e Pulmões | 6.7 | Glândula Tireóide | 6.7 |
| Cólon | 5.8 | Estômago | 5.6 |
| Leucemias | 5.8 | Cólon | 4.1 |
| Esôfago | 4.4 | Ovário | 3.8 |
| Sistema Nervoso Central | 4.2 | Brônquios e Pulmões | 3.3 |
| Reto | 3.9 | Reto | 1.4 |
| Bexiga | 3.6 | Fígado | 1.2 |
| Total | 100.0 | Total | 100.0 |

Fr% Frequência Relativa

Segundo o INCA (2019a), as taxas de incidência de 100 mil habitantes e o número de casos novos de câncer em Rondônia, segundo sexo e localização do tumor, para o ano de 2020, chegarão a 1.530 novos casos de câncer em homens. As 10 maiores frequências em homens serão câncer de pele não melanoma (380 casos novos), próstata (310 casos novos), brônquios e pulmões (110 casos novos), estômago (80 casos novos), cólon e reto (60 novos casos), cavidade oral (50 novos casos), esôfago (40 novos casos), sistema nervoso central (40 novos casos), leucemia (40 novos casos) e laringe (30 novos casos). O estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2015a) encontrou 10 neoplasias mais frequentes em homens na seguinte ordem: câncer de próstata (33%), pele não melanoma (22%), estômago (12%), bexiga (5,2%), brônquios e pulmões (5,2%), cólon (4,8%), reto (4,8%), esôfago (4,5%), fígado e vias biliares intra-hepáticas (4,1%). Na pesquisa de Paraguassu-Chaves et al. (2020b), o câncer de próstata é mais comum em 33,9% dos casos novos, seguido por câncer de pele não melanoma em 22,2% dos casos e câncer de estômago em 11,4% dos casos. Paraguassu-Chaves et al. (2020a) encontraram os seguintes resultados: câncer de próstata (30,9%), câncer de pele não melanoma (22,9%), câncer de estômago (11,7%), brônquico e de pulmão (5,7%), câncer de cólon (5,8%), câncer do sistema reticuloendotelial e hematopoiético (5,8%), câncer de esôfago (4,4%), câncer de cérebro (4,2%), câncer de reto (3,9%) e câncer de bexiga (3,6%). Nos estudos de referência em Rondônia, não há diferença significativa nos tipos de câncer mais comuns em homens. Portanto, os 10 (dez) tipos de câncer mais comuns permanecem quase em sua totalidade e frequência nos últimos anos.

Segundo o INCA (2019a), a estimativa para o ano de 2020 de novos casos de câncer em mulheres em Rondônia segue em ordem decrescente: câncer de mama (220 novos casos), câncer cervical (130 novos casos), brônquios e pulmões (70 novos casos), câncer de cólon e reto (70 novos casos), câncer de estômago (40 novos casos), ovário (30 novos casos) e glândula tireóide (30 novos casos) e melanoma de pele (20 casos novos). Segundo o estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2017), a distribuição proporcional das neoplasias mais frequentes em mulheres nos anos de 2014 e 2015 relatadas nos hospitais de base Dr. Ary Pinheiro e Barretos / RO, teve o câncer de mama como maior incidência no Estado de Rondônia, com 466 casos novos. As dez neoplasias mais comuns em mulheres estavam em ordem decrescente: câncer de mama (466), colo do útero (311), câncer de pele (251), glândula tireóide (111), estômago (77), câncer de cólon (53), brônquios e pulmões (50), ovário (48), corpo uterino (28) e câncer do sistema hematopoiético e reticuloendotelial com 27 casos.

De acordo com diagnóstico e tratamento prévio, 67% dos pacientes foram diagnosticados e sem tratamento prévio, 17,3% com diagnóstico e tratamento prévio e 15,5% sem diagnóstico e sem tratamento prévio. Dos pacientes atendidos no ambulatório de oncologia, 8,2% dos pacientes já foram diagnosticados e receberam tratamento prévio. Porém, 69% dos pacientes já diagnosticados, mas sem tratamento prévio e 12,6% sem diagnóstico e sem tratamento prévio. Dos pacientes que ingressaram nas diversas especialidades clínicas, destaca-se a frequência de pacientes que ingressam no serviço médico-hospitalar sem diagnóstico e sem tratamento prévio. Na clínica de neurologia, 22,9% não tinham diagnóstico e nenhum tratamento prévio, na clínica de hematologia 41,6% sem diagnóstico e sem tratamento prévio, na clínica de urologia 41,6% sem diagnóstico e sem tratamento prévio, na clínica de urologia 14,6% sem diagnóstico e sem tratamento prévio, na clínica gastroenterológica 39,4% sem diagnóstico e sem tratamento prévio e na clínica de cabeça e pescoço 28,9% sem diagnóstico e sem tratamento prévio. Nas demais clínicas de entrada, 25,8% dos pacientes não foram diagnosticados e não realizaram nenhum tratamento prévio.

A clínica de oncologia registrou 94,4% das mulheres que entraram pelas 3 clínicas de entradas principais. O ingresso na clínica de oncologia predominou, de acordo com o diagnóstico e tratamento prévio com a seguinte situação em ordem decrescente: mulheres com diagnóstico e sem tratamento (62,9%), com diagnóstico e com tratamento (25,2%) e sem diagnóstico e sem tratamento (11,9%). O ingresso de mulheres pelas clínicas de ginecologia / obstetrícia e mastologia corresponde a 2,9% e 2,7% dos atendimentos, respectivamente. Da mesma forma, prevaleceu o ingresso de mulheres com diagnóstico e sem tratamento, 62,1% no ambulatório de ginecologia / obstetrícia e 55,6% no ambulatório de mastologia. Segundo Soares et al. (2012), o tempo prolongado entre a suspeita clínica e a confirmação do diagnóstico, o diagnóstico e o tratamento não imediato são fatores que dificultam o tratamento da doença.

Quanto ao 1º tratamento recebido, “Outros procedimentos terapêuticos isolados” teve maior frequência, com 40,1%. A segunda maior frequência foi o procedimento cirúrgico com 20,4%, seguido pela quimioterapia com 7,4% e radioterapia com 1,8% dos primeiros tratamentos recebidos por homens com diagnóstico de câncer. Pacientes que não receberam nenhum tipo de tratamento terapêutico, mesmo após o diagnóstico, chegam a 30,3%. Pacientes que receberam “outros procedimentos terapêuticos isolados” estão em ordem decrescente: câncer de esôfago (45,5%), bexiga (39,2%), pele não melanoma (33%), reto (30%), próstata (28,9%), cólon (26,9%), brônquios e pulmões (20,8%) e estômago

(17,9%). Os pacientes com câncer que receberam tratamento cirúrgico foram: câncer de cólon (30,9%), bexiga (30,4%), pele não melanoma (27,5%), câncer retal (25%), câncer de estômago (21,4%) e câncer de próstata (15,1%). Não receberam tratamento, 45,5% dos pacientes com câncer de esôfago, 39,2% de câncer de bexiga, 33% de câncer de pele não melanoma, 30% de câncer retal, 28,9% de câncer de próstata, 26,9% de câncer de cólon, 20,8% de brônquico e de pulmões e 17,9% câncer de estômago. Estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2020b) mostra que “Outros procedimentos terapêuticos isolados”, prevaleceu com 47,8% do 1º tratamento recebido pelo paciente. A segunda maior frequência foi a cirurgia com 18,2% dos procedimentos. 27,3% dos pacientes, mesmo após o diagnóstico, não receberam tratamento. Esses achados também são corroborados por Paraguassu-Chaves et al. (2020a; 2017; 2015a).

No caso das mulheres, apenas 795 protocolos foram disponibilizados para acesso. Portanto, a análise da distribuição das 10 principais neoplasias em mulheres segundo o tipo de tratamento considerou apenas os protocolos corretamente preenchidos em todos os campos obrigatórios. Entre os tipos de tratamento e procedimentos terapêuticos, “Outros procedimentos terapêuticos utilizados” prevaleceu com prevalência absoluta de 337 casos (42,4%) do 1º tratamento recebido pelo paciente. A segunda maior frequência absoluta é a cirurgia com 127 casos e a incidência relativa de 16%, seguida da quimioterapia com 68 casos (8,6%) dos primeiros tratamentos recebidos por mulheres com diagnóstico de câncer. Devido à inconsistência no preenchimento dos formulários de registro e acompanhamento dos pacientes, 241 (30,3%) dos procedimentos foram descartados ou ignorados.

A distribuição do câncer por estágio clínico, de acordo com diagnóstico e tratamento prévios, está aumentando dos estágios I para o estágio IV, na seguinte proporção: estágio I (6,1%), estágio II (9,2%), estágio III (10,3%) e estágio IV (12,3%), com predomínio nos estágios III e IV. Do total de 316 pacientes com diagnóstico e sem tratamento, 59,2% desconheciam o estágio da doença (estágio desconhecido), 13,6% a doença estava no estágio IV e 11,4% no estágio III. Dos 152 pacientes com diagnóstico e tratamento prévio, 52,6% desconheciam o estágio da doença (estágio desconhecido), 14,5% no estágio IV, 13,8% no estágio III e 11,8% no estágio III. Dos 141 pacientes sem diagnóstico e sem tratamento prévio, 78,7% desconheciam o estágio da doença (estágio desconhecido), 7,1% estavam no estágio IV, 4,2% no estágio III e 5,7% no estágio III.

A distribuição do câncer por estágio clínico em mulheres, de acordo com diagnóstico e tratamento prévio, tem maior prevalência relativa (41%) no grupo "não internado". Os estágios II com 17,5%, III com 16% e IV com 15% representam as frequências afetadas pelo

estadiamento clínico. O estágio I, com apenas 10,5%, representa a menor prevalência relativa. Mulheres com diagnóstico e sem tratamento com 44% na fase I, 46,1% na fase II, 46,6% na fase III, 49,1% na fase IV e 48,1% na fase, prevaleceram em todas as fases.

Os poucos estudos de referência na Amazônia já alertam para a falta de conhecimento sobre o estágio da doença e o diagnóstico do câncer avançado. Os estágios avançados da doença dificultam o tratamento e, conseqüentemente, podem causar um grande número de mortes. Houve predomínio de pacientes (não estágio), ou seja, pacientes sem definição do estágio da doença. Nas categorias diagnósticas dos estágios do câncer estudadas por Paraguassu-Chaves et al. (2020a) em Rondônia, houve predomínio nos estágios III e IV, considerados estágios avançados da doença.

De acordo com os resultados do estudo, 92% dos pacientes tiveram o diagnóstico confirmado pelo exame histológico do tumor primário. Um único tumor primário foi identificado em 100% dos testes. Na distribuição do câncer nas mulheres, de acordo com o número de diagnósticos e tumores primários, 99,2% tiveram o diagnóstico confirmado pelo exame histológico primário. 99,9% tinham um único tumor primário. Evidencia-se a maioria absoluta dos diagnósticos confirmados pelo exame histológico do tumor primário e o diagnosticado como tumor primário único. No estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2020a), 92% dos pacientes tiveram o diagnóstico confirmado pelo exame histológico do tumor primário. Um único tumor primário foi identificado em 99,96% dos testes. Sobre as mulheres, estudo de Paraguassú-Chaves et al. (2017) revelam que 89% dos diagnósticos foram confirmados pelo exame histológico do tumor primário. O estudo mostra 100% de evidência de um único tumor primário. Na segunda fase da pesquisa, um ano depois, 95,1% dos diagnósticos foram confirmados pelo exame histológico do tumor primário e em 100%, foram encontrados tumores primários únicos.

Ao analisar a distribuição dos 10 tipos de câncer mais comuns em homens e a causa de morte por câncer, pode-se identificar que 14,2% dos pacientes diagnosticados morreram em decorrência da doença. As principais vítimas dos óbitos foram homens com câncer de estômago (28,3%), câncer de esôfago (27,3%) e brônquios e pulmões com 16,7%. O câncer de bexiga (13,6%) e o câncer retal (10%) também apresentam uma frequência significativa de óbito. O câncer de cólon com 7,7%, o câncer de próstata com 5,3% e o câncer de pele sem melanoma com 4,5% completam a lista dos tipos de câncer que levam os homens à morte. No estudo de Paraguassu-Chaves et al. (2020b), 9% dos homens com diagnóstico de câncer em Rondônia morreram da doença. As principais vítimas de óbito foram homens com câncer de fígado (28,6%), esôfago (27,3%), estômago (23,2%), brônquios e pulmões

(16,7%), rim (8,3%) e cólon (7,7%). Esses achados são corroborados por Paraguassu-Chaves et al. (2020a; 2017; 2015a).

Foi possível analisar 796 casos de câncer entre os 10 tipos de câncer em mulheres. As dificuldades estão no não cumprimento dos protocolos. Desta amostra, 50 mulheres, ou seja, 6,3% das mulheres com diagnóstico de câncer em Rondônia, morreram em decorrência da doença. As principais vítimas de mortes foram mulheres com câncer de estômago, fígado, brônquios e pulmões, mama e colo do útero. No caso do câncer de mama, Soares et al. (2012), afirmam que enquanto nos países mais desenvolvidos as taxas de mortalidade padronizadas por câncer de mama mostraram uma redução, no Brasil houve um aumento nas taxas de mortalidade por câncer de mama em seu estudo (de 8,57 a 11,18 / 100.000 mulheres). De acordo com Berry; Cronin e Plevritis et al. (2005); Coleman et al. (2008) ao contrário da maioria dos países desenvolvidos, nos últimos anos, o Brasil registrou aumento nas taxas de mortalidade por câncer de mama, principalmente devido ao diagnóstico tardio e ao atraso na implementação do tratamento adequado, uma vez que esta neoplasia é considerada curável se diagnosticada e tratada precocemente. Segundo Parkin et al. (2005), o câncer de colo do útero se apresenta como um importante problema de saúde pública em todo o mundo, principalmente nas regiões menos afetadas, pois apresentam 83% dos coeficientes de incidência total e 86% de mortalidade. Ferlay et al. (2010) em "incidência e mortalidade por câncer em todo o mundo" descrevem que, para todas as neoplasias, o câncer do colo do útero tem um dos maiores potenciais de prevenção e cura, além de bom prognóstico quando diagnosticado precocemente. No entanto, o diagnóstico tardio pode ser o principal responsável pela manutenção das altas taxas de mortalidade. Apesar da tendência de queda observada em todo o mundo, as taxas de mortalidade por câncer entre as mulheres no Brasil ainda são elevadas, principalmente devido ao diagnóstico tardio (GONÇALVES et al, 2014).

4. CONCLUSÃO

De um total de 1.552 casos novos de câncer diagnosticados em homens no período do estudo, 1.163 (74,9%) correspondem aos 10 (dez) principais tipos de câncer diagnosticados pela localização do tumor primário em homens. Nas mulheres foi utilizado o banco de dados de 1.837 (50%) de mulheres diagnosticadas com câncer, correspondendo

aos 10 (dez) principais tipos de câncer em mulheres diagnosticados no período, de um universo amostral de 3.674 casos novos de câncer em mulheres. Este estudo utilizou um banco de dados correspondente a 2 anos de diagnóstico.

A faixa etária de 50 a 79 anos atinge 76,4% dos 10 principais tipos de câncer em homens, com respectivamente 20,4% (50-59 anos), 26% (60-69 anos) e 30% (70-79 anos). A faixa etária de câncer na faixa de 40 a 59 anos atinge 48,8% dos 10 principais tipos de câncer em mulheres. Os cânceres diagnosticados em homens pardos (64,6%) e brancos (28%) são mais frequentes do que em outras etnias. Nas mulheres as maiores frequências relativas também são na etnia parda (64,2%) e branca (30,9%). A escolaridade dos homens com diagnóstico de câncer é baixa (18,3%) analfabetos, (43,6%) com ensino fundamental incompleto, (18,5%) com ensino fundamental completo ou que também ocorre com o nível de escolaridade das mulheres com diagnóstico de câncer. Os homens que declararam fumantes foram de 22,8% e ex-fumantes 20,9%. Dos homens com diagnóstico de câncer, 19,5% consomem bebidas alcoólicas e 17,2% são ex-consumidores. A incidência relativa de mulheres que declararam fumantes foi de 89,3% e 10,7% ex-fumantes. A frequência de mulheres que nunca consumiram bebida alcoólica é de 81,2% e de 10,5% de ex-consumidoras. 99,8% dos pacientes homens e 99,2% das pacientes mulheres foram notificados pelo Sistema Único de Saúde - SUS. Em relação ao histórico familiar de câncer, 45,6% dos homens com câncer em Rondônia possuem histórico familiar de câncer. Aproximadamente 24% das mulheres com câncer têm história familiar de câncer.

A distribuição proporcional dos 10 (dez) tipos de câncer mais comuns em homens foi: próstata (30,9%), pele não melanoma (22,9%), estômago (11,7%), brônquios e pulmão (6,7%), cólon (5,8%), leucemias (5,8%), esôfago (4,4%), sistema nervoso central (4,2%), reto (3,9%) e bexiga (3,6%). Nas mulheres, o câncer de mama é mais frequente com 33,5% dos casos novos, seguido pelo câncer de colo do útero com 22,6% dos casos e o câncer de pele não melanoma com 16,5% dos casos, câncer da glândula tireóide (6,7%), estômago (5,6%), cólon (4,1%), ovário (3,8%), brônquios e pulmões (3,3%), reto (1,4%) e fígado (1,2%). 67% dos pacientes homens foram diagnosticados e sem tratamento prévio e mulheres com diagnóstico e sem tratamento (62,9%). Quanto ao 1º tratamento recebido, "Outros procedimentos terapêuticos isolados" teve maior frequência, com 40,1%. A segunda maior frequência foi o procedimento cirúrgico com 20,4% recebido por homens com diagnóstico de câncer. "Outros procedimentos terapêuticos com 42,4% foi o 1º tratamento recebido pelas mulheres.

Dos homens com diagnóstico e sem tratamento, 59,2% desconheciam o estágio da doença (estágio desconhecido), 13,6% a doença estava no estágio IV e 11,4% no estágio III. Mulheres com diagnóstico e sem tratamento com 44% na fase I, 46,1% na fase II, 46,6% na fase III, 49,1% na fase IV e 48,1% na fase. De acordo com os resultados do estudo, 92% dos pacientes tiveram o diagnóstico confirmado pelo exame histológico do tumor primário. Um único tumor primário foi identificado em 100% dos testes. Na distribuição do câncer nas mulheres, 99,2% tiveram o diagnóstico confirmado pelo exame histológico primário. 99,9% tinham um único tumor primário. 14,2% dos pacientes homens e 6,3% das mulheres com diagnóstico de câncer em Rondônia, morreram em decorrência da doença.

Os resultados apresentados estão de acordo com os dados da maioria dos estudos realizados por Paraguassú-Chaves et al. (2020a; 2017; 2015a) e Paraguassú-Chaves (2016). Em Rondônia está havendo um crescimento exponencial de câncer. O cenário de projeção do câncer em homens e mulheres em Rondônia é preocupante e requer um redirecionamento urgente das ações e estratégias de prevenção, controle, assistência e tratamento do câncer.

5. REFERÊNCIAS

- ALICANDRO, G. et al. Educational inequality in cancer mortality: a record linkage study of over 35 million Italians. **Cancer Causes Control, Oxford**, v. 28, n. 9, p. 997-1006, 2017.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts & figures 2019**. American Cancer Society, 2019.
- AMORIM, V.M.S.L.; BARROS, M.B.A.; CÉSAR, C.L.G.; CARANDINA, L.; GOLDBAUM, M. Fatores associados a não realização da mamografia e do exame clínico das mamas: um estudo de base populacional em Campinas, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 11, p. 2623-32, 2008.
- ARAÚJO, E.M.; COSTA, M.C.N.; HOGAN, V.K.; ARAÚJO, T.M.; DIAS, A.B.; OLIVEIRA, L.O.A. A utilização da variável raça/cor em Saúde Pública: possibilidades e limites. **Interface comum saúde educação**, v. 13, n. 31, p. 383-394, 2009;
- BELEZA, S.C.; et al. **Perfil Epidemiológico do Hospital de Base**. Aicsa: Porto Velho-RO, 2014.
- BERRY, D.A.; et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 353, n. 17, p. 1784-1792, 2005.
- BOYLE, P.; LEON, M.E. Epidemiology of colorectal cancer. **British Medical Bulletin**, London, v. 64, n. 1, p. 1-25, 2002.

BRAY, F.; et al. Global cancer statistics. 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: **A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2019.

COLEMAN, M.P.; et al. CONCORD Working Group. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). **Lancet Oncology**, v. 9, p. 730-756, 2008.

DOMPER ARNAL, M.J.; FERRÁNDEZ ARENAS, Á.; LANAS ARBELOA, Á. Esophageal cancer: risk factors, screening and endoscopic treatment in western and eastern countries. **World journal of gastroenterology**, v. 21, n. 26, p. 7933-7943, 2015.

DUGNO, M.L.G.; et al. Perfil do câncer de mama e relação entre fatores de risco e estadiamento clínico em hospital do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Oncologia Clínica**, v. 10, n. 36, p. 60-66, 2014.

FERLAY, J.; SHIN, H.R.; BRAY, F.; FORMAN, D.; MATHERS, C.; PARKIN, D.M. **GLOBOCAN 2008 v 1.2, cancer incidence and mortality worldwide**. Disponível em <<http://globocan.iarc.fr>>. Acessado em 15/08/2011.

GONÇALVES, L.L.C.; et al. Barreiras na atenção em saúde ao câncer de mama: percepção de mulheres. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 48, n. 3, p. 394-400, 2014.

HADDAD, N.C.; CARVALHO, A.C.A.; NOVAES, C.O. Perfil Sociodemográfico e de Saúde de Mulheres Submetidas à Cirurgia para Câncer de Mama. **Revista HUPE**, v. 14, n. sup.1, p. 28-35, 2015.

HOSKINS, K.F.; et al. Assessment and counseling for women with a family history of breast cancer: a guide for clinicians. **Journal of the American Medical Association**, v. 273, p. 577-585, 1995.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. INCA: Rio de Janeiro, 2019a.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Tipos de câncer**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer>>. Acessado em: 30/11/2019b.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. INCA: Rio de Janeiro, 2009.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. INCA: Rio de Janeiro, 2014.

INCA. **Síntese de resultados e comentários**. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/sintese-de-resultados-comentarios>>. Acessado em 17/04/2016.

IWASAKI, M.; TSUGANE, S. Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies. **Cancer Science**, v. 102, n. 9, p. 1607-1614, 2011.

LEITE, F.M.C.; AMORIM, M.H.C.; NASCIMENTO, L.G.D.; MENDONÇA, M.R.F.; GUEDES, N.S.A.; TRISTÃO, K.M. Mulheres submetidas à coleta de Papanicolaou: perfil socioeconômico e reprodutivo. **Revista brasileira de pesquisa em saúde**, v. 12, n. 1, p. 57-62, 2010

MAULE, M.; MERLETTI, F. Cancer transition and priorities for cancer control. **The Lancet Oncology**, v. 13, n. 8, p. 745-746, 2012.

MASCARELLO, K.C.; et al. Perfil sociodemográfico e clínico de mulheres com câncer do colo do útero associado ao estadiamento inicial. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 58, n. 3, p. 417-426, 2012

MEISER, B.; et al. Breast cancer screening uptake in women at increased risk of developing hereditary breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 59, p. 101-111, 2000.

MOLINA, E.C. Estilo de vida para prevenir el câncer de mama. **Hacia Promoción Salud**, v. 11, p. 11-19, 2006

NAKANDI, H.; et al. Knowledge, attitudes and practices of Ugandan men regarding prostate cancer. **African Journal of Urology**, v. 19, n. 4, p. 165-170, 2013.

NELSON, H.D.; et al. Risk factors for breast cancer for women aged 40 to 49 years: a systematic review and meta-analysis. **Annals of internal medicine**, v. 156, n. 9, p. 635-648, 2012.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Epidemiological and sociodemographic characterization of women and men with cancer in a State in the Brazilian Amazon. **International Journal for Innovation Education and Research**, v. 8, n. 6, p. 545-576, 2020a.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. Cancer in men: a study with patients seen at a hospital in the city of Porto Velho, Brazilian Amazon. **International Journal of Development Research**, v. 10, p. e19282, 2020b.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. **Perfil epidemiológico do câncer em Rondônia: Amazônia brasileira**. AICSA: Porto Velho, 2015a.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. **Perfil Epidemiológico de Rondônia**. AICSA: Porto Velho, 2015b.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; et al. **Epidemiologia do câncer em Rondônia**. AICSA: Porto Velho, 2017.

PARAGUASSU-CHAVES, C.A.; **Diagnóstico de Câncer em Mulheres em Rondônia: Estudo da Geografia Médica**. AICSA: Porto Velho, 2016.

PARKIN, D.M.; WHELAN, S.L.; FERLAY, J.; TEPPA, L.; THOMAS, D.B.. **Cancer incidence in five continents**. IARC Press: Lyon, 2005.

PERES, R.S.; SANTOS, M.A. Câncer de mama, pobreza e saúde mental: resposta emocional à doença em mulheres de camadas populares. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 15, p. 786-791, 2007.

PHAROAH, P.D.; et al. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Cancer**, v. 71, p. 800-809, 1997.

PIRHARDT, C.R.; MÊRCES, N.N.A. Fatores de risco para o câncer de mama: nível de conhecimento dos acadêmicos de uma universidade. **Revista de Enfermagem UERJ**, v. 17, n. 1, p. 102-106, 2009.

- PINHO, V.F.; COUTINHO, E.S. Risk factors for breast cancer: a systematic review of studies with female samples among the general population in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 351-360, 2005.
- RAMOS, A.S.; PALHA, P.F.; COSTA JÚNIOR, M.L.; SANT'ANNA, S.C.; LENZA, N.F.B. Perfil de mulheres de 40 a 49 anos cadastradas em um núcleo de saúde da família, quanto à realização do exame preventivo de Papanicolaou. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 14, n. 2, p. 170-174, 2006.
- REQUES, L.; et al. Educational differences in mortality and the relative importance of different causes of death: a 7-year follow-up study of Spanish adults. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 68, n. 12, p. 1151-1160, 2014.
- RIBEIRO, J.F.; et al. Perfil sociodemográfico e clínico de mulheres com câncer do colo do útero em uma cidade do Nordeste. **Revista Eletrônica Gestão e Saúde**, v. 6, n. 2, p. 1367-1381, 2015.
- SANDLER, R.S. Epidemiology and risk factors for colorectal cancer. **Gastroenterology Clinics of North America**, Philadelphia, v. 25, n.4, p.717-735, 1996.
- SCHNEIDER, I.J.C.; d'ORSI, E. Sobrevida em cinco anos e fatores prognósticos em mulheres com câncer de mama em Santa Catarina, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 6, p. 1285-1296, 2009.
- SOARES, P.B.M.; et al. Características das mulheres com câncer de mama assistidas em serviços de referência do Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, n. 3, p. 595-604, 2012.
- SOUZA, N.H.A.; et al. Câncer de mama em mulheres jovens: estudo epidemiológico no Nordeste Brasileiro. **SANARE**, v.16, n. 2, p. 60-67, 2017.
- STEWART, B.W.; WILD, C.P. **World cancer report 2014**. IARC Press: Lyon, 2014.
- THUN, M.J.; et al. **Cancer epidemiology and prevention**. 4^a ed. Oxford University Press: New York, 2017.
- WANG, Q.; et al. Consumption of fruit, but not vegetables, may reduce risk of gastric cancer: results from a meta-analysis of cohort studies. **European Journal of Cancer**, v. 50, n. 8, p. 1498-1509, 2014.

SELF-REPORTING QUESTIONNAIRE COMO INSTRUMENTO DE AVALIAÇÃO DE TRANSTORNOS MENTAIS COMUNS EM GRUPO POPULACIONAL DA AMAZÔNIA

Carlos Alberto Paraguassu-Chaves¹, Allan Kardec Duailibe Barros Filho¹, Fabrício Moraes de Almeida², João Viana Fonseca Neto¹ e Lenita Rodrigues Moreira Dantas³

1. Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, Maranhão, Brasil;
3. Universidade Federal de Rondônia (UNIR), Porto Velho, Rondônia, Brasil;
3. Instituto Superior de Ciências da Saúde e Ambiente da Amazônia (AICSA), Porto Velho, Rondônia, Brasil.

RESUMO

Objetivo: avaliar a frequência de transtornos mentais comuns (TMC) em um grupo populacional já vitimado pela enchente do rio Madeira de 2014 e que se encontra em isolamento social horizontal no decorrer da pandemia do covid-10 e ainda avaliar a validade o SRQ-20 adaptado como instrumento eficiente em estudos de TMC. **Materiais e Método:** trata-se de um estudo descritivo, de abordagem quantitativa, tipo caracterizado como epidemiológico, cujo modelo é transversal. Como instrumento de coleta de dados, utilizou-se uma versão adaptada do Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20) e ainda com adaptação proposta por Paraguassú-Chaves (2020b). Participaram desta pesquisa 102 voluntários, sendo 50 (49%) do sexo feminino e 52 (51%) do sexo masculino, com idades variando de 11 a 83 anos (média de 47 anos). **Resultados:** a média geral de frequência relativa resultado da composição dos 5 fatores do SQR-20 foi 77%, superior aos encontrados em pesquisas anteriores de 28.2% e 64.1% respectivamente nos anos de 2019 e 2015. O “medo de se contagiar”, “medo e tristeza”, “ansiedade”, “frustração e tédio”, “irritabilidade”, entre outras variáveis do modelo adaptado proposto por Paraguassú-Chaves (2020b) e as respostas das variáveis do WHOQOL são fortes evidências de TMC. **Conclusões:** pode-se indicar que os TMC atingiram seu maior grau de sofrimento durante a pandemia do covid-19. O SRQ-20 apresentou desempenho aceitável para avaliar TMC.

Palavras-chaves: Trastornos Mentais Comuns (TMC), SRQ-20 e Covid-19.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the frequency of common mental disorders (CMD) in a population group already victimized by the 2014 Madeira River flood and which is in horizontal social isolation during the covid-10 pandemic and still evaluate the SRQ-20 validity adapted as an efficient tool in CMD studies. **Materials and Methods:** it is a descriptive study, with a quantitative approach, a type characterized as epidemiological, whose model is transversal.

As an instrument of data collection, an adapted version of the Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20) was used and also adapted by Paraguassú-Chaves (2020b). 102 volunteers participated in this research, being 50 (49%) female and 52 (51%) male, with ages varying from 11 to 83 years (average of 47 years). Results: the general average of relative frequency resulting from the composition of the 5 factors of the SQR-20 was 77%, higher than those found in previous surveys of 28.2% and 64.1% respectively in the years 2019 and 2015. The “fear of being infected”, “fear and sadness”, “anxiety”, “frustration and boredom”, “irritability”, among other variables of the adapted model proposed by Paraguassú-Chaves (2020b) and the responses of the WHOQOL variables are strong evidence of CMD. Conclusions: it can be indicated that CMD reached its greatest degree of suffering during the covid-19 pandemic. The SRQ-20 showed acceptable performance to assess CMD.

Keywords: Common Mental Disorders (CMD), SRQ-20 and Covid-19.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Classificação Internacional de Transtornos Mentais e de Comportamento (CID-10) da Organização Mundial de Saúde (1993), os transtornos mentais (TM) se classificam como doença com manifestação psicológica associada a algum comprometimento funcional resultante de disfunção biológica, social, psicológica, genética, física ou química. De acordo com Santos; Siqueira (2010) podem ser classificados, ainda, como alterações do modo de pensar e/ou do humor associadas a uma angústia expressiva, produzindo prejuízos no desempenho global da pessoa no âmbito pessoal, social, ocupacional e familiar. Para estes autores, os transtornos mentais geram alto custo social e econômico e são universais, pois atingem pessoas de todas as idades, causando incapacitações graves e definitivas que elevam a demanda nos serviços de saúde. Para Gonçalves, Stein e Kapczinski (2008), os estudos têm sistematicamente demonstrado que saúde mental é crucial para o bem estar geral dos indivíduos, sociedades e países. De acordo com estes autores, os transtornos mentais representam algo em torno de 13% da sobrecarga de doenças no mundo. Apesar dessas constatações, a lacuna entre oferta e demanda de assistência em saúde mental é robusta, com estimativas de até 70% para transtornos de humor e 90% para transtornos por uso de álcool em países desenvolvidos. Segundo a WHO (2001) são escassos os dados sobre transtornos mentais nos países em desenvolvimento.

Em se tratando de Transtornos Mentais Comuns (TMC) pode-se de maneira didática anunciar que os TMC são um conceito criado por Goldberg e Huxley (1992), para caracterizar um conjunto de sintomas não psicóticos como a insônia, fadiga, irritabilidade, esquecimento,

dificuldade de concentração e queixas somáticas, que designam situações de sofrimento mental, muitas vezes não abrangidas pelos critérios diagnósticos das classificações internacionais de doenças. Grenn e Benzenal (2011) incluem estes transtornos nos quadros de estresse, ansiedade e de depressão. Para Cerchiari; Caetano e Faccenda (2005) dentre os problemas de saúde mental, destacam os TMC que designam quadros clínicos em indivíduos com sintomas de ansiedade, depressão ou somatização e que não satisfazem a todos os critérios de doença mental de acordo com a classificação internacional das doenças (CID-10). De acordo com Kac et al. (2006) os TMC são muito comuns e de difícil caracterização, sendo que a maioria dos indivíduos com tais distúrbios apresenta queixas como tristeza, ansiedade, fadiga, diminuição da concentração, preocupação somática, irritabilidade e insônia. Maragno et al. (2006) complementam ao dizer que os TMC proporcionam incapacidade funcional comparável ou mais graves do que os quadros crônicos já bem estabelecidos.

Para Soegaard (2012) estes tipos de transtornos podem condicionar sofrimento e diminuição da qualidade de vida das pessoas afetadas, acarretando também encargos econômicos na sociedade, principalmente devido aos custos indiretos relacionados com o absentismo por doença, doenças prematuras e morte precoce, além do fato dos distúrbios depressivos poderem influenciar significativamente os resultados da comorbilidade de doenças como problemas cardíacos, diabetes entre tantas outras e de serem suscetíveis de originar disfunções ao nível familiar e de ter riscos de doença física ou mental nos seus membros familiares e de convivência. De acordo com Moreira et al. (2011), estudos internacionais apontam que os TMC associados à outras patologias derivadas ou antecessora elevam sua prevalência em termos mundiais, podendo variar entre 24,6% a 45,3%. Para Jacka, Mykletun e Berk (2012) TMC são considerados como um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo. A OMS faz uma alerta quando demonstra que menos de 1% dos recursos da saúde é investido em ações para a saúde mental (OPAS, 2001). Santos; Siqueira (2010) fazem novo alerta, ao anunciar que mais de 40% dos países ainda carecem de políticas em saúde mental e 30% não têm programas e políticas em saúde mental. Sabe-se ainda que a maioria dos transtornos é tratável e evitável, corroborando a premissa de que, quando se investe na prevenção e promoção da saúde mental, se pode reduzir bastante o número de incapacidades resultantes desses transtornos. Porém, ainda existe uma imensa lacuna de dados ocasionada pelo subdiagnóstico de transtornos mentais. Paraguassú-Chaves (2015) observou mais de 40% de pacientes com suspeitas de TMC sem

contudo nunca terem procurado assistência de um profissional qualificado ou um centro de atenção de saúde primária.

Segundo Harding et al. (1980) um estudo realizado pelo Consórcio Internacional de Epidemiologia Psiquiátrica (ICPE) da OMS revelou que, dentre os países da América Latina, o Brasil apresentou a maior prevalência de TMC na população adulta de 15-59 anos, com índices elevados para os transtornos da ansiedade, transtornos do humor e os transtornos relacionados ao uso de substâncias psicoativas (WHO, 2000). Porém, segundo Brasil (2007); Mari, Jorge e Kohn (2007) o índice de utilização dos serviços de saúde mental ainda é muito baixo. A maioria das pessoas com algum transtorno mental não busca atendimento psiquiátrico, por razões que estão ligadas, muitas vezes, ao estigma, ao desconhecimento da doença, ao preconceito, à falta de treinamento das equipes para lidar com esses transtornos, à falta de serviços adequados para atendimento psiquiátrico, ao medo, entre outras. Para Moher et al. (2009) no Brasil, ainda não se tem um estudo representativo dos índices de prevalência de indivíduos afetados pelos TMC, mas sim, uma estimativa da extensão do problema são encontradas em alguns estudos. Para Guirado; Pereira (2016) desenvolver-se cognitivamente é de fundamental relevância para o ser humano. Porém, o excesso de demandas da vida moderna gera distúrbios caracterizados por sinais e sintomas, como insônia, fadiga, irritabilidade, esquecimento, dificuldade de concentração e queixas somáticas. Botti et al. (2010); Ludermir (2000); Couto; Vieira e Lima (2000); Araújo; Pinho e Almeida (2005) concordam que é de suma importância que os indicadores de transtornos mentais comuns (TMC) sejam monitorados com vistas a sinalizar e estabelecer intervenções precoces para evitá-los, de forma a manter a integridade da saúde mental das pessoas sem repercutir negativamente em sua qualidade de vida. Carlotto et al. (2011) ressalta ainda a necessidade de que essas intervenções sejam estabelecidas para que se possam diferenciar os diversos grupos humanos afetados pelos TMC.

Pouco se conhece de TMC em grupos humanos da Amazônia brasileira. Os estudos epidemiológicos são de grande importância para determinar essa magnitude. Estudos de Paraguassu-Chaves (2015); Paraguassu-Chaves et al. (2020); Paraguassú-Chaves (2020a) foram relevantes nas decisões e no planejamento de políticas públicas de saúde mental, na organização dos serviços e no desenvolvimento de programas de prevenção e tratamento em uma realidade da Amazônia brasileira. Nos agravos e doenças do grupo de transtornos mentais e do comportamento (Cap. V CID) Paraguassú-Chaves (2015) identificou com extrema representação os casos de estados de estresse pós-traumático, transtorno de adaptação, transtorno não orgânico do sono, insônia, pesadelos e memórias repetidas sobre

o evento, amnésia, dificuldade de concentração, irritabilidade e raiva, fobia, ansiedade e pânico, depressão, perda de apetite, fadiga, tontura, aumento de consumo de álcool e medicamentos, transtornos do comportamento e emocionais em crianças e idosos. O que se observa ainda é uma ineficiência do serviço público de saúde para priorizar a assistência indispensável para tratar dessas patologias negligenciadas. “Assessment of mental suffering in a population affected by the Madeira River flood in the Brazilian Amazon” de Paraguassú-Chaves et al. (2020) e “Studies of Common Mental Disorders in the Brazilian Amazon” de Paraguassú-Chaves (2020a) são outros estudos realizados em Rondônia, Amazônia brasileira. Nestes estudos utilizou-se o SRQ-20 que é a versão de 20 itens do SRQ-30 para rastreamento de transtornos mentais não-psicóticos. O questionário é composto de 20 questões do tipo sim/não, das quais quatro são sobre sintomas físicos, e 16, sobre distúrbios psicoemocionais. Inicialmente, o escore de corte do SRQ-20 para este estudo foi definido em 7/8. Os escores obtidos estão relacionados com a probabilidade de presença de transtorno não-psicótico, variando de 0 (nenhuma probabilidade) a 20 (extrema probabilidade). O SRQ-20 está recomendado pela OMS para estudos comunitários e em atenção básica à saúde, principalmente nos países em desenvolvimento vem sendo utilizado em vários países de culturas diferentes para rastreamento de transtornos não-psicóticos. De acordo com Santos; Araújo e Oliveira (2009) a avaliação do desempenho dos instrumentos de pesquisa usados é de fundamental importância para se precisar, criteriosamente, a fidedignidade dos aspectos investigados, especialmente quando se considera um instrumento como o SRQ-20 que foi desenvolvido para uso em serviços de atenção primária em saúde, portanto, para a elucidação de contextos diversos. Streiner e Norman (1995) defendem que a validade de um instrumento é observada após a aplicação de um conjunto de técnicas que tem por objetivo avaliar o grau de significância real de um conceito representado por uma medida empírica. Para Richardson et al. (1999) a relação existente entre validade e confiabilidade pode ser analisada por meio da consistência presente em critérios externos (validade) e critérios internos (fidedignidade). Santos; Araújo e Oliveira (2009) nos ensinam que esse tipo de estudo se insere nos esforços para o adequado dimensionamento de fatores envolvidos na saúde mental, objetivando avançar na avaliação do SRQ-20, por ser um instrumento amplamente utilizado para suspeição diagnóstica dos transtornos mentais comuns.

Com novo cenário mundial e brasileiro resultante da pandemia covid-19, diversos estudos foram prontamente apresentados como respostas ao quadro de possíveis TMC na população submetida ao isolamento social ou quarentena. Na primeira fase impactante foi

caracterizada por uma mudança radical de estilo de vida. O medo de ser contaminado pelo vírus invisível e que pouco se conhecia seu comportamento. As informações e/ou desinformações midiáticas e a provocação originária da imprensa quase em sua totalidade, os desencontros de informações, as campanhas desnexas como “fique em casa”, a ausência de políticas públicas convincentes, a redução e distanciamento do contato físico, desperta a angústia, a ansiedade e a desesperança. Tudo leva a crer que a primeira reação foi de estresse agudo relacionado com a pandemia covid-19 ocasionada por uma circunstância súbita e inesperada. O foco inicial de apreensão é o medo de ser contaminado, o que não difere muito de situações traumáticas como um desastre ambiental, social ou econômico, segundo Paraguassú-Chaves (2020b).

A pandemia covid-19 se configura assim como um forte fator causal de desequilíbrios neurofisiológicos na população exposta e principalmente na população vulnerável ou de grupo de risco. Com o passar do tempo, com a persistência e o prolongamento destes desequilíbrios hormonais, inflamatórios e neuroquímicos devem ter desencadeado um transtorno mental mais grave. Parte significativa da população voluntária da pesquisa já manifestava um comportamento diferente e incômodo, sem contudo saber como reagir ao desconforto emocional. No confinamento compulsório ou isolamento social obrigatório, com a mudança abrupta da rotina de vida, algumas manifestações biopsicológicas se acirram como a sensação de desamparo, tédio e raiva pela perda da liberdade. Outras reações de ajustamento situacional se manifestam e são caracterizadas por ansiedade, irritabilidade, e desconforto em relação à nova realidade, situação confirmada por Paraguassú-Chaves (2020b). Pode-se afirmar mesmo que empiricamente que os transtornos mentais comuns, caracterizados por sintomas não-psicóticos como insônia, fadiga, irritabilidade, esquecimento, dificuldade de concentração e queixas somáticas passou a fazer parte da vida cotidiana da população de Rondônia, mais especificamente da cidade de Porto Velho.

O que se objetiva com esta pesquisa é avaliar a frequência dos transtornos mentais comuns em um grupo populacional já vitimado pela enchente do rio Madeira de 2014 e que se encontra em isolamento social horizontal no decorrer da pandemia do covid-10 e ainda avaliar a validade o SRQ-20 adaptado como instrumento eficiente em estudos de TMC.

2. MATERIAIS E MÉTODO

Trata-se de um estudo descritivo, de abordagem quantitativa, tipo caracterizado como epidemiológico, cujo modelo é transversal, que consiste em um corte no fluxo histórico do evento, em que a exposição é observada simultaneamente.

2.1 INSTRUMENTO E PROCEDIMENTOS

Paraguassu-Chaves (2020b) faz a seguinte apresentação do SRQ-20 como instrumento de coleta de dados: trata-se de uma versão adaptada do Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20), originalmente desenvolvida por Harding et al. (1980) em “Mental disorders in primary health care: a study of their frequency and diagnosis in four developing countries”, já validada em diversos países, segundo World Health Organization (1993) em “A user’s guide to the Self Reporting Questionnaire” e Husain; Creed e Tomenson (2000) em “Depression and social stress in Pakistan” e no Brasil por Lima et al. (1996) em “Stressful life events and minor psychiatric disorders: an estimate of the population attributable fraction in a Brazilian community-based study”, Mari (1987) em “Psychiatric morbidity in three primary medical care clinics in the city of São Paulo: issues on the mental health of the urban poor”, Gonçalves, Stein e Kapczinski (2008) em “Avaliação de desempenho do Self-Reporting Questionnaire como instrumento de rastreamento psiquiátrico: um estudo comparativo com o Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR”. Paraguassú-Chaves (2020b) propõem adaptação para este estudo.

A categorização foi realizada por 5 fatores, sendo abordado na análise fatorial 1 - diminuição de energia constando-se de 6 variáveis: (sente-se cansado o tempo todo; cansa-se facilmente; encontra dificuldades para tomar decisões; encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades de vida diária; tem dificuldades de pensar com clareza; tem dificuldades no serviço -seu trabalho é penoso, causa-lhe sofrimento. Em seguida, estão as variáveis da análise fatorial 2 - sintomas somáticos, compostos por 4 variáveis, sendo: (tem dor de cabeça frequentemente, tem sensação desagradáveis no estômago, tem má digestão, tem falta de apetite). Quanto às variáveis de análise fatorial 3 - de humor depressivo, aparecem 3 variáveis, sendo: (sente-se nervoso(a), tenso(a) ou preocupado(a), tem se sentido triste ultimamente, tem chorado mais do que costume). E na análise fatorial 4 sobre os pensamentos depressivos - é constituída de 4 variáveis, sendo: (tem perdido o interesse

pelas coisas, é incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida, sente-se uma pessoa inútil, sem préstimo, tem ideia de acabar com a vida). Por último o fator 5 organizado de outros sintomas do SRQ-20, possuindo 3 variáveis: (dorme mal, assusta-se com facilidade, tem tremores nas mãos). O TCM foi avaliado pela somatória das variáveis apresentadas no SRQ-20, considerando como ponto de corte 7 (sete) ou mais respostas afirmativas das 20 (vinte) questões apresentadas, para classificação como suspeito de TMC, conseqüentemente com possível sofrimento mental. Para a representação dos dados, calculou-se a frequência absoluta (FA) e a frequência relativa (FR) de cada variável elencada.

Outros sintomas adaptados por Paraguassú-Chaves (2020b) originados dos fatores da escala de estresse percebido (PSS) foram: medo, tristeza, ansiedade, irritabilidade, raiva, medo de se contagiar com covid-19, medo de morrer pela doença; frustração e tédio, se é portador de doença crônica, se tem familiar portador de doença crônica, se já contraiu ou alguém da família contraiu covid-19, as comunicações diárias lhes causa ansiedade e tem preocupação com o futuro. Paraguassú-Chaves (2020b) incluiu na pesquisa algumas variáveis do WHOQOL abreviado, referentes a qualidade de vida. Todas as variáveis propostas nas adaptações foram representadas pelas frequências relativas.

2.2 AMOSTRAGEM

O SQR-20 com as adaptações de Paraguassú-Chaves (2020b) foi enviado aos possíveis participantes pelo Whatsapp e por E-mail. Os endereços eletrônicos são de conhecimento do coordenador da pesquisa por fazer parte de pesquisas anteriores, sem contudo o fazer uso do registro nominal dos participantes.

A amostra concedida para acessibilidade foi um grupo formado por 102 pessoas em um universo inicial de 392 voluntários, todos vitimados pela enchente do rio Madeira de 2014. Para calcular o tamanho da amostra, é necessário usar algum método estatístico. Nesse sentido, foi utilizada a fórmula de amostragem sistemática apresentada por Barbetta (1994), sendo:

$$n0 = 1 n = N. n0$$

$$(E0) 2 N + n0$$

Onde:

N = tamanho (número de elementos) da população,

n = tamanho da amostra (número de elementos),

n0 = uma primeira aproximação do tamanho da amostra,

E0 = erro de amostragem tolerável.

Toledo e Ovalle (2010) definem a amostra como um subconjunto da população a partir da qual um julgamento de valor é criado em relação às características universais. Segundo Kazmier (2008), à medida que o tamanho da amostra aumenta, a distribuição da média amostral se aproxima da forma da distribuição normal, seja qual for a forma de distribuição da população.

2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Crítérios de inclusão: a pesquisa contou com a participação de 102 (cento e dois) voluntários, ou seja, 26% do universo pesquisável, que assinaram o TCLE e devolveram o SQR-20 com as perguntas respondidas e faziam parte do grupo de defensores do isolamento social horizontal, mais conhecido como “fique em casa”.

Foram excluídos da pesquisa aqueles que não assinaram o TCLE, não responderam o questionário e não faziam parte da adesão dos defensores do isolamento social horizontal.

2.4 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa atende à Resolução 196/96, que trata de pesquisas com seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde do Brasil. O coordenador da pesquisa solicitou dispensa do CEP de uma Instituição de Ensino Superior de Rondônia, considerando que o estudo não exigia intervenção ou coleta de material biológico e não havia possibilidade de constrangimento ou reconhecimento do sujeito da pesquisa. Os sujeitos participantes são voluntários e foram submetidos ao uso do SQR-20 com as adaptações após o consentimento livre e esclarecido sem nominativa, ou seja, não houve a necessidade dos respondentes se identificar por nome ou outra forma de identificação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. SQR-20 APLICADO EM 2020, DURANTE A PANDEMIA DO COVID-19.

Os dados sobre transtornos mentais comuns (TMC) são apresentados conforme a classificação de Iacoponi; Mari (1998), com adaptação para esta pesquisa, na seguinte forma sequenciada. Fator 1: diminuição de energia; Fator 2: sintomas somáticos; Fator 3: humor

depressivo; Fator 4: pensamentos depressivos e Fator 5: outros sintomas do SRQ-20. Paraguassú-Chaves (2020b) faz adaptação ao SQR-20, conforme anexo da tabela 1 combinando com alguns fatores da escala de estresse percebido (PSS) e do WHOQOL abreviado.

Participaram desta pesquisa 102 voluntários, sendo 50 (49%) do sexo feminino e 52 (51%) do sexo masculino, com idades variando de 11 a 83 anos (média de 47 anos), onde todos já haviam participado da pesquisa de Paraguassú-Chaves et al. (2020) e Paraguassú-Chaves (2020a). Não houve qualquer contato físico ou comunicação virtual entre o coordenador da pesquisa e os respondentes voluntários. Porém, todos que aceitaram participar da pesquisa, devolveram o instrumento respondendo com consentimento livre e esclarecido não nominativo, ou seja, não houve assinatura, nem a identificação por nome, e sim, as respostas foram devolvidas ao coordenador da pesquisa pelo WhatsApp e E-mail. No caso das crianças e adolescentes, os pais se responsabilizando pelas informações prestadas, nas mesmas condições anteriormente mencionadas. As crianças foram submetidas ao questionário de forma voluntária, com manifestação própria para participarem da pesquisa e com o consentimento de seus pais ou responsáveis. As inquietações das crianças com isolamento (apresentam dificuldades em mudança de rotina) já é um forte indício de sofrimento mental.

No fator 1 – diminuição de energia vital, as maiores frequências relativas foram encontradas nas variáveis “encontra dificuldades para tomar decisões” com frequência relativa de 82.4%, “tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa-lhe sofrimento)” com 81.4, “encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias” com 79.4%, “tem dificuldades para pensar com clareza” com 73.5%. No fator 2 – sintomas somáticos, as maiores frequências são respectivamente, “você tem dores de cabeça frequentemente” com 94.1%, “tem sensações desagradáveis no estômago” com 85.3% e “tem má digestão” com 85.3%. Quanto ao fator 3 – humor depressivo, as maiores frequências foram encontradas em “tem se sentido triste ultimamente” com 96%, “sente-se nervoso (a) tenso (a) ou preocupado” com 88,2% e “tem chorado mais do que costume” com 75.5%. No fator 4 – pensamentos depressivos, chama atenção a variável “tem perdido o interesse pelas coisas” com 60.8%, “é incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida” com 44.1%, “você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo” com 39.2% e “tem ideia de acabar com a vida” com frequência relativa de 29.4%. No fator 5 – outros sintomas do SQR as maiores frequências relativas foram encontradas em “dorme mal” com 88.2%, “assusta-se com facilidade” com 86.3% e “tem tremores nas mãos” com 64.7% (Quadro 1).

Em outros sintomas adaptados por Paraguassú-Chaves (2020b) referente ao fator 6 – que sentimentos a quarentena geram em você, as maiores frequências na ordem decrescente foram para variáveis “medo de se contagiar” com 98%, “tem ansiedade pelas informações que recebe sobre a doença pelos mais diversos meios de comunicação” com 95.1%, “medo” com 93.1%, “tristeza” com 93.1%, “ansiedade com 93.1%, “frustração e tédio” com 92.2%, “irritabilidade” com 87.3%, “raiva” com 87.3%, “tem preocupação o que vai acontecer depois da pandemia, a incerteza” com 86.3%, “medo de morrer” com 85.3%. Desta amostra, encontrou-se “alguém na residência é portador de alguma doença crônica” com 46.1%, “você é portador de doença crônica, como hipertensão, diabetes, obesidade, doença renal crônica, asma e outras doenças crônicas” com 28.4% e “você ou alguém da família ou próximo da família contraiu covid-19” com 8.8% (Quadro 1). Nas variáveis do WHOQOL (fator 7) abreviado as maiores frequências relativas foram 85.3% com qualidade de vida muito ruim, 75.5% insatisfeito com seu sono, 78.4% insatisfeito com a vida sexual, 93.1% muito insatisfeito com a prestação do serviço de saúde pública e 95.1% com bastante frequência de sentimentos tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão (Quadro 1).

Tabela 1. Frequência absoluta e relativa de todos os Fatores SRQ-20.

| Fator 1 - Diminuição de Energia Vital | SIM | % | NÃO | % |
|---|------------|----------|------------|----------|
| Sente-se cansado (a) o tempo todo? | 68 | 66.7 | 34 | 33.3 |
| Você se cansa com facilidade? | 60 | 58.8 | 42 | 41.2 |
| Encontra dificuldades para tomar decisões? | 84 | 82.4 | 18 | 17.6 |
| Encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias? | 81 | 79.4 | 21 | 20.6 |
| Tem dificuldades para pensar com clareza? | 75 | 73.5 | 27 | 26.5 |
| Tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa-lhe sofrimento?) | 83 | 81.4 | 19 | 16.6 |
| Fator 2 - Sintoma Somático | | | | |
| Você tem dores de cabeça frequentemente? | 96 | 94.1 | 6 | 5.9 |
| Tem sensações desagradáveis no estômago? | 87 | 85.3 | 15 | 14.7 |
| Tem má digestão? | 87 | 85.3 | 15 | 14.7 |
| Tem falta de apetite? | 45 | 44.1 | 57 | 75.9 |
| Fator 3 - Humor Depressivo | | | | |
| Sente-se nervoso (a) tenso (a) ou preocupado a)? | 90 | 88.2 | 12 | 11.8 |
| Tem se sentido triste ultimamente? | 98 | 96.0 | 4 | 4.0 |
| Tem chorado mais do que costume? | 77 | 75.5 | 25 | 24.5 |
| Fator 4 – Pensamentos Depressivos | | | | |
| Tem perdido o interesse pelas coisas? | 62 | 60.8 | 40 | 39.2 |
| É incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida? | 45 | 44.1 | 57 | 55.9 |
| Você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo? | 40 | 39.2 | 62 | 60.8 |
| Tem ideia de acabar com a vida? | 30 | 29.4 | 72 | 70.6 |
| Fator 5 - Outros Sintomas do SRQ-20 | | | | |
| Dorme mal? | 90 | 88.2 | 12 | 11.8 |
| Assusta-se com facilidade? | 88 | 86.3 | 14 | 13.7 |

| | | | | |
|---|-----------|----------|----------|----------|
| Tem tremores nas mãos? | 66 | 64.7 | 36 | 35.3 |
| Fator 6 - Outros Sintomas – Adaptação Paraguassú-Chaves (2020c). | | | | |
| Que sentimentos a quarentena gera em você? | | | | |
| Medo | 95 | 93.1 | 7 | 6.9 |
| Tristeza | 95 | 93.1 | 7 | 6.9 |
| Ansiedade | 95 | 93.1 | 7 | 6.9 |
| Irritabilidade | 89 | 87.3 | 13 | 12.7 |
| Raiva | 89 | 87.3 | 13 | 12.7 |
| Medo de se contagiar | 100 | 98.0 | 2 | 2.0 |
| Medo de morrer | 87 | 85.3 | 15 | 14.7 |
| Frustração e tédio | 94 | 92.2 | 8 | 7.8 |
| Você é portador de doença crônica? H: hipertensão; D: diabetes; O: obesidade; DRC: doença renal crônica; A: asma; O: outras | 29 | 28.4 | 73 | 71.6 |
| Alguém na residência é portador de alguma doença crônica? | 47 | 46.1 | 55 | 53.9 |
| Você ou alguém da família ou próximo da família contraiu covid-19? | 9 | 8.8 | 93 | 91.2 |
| Tem ansiedade pelas informações que recebe sobre a doença pelos mais diversos meios de comunicação? | 97 | 95.1 | 5 | 4.9 |
| Tem preocupação o que vai acontecer depois da pandemia, a incerteza? | 88 | 86.3 | 14 | 13.7 |
| Fator 7 - WHOQOL abreviado | | | | |
| Como você avaliaria sua qualidade de vida atualmente?* | 85.3(M) | 11.8 (R) | 0.0 (B) | 2.9 (NS) |
| Quão satisfeito você está com o seu sono?*** | 15.7 (MI) | 75.5 (I) | 8.8 (S) | 0.0 (MS) |
| Quão satisfeito você está com sua sexual?*** | 10.8 (MI) | 78.4 (I) | 10.8 (S) | MS (0.0) |
| Quão satisfeito você está com seu acesso aos serviços de saúde?*** | 93.1 (MI) | 4.9 (I) | 2.0 (S) | MS (0) |
| Com que frequência você tem sentimentos tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão?*** | 2.9 (N) | 2.0(MP) | 95.1 (B) | 0.0 (NS) |

* MR: muito ruim; R: ruim; B: boa, NS: não sabe. ** MI: muito insatisfeito; I: insatisfeito; S: satisfeito; MS: muito satisfeito. *** N: nada; MP: muito pouco; B: bastante; NS: não sabe.

3.2. SQR-20 APLICADO EM 2019, 5 ANOS DEPOIS DA ENCHENTE DO RIO MADEIRA, RONDÔNIA, AMAZÔNIA BRASILEIRA

Na pesquisa de Paraguassú-Chaves et al. (2020) e Paraguassú-Chaves (2020a) após 5 depois da enchente do rio Madeira, participaram 58 voluntários (14,8% do total dos sujeitos da pesquisa anterior), todos vitimados pelo desastre ambiental e social de 2014, sendo 26 (44,8%) do sexo feminino e 32 (55,2%) do sexo masculino, com idades variando de 20 a 70 anos (média de 45 anos).

No fator 1 - diminuição de energia, as maiores frequências relativas foram encontradas nas variáveis “tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa-lhe

sofrimento) com 25.9% e “encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias” com 24.1%. As variáveis “sente-se cansado(a) o tempo todo” e “você se cansa com facilidade” obtiveram os mesmos valores com 15.5%. A média do fator diminuição de energia foi de 17.8%. No fator 2 - sintoma somático, a maior frequência foi encontrada na variável “tem dores de cabeça frequentemente” com 41.4%; seguida das variáveis “tem sensação desagradável no estômago” com 36.2%, “tem má digestão” com 32.8%. A média do fator sintoma somático foi de 33.6%. No fator 3 de humor depressivo, a maior frequência relativa ficou com a variável “tem se sentido triste ultimamente”, com 34.5%, seguido da variável “sente-se nervoso tenso ou preocupado” com 31.0%. A média do fator humor depressivo foi de 29.9%. No que se refere aos pensamentos depressivos, a variável “tem perdido o interesse pelas coisas” predomina com 25.9%, “é incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida” e “você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo” com 10.4% e, “tem ideia de acabar com a vida” com 8.6% foram as menores frequências encontradas, porém, com importantes indicadores para uma avaliação mais profunda do problema. A média do fator pensamentos depressivos foi de 13.8%. “Dorme mal” com 56.9%, “assusta-se com facilidade” com 53.4% e “tem tremores nas mãos” com 27.6%, são as frequências relativas de outros sintomas do SQR-20 que devem ser consideradas importantes e muito sensíveis. A média do fator outros sintomas do SRQ-20 foi de 45.9% (PARAGUASSÚ-CHAVES et al., 2020; PARAGUASSÚ-CHAVES, 2020a).

3.3. SQR-20 APLICADO EM 2015, 1 ANO APÓS A ENCHENTE DO RIO MADEIRA, RONDÔNIA, AMAZÔNIA BRASILEIRA

De acordo com Paraguassú-Chaves et al. (2020) e Paraguassú-Chaves (2020a) participaram desta pesquisa 392 voluntários, todos vitimados pela enchente do rio Madeira de 2014 e que se encontravam em abrigo provisório, sendo 230 (58,7%) do sexo feminino e 162 (41,3%) do sexo masculino, com idades variando de 10 a 86 anos (média de 53 anos). Esses são os resultados da pesquisa realizada em 2015 logo após o desastre ambiental (enchente do rio Madeira). No fator 1 - diminuição de energia, apresenta maior frequência nas variáveis “encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias” com 89.5%, em seguida, com 86.7% “tem dificuldades para pensar com clareza”; “encontra dificuldades para tomar decisões” com 84.7%. As variáveis “tem dificuldades no serviço (seu trabalho é penoso, causa-lhe sofrimento) com 67.1%, “sente-cansado(a) o tempo todo e “você se cansa com facilidade” com 64.8% também se apresentam com frequências

muito altas. A média do fator diminuição de energia foi de 76.3%. No fator 2, a frequência de sintoma somático, teve seu maior índice a variável “tem dores de cabeça frequentemente” com 74.0%, seguida das variáveis “tem má digestão” com 68.6%, “tem sensações desagradáveis no estômago” com 66.0% e “tem falta de apetite com 62.4%. A média do fator sintoma somático foi de 67.8%. No fator 3, a frequência de humor depressivo, a maior frequência ficou com a variável “tem se sentido triste ultimamente”, com 82.9%, seguido da variável “sente-se nervoso tenso ou preocupado” com 75.5%. A média do fator humor depressivo foi de 66.2%. No fator 4, no que se refere aos pensamentos depressivos, nas variáveis “tem perdido o interesse pelas coisas” predomina com 70.7%. “É incapaz de desempenhar um papel útil em sua vida” com 33.2% foi a segunda maior frequência encontrada. As variáveis “você se sente uma pessoa inútil, sem préstimo” com 16.8% e “tem ideia de acabar com a vida” com 9.4% foram as menores frequências encontradas, porém, com importantes indicadores para uma avaliação mais profunda do problema. A média do fator pensamentos depressivos foi de 32.5%. Em outros sintomas do SQR-20 as frequências encontradas devem ser consideradas como importantes e muito sensíveis. “Dorme mal” com 82.9% e “assusta-se com facilidade” com 80.2%, estão com cifras superiores a 80.0%. Outra variável importante é a “tem tremores nas mãos” com 69.1%. A média do fator outros sintomas do SRQ-20 foi de 77.6%.

3.4. SQR-20 APLICADO POR SEXO E FAIXA ETÁRIA

O SRQ-20 foi aplicado a 102 pessoas, todas vitimadas pela enchente de 2014 e que já foram submetidas ao instrumento de pesquisa em 2015 e em 2019 sobre sofrimento mental, ou melhor, transtornos mentais comuns (TMC). Na frequência relativa de sexo (51% masculino e 49% feminino) não há diferença significativa estatisticamente. A idade prevalece nas pessoas adultas com 34.3% na faixa etária de 21 a 40 anos de idade e 38.2% de 40 a 60 anos de idade. Destaca-se a participação de crianças e adolescentes com frequência relativa de 15.7%. Na pesquisa realizada em 2019 houve predominância da população do sexo masculino com 55.2% e da faixa de idade adulta de 41 a 60 anos com 51.7%. A segunda maior concentração de entrevistados ocorreu na faixa etária de 21 a 40 anos de idade com 37.9%. Pode-se aferir que a população alvo da aplicação do SRQ-20 se concentrou na população adulta (PARAGUASSÚ-CHAVES et al., 2020; PARAGUASSÚ-CHAVES, 2020a). Em 2015, foram submetidas ao SQR-20, 392 pessoas afetadas pela enchente, vítimas que se encontravam no abrigo provisório com a média de frequência

relativa de 41.3 no sexo masculino e 58.7% no sexo feminino. Prevaleceu a faixa etária de 41 a 60 anos com 66.1%. No período em que os afetados se encontravam no abrigo provisório a aplicação do SRQ-20 foi mais frequente nas mulheres, porque as mulheres estavam mais concentradas nos serviços domésticos, de cuidado dos poucos bens materiais e sentimentais que sobraram e de cuidado das crianças (filhos e netos) (PARAGUASSÚ-CHAVES et al., 2020; PARAGUASSÚ-CHAVES, 2020a) (Quadro 2). No conjunto das 3 pesquisas a prevaleceu as pessoas do sexo feminino (55,4) e a faixa etária de 41 a 60 anos (54%).

Quadro 2. Distribuição da população por sexo e faixa etária

| Sexo | Masculino | % | Feminino | % |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------|
| Pesquisa atual 2020 | 52 | 51.0 | 50 | 49.0 |
| Pesquisa de 2019 | 32 | 55.2 | 26 | 44.8 |
| Pesquisa de 2015 | 162 | 41.3 | 230 | 58.7 |
| Média por sexo | 246 | 44.6 | 306 | 55.4 |
| Faixa Etária | 10 a 20 anos | 21 a 40 anos | 41 a 60 anos | + 60 anos |
| Pesquisa atual 2020 | 16 | 35 | 39 | 12 |
| Frequência relativa | 15.7 | 34.3 | 38.2 | 11.8 |
| Pesquisa de 2019 | 0 | 22 | 30 | 6 |
| Frequência relativa | 0.0 | 37.9 | 51.7 | 10.4 |
| Pesquisa de 2015 | 27 | 71 | 259 | 35 |
| Frequência relativa | 6.9 | 18.1 | 66.1 | 8.9 |
| Frequência relativa dos 3 períodos | 7.5 | 30.1 | 52.0 | 10.4 |

De acordo com a tabela 3, a média geral de frequência relativa resultado da composição dos 5 fatores do SQR-20 foi 77%, superior aos encontrados em pesquisas anteriores de 28.2% e 64.1% respectivamente nos anos de 2019 e 2015. Todos os fatores são superiores a 70% ou 7, com exceção do fator 4 referente aos pensamentos depressivos. Quanto comparado os resultados atuais com os dados anteriores, fica evidenciada o agravamento dos transtornos mentais comuns deste grupo humano pesquisado. A população que sofreu diretamente os efeitos da enchente do rio Madeira, em Rondônia, Amazônia brasileira que foram avaliados pela aplicação do Self-Reporting-Questionnaire, SRQ-20 logo após o desastre ambiental apresentou 64.1% com distúrbios psíquicos menores (atualmente denominados transtornos mentais comuns - TMC), na seguinte ordem de determinação: outros sintomas (77.6%), diminuição de energia (76.3), sintoma somático (67.8%), humor depressivo (66.2%) e pensamentos depressivos (32.5%). Em 2019, 4 anos após a tragédia,

a população submetida à avaliação apresentou 28.2% com distúrbios psíquicos menores, na seguinte ordem de determinação: outros sintomas (45.9%), sintoma somático (33.6%), humor depressivo (29.9%), diminuição de energia (17.8%) e pensamentos depressivos (13.8%). Em 2020 com advento da pandemia da covid-19 os transtornos mentais comuns (TMC) aumentaram significadamente na seguinte ordem: humor depressivo (86.6%), outros sintomas (79.3%), sintoma somático (77.2%), diminuição de energia (73.7) e pensamentos depressivos (43.4%).

Tabela 3. Comparação do TMC com as pesquisas anteriores.

| TCM (atual 2020) | FR (%) | TMC (2019) | FR (%) | TCM (2015) | FR (%) |
|-------------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|
| Média TCM | 72.0 | Média TCM | 28.2 | Média TCM | 64.1 |
| Fator 1 DE | 73.7 | Fator 1 DE | 17.8 | Fator 1 DE | 76.3 |
| Fator 2 SS | 77.2 | Fator 2 SS | 33.6 | Fator 2 SS | 67.8 |
| Fator 3 HD | 86.6 | Fator 3 HD | 29.9 | Fator 3 HD | 66.2 |
| Fator 4 PD | 43.4 | Fator 4 PD | 13.8 | Fator 4 PD | 32.5 |
| Fator 5 OS | 79.3 | Fator 5 OS | 45.9 | Fator 5 OS | 77.6 |

O agravamento dos transtornos mentais comuns pode ser comprovado pelos resultados apresentados em outros sintomas adaptados por Paraguassú-Chaves (2020b) e nas variáveis do WHOQOL abreviado. Os resultados são preocupantes e coloca o serviço público de saúde em alerta. O medo de se contagiar pelo covid-19 chega a quase 100% da população amostral. O quanto as informações desconhecidas tem causado pânico na população pode ser vista em “tem ansiedade pelas informações que recebe sobre a doença pelos mais diversos meios de comunicação” com 95.1%. O “medo” (93.1%), a “tristeza” (93.1%), a “ansiedade (93.1%), a “frustração e o tédio” (92.2%), a “irritabilidade” (87.3%), a “raiva” (87.3%), a preocupação o que vai acontecer depois da pandemia, ou seja, a incerteza” (86.3%), e o “medo de morrer” (85.3%) são evidências incontestáveis do sofrimento mental a qual essa população está submetida. Soma-se a esta situação as doenças crônicas e do grupo de risco para a covid-19 além da convivência de pessoas próximas ou parentes vitimadas pela doença. Na aplicação do WHOQOL- bref, um instrumento para avaliar qualidade de vida, desenvolvido e recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) apontam negativamente a qualidade de vida (85.3% consideram muito ruim), com a qualidade do sono (75.5% estão insatisfeitos), com a vida sexual (78.4% estão insatisfeitos), 93.1% estão descepcionados e insatisfeitos com o serviço de saúde pública e 95.1% estão sofrendo de mau humor, desespero, ansiedade e depressão.

De acordo com Paraguassú-Chaves et al. (2020) a vivência do desastre e as lembranças impactam na rotina dessas pessoas vitimadas, que apresentaram depressão, ansiedade, insônia, aumento de problemas cardiovasculares e pensamentos suicidas. De acordo com Castro; Garcia (2019) o transtorno de ansiedade é uma percepção de inquietação constante. No estresse pós-traumático, essas pessoas ficam sonhando, de vez em quando tem flashbacks do que aconteceu e isso causa um grande estresse. Ainda segundo a pesquisa, a depressão atinge quase 30% das vítimas. Entre as crianças e adolescente, a incidência é 39%. O estudo afirma que a ansiedade entre as vítimas é maior que os padrões identificados no Brasil pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Foi observado alta prevalência dos transtornos psiquiátricos mentais relacionados ao estresse, depressão, cinco vezes maior do que a população brasileira avaliada pela Organização Mundial de Saúde. O que Leite (2019) anuncia que a depressão, consumo excessivo de álcool, estresse pós-traumático e até mesmo suicídio são algumas das seqüelas que podem atingir pessoas em situações de crise humanitária de grandes proporções. Ainda segundo este autor, nessas situações o enfoque também deve ser direcionado à assistência da saúde mental. Leite (2019) afirma “A gente pouco fala e não existe essa cultura de veicular as sequelas psicossociais que permanecem nas pessoas ao entorno”. O impacto psicológico das pessoas atingidas pode se estender por até 15 anos após os acontecimentos traumatizantes. “Os problemas de saúde mental geram incapacidade para o trabalho, piora da qualidade de vida, empobrecimento e prejuízo nas relações pessoais e familiares, além de mortalidade precoce” (LEITE, 2019).

No estudo deste autor foram avaliados os transtornos mentais como a depressão, o transtorno de ansiedade generalizada, o transtorno de estresse pós-traumático, o risco de suicídio e transtornos relacionados ao uso de substâncias. A depressão autodeclarada era de 15% antes da tragédia. Após o impacto da tragédia, da mudança radical da vida das pessoas, o diagnóstico passou a corresponder a cerca de 30% das vítimas com quadro depressivo. Segundo dados da OMS esses dados é cinco vezes maior do que a média do Brasil. Enquanto o transtorno de ansiedade generalizada foi diagnosticado em 32% dos entrevistados, prevalência três vezes maior que a média brasileira. Outro dado preocupante refere-se ao risco de suicídio nesta população: ele foi constatado em 16,4% dos entrevistados. Para obter este índice, os atingidos tinham que responder “sim” para pelo menos umas das perguntas que avaliavam este tópico - por exemplo, já ter pensado, planejado ou tentado suicídio em algum momento da vida. “O número é bastante alto”. Segundo o estudo, 4,4% dos atingidos entrevistados haviam planejado suicídio nos 30 dias

anteriores à realização da pesquisa (PARAGUASSÚ-CHAVES et al. 2020; PARAGUASSÚ-CHAVES, 2020a).

As mulheres jovens e adultas submetidas ao SRQ-20 apresentaram suas respostas mais concentradas no fator 1, nas variáveis “sente-se cansado(a) o tempo todo (numa sensação de impotência), “você se cansa com facilidade” (por se encontrar perdida, sem rumo, sem direção), “encontra dificuldades para toma decisões” (a omissão, o descaso e a ineficiência do poder público deixa a gente sem esperança do que fazer), “encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias” (a mudança de vida repentina), “encontra dificuldades para pensar com clareza” (Não sabemos o que fazer. A incerteza deixou todos sem acreditar em mais nada). Ainda nas mulheres se concentraram os sintomas somáticos “dores de cabeça diariamente”. Em relação ao fator humor depressivo, nas mulheres houve predominância em tem chorado mais que de costume e se sente mais triste ultimamente. As mulheres apresentaram desinteresse pelas coisas (pensamentos depressivos). Dormem mal, assusta-se com facilidade e tem tremores nas mãos foram as maiores frequências em outros sintomas do SRQ-20.

Nos homens jovens e adultos submetidos ao SRQ-20 apresentaram suas respostas mais concentradas nas duas etapas da pesquisa nas variáveis “dormem mal”, “assusta-se com facilidade” e “tem tremores nas mãos” (outros sintomas do SRQ-20). Apresentaram sensações desagradáveis no estômago, má digestão e falta de apetite (sintoma somático), tem dificuldades para tomar decisões, tem dificuldades para pensar com clareza e encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias e ainda tem dificuldades no serviço (diminuição de energia). No fator humor depressivo os homens jovens e adultos apresentaram concentração em “sente-se nervoso(a) tenso(a) ou preocupado” e tem se sentido triste ultimamente. A variável “tem perdido o interesse pelas coisas” predominou no fator pensamentos depressivos. Fato que comove e assusta é a manifestação em “ter a ideia de acabar com a vida”. O fator humor depressivo foi os achados mais importantes nas crianças. “sente-nervoso(a) tenso(a) ou preocupado, “tem se sentido triste ultimamente” e “tem chorado mais do que de costume”. Outros importantes achados encontram-se no fator pensamentos depressivos “tem perdido o interesse pelas coisas”, no fator outros sintomas do SRQ-20 “dorme mal” e “assusta-se com facilidade”, no fator diminuição de energia “encontra dificuldades para realizar com satisfação suas atividades diárias” e “tem dificuldades para pensar com clareza”. O estudo de George (2010) corrobora com esses achados. Estudos de Bich et al. (2011); Seto et al. (2008); Warraich; Zaidi e Patel (2011); Vineis (2010) confirmam que as populações expostas a situações adversas apresentam

sequela emocionais e agravamento do estado de estresse pós-traumático. Feng et al (2007); Vineis (2010) encontraram transtornos e síndromes decorrentes de fatores emocionais, principalmente como os distúrbios do sono, insônia, pesadelos e memórias repetidas sobre o evento drástico e inesperado tanto social, ambiental econômico ou de qualquer natureza. Perda de memória, dificuldade de concentração, irritabilidade, raiva e ansiedade são referências que podem e devem ser consideradas na interpretação dos resultados desta pesquisa. Outros estudos como os de Warraich; Zaidi e Patel (2011); Paranjothy et al. (2007) encontraram fobias, pânico e depressão. Fundter et al. (2008); Kovats (2004) encontraram que a perda de apetite, fadiga e tonteiças são sintomas comuns após uma situação extremamente diferente da normalidade. Vineis (2010) aborda a sobre a tentativa de tirar a própria vida e o suicídio. Greenough et al. (2001); Kovats (2004) confirmam que ocorre sofrimento mental na população exposta quando há quebra a rotina familiar e social. De acordo com Tapsel et al. (2002) as consequências mentais e emocionais dessa população exposta podem durar um longo período, podendo permanecer até o final da vida da pessoa.

O instrumento de triagem SRQ-20 com as adaptações feitas por Paraguassú-Chaves (2020b) e suas variáveis complementares tem respondido de maneira satisfatória neste estudos de detecção de transtornos mentais comuns. Pode-se aferir que para a mensuração do nível de suspeição (presença/ausência) de transtornos mentais comuns, consegue identificar sintomas ou sintomas associados ao TMC, portanto, de conformidade com os estudos realizados na Amazônia, o instrumento alcança relevante ação voltada para os níveis primários de atenção.

4. CONCLUSÃO

Participaram da pesquisa 102 voluntários, sendo 50 (49%) do sexo feminino e 52 (51%) do sexo masculino, com idades variando de 11 a 83 anos (média de 47 anos), onde todos já haviam participado da pesquisa de Paraguassú-Chaves et al. (2020) e Paraguassú-Chaves (2020a). A idade prevalece nas pessoas adultas com 34.3% na faixa etária de 21 a 40 anos de idade e 38.2% de 40 a 60 anos de idade. Destaca-se a participação de crianças e adoscelentes com frequência relativa de 15.7%. Na da pesquisa realizada em 2019 houve predominância da população do sexo masculino com 55.2% e da faixa de idade adulta de 41 a 60 anos com 51.7%. A segunda maior concentração de entrevistados ocorreu na faixa etária de 21 a 40 anos de idade com 37.9% e na pesquisa de 2015 a média de frequência

relativa foi de 41.3% no sexo masculino e 58.7% no sexo feminino. Prevaleceu a faixa etária de 41 a 60 anos com 66.1%. No conjunto das 3 pesquisas a prevaleceu as pessoas do sexo feminino (55,4) e a faixa etária de 41 a 60 anos (54%).

A média geral de frequência relativa resultado da composição dos 5 fatores do SQR-20 foi 77%, superior aos encontrados em pesquisas anteriores de 28.2% e 64.1% respectivamente nos anos de 2019 e 2015. Todos os fatores são superiores a 70% ou 7, com exceção do fator 4 referente aos pensamentos depressivos. Quanto comparado os resultados atuais com os dados anteriores, fica evidenciado o agravamento dos transtornos mentais comuns deste grupo humano pesquisado. Em 2020 com advento da pandemia da covid-19 os transtornos mentais comuns (TMC) aumentaram significadamente na seguinte ordem: humor depressivo (86.6%), outros sintomas (79.3%), sintoma somático (77.2%), diminuição de energia (73.7) e pensamentos depressivos (43.4%).

Outros sintomas suspeitos resultados da adaptação do instrumento realizado Paraguassú-Chaves (2020b) confirmam o quadro preocupante de TMC, entre eles destacam-se 98% com “medo de se contagiar”, 95.1% “tem ansiedade pelas informações que recebe sobre a doença pelos mais diversos meios de comunicação”, 93.1% com “medo” e “tristeza”, 93.1% com “ansiedade, 92.2% com “frustração e tédio”, 87.3% com sensação de “irritabilidade”, 87.3% com “raiva”, 86.3%, “tem preocupação o que vai acontecer depois da pandemia, vive na incerteza do amanhã” e 85.3% com “medo de morrer pela doença”. Aliada a esse quadro de TMC, a pesquisa mostrou que 46.1% dos voluntários “tem alguém na residência que é portador de alguma doença crônica”, 28.4% se considera “portador de doença crônica, como hipertensão, diabetes, obesidade, doença renal crônica, asma e outras doenças crônicas” e 8.8% “contraiu ou alguém da família ou próximo da família contraiu covid-19”. Nas variáveis do WHOQOL abreviado as maiores frequências relativas foram 85.3% com qualidade de vida muito ruim, 75.5% insatisfeito com seu sono, 78.4% insatisfeito com a vida sexual, 93.1% muito insatisfeito com a prestação do serviço de saúde pública e 95.1% com bastante frequência de sentimentos tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão. Todos os fatores, indicadores e variáveis são considerados evidências de TMC.

Quanto ao uso do SRQ-20, pode-se aferir que é um instrumento de fácil manuseio e validado no Brasil e que pode sofrer algumas adaptações. Este instrumento se apresentou com desempenho aceitável para avaliar TCM. Apesar de abranger uma diversidade de transtornos emocionais, o SRQ-20 é um instrumento capaz de identificar variáveis

indispensáveis para o rastreamento da saúde mental de grupos populacionais vulneráveis, receptivos e expostos à situação de risco.

5. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, T.M.; PINHO, P.S.; ALMEIDA, M.M.G. Prevalência de transtornos mentais comuns em mulheres e sua relação com as características sociodemográficas e o trabalho doméstico. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 5, n. 3, p. 337-348, 2005.

BARBETTA, P.A. **Estatística aplicada às Ciências Sociais**. 1ª ed. UFSC: Florianópolis, 1994.

BICH, T.H.; QUANG, L.N.; HA Le T.T.; HANH, T.T.; GUHA-SAPIR, D. Impacts of flood on health: epidemiologic evidence from Hanoi, Vietnam. **Glob Health Action**, v. 4, n. 1, p. e6356 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. Coordenação Geral de Saúde Mental. **Saúde Mental em Dados**, Brasília, 2007.

BOTTI, N.C.L.; et al. Avaliação da ocorrência de transtornos mentais comuns entre a população de rua de Belo Horizonte. **BarBaroi**, n. 33, p. 178-193, 2010.

CARLOTTO, M.S.; AMAZARRAY, M.R.; CHINAZZO, Í.; TABORDA, L. Transtornos mentais comuns e fatores associados em trabalhadores: uma análise na perspectiva de gênero. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 19, n. 2, p. 172-178, 2011.

CASTRO, M.; GARCIA, F. **Pesquisa sobre a saúde mental das famílias atingidas pelo rompimento da barragem do fundão em Mariana**. Universidade Federal de Minas Gerais. Núcleo de Pesquisa Vulnerabilidades e Saúde (NAVeS - UFMG). Belo Horizonte, 2019.

CERCHIARI, E.A.N.; CAETANO, D.; FACCENDA, O. prevalência de transtornos mentais menores em estudantes universitários. **Estudos psicológicos**, v. 10, n. 3, p. 413-420, 2005

COUTO, H.A.; VIEIRA, F.L.H.; LIMA, E.G. Estresse ocupacional e hipertensão arterial sistêmica. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 14, n. 2, p. 112-115, 2007.

FENG, S.; et al. Social support and posttraumatic stress disorder among flood victims in Hunan, China. **Annals of Epidemiology**, v.17, n.10, p.827-833, 2007.

FUNDTER, D.Q. et al. Health impacts of large-scale floods: governmental decision-making and resilience of the citizens. **Prehospital and Disaster Medicine**, v. 23, n. 4, p. 70-73, 2008.

GREEN, M.J.; BENZEVAL, M. Ageing, social class and common mental disorders: longitudinal evidence from three cohorts in the West of Scotland. **Psychological Medicine**, v. 41, p. 565–574, 2011.

GREENOUGH, G.; McGEEHIN, M.; BERNARD, S.M.; TRTANJ, J.; RIAD, J.; ENGELBERG, D. The potential impacts of climate variability and change on health impacts of extreme weather events in the United States. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. sup. 2, p. 191-198, 2001.

GOLDBERG, D.; HUXLEY, P. **Common mental disorders: a bio-social model**. Tavistock/Routledge: London, 1992.

GONÇALVES, D.M.; STEIN, A.T.; KAPCZINSKI, F. Avaliação de desempenho do Self-Reporting Questionnaire como instrumento de rastreamento psiquiátrico: um estudo comparativo com o Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 380-390, 2008.

GUIRADO, G.M.P.; PEREIRA, N.M.P. Uso do Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20) para determinação dos sintomas físicos e psicoemocionais em funcionários de uma indústria metalúrgica do Vale do Paraíba/SP. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 1 p. 92-98, 2016.

HARDING, T.W.; et al. Mental disorders in primary health care: a study of their frequency and diagnosis in four developing countries. **Psychological Medicine**, v. 10, p.231-241, 1980.

HUSAIN, N.; CREED, F.; TOMENSON, B. Depression and social stress in Pakistan. **Psychological Medicine**, v. 30, n. 2, p. 395-402, 2000.

JACKA, F.N.; MYKLETUN, A.; BERK, M. Moving towards a population health approach to the primary prevention of common mental disorders. **BMC Medicine**, v. 10, p. e149, 2012.

IACOPONI, E.; MARI, J.J. Reliability and factor structure of the Portuguese version of Self-Reporting Questionnaire. **International Journal of Social Psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 213-222, 1998.

KAC, G.; SILVEIRA, E.A.; OLIVEIRA, L.C.; MARI, J.J. Fatores relacionados à prevalência de morbidades psiquiátricas menores em mulheres selecionadas em um Centro de Saúde no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 5, p. 999-1007, 2006.

KAZMIER, L.J. **Estatística aplicada a economia e administração**. Bookman: Porto Alegre, 2008.

KOVATS, R.S. Will climate change really affect our health? Results from a European Assessment. **The Journal of the British Menopause Society**, v. 10, n. 4, p. 139-44, 2004.

LEITE, R.M. **Relatório Assistência da Saúde Mental**. Instituto de Psiquiatria (Ipq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (FMUSP). São Paulo, 2019.

LIMA, M.S.; BERIA, J.U.; TOMASI, E.; CONCEIÇÃO, A.T.; MARI, J.J. Stressful life events and minor psychiatric disorders: an estimate of the population attributable fraction in a Brazilian community-based study. **International Journal of Psychiatry in Medicine**, v. 26, n. 2, p. 211-222, 1996.

LUDERMIR, A.B. Inserção produtiva, gênero e saúde mental. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 3, p. 647-659, 2000.

MARAGNO, L.; et al. Prevalência de transtornos mentais comuns em populações atendidas pelo Programa Saúde da Família no Município de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 8, p. 1639-1648, 2006.

MARI, J.J. Psychiatric morbidity in three primary medical care clinics in the city of São Paulo: issues on the mental health of the urban poor. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 22, n. 3, p. 129-138, 1987.

- MARI, J.J.; JORGE, M.R.; KOHN, R. **Epidemiologia dos transtornos psiquiátricos em adultos**. In: Mello MF, Mello, AAF, Kohn R, organizadores. Epidemiologia da saúde mental no Brasil. Artmed: Porto Alegre, 2007.
- MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN, D.G, et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **PLOS Medicine**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009
- MOREIRA, J.K.P.; BANDEIRA, M.; CARDOSO, C.S.; SCALON, J.D. Prevalência de transtornos mentais comuns e fatores associados em uma população assistida por equipes do Programa Saúde da Família. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 60, n. 3, p. 221-226, 2011.
- OMS. Organização Mundial da Saúde. **Classificação de TM e de comportamento da CID-10**. Artes Médicas: Porto Alegre, 1993.
- OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. Organização Mundial da Saúde. **Relatório sobre a saúde no mundo 2001**. Saúde Mental: nova concepção, nova esperança. OMS; 2001.
- PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A. Doenças invisíveis – sofrimento mental na população exposta à enchente do rio Madeira. **Debate em Ação: Discussão Científica**. Porto Velho, 2015.
- PARAGUASSU-CHAVES, C.A. **Relatório Fiero**. AICSA: Porto Velho, 2020b.
- PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A.; et al. Assessment of mental suffering in a population affected by the Madeira River flood in the Brazilian Amazon. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, v. 7, n. 2, p. 155-165, 2020.
- PARAGUASSÚ-CHAVES, C.A. **Studies of common mental disorders in the Brazilian Amazon**. Editora Temática: Porto Velho, 2020a.
- PARAMJOTHY, S.; et al. Psychosocial impact of the summer 2007 floods in England. **BMC Public Health** v. 11, p. e145, 2011.
- RICHARDSON, R.J.; PERES, J.A.S.; WANDERLEY, J.C.V.; CORREIA, L.M.; PERES, M.H.M. **Pesquisa social: métodos e técnicas**. 3ª ed. Editora Atlas: São Paulo, 1999.
- SANTOS, E.G.; SIQUEIRA, M.M. Prevalência dos transtornos mentais na população adulta brasileira: uma revisão sistemática de 1997 a 2009. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v.59, n.3, p. 238-246, 2010.
- SANTOS, K.O.B.; ARAÚJO, T.M.; OLIVEIRA, N.F.. Estrutura fatorial e consistência interna do Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20) em população urbana. **Cadernos de Saúde Pública**, v.25, n.1, p. 214-222 ,2009.
- SETO, E.Y.W.; et al. Impact of changing water levels and weather on *Oncomelania hupensis hupensis* populations, the snail host of *Schistosoma japonicum*, downstream of the Three Gorges Dam. **Ecohealth**, v. 5, n. 2, p. 149-158, 2008.
- STREINER, D.L.; NORMAN, G.R. **Health measurement scales: a practical guide to their development and use**. 2ª ed. Oxford University Press: Oxford; 1995.

SOEGAARD, H.J. Undetected common mental disorders in long-term sickness absence. **International Journal of Family Medicine**, v. 2012, p. e474989, 2012.

TAPSELL, S.M.; PENNING-ROWSELL, E.C.; TUNSTALL, S.M.; WILSON, T.L. Vulnerability to flooding: health and social dimensions. **Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences**, v. 360, n. 1796, p. 1511-1525, 2002.

TOLEDO, G.L.; OVALLE, I.I. **Estatística Básica**. 2ª ed. Atlas: São Paulo, 2010.

VINEIS, P. Climate change and the diversity of its health effects. **International Journal of Public Health**, v. 55, n. 2, p. 81-82, 2010;

WARRAICH, H.; ZAIDI, A.K.; PATEL, K. Floods in Pakistan: a public health crisis. **Bull World Health Organ**, v. 89, p. 236-237, 2011.

WHO. World Health Organization. **A user's guide to the Self Reporting Questionnaire**. Geneva: WHO; 1993.

WHO. World Health Organization. Cross-national comparisons of the prevalences and correlates of mental disorders. **Bulletin WHO**, v. 78, n. (4), p. 413-426, 2000.

WHO. World Health Organization. **Mental health: new understanding, new hope**. World Health Organization: Geneva, 2001.

INFLUÊNCIA DO SOMBREAMENTO NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)

Valéria Melo Costa¹, Adeval Alexandre Cavalcante Neto², Talytha Ravenna de Melo Souza³, Giulia Bianca Palacio Melo⁴, Daniel Fernandes Rodrigues Barroso², Iberê Pereira Parente²

1. Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente, Balsas, Maranhão, Brasil;
2. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Presidente Dutra, Maranhão, Brasil;
3. Universidade Federal do Ceará (UFC), Programa de Pós- Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, Fortaleza, Ceará, Brasil;
4. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Gurupi, Tocantins, Brasil.

RESUMO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das frutíferas mais cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. É amplamente consumido in natura e através de seus subprodutos. A produção de mudas é uma etapa substancial, pois a qualidade da muda influi diretamente no potencial produtivo das plantas adultas, em função disso, objetivou-se neste estudo avaliar o crescimento inicial de mudas de mamoeiro, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. O experimento foi realizado em casa de vegetação, na área experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão/Campus Codó. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos (0%, 35% e 70% de sombreamento), sendo cada um, constituído de 4 repetições compostas por 15 mudas cada. As variáveis analisadas foram: altura da planta; número de folha; diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e teor de clorofila. Os resultados mostraram que os ambientes de 35% e 70% de sombreamento são mais adequados para a produção de mudas de mamoeiro.

Palavras-chaves: Ambiente protegido, Produção e Frutífera.

ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) is one of the most cultivated fruit trees in the tropical and subtropical regions of the world. It is widely consumed in natura and through its by-products. The production of seedlings is a substantial step, as the quality of the seedling directly influences the productive potential of adult plants. As a result, the objective of this study was to evaluate the initial growth of papaya seedlings, submitted to different levels of shading. The experiment was carried out in a greenhouse, in the experimental area of the Federal Institute of Education, Science and Technology of Maranhão / Campus Codó. The experimental design was completely randomized, composed of three treatments (0%, 35%

and 70% of shading), each consisting of 4 repetitions composed of 15 seedlings each. The variables analyzed were: plant height; leaf number; stem diameter, shoot dry mass and chlorophyll content. The results showed that the 35% and 70% shading environments are more suitable for the production of papaya seedlings.

Keywords: Protected environment, Production and Fruitful.

1. INTRODUÇÃO

A fruticultura é um setor que proporciona aumento substancial na economia brasileira, pois é uma das principais fontes de alimento, gera grande quantidade de empregos e colabora com a participação do país no mercado internacional de frutas (SILVA, 2019).

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das frutíferas mais cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (SIVAKUMAR; WALL, 2013). Originária da América Tropical e cultivado em mais de 40 países (FIGUEIREDO NETO et al., 2013) a fruta é consumida, preferencialmente, *in natura* e através de subprodutos como: compotas, néctares, sucos, geleias e fruta cristalizada (MESQUITA et al., 2017).

Trata-se de uma cultura com relevante destaque dentre as frutas tropicais cultivadas no Brasil que participa com cerca de 13% da produção mundial, representando aproximadamente 1,6 milhões de toneladas e ocupa a segunda posição entre os maiores países produtores, atrás somente da Índia que produz 5,5 milhões de toneladas equivalente a 44,5% do mamão consumido no mundo (PADUA, 2019).

Por ser uma cultura perene, a obtenção de mudas saudáveis, vigorosas e com resistência a doenças para formação do pomar é fundamental para garantir o sucesso do produtor na atividade frutícola (ALMEIDA et al., 2019). Essa necessidade contínua de renovação dos pomares faz com que haja maior procura por novas técnicas que ofereçam aumento na qualidade das mudas, induzindo desenvolvimento de estudos na área, em busca de materiais propagativos mais produtivos (LIMA et al., 2007).

O cultivo em ambiente protegido é a prática agrônômica que faz uso de uma estrutura que auxilia na proteção das culturas e visa aumentar a produtividade, pois realiza o controle dos efeitos adversos causados pelo excesso de chuva, temperatura, umidade do ar, radiação, solo, vento e composição atmosférica, além disso, permite a passagem da luz, uma vez que, esta é primordial para a realização da fotossíntese (PURQUERIO; TIVELLI, 2006).

A utilização do ambiente protegido viabiliza a oferta de produtos orgânicos e também pode melhorar a qualidade físico-química dos produtos (ARAÚJO et al., 2020). Também é

possível obter produtos em épocas que não são favoráveis ao cultivo na região e por minimizar os efeitos da sazonalidade na produção, realiza o controle parcial de fatores que influenciam no desenvolvimento das plantas (SANTI et al., 2013). Ademais, é uma importante ferramenta para o controle de doenças, principalmente aquelas causadas por insetos vetores como o mosaico (BENASSI et al., 2015).

A cobertura em casa de vegetação pode alterar a quantidade de luz solar refletida no seu interior, favorecendo as plantas de acordo com sua exigência luminosa. Entretanto, é válido considerar que se refere a uma tecnologia atual, portanto alguns fatores importantes devem ser avaliados, visto que a sua eficácia pode variar em função da cultivar e condições climáticas da região de cultivo (ROBERTO et al., 2011).

O sucesso final do cultivo do mamoeiro depende da eficiência de diversas etapas, por isso, a produção de mudas é substancial, pois a qualidade da muda influi diretamente no potencial produtivo das plantas adultas (COSTA et al., 2010). Desta forma, objetivou-se neste estudo avaliar o crescimento inicial de mudas de mamoeiro, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. Mais especificamente, determinar o efeito da intensidade luminosa sobre os parâmetros de qualidade da planta, empregar métodos analíticos de espectrofotometria na determinação dos teores de clorofila em mudas de mamoeiro e produzir mudas da frutífera em diferentes condições de sombreamento.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EXPERIMENTAL

A pesquisa foi desenvolvida no período de outubro a dezembro de 2016 em casa de vegetação, na área experimental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão/Campus Codó, localizado no município de Codó-MA, com coordenadas geográficas de 4° 26' 51" S, 43° 52' 57" O e com altitude de 48 m (CASTRO JÚNIOR, 2012). A região apresenta clima do tipo Aw, caracterizado como quente e úmido, segundo a classificação de Köppen e precipitação média anual de 2.000 mm e temperatura média anual aproximadamente de 27 °C (SUDAM, 1984).

2.2 INSTALAÇÃO E CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

2.2.1 Construção das casas de vegetação

A primeira etapa de execução do experimento consistiu na escolha e demarcação da área seguida da construção de três casas de vegetação no sentido leste-oeste, com estrutura de sustentação composta por hastes de madeira, com dimensões de 3 m altura por 3 m de largura e 2,90 m de comprimento. A primeira e segunda casa de vegetação foram cobertas com telas nylon de cor preta (sombrite) com percentuais de sombreamento de 35% e 70% respectivamente e a terceira, sem cobertura, exposta a pleno sol com 0% de sombreamento. Foram construídas bancadas de madeira suspensas a uma altura de 60 cm para evitar o contato das mudas com o solo, oferecendo assim, maior segurança fitossanitária às mudas.

2.2.2 Material Propagativo

Foram utilizadas sementes de mamoeiro, grupo Solo, cultivar Golden Papaya, lote 38307-S2, com o percentual de pureza de 99,4% da empresa ISLA PAK®. Esta cultivar apresenta sementes geneticamente uniformes e de linhagens puras fixadas por sucessivas gerações de autofecundação (FARIA et al., 2009).

2.2.3 Preparo dos recipientes e Semeadura

As mudas foram submetidas em sacos plásticos de polietileno preto com dimensões de 15 cm x 25 x 0,15 cm e capacidade para 1kg de solo, sendo estes perfurados na parte inferior para permitir a retirada do excesso de água e evitar o apodrecimento das raízes. Por conseguinte, os sacos foram preenchidos com substratos composto por terra preta e esterco de curral curtido (1:1), padronizados e acondicionados nas casas de vegetação. Para o plantio, foram utilizadas 3 sementes por recipientes, sendo cobertas com uma camada de 1 cm de terra preta peneirada. Em seguida, foram regadas com o intuito de oferecer as sementes condições favoráveis a germinação.

2.2.4 Tratos Culturais

O desbaste foi realizado quando as mudas apresentaram altura média de 3 cm, deixando-se apenas a muda mais vigorosa. Durante a condução do experimento, as regas

foram realizadas diariamente, mantendo sempre próximo a capacidade de campo do substrato para todos os tratamentos e o controle das plantas daninhas foi realizado de forma manual, sempre que necessário.

2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto de três tratamentos (0%, 35% e 70% de sombreamento), sendo cada um, constituído de 4 repetições compostas por 15 mudas cada.

2.4 VARIÁVEIS ANALISADAS

Sessenta dias após a sementeira, as mudas foram avaliadas quanto os seguintes parâmetros: altura da planta; número de folha; diâmetro do caule, massa seca da parte aérea e teor de clorofila, em 20 mudas por nível de sombreamento.

2.4.1 Altura da planta

Para indicação da altura das mudas, utilizou-se uma régua graduada em centímetro, tomando como referência a distância do colo ao ápice da muda.

2.4.2 Número de folhas

O número de folhas determinado por meio da contagem direta de folhas totalmente expandidas por planta.

2.4.3 Diâmetro do caule

Na determinação do diâmetro do caule foi utilizado um paquímetro universal com valores expresso em mm.

2.4.4 Massa seca da parte aérea

Para obtenção da massa seca da parte aérea (MSPA), destacou-se a parte aérea das plantas que foram colocadas em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar à temperatura de 65°C até atingirem peso constante.

2.4.5 Teor de Clorofila

A determinação dos teores de clorofila foi realizada em uma folha por planta por cada repetição em cada nível de sombreamento, tomadas ao acaso. Foi coletada a segunda ou a terceira folha a partir do ápice da planta, as quais foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e caixa de isopor e levado ao laboratório multidisciplinar o IFMA Campus Codó. Retirou-se 10 discos foliares de 1 cm de diâmetro de cada folha, que foram colocados em tubos de ensaio, contendo 10 mL de acetona, 80% (v/v), e permaneceram por 24 horas em câmara fria, ao abrigo da luz. Em seguida, os extratos foram filtrados e colocados em cubetas. A absorbância da solução resultante foi mensurada por espectrofotometria nos comprimentos de onda de 652 nm, conforme metodologia descrita por Linder (1974) e Engel e Poggiani (1991). Os resultados foram expressos em mg/100g.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O efeito dos níveis de sombreamento sob os parâmetros germinativos e ao longo do desenvolvimento das plântulas foi analisado por meio de análise de regressão polinomial utilizando o software Xlstat-Pro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ALTURA DA PLANTA

Conforme observado na Figura 1 a altura da planta (AP) aumentou a medida que se intensificou o nível de sombreamento. A menor média (6,04 cm) foi obtida pelas mudas no nível de sombreamento de 0% (pleno sol), já a maior (12,1 cm) foi verificada no nível de

sombreamento de 70%. Pode-se inferir que o sombreamento interferiu no crescimento das plantas.

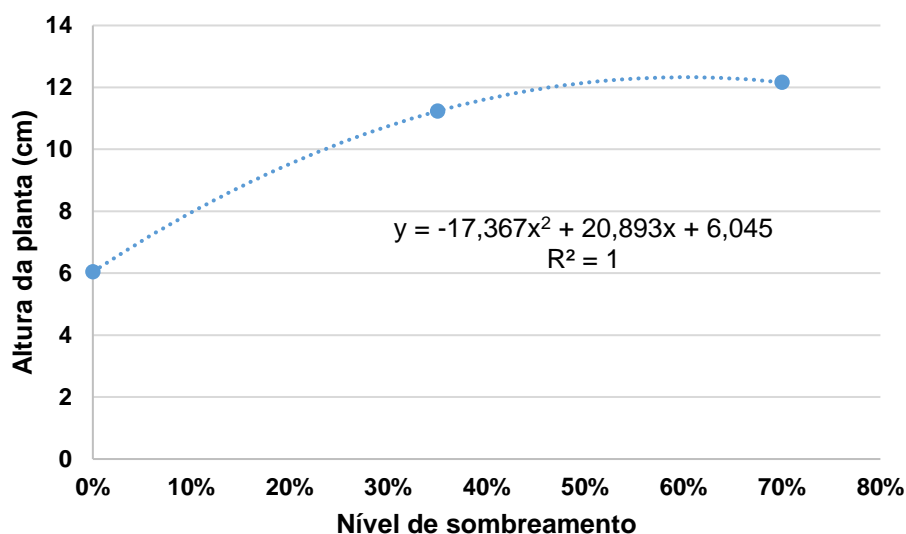


Figura 1. Valores médios da altura da planta (AP) em função dos diferentes níveis de sombreamento.

Os resultados obtidos assemelham-se aos encontrados por Araújo et al. (2006), que constataram que o sombreamento induziu maior crescimento na altura de mudas de mamoeiro do que as que foram conduzidas ao pleno sol.

Da mesma forma, Costa et al. (2010) em experimento com mudas de mamão verificaram que estas se desenvolveram melhor no viveiro com 50% de sombreamento, apresentando maior altura do que as expostas em pleno sol.

O mesmo comportamento foi observado por Zanella et al. (2006) com mudas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.). Os autores constataram que a altura das plantas aumentou progressivamente com a intensidade do sombreamento. Sendo a menor média de 11,1 cm, obtida nas mudas a pleno sol (0%) e a maior, de 39,4 cm, no tratamento com 80% de sombreamento.

De acordo com Dardengo et al. (2014) a maior altura das mudas submetidas a sombreamento deve-se ao fato de que este induz as plantas a designarem uma maior parte de seus recursos metabólicos para crescer em altura, em busca de luz, por meio do alongamento dos entrenós (estiolamento). Assim, os níveis mais intensos de sombra contribuem para altos valores de altura, sendo obtidos baixos valores a pleno sol.

No entanto, Lenhard et al. (2013) observaram que sombreamento de 70% assim como a exposição a pleno sol estabeleceram condições insatisfatórias para suprir a demanda de crescimento da muda de pau-ferro, pela baixa e excessiva intensidade luminosa, respectivamente, resultando em baixa produção de fotoassimilados.

Linzmeier (2011) também observou que mudas de cedro-vermelha (*Cedrela fissilis* Vell.) produzidas em três níveis de luminosidade não apresentaram diferença estatística das que estavam em pleno sol. De acordo com o autor, a efetividade do crescimento das mudas pode ser relacionada à sua habilidade de adaptação às condições luminosas do ambiente. Assim, o crescimento de algumas espécies sob diferentes condições de luminosidade está diretamente relacionado à sua capacidade de ajustar, eficaz e rapidamente, seus processos fisiológicos para intensificar o aproveitamento de recursos disponíveis no ambiente.

3.2 NÚMERO DE FOLHAS

Diante dos resultados encontrados para a variável número de folhas (NF), observa-se na Figura 2, que as mudas produzidas no nível de sombreamento 35% apresentaram maior número de folhas (10,3) que as produzidas nos demais tratamentos. O nível de sombreamento de 70% proporcionou mudas com número de folhas de 8,3. Já a menor média de folhas (3,5) foi atribuída ao nível de sombreamento 0% (pleno sol).

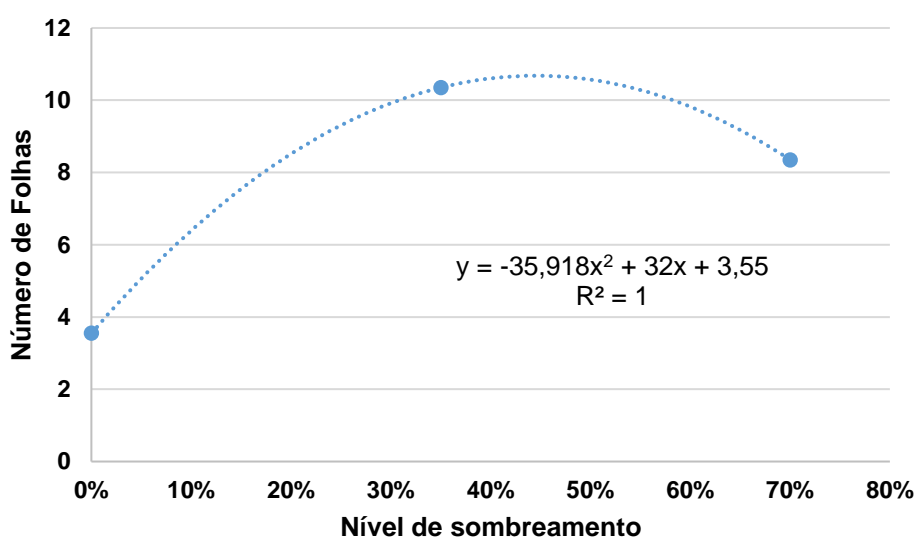


Figura 2. Valores médios do número de folhas (NF) em função dos diferentes níveis de sombreamento.

Costa et al. (2010) observaram que mudas de mamoeiro conduzidas sob sombreamento apresentaram um maior número de folhas do que as expostas ao pleno sol.

Frigotto et al. (2015) também verificaram que mudas de paricá (*Schizolobium amazonicum*) conduzidas a pleno sol apresentaram menor número de folhas do que aquelas produzidas em condições de sombreamento e concluíram que o sombreamento teve efeito positivo sobre esta variável. Mesma observação foi feita por Carvalho et al. (2006) em experimento com licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.), onde constataram que o número de folhas diferiu entre os tratamentos e apresentou valores significativos quando as plantas cresciam em ambientes com sombreamento.

Para esta variável o nível de sombreamento de 35%, seguido do sombreamento de 70% podem ser recomendados para a produção de mudas do mamoeiro. No entanto, a exposição a pleno sol mostrou-se prejudicial à formação de folhas. De acordo com Moreira et al. (2006) o número de folhas é uma característica importante, e, possivelmente, mudas com maior número de folhas têm maior índice de pegamento no campo, pois as folhas são as estruturas responsáveis pela captação de energia solar e produção de matéria orgânica através da fotossíntese.

3.3 DIÂMETRO DO CAULE

Na figura 3 estão apresentados os valores médios do diâmetro do caule (DC) obtidos nesta pesquisa.

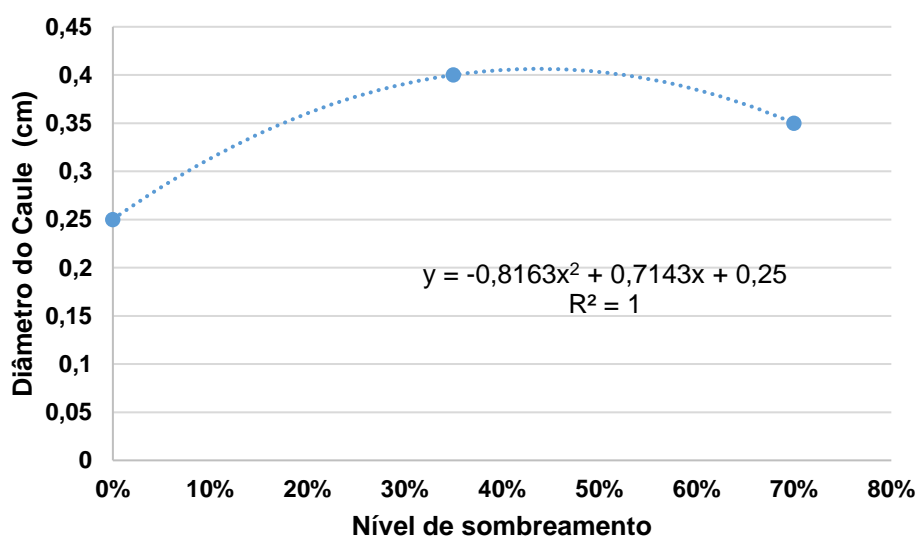


Figura 3. Valores médios obtidos para a variável diâmetro do caule (DC) em função dos diferentes níveis de sombreamento.

Verifica-se que as mudas produzidas no nível de sombreamento de 35% apresentaram caules de maior diâmetro (0,4 cm), enquanto que as mudas sob sombreamento de 70% apresentaram diâmetro de 0,3 cm. Por outro lado, as mudas expostas a pleno sol apresentaram caules de menor diâmetro (0,25 cm).

Os resultados estão de acordo com os encontrados por Mengarda et al. (2014), os quais observaram que a exposição a pleno sol foi desfavorável para mudas de mamão genótipo Golden THB em relação a variável diâmetro do caule.

Ainda, Frigotto et al. (2015) verificaram que as mudas de paricá cultivadas em ambiente a pleno sol obtiveram um rendimento inferior as que estavam conduzidas sob sombreamento de 75%. O autor explica que esse fato se deve as plantas terem ficado expostas aos intemperes no ambiente a pleno sol.

Por outro lado, Scalon et al. (2000) constataram que o diâmetro do caule de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) cultivadas a pleno sol foram similares em termos estatísticos ao nível de 70% de sombreamento, porém apresentaram-se superiores aos das mudas sob sombreamento de 50%.

Os resultados obtidos para esta variável, provavelmente, devem-se ao fato de que as mudas ao pleno sol, expostas aos fatores climáticos, principalmente aos ventos, que podem ter causado maiores perdas de água, dificultando às plantas executarem seus processos fisiológicos satisfatoriamente e em consequência afetando seu desenvolvimento (COSTA et al., 2009).

3.4 MASSA SECA DA PARTE AÉREA

A influência dos diferentes níveis de sombreamento sob a massa seca da parte aérea (MSPA) para a cultura do mamão pode ser visualizada na figura 4.

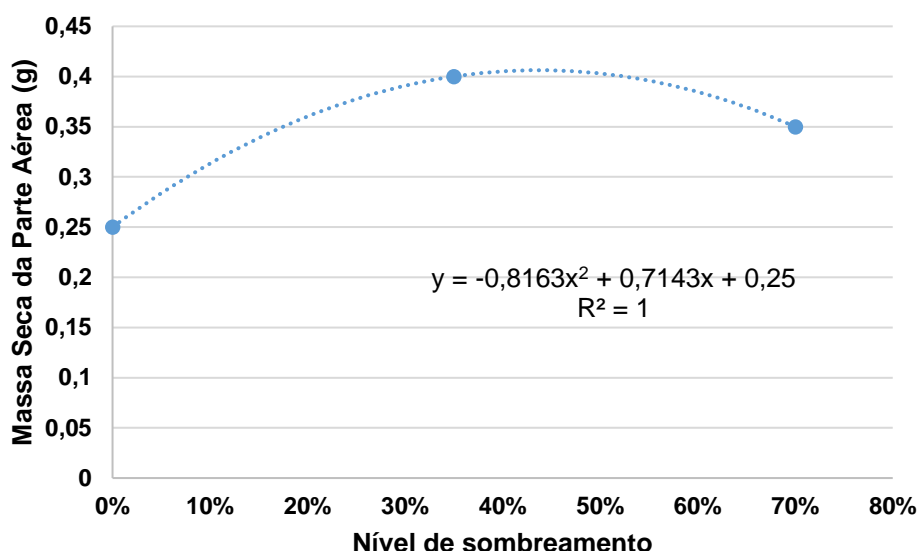


Figura 4. Valores médios obtidos para a variável massa seca da parte aérea (MSPA) em função dos diferentes níveis de sombreamento.

O nível de sombreamento de 35% proporcionou a maior média (0,32 g), seguido do nível de sombreamento de 70%, os quais apresentaram valores superiores ao tratamento a pleno sol. Resultados similares foram encontrados por Mengarda et al. (2014), que observaram que mudas de mamoeiro apresentaram baixa massa seca da parte aérea em condições de pleno sol.

Linzmeier (2011), também observou que o menor peso da massa seca da parte aérea em mudas de ocotea imbuia (*Ocotea porosa*) conduzidas a pleno sol, já as submetidas em diferentes níveis de sombreamento apresentaram resultados exitosos.

Em relação à massa seca total, Carvalho et al. (2006), também verificaram que as plantas de licuri submetidas a 30% de luz tiveram maior produção de massa seca quando comparadas com as mudas a pleno sol.

Melo et al. (2007) afirmam que a altura da planta e o diâmetro do caule têm maior expressão na formação de fitomassa da parte aérea em mudas de mamoeiro, fato observado neste experimento, onde as mudas conduzidas sob sombreamento apresentaram maior altura e maior diâmetro do caule e conseqüentemente, maior matéria seca da parte aérea. Dardengo et al. (2014) ressaltam que a qualidade das mudas mantidas a pleno sol é inferior ao obtido nos níveis de sombreamento.

3.5 TEOR DE CLOROFILA

A determinação dos teores de clorofila das folhas é de suma importância, uma vez que a atividade fotossintética da planta depende, em parte, da capacidade da folha para absorver luz (SALLA et al., 2007). Os teores dos pigmentos fotossintéticos estão apresentados na figura 5.

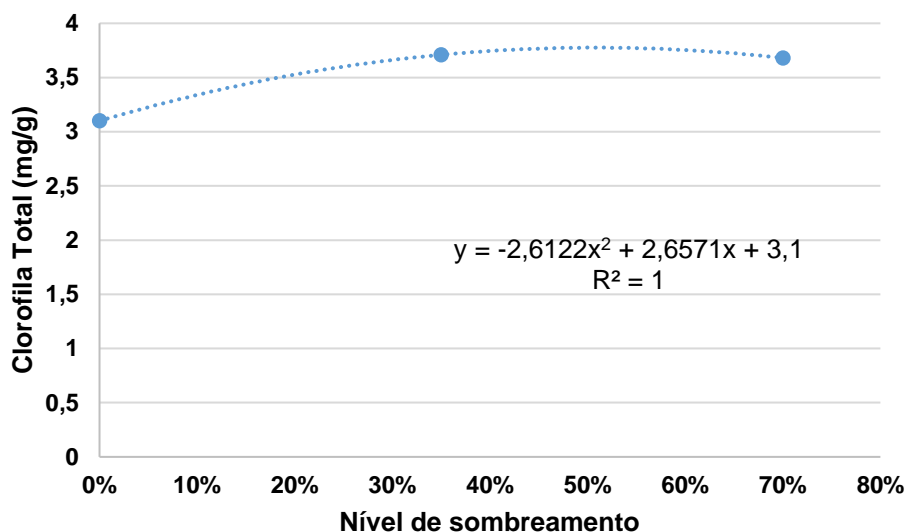


Figura 5. Valores médios do teor de clorofila (TC) em função dos diferentes níveis de sombreamento.

Os teores de clorofila das mudas cultivadas em ambiente com 35% e 70% de sombreamento foram mais elevados que as produzidas a pleno sol, que obtiveram a menor média (3,1 mg/g).

Albuquerque et al. (2015) verificaram que mudas de castanheira do Brasil, cultivadas em sombreamento de 25% e 50% apresentaram teores maiores de clorofila quando comparadas à condição de pleno sol. Segundo os autores, as folhas de sombra concentram mais clorofila para se adaptarem ao ambiente sombreado.

Zanella et al. (2006) em experimento com a cultura do maracujazeiro amarelo encontraram menores teores de clorofila em mudas cultivadas na condição de pleno sol e observaram ainda que houve aumento do teor de clorofila à medida que se intensificou o nível de sombreamento. Comportamento semelhante ao encontrado por Marçal et al. (2014) em mudas de tangerina “Cleópatra” submetidas a diferentes níveis de sombreamento.

De acordo com Marengo e Jesus (2008) as clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente com seu crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes.

Os resultados obtidos são justificados por Pinto et al. (2007) pois afirma que esta é uma fundamental característica adaptativa das plantas, que a torna mais eficiente em condições ambientais de baixa intensidade de luz, onde a relação clorofila a/b está diretamente associada com a capacidade das plantas em potencializar a captura de luz em condições de maior sombreamento.

4. CONCLUSÃO

1- A altura das plantas, o número de folhas, o diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea foram influenciados pelos diferentes níveis de sombreamento. Assim, tratamentos com 35% e 70% de sombreamento apresentaram melhores condições para o crescimento e desenvolvimento das mudas.

2- As mudas cultivadas nos níveis de sombreamento de 35% e 70% apresentaram maior teor de clorofila.

3- A qualidade das mudas mantidas a pleno sol é inferior às expostas aos demais níveis de sombreamento.

4- Os ambientes de 35% e 70% de sombreamento mostraram-se adequados para a produção de mudas de mamoeiro.

5. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, T. C. S.; EVANGELISTA, T. C.; ALBUQUERQUE NETO, A. A. R. Níveis de sombreamento no crescimento de mudas de castanheira do Brasil. **Revista Agro@ambiente**, v. 9, n. 4, p. 440-445, 2015.

ALMEIDA, U. O.; ANDRADE NETO, R. D. C.; ARAUJO, J. M.; COSTA, D. A.; TEIXEIRA JÚNIOR, D. L. Fertilizantes de liberação lenta na produção de mudas frutíferas. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.6, n.1, p. 518-527, 2019.

ARAÚJO, H. F.; NUNES, E. F.; BETIN, P. S.; LEAL, P. A. M. Qualidade físico-química de frutos de tomateiro cereja em sistema orgânico sob diferentes formas de cultivo e níveis de biofertilizante em casa de vegetação/Physico-chemical quality of fruits of cherry tomato on

organic system in different forms of cultivation and biofertilizer levels in greenhouses. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 21863-21870, 2020.

ARAUJO, J. R. G.; ARAÚJO JÚNIOR, M. M.; MENEZES, R. H. N. D.; MARTINS, M. R.; LEMOS, R. N. S. D.; CERQUEIRA, M. C. M. Efeito do recipiente e ambiente de cultivo sobre o desenvolvimento de mudas de mamoeiro cv. sunrise solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 526-529, 2006.

BENASSI, A. C.; DURIGAN, J. F.; GOES, A.; NATALE, W.; RUGGIERO, C. **Panorama da cultura do mamão no Brasil e no mundo: situação atual e tendências**. In: MARTINS, D. S. *Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno*. Incaper: Vitória, 2015.

CARVALHO, N. O. S.; PELACANI, C. R.; RODRIGUES, M. O. D. S.; CREPALDI, I. C. Crescimento inicial de plantas de licuri (*Syagrus coronata* (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 351-357, 2006.

CASTRO JÚNIOR, W. L. **Análise técnico-econômica de tecnologias de manejo de irrigação na produção de feijão-caupi na região dos Cocais – MA**. (Tese) Doutorado em Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais, 2012.

COSTA, E., LEAL, P. A. M., SANTOS, L. C. R. D., VIEIRA, L. C. R. Crescimento de mudas de mamoeiro conduzidas em diferentes ambientes protegidos, recipientes e substratos na região de Aquidauana, Estado do Mato Grosso do Sul. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 463-470, 2010.

COSTA, E.; RODRIGUES, E. T.; ALVES, V. B.; SANTOS, L. C. R. D.; VIEIRA, L. C. R. Efeitos da ambiência, recipientes e substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro-amarelo em Aquidauana-MS. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 236-244, 2009.

COSTA, E.; MESQUITA, V. D. A. G.; LEAL, P. A. M.; FERNANDES, C. D.; ABOT, A. R. Formação de mudas de mamão em ambientes de cultivo protegido em diferentes substratos. **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 679-685, 2010.

DARDENGO, M. C. J.; SOUSA, E. F. D.; REIS, E. F. D.; GRAVINA, G. D. A. Crescimento e qualidade de mudas de café conilon produzidas em diferentes recipientes e níveis de sombreamento. **Coffee Science**, v. 8, n. 4, p. 500-509, 2014.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

FARIA, A. R. N.; NORONHA, A. D. S.; OLIVEIRA, A. A. R.; OLIVEIRA, A. M. G.; CARDOSO, C. E. L.; RITZINGER, C. H. S. P.; et al. **A cultura do mamão**. 3ª ed. Área de Informação da Sede-Colec Criar, Plantar, ABC, 2009.

FIGUEIREDO NETO, A.; OLIVIER, N. C.; ROJAS, A. B.; SILVA, J. C.; PADILHA, C. Avaliação pós-colheita de mamão variedade Formosa submetido a danos mecânicos e ensaios de compressão durante o armazenamento. **Revista Ciências Técnicas Agropecuárias**, v. 22, n. 2, p. 5-10, 2013.

FRIGOTTO, T.; BRUN, E. J.; MEZZALIRA, C. C.; NAVROSKI, M. C.; BIZ, S.; RIBEIRO, R. R. Desenvolvimento de mudas de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke em diferentes

ambientes em viveiro. **Revista Ecologia e Nutrição Florestal-ENFLO**, v. 3, n. 1, p. 9-17, 2015.

LENHARD, N. R.; PAIVA NETO, V. B. D.; SCALON, S. D. P. Q.; ALVARENGA, A. A. D. Crescimento de mudas de pau-ferro sob diferentes níveis de sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 178-186, 2013.

LIMA, J. F.; PEIXOTO, C. P.; LEDO, C. A. D. S. Índices fisiológicos e crescimento inicial de mamoeiro (*Carica papaya* L.) em casa de vegetação. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1358-1363, 2007.

LINDER, S. A proposal for the use of standardized methods for chlorophyll determinations in ecological and eco-physiological investigations. **Physiologia Plantarum**, v. 32, n. 2, p. 154-156, 1974.

LINZMEIER, D. M. **Desenvolvimento de mudas de *Cedrela fissilis*, *Ocotea porosa* e *Vitex megapotamica* sob diferentes luminosidades**. (Dissertação) Mestrado em em Ciências Florestais, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Irati, Paraná, 2011.

MARÇAL, T. D. S.; MARTINS, M. Q.; COELHO, R. I.; AMARAL, J. A. T.; FERREIRA, A. Emergência e crescimento inicial de plântulas de tangerineira 'Cleópatra' submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Nucleus**, v. 11, n. 1, p. 7-14, 2014.

LENHARD, N. R.; PAIVA NETO, V. B. D.; SCALON, S. D. P. Q.; ALVARENGA, A. A. D. Crescimento de mudas de pau-ferro sob diferentes níveis de sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 2, p. 178-186, 2013.

MARENCO, R. A.; JESUS, S. V. D. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta amazônica**, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

MELO, A. S. D.; COSTA, C. X.; BRITO, M. E. B.; VIÉGAS, P. R. A.; SILVA JÚNIOR, C. D. D. Produção de mudas de mamoeiro em diferentes substratos e doses de fósforo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.2, n.4, p.257-261, 2007.

MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; BUFFON, R. B. Emergência e vigor de mudas de genótipos de mamoeiro em função da irradiância. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 3, p. 325-333, 2014.

MESQUITA, M. D. S.; GONÇALVES, C. A. A.; CRUZ, VANESSA A.; MASSON, G. A.; ALVAREZ M. C.; COSTA, L. L. Avaliação centesimal e sensorial da geleia de morango com adição de semente de mamão (*C. papaya*). **Anais do Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica-SEPIT**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2017.

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G. D.; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, A. B. D. Acclimatization of micropropagated pineapple plants cv." Pérola": substrata effect. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 875-879, 2006.

PADUA, T. R. P. **Plano estratégico para a cultura do mamoeiro 2017-2021**. 1ª ed. Cruz das Almas, 2019.

PINTO, J. E. B. P. et al. Aspectos morfofisiológicos e conteúdo de óleo essencial de plantas de alfazema-do-Brasil em função de níveis de sombreamento. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 2, p. 210-214, 2007.

- PURQUERIO, L. F. V.; TIVELLI, S. W. Manejo do ambiente em cultivo protegido. **Codeagro**, v. 1, n.1, p. 15-29, 2006.
- ROBERTO, S. R.; COLOMBO, L. A.; ASSIS, A. M. Revisão: cultivo protegido em viticultura. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2011.
- SALLA, L.; RODRIGUES, J. C.; MARENCO, R. A. Teores de clorofila em árvores tropicais determinados com o SPAD-502. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. sup. 2, p.159-161, 2007.
- SANTI, A.; SCARAMUZZA, W. L. M. P; SOARES, D. M. J; JOSÉ F.; SCARAMUZZA, R. D.; KRAUSE W; TIEPPO, R. C. Desempenho e orientação do crescimento do pepino japonês em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 649-653, 2013.
- SCALON, S. D. P. Q.; SCALON FILHO, H. O. M. E. R. O.; RIGONI, M. R.; VERALDO, F. Germinação e crescimento de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 652-655, 2001.
- SILVA, I. A fruticultura e sua importância econômica, social e alimentar. **Anais Sintagro**, v. 11, n. 1, p. 3-10, 2019.
- SIVAKUMAR, D.; WALL, M. M. Papaya fruit quality management during the postharvest supply chain. **Food Reviews International**, v. 29, n. 1, p. 24-48, 2013.
- SUDAM, D. D. **Projeto de Hidrologia e Climatologia da Amazônia**. 1ª ed. Belém, 1984.
- ZANELLA, F.; SONCELA, R.; LIMA, A. S. Formação de mudas de maracujazeiro “amarelo” sob níveis de sombreamento em Ji-Paraná/RO. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 880-884, 2006.

ORGANIZADORES



Marcos Silveira

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Londrina (1989), Mestrado em Botânica pela Universidade Federal do Paraná (1993) e Doutorado em Ecologia pela Universidade de Brasília (2001). Atualmente é professor titular da Universidade Federal do Acre, onde é docente efetivo desde 1992. Ele atua no curso de graduação em Ciências Biológicas e no doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia, onde ministra disciplinas das áreas de botânica e biodiversidade e coordena cursos de extensão, treinamentos, oficinas e eventos relacionados com a botânica, a ecologia e ciência cidadã. Ele também coordena o núcleo regional do Programa de Pesquisa em Biodiversidade, participa de redes nacionais e internacionais de pesquisa e atua em projetos relacionados com florística e botânica sistemática, estrutura e dinâmica florestal, e conservação dos recursos naturais, que resultaram na publicação de artigos científicos, livros e capítulos de livros, e em entrevistas e reportagens.



Edson da Silva

Possui graduação em Fisioterapia pela Fundação Educacional de Caratinga (2001). Obteve seu título de Mestre (2007) e o de Doutor em Biologia Celular e Estrutural pela Universidade Federal de Viçosa (2013). É especialista em Educação em Diabetes pela Universidade Paulista (2017), em Tecnologias Digitais e Inovação na Educação pelo Instituto Prominas (2020) e Pós-Graduando em Games e Gamificação na Educação (2020). Realizou cursos de aperfeiçoamento em Educação em Diabetes pela ADJ Diabetes Brasil, International Diabetes Federation e Sociedade Brasileira de Diabetes (2018). É docente da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), desde 2006, lotado no Departamento de Ciências Básicas (DCB) da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS). Ministra disciplinas de Anatomia Humana para diferentes cursos de graduação. No Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Ambiente atua na linha de pesquisa Educação, Saúde e Cultura. É vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, no qual atua nas áreas de Nutrição e Saúde Coletiva. É líder do Grupo de Estudo do Diabetes credenciado pelo CNPq no Diretório dos Grupos de Pesquisa no Brasil. Desde 2006 desenvolve ações interdisciplinares de formação em saúde mediada pela extensão universitária, entre elas várias coordenações de projetos locais, além de projetos desenvolvidos em Operações do Projeto Rondon com atuações nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. É membro da Sociedade Brasileira de Diabetes, membro de corpos editoriais e parecerista ad hoc de revistas científicas nacionais e internacionais da área de ciências biológicas, de saúde e de educação. Tem experiência na área da Saúde, atuando principalmente nos seguintes temas: Anatomia Humana; Diabetes Mellitus; Processos Tecnológicos Digitais e Inovação na Educação em Saúde; Educação, Saúde e Cultura.



Renato Abreu Lima

Possui graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado) pelo Centro Universitário São Lucas (2009); Especialista em Gestão Ambiental pela mesma instituição (2010); Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente pela Universidade Federal de Rondônia – UNIR (2011) e Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia, REDE BIONORTE, pela Universidade Federal do Amazonas - UFAM (2016). Professor do Magistério Superior na graduação (Ciências: Biologia e Química) e na pós-graduação (Ciências Ambientais e Ensino de Ciências e Humanidades) no Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente (IEAA/UFAM) em Humaitá-AM, atuando nas áreas de Botânica, Plantas Medicinais e Biotecnologia. É Membro da Sociedade Botânica do Brasil (SBB). CRBio-6 sob nº 073096/AM-D.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abacaxi: 145, 147, 149, 151, 152, 153 e 155;

Aedes: 31, 101, 102, 103, 104, 106, 108, 109, 110 e 111.

Agricultura: 11, 13, 15, 18, 21, 89, 90 e 173.

Água Subterrânea: 201, 211, 212, 213, 215, 221 e 223.

Alcaloides: 59, 60, 67 e 97.

Amazônia: 29, 31, 37, 38, 60, 74, 126, 188, 190, 196, 202, 203, 207, 210, 211, 214, 215, 217, 218, 227, 245, 247, 248, 250, 253, 260, 270, 281 e 285.

Ambiente Protegido: 291 e 292.

Análise Fatorial: 95, 188, 189, 190, 192, 195, 196, 204, 206, 207 e 273.

Annona muricata: 158, 159, 160, 161, 162, 164, 166 e 167.

Anopheles: 29, 31, 32, 33, 35, 36, 37, 67, 101, 102, 103, 104, 106, 108, 109 e 110.

Atividade Antibacteriana: 41, 43, 44, 48, 50 e 51.

B

Bioativos: 47, 53, 59, 60 e 97.

Biocompósito: 132, 134, 136, 140, 141 e 142.

Biodiversidade: 14, 15, 45 e 136.

Biomarcadores: 136, 171, 173, 176 e 182.

Biotecnologia: 11.

C

Câncer: 122, 125, 127, 172, 173, 175, 181, 225, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262 e 263.

Citotoxicidade: 70 e 174.

Controle Alternativo: 89 e 109.

Controle Biológico: 14, 18, 29 e 37.

Controle Químico: 70.

COVID-19: 267, 268, 271, 272, 274, 275, 277, 278, 282 e 286.

D

Dengue: 101, 102, 103, 104, 214 e 224.

Diversidade Microbiana: 11, 14 e 22.

E

Elucidação-Estrutural: 59.

Energia Renovável: 231.

Estudos Interdisciplinares: 188, 191 e 207.

F

Fitoterapia: 45 e 158.

Fotovoltaico: 231, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 241, 243 e 244.

Frutífera: 291 e 293.

G

Garcinia: 101, 102, 103, 104, 106, 107, 108, 109 e 110.

Genotoxicidade: 171, 173, 174, 175, 176 e 177.

Geoepidemiologia: 245.

Geração Solar: 231.

I

Inseticida: 72, 89, 97, 98, 101, 103, 104, 107 e 111.

Insetos Pragas: 89.

J

Jambu: 70, 71 e 72.

M

Malária: 29, 31, 37, 38, 67, 101, 102, 103, 104 e 125.

Manejo Integrado: 29 e 38.

Miosite: 145, 146, 147, 149, 150, 151, 152, 153 e 155.

Multi-ômicas: 11, 13, 18, 20 e 22.

Mutagenicidade: 171, 174, 175 e 176.

N

Nitrato: 135, 210, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 221, 222, 223, 224, 225, 226 e 227.

O

Ocimum gratissimum: 41, 42, 43, 44, 47, 48, 49, 50, 51, 52 e 53.

P

Plantas Medicinais: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 53, 134, 142, 146 e 160.

Q

Queimaduras: 132, 133, 134, 138, 139, 141 e 142.

R

Reparação tecidual: 145, 154, 158 e 164.

S

Saúde e Meio Ambiente: 188, 191, 202, 203 e 207.

Sistema Isolado: 231 e 235.

SRQ-20: 267, 268, 271, 272, 273, 274, 276, 277, 279, 280, 281, 284, 285 e 286.

T

Tendinite: 141, 150, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 166, 167 e 168.

Trastornos Mentais Comuns: 267.

V

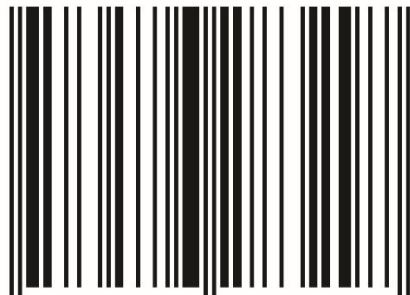
Vetores: 29, 30, 31, 32, 37, 38, 71, 101, 103, 104, 109 e 293.

X

Ximenia americana: 132, 133 e 134.

ISBN: 978-65-86283-29-7

BR



9 786586 283297

DOI: 10.35170/ss.ed.9786586283297