

Ednilson Sergio Ramalho de Souza
(Editor)

VOLUME 3



PESQUISAS EM TEMAS DE CIENCIAS BIOLOGICAS



Rfb
Editora

VOLUME 3



**PESQUISAS EM TEMAS DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Copyright © 2021 da edição brasileira.
by RFB Editora.

Copyright © 2021 do texto.
by Autores.

Todos os direitos reservados.



Todo o conteúdo apresentado neste livro, inclusive correção ortográfica e gramatical, é de responsabilidade do(s) autor(es).

Obra sob o selo *Creative Commons*-Atribuição 4.0 Internacional. Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original.

Conselho Editorial:

Prof. Dr. Ednilson Sergio Ramalho de Souza - UFOPA (Editor-Chefe).

Prof.^a Dr.^a. Roberta Modesto Braga - UFPA.

Prof. Dr. Laecio Nobre de Macedo - UFMA.

Prof. Dr. Rodolfo Maduro Almeida - UFOPA.

Prof.^a Dr.^a. Ana Angelica Mathias Macedo - IFMA.

Prof. Me. Francisco Robson Alves da Silva - IFPA.

Prof.^a Dr.^a. Elizabeth Gomes Souza - UFPA.

Prof.^a Dra. Neuma Teixeira dos Santos - UFRA.

Prof.^a Me. Antônia Edna Silva dos Santos - UEPA.

Prof. Dr. Carlos Erick Brito de Sousa - UFMA.

Prof. Dr. Orlando José de Almeida Filho - UFSJ.

Prof.^a Dr.^a. Isabella Macário Ferro Cavalcanti - UFPE.

Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares - UFPI.

Prof.^a Dr.^a. Welma Emidio da Silva - FIS.

Diagramação:

Danilo Wothon Pereira da Silva.

Design da capa:

Priscila Rosy Borges de Souza.

Imagens da capa:

www.canva.com

Revisão de texto:

Os autores.

Bibliotecária:

Janaina Karina Alves Trigo Ramos

Assistente editorial:

Manoel Souza.



Home Page: www.rfbeditora.com.

E-mail: adm@rfbeditora.com.

Telefone: (91)98885-7730.

CNPJ: 39.242.488/0001-07.

R. dos Mundurucus, 3100, 66040-033, Belém-PA.

Ednilson Sergio Ramalho de Souza
(Editor)

Volume 3

PESQUISAS EM TEMAS DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Edição 1

Belém-PA



2021

<https://doi.org/10.46898/rfb.9786558891079>

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

P474

Pesquisas em temas de ciências biológicas [recurso digital] / Ednilson Sergio Ramalho de Souza (Editor). -- 1. ed. 3 vol. -- Belém: RFB, 2020.
3677 kB; PDF: il.
Bibliografia.
Modo de acesso: Wold Wide Web.

ISBN: 978-65-5889-107-9

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079

1. Ciências Biológicas. 2. Pesquisa. 3. Estudo.
I. Título.

CDD 570.7



SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	9
Ednilson Sergio Ramalho de Souza	

CAPÍTULO 1

ESTUDO MORFOLÓGICO DO FORAME JUGULAR: UMA REVISÃO SOBRE OS PRINCIPAIS ACHADOS ANATÔMICOS	11
---	-----------

Daniel Lopes Araújo
Bruno Abilio da Silva Machado
Leandro Luiz da Silva Loures
Laise Pereira da Silva Brito
Ludymilla de Lima Silva
Juliana Guedes Moura
José Eduardo da Silva Campos
Maria Vitória Candeia de Andrade Laurindo
Lucas de Carvalho Siqueira
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.1

CAPÍTULO 2

ORIENTAÇÕES DE USO, LIMPEZA E MANUTENÇÃO DE MICROSCÓPIOS	19
---	-----------

Jonny Erick dos Santos Ferreira
Adryand Cesary Pinheiro Coelho
Herminio Benítez Rabello Mendes
Regilza Rodrigues de Carvalho
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.2

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE CENTROSEMA CORIACEUM (FABACEAE) CONTRA PARASITAS GASTROINTESTINAIS DE LAGARTOS: ESTUDO IN VITRO.....	37
--	-----------

Ellen De Carvalho
Ari Sérgio. O. Lemos
Fabiano M. Vieira
Luciana M. Chedier
Rodrigo L. Fabri
Bernadete M. De Sousa
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.3

CAPÍTULO 4

RELAÇÃO DA TESTOSTERONA, GORDURA CORPORAL E DESEMPENHO EM SALTO VERTICAL	53
---	-----------

José Morais Souto Filho
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.4

CAPÍTULO 5

UM ESTUDO LITERÁRIO DA IMPORTÂNCIA DA MICROBIOLOGIA NA SAÚDE PÚBLICA DO BRASIL.....	63
--	-----------

Gardjany da Costa Moreira
Gleidiany da Costa Moreira
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.5

CAPÍTULO 6

EFEITO DO FITORREGULADOR ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *ALLOPHYLUS EDULIS* (A. ST.-HIL., CAMBESS. & A. JUSS.) RADLK E *PRUNUS MYRTIFOLIA* (L.) URBAN71

Letiele Bruck de Souza
Amanda Leitão Gindri
Maurício Ricardo de Melo Cogo
Tiago Silveira Ferrera
Viviane Dal-Souto Frescura
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.6

CAPÍTULO 7

ESTUDO DAS CONCHAS UTILIZADAS PELOS POVOS INDÍGENAS SAMBAQUIANOS NO SÍTIO ARQUEOLÓGICO DA PRAIA DA VILA EM IMBITUBA - SC.....81

Thiago Domingos Marques
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.7

CAPÍTULO 8

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE AGENTES PATÓGENOS.....99

Daniel Lopes Araújo
Bruno Abilio da Silva Machado
Hudson Avelar Caminha Leal
Emanuel Osvaldo de Sousa
Allan Bruno Alves de Sousa Santos
Larissa de Lima Machado Bandeira
Sarah Maria Osório de Carvalho
José Eufrazino Júnior
João Eduardo Gomes de Oliveira
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.8

CAPÍTULO 9

AÇÃO ANTIOFÍDICA DAS SEMENTES DE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS* (QUIABO) FRENTE A VENENOS DE COBRAS DO GÊNERO *BOTHROPS* SP. E *CROTALUS* SP.....111

Rodrigo Luiz Fabri
Karollina Chaves Ferreira
Laura Moraes de Oliveira
Thalita de Freitas Souza
Thayná Gomes Ferreira
Priscila de Lima Paula
Ari Sérgio de Oliveira Lemos
Lara Melo Campos
Irley Olívia Mendonça Diniz
Natasha Silva Mayrink
Luciana Moreira Chedier
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.9

CAPÍTULO 10

SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE *Potimirim brasiliiana* (VILLALOBOS, 1959) EM DIFERENTES SALINIDADES.....125

Vinicius de Paula Coelho
Anna Julia Justi Molinari
Nilo da Silva Nunes Pirovani



Gilson da Silva Filho
Bruno de Lima Preto
DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.10



APRESENTAÇÃO

Prezad@s,

Satisfação! Esse é o sentimento que vem ao meu ser ao escrever a apresentação deste delicioso livro. Não apenas porque se trata do volume 3 da Coleção Pesquisas em Temas de Ciências Biológicas, publicado pela RFB Editora, mas pela importância que essa área possui para a promoção da qualidade de vida das pessoas.

Segundo a Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), fazem parte dessa área: OCEANOGRAFIA, BIOLOGIA GERAL, GENÉTICA, BOTÂNICA, ZOOLOGIA, MORFOLOGIA, FISIOLOGIA, BIOQUÍMICA, BIOFÍSICA, FARMACOLOGIA, IMUNOLOGIA, MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA, ECOLOGIA. Tal área suscita, portanto, uma gama de possibilidades de pesquisas e de relações dialógicas que certamente podem ser relevantes para o desenvolvimento social brasileiro.

Desse modo, os artigos apresentados neste livro - em sua maioria frutos de árduos trabalhos acadêmicos (TCC, monografia, dissertação, tese) - decerto contribuem, cada um a seu modo, para o aprofundamento de discussões na área de Ciências Biológicas; pois são pesquisas germinadas, frutificadas e colhidas de temas atuais que vêm sendo debatidos nas principais universidades brasileiras e que refletem o interesse de pesquisadores no desenvolvimento social e científico que possa melhorar a qualidade de vida de homens e de mulheres.

Acredito, verdadeiramente, que a ampla divulgação do conhecimento científico de qualidade pode mudar para melhor o mundo em que vivemos!

Esse livro é parte singela da materialização dessa utopia.

Ednilson Sergio Ramalho de Souza

Editor-Chefe

RFB Editora



CAPÍTULO 1

ESTUDO MORFOLÓGICO DO FORAME JUGULAR: UMA REVISÃO SOBRE OS PRINCIPAIS ACHADOS ANATÔMICOS

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE JUGULAR FORAMEN: A REVIEW OF THE MAIN ANATOMICAL FINDINGS

*Daniel Lopes Araújo¹
Bruno Abilio da Silva Machado²
Leandro Luiz da Silva Loures³
Laise Pereira da Silva Brito⁴
Ludymilla de Lima Silva⁵
Juliana Guedes Moura⁶
José Eduardo da Silva Campos⁷
Maria Vitória Candeia de Andrade Laurindo⁸
Lucas de Carvalho Siqueira⁹*

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.1

¹ Graduado em Radiologia pelo Centro Universitário de Patos.
² Graduado em Radiologia pelo Centro Universitário Maurício de Nassau.
³ Bacharel em Nutrição pela Universidade Federal de Juiz de Fora.
⁴ Graduada em Enfermagem pela Universidade Estadual do Piauí.
⁵ Graduanda em Biomedicina pela Faculdade Evangélica de Ceres.
⁶ Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí.
⁷ Graduando em Psicologia pela Universidade Federal de Campina Grande.
⁸ Graduanda em Odontologia pelo Centro Universitário de Patos.
⁹ Graduando em Nutrição pelo Centro Universitário de Patos.

RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi analisar a caracterização do forame jugular, bem como suas interfaces e estruturas constituintes através de uma revisão de literatura. A presente pesquisa trata-se de uma revisão bibliográfica, onde foram feitas buscas por artigos científicos nas plataformas virtuais Google Acadêmico, Scielo e PubMed. Os resultados diante da pesquisa puderam evidenciar que a região anatômica do forame jugular é uma área muito sujeita a variações anatômicas, além de ser uma região muito importante por ser passagem de veias que fazem a dinâmica de irrigação e drenagem do cérebro. Portanto, é perceptível a importância do estudo de FJ, por o mesmo ser considerado por médicos especialistas da área como uma região difícil de realizar procedimentos cirúrgicos, dessa maneira, estudos nessa temática podem contribuir para um maior conhecimento perante essa configuração morfológica.

Palavras-chave: Forame jugular. Veias jugulares. Base do crânio. Nervo acessório.

ABSTRACT

The objective of this research was to analyze the characterization of the jugular foramen as well as its interfaces and constituent structures through a literature review. This search is a bibliographic review, where scientific articles were searched on the virtual platforms Google Academic, Scielo and PubMed. The results of the search showed that the anatomical region of the jugular foramen is an area very subject to anatomical variations, besides being a very important region because it is the passage of veins that make the dynamics of irrigation and drainage of the brain. Therefore, it is noticeable the importance of the study of FJ, for it is considered by doctors specialists in the area as a difficult region to perform surgical procedures, in this way, studies in this thematic can contribute to a greater knowledge in face of this morphological configuration.

Keywords: Jugular foramen. Jugular veins. Skull base. Accessory nerve.

1 INTRODUÇÃO

O forame jugular é uma estrutura anatômica que vem da origem de uma abertura na fissura petro-occipital estabelecida pela união do fragmento petroso do osso temporal e a borda lateral do osso occipital. Sua localização na base do crânio, de forma lateral ao forame magno, posteriormente e medial ao processo estiloíde do osso temporal, lateral e posterior ao canal carotídeo e lateral ao canal do nervo hipoglosso (LV, 2015).

A veia jugular interna, que é a via responsável pela drenagem venosa do cérebro, e outros três tipos de nervos cranianos, são eles: o nervo vago, também recebe a

nomenclatura de nervo craniano X, nervo acessório ou craniano XI e o nervo glossofaringeo ou o nervo craniano IX, fazem a passagem pelo forame jugular para chegar até a região do pescoço (TUBBS et al., 2015).

Diante de tantos detalhes tão complexos nessa configuração anatômica acaba fazendo com que procedimentos cirúrgicos se tornem bem difíceis e delicados, já que, as correlações que envolvem essa estrutura são de grande interesse no que se diz respeito a cirurgia de cabeça e pescoço (OLIVEIRA NETO et al., 2019).

É de suma importância o entendimento de forma delineada das estruturas anatômicas do crânio e sua incidência no ser humano pelos anatomistas e médicos clínicos/cirurgiões para sua prática profissional. É necessário compreender também a dinâmica que envolve esta estrutura, nos seus mais diversos parâmetros, craniométricos, morfológicos e radiográficos, pois esses processos podem ajudar a desenvolver novas abordagens para compreender melhor uma estrutura considerada complexa.

Este estudo foi realizado no intuito de analisar os aspectos anatômicos do forame jugular através de uma revisão de literatura.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Devido à grande complexidade anatômica do forame magno, onde envolvem delicados e de difícil execução os procedimentos cirúrgicos nele realizados. Com o avanço tecnológico dos métodos de diagnóstico e a evolução de técnicas cirúrgicas e microcirúrgicas, abordagens no forame jugular estão sendo feitas com mais frequência. Assim, é grande importância o estudo detalhado dessa estrutura para a abordagem clínica e cirúrgica (CALDEIRA et al., 2020).

A este forame estão relacionados tumores glômicos, schwannomas, lesões metastáticas e processos inflamatórios que podem comprometer suas estruturas. Foram ainda relatadas variações em relação à forma, diâmetro (anteroposterior e médio-lateral) em um mesmo crânio e diferenças relacionadas ao gênero, a raça e à dominância de lateralidade (ISHWARKUMAR, S.; NAIDOO et al., 2015). Isso demonstra a relevância de se compreender as variações anatômicas, mensurações e incidências de estruturas no FJ para se ter um aperfeiçoado conhecimento anatômico dessa estrutura (DE OLIVEIRA et al., 2018).

3 METODOLOGIA

Esta pesquisa trata-se de um estudo de revisão de literatura, onde foram utilizados artigos científicos selecionados através de uma busca nas plataformas virtuais Scielo, Google Acadêmico e PubMed, usando as seguintes palavras-chave: forame ju-

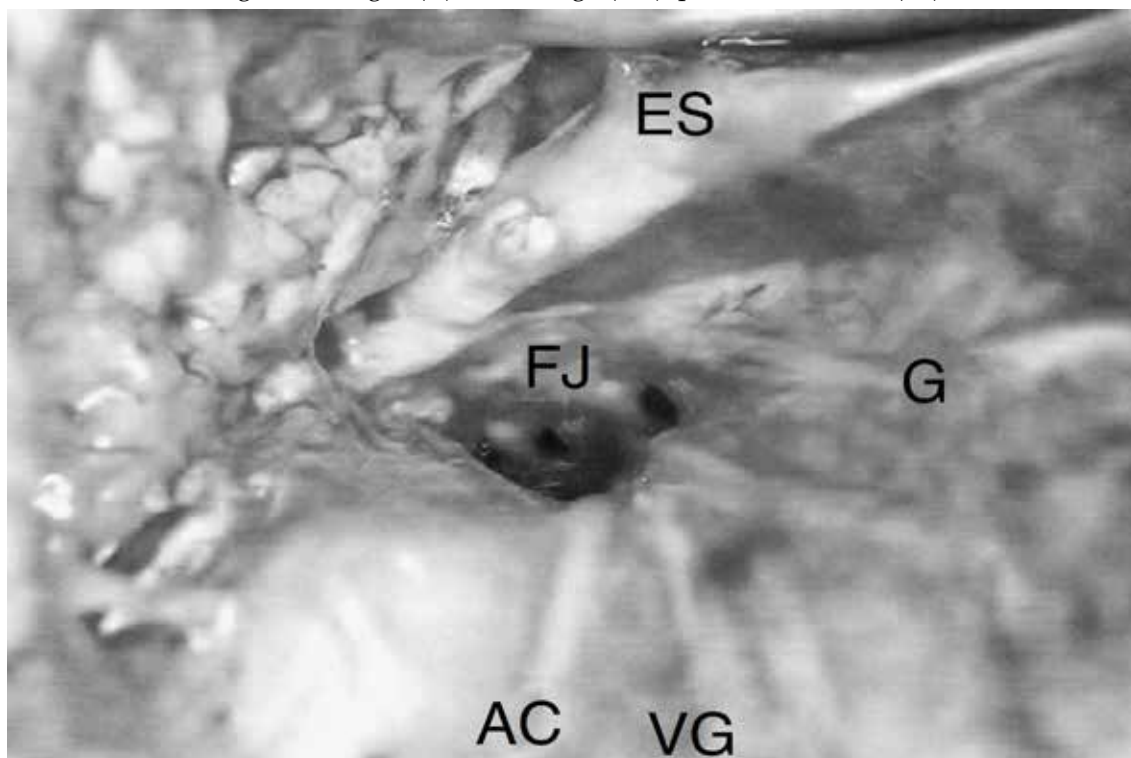
gular, veias jugulares, base do crânio e nervo acessório. A seleção e leitura desses artigos foram realizadas no período de dezembro a fevereiro de 2021. Foram utilizados como critérios de inclusão artigos completos indexados no período de 2015 até 2020 (últimos seis anos), nos idiomas português e inglês e que descrevem as características anatômicas do forame jugular, através de pesquisas como estudo de caso, relato de caso, revisões de literatura. E foram excluídos os artigos publicados anteriormente ao ano de 2015, em outros idiomas diferente dos definidos e que não tinham fundamentação teórica que abordassem a temática em questão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Considerando o forame jugular (FJ) uma estrutura importante para o estudo da base do crânio devido a sua complexa anatomia, as relações entre as estruturas neurovasculares que o atravessam, seu variado aspecto e tamanho, assim como a relevância de sua abordagem microcirúrgica em certas condições clínicas, compreender e estudar tal estrutura chama atenção de muitos neurocirurgiões, anatomistas e outros especialistas da área (PEREIRA et al., 2017).

Em um estudo recente pesquisadores da área de morfologia dissecaram 30 cadáveres adultos frescos para identificação de variações anatômicas da região do FJ. É importante salientar que foram utilizados cadáveres sadios, sem nenhum tipo de patologia na região do pescoço, para que dessa forma isso não pudesse interferir nos achados morfoanatômicos no mesmo. Na maioria dos cadáveres houve os seguintes achados: a abertura inferior do forame jugular demonstrou maior diâmetro, com variações entre 2,8 mm a 13 mm, média de 8,5 mm e desvio-padrão de 2,53 mm (figura 1), outras estruturas correlatadas com este forame foram analisadas, o nervo acessório, veia jugular, nervo vago também apresentaram variações anatômicas (FREITAS et al., 2020).

Figura 1 - Forame jugular (FJ) direito após remoção da veia jugular interna, nervo acessório (AC), nervo glossofaríngeo (G), nervo vago (VG), processo estiloide (ES).



Fonte: Freitas et al., (2020).

Estudos que compararam o FJ de diferentes grupos étnicos e diferentes locais do mundo, ao realizar a morfometria pelo aspecto exocraniano evidenciaram divergências entre as populações, isso ratifica a relevância de se fazer esse tipo de estudo e comparar com outras populações, seja de outros países, regiões, estados e até mesmo municípios (DAS, S. et al. 2016).

Devido o seio sagital superior drenar para o seio transversal direito, o diâmetro do FJ direito possivelmente é maior que o esquerdo, seu formato e dimensão estão correlacionados ao tamanho da veia jugular interna e à existência do bulbo superior da veia jugular, sendo que no embrião humano com cerca de 8 semanas já é notória a diferença no tamanho da VJI direita e esquerda, que possivelmente advém da distinta forma de desenvolvimento das veias braquiocefálicas esquerda e direita. Estes aspectos embriológicos da formação dos vasos cranianos podem explicar as diferentes morfologias e morfometrias encontradas nos diversos estudos presentes na literatura, além de possíveis variações genéticas em populações distintas (RAJKUMAR et al., 2017).

O FJ é subdividido em três compartimentos: dois venosos e um compartimento neural ou intra-jugular (PEREIRA et al., 2020). Desse modo, é de grande valia entender a relação entre estas estruturas e a frequência de sua possível compartimentalização por septo fibroso ou ósseo com o propósito de melhor se realizar sua abordagem microcirúrgica, minimizando erros pelo desconhecimento de variações anatômicas. Um

estudo com crânios humanos relatou a presença de FJ septado em 26% dos forames (13 espécimes) e septação bilateral em apenas dois (CALDEIRA et al., 2020).

Os parâmetros que envolvem técnicas radiológicas também se demonstram muito eficazes para análise do forame jugular, além disso, pode desencadear papéis importantes no que se diz respeito a doenças ou lesões na região que envolve o FJ (SALATA et al., 2019).

Desse modo, a compreensão desses aspectos anatômicos é de suma importância para o entendimento e abordagem cirúrgica das chamadas anomalias do bulbo jugular, como tumores glômicos e lesões adjacentes, os quais estão associados com o FJ e a proximidade com as estruturas que passam por ele, como a veia jugular interna (VJI), os nervos glossofaríngeo, vago e acessório, entre outras (CALDEIRA et al., 2018).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo, mesmo se tratando de uma revisão de literatura, representa uma grande importância para a comunidade científica que desenvolvem pesquisa nesse parâmetro, pois estudos que envolvem as características do FJ ainda não são tão elucidados.

Diante do exposto foi possível analisar que a anatomia do forame jugular é uma região de muitas variações e que as mesmas podem ser imprescindíveis diante do processo terapêutico ou cirúrgico de patologias que acometem aquela região e que é de suma importância que essa anatomia seja conhecida a cada detalhe, para que assim não se tenha tanta dificuldade nas abordagens deste forame.

REFERÊNCIAS

LV, Xianli; WU, Zhongxue. Anatomic variations of internal jugular vein, inferior petrosal sinus and its confluence pattern: implications in inferior petrosal sinus catheterization. **Interventional Neuroradiology**, v. 21, n. 6, p. 769-773, 2015.

CALDEIRA, João Victor Camargo et al. Mensuração do forame jugular em crânios secos provenientes da região centro-oeste do Brasil. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 5, p. 14614-14628, 2020.

TUBBS, R. Shane et al. Dural septation on the inner surface of the jugular foramen: an anatomical study. **Journal of neurological surgery. Part B, Skull base**, v. 76, n. 3, p. 214, 2015.

OLIVEIRA NETO, Olavo Barbosa de et al. **Correlações biométricas entre o forame jugular e o forame emissário mastóideo: estudo ex vivo e in silico em crânios humanos**. 2019.

ISHWARKUMAR, S.; NAIDOO, N.; LAZARUS, L.; PILLAY, P. & SATYAPAL, K. S. An osteometric evaluation of the jugular foramen. **Int. J. Morphol**, v. 33, n. 1, p. 251-254, 2015.

DAS, Sushant Swaroop; SALUJA, Sandeep; VASUDEVA, Neelam. Complete morphometric analysis of jugular foramen and its clinical implications. **Journal of craniovertebral junction & spine**, v. 7, n. 4, p. 257, 2016.

DE OLIVEIRA, Luan Fernandes Gonçalves et al. Tumor glômico da jugular em paciente jovem: relato de caso. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery**, v. 37, n. S 01, p. A1098, 2018.

FREITAS, Carlos Alberto Ferreira de et al. Estudo anatômico do forame jugular no pescoço. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 86, n. 1, p. 44-48, 2020.

PEREIRA, G. A. M. et al. Morphometric aspects of the jugular foramen in dry skulls of adult individuals in Southern Brazil. **Journal of Morphological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 0-0, 2017.

PEREIRA, Barbara Casalecchi et al. Jugular Foramen's Paraganglioma in a Patient with Von Hippel-Lindau Disease: Case Report. **Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia: Brazilian Neurosurgery**, 2020.

SALATA, Tiago Medina et al. Distúrbios da audição-achados na tomografia computadorizada e ressonância magnética: ensaio iconográfico. **Radiologia Brasileira**, v. 52, n. 1, p. 54-59, 2019.

RAJKUMAR, Prabhakaran Kattimuthu et al. Morphometric evaluation of the Jugular foramen at base of the skull in North Indian population. **International Journal of Current Research and Review**, v. 9, n. 10, p. 40-43, 2017.

CALDEIRA, João Victor Camargo et al. Morfometria e importância do forame jugular-revisão de literatura. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 7, 2018.



CAPÍTULO 2

ORIENTAÇÕES DE USO, LIMPEZA E MANUTENÇÃO DE MICROSCÓPIOS

GUIDE FOR USE, CLEANING AND MAINTENANCE OF MICROSCOPES

*Jonny Erick dos Santos Ferreira¹
Adryand Cesary Pinheiro Coelho²
Hermínio Benítez Rabello Mendes³
Regilza Rodrigues de Carvalho⁴*

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.2

¹ IEMA. <https://orcid.org/0000-0003-0838-9703>. jon.n.16@hotmail.com

² IEMA. <https://orcid.org/0000-0003-1036-9795>. adryandcpcoelho@gmail.com

³ UFMA/IEMA. <https://orcid.org/0000-0003-2240-4797>. herminio.mendes@ufma.br

⁴ IEMA. <http://lattes.cnpq.br/4900935393937079>. regilzacarvalho@gmail.com

RESUMO

Partindo de reflexões acerca de ações constantes de limpeza e manutenção de microscópios, notou-se a necessidade da criação de um documento técnico que aborde de maneira geral o uso, limpeza e manutenção de microscópios. O microscópio é um equipamento de grande utilidade no laboratório, que facilita a diferenciação e visualização de estruturas celulares. Possui componentes ópticos, que possibilitam a ampliação do campo observado, e que dão o aumento e a resolução das imagens. O objetivo desta produção, é permitir que usuários comuns, sejam instruídos através de medidas básicas e evitem ou minimizem possíveis danos durante a utilização do microscópio. Tais medidas são detalhadas de forma abrangente e vão desde a simples limpeza de partes mecânicas, até a manutenção elétrica e cuidados com o armazenamento e transporte. Desta forma, este documento visa de maneira simples instruir a utilização e estimular manutenções básicas com periodicidade e de forma correta, potencializando assim, a utilização das funções, reduzindo possíveis danos durante o uso, limpeza e armazenamento, tornando a vida útil do equipamento maior.

Palavras-chave: Laboratório. Regras. Orientações. Cuidados.

ABSTRACT

The considerations within in this document about the cleaning and maintenance of microscopes, it was noted the need to create a technical document that addresses in general the use, cleaning and maintenance of microscopes. The microscope is a very useful equipment in the laboratory, which facilitates the differentiation and visualization of cellular structures. It has optical components, which enable the enlargement of the observed field, and which increase and resolve the images. The purpose of this production is to allow ordinary users to be instructed through basic measures and to avoid or minimize possible damage during the use of the microscope. Such measures are comprehensively detailed and range from simple cleaning of mechanical parts, to electrical maintenance and care with storage and transportation. Therefore, this document aims in a simple way to instruct the use and encourage basic periodic and proper maintenance thus enhancing the use of its functions, reducing possible damage during use, cleaning and storage, making such equipment last longer.

Keywords: Laboratory. Rules. Guidelines. Care.

1 INTRODUÇÃO

Embora os equipamentos laboratoriais a cada ano tornem-se mais modernos e sofisticados, os princípios de uso, limpeza e manutenção dos microscópios ainda são os mesmos. No entanto, as regras mais elementares de utilização são frequentemente

ignoradas, comprometendo assim não só a durabilidade do equipamento, mas também a eficiência, produtividade e a impossibilidade de utilizar possíveis recursos do equipamento. Muitas vezes os microscópios que são enviados para manutenção estão apenas, com fusível queimado ou com as lentes sujas e podem ser higienizadas rapidamente. No entanto, é recomendável uma manutenção preventiva por semestre.

O Microscópio é um instrumento óptico, que faz uso da refração da luz oriunda de uma série de lentes, dotadas ou não, de filtros multicoloridos e/ou ultravioleta, para ampliar e regular estruturas invisíveis ou difíceis de serem visualizadas a olho nu (FIOCRUZ AMAZÔNIA, 2018).

A trajetória que a luz percorre desde a lâmpada do sistema de iluminação, passando pelos centros de diafragmas, condensador, objetivas, prismas e oculares é chamado de caminho óptico. Para que se possamos obter o máximo de desempenho de um microscópio óptico, cuidados especiais devem ser tomados, para que a luz, ao percorrer esse caminho, tenha o mínimo de interferência possível. A maioria das perdas na transmissão da luz é inerente das características do aparelho e para se evitar que outras perdas sejam a estas adicionadas, as devidas precauções devem ser observadas no que diz respeito à sua boa conservação (BISCEGLI et al. 1997).

Esse documento técnico é uma obra desenvolvida a partir da experiência técnica da equipe de coordenação de laboratórios do Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão - IEMA, através de formações ministradas e dos serviços de manutenção em microscópios, ao longo dos últimos 03 anos no setor. As recomendações desse documento referem-se aos microscópios de forma genérica, assim englobando a maioria dos modelos existentes nos laboratórios em geral.

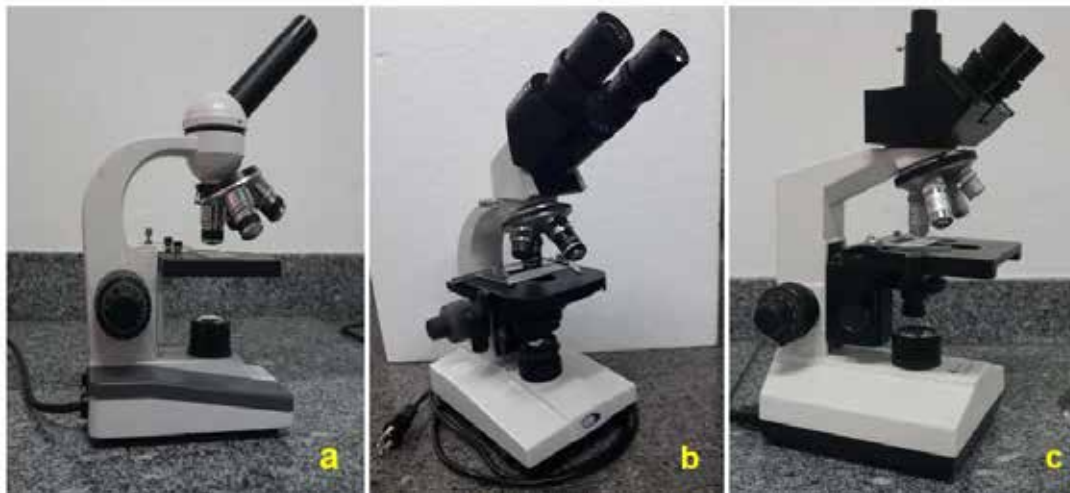
O objetivo deste documento é permitir que os usuários comuns, por meio de medidas básicas, possam realizar limpezas e manutenções básicas nos microscópios de forma autônoma. Estas medidas vão desde a simples limpeza da parte mecânica e óptica, manutenção elétrica, cuidados com o armazenamento e transporte.

2 ORIENTAÇÕES GERAIS

O microscópio é um dos equipamentos mais utilizados dentro de um laboratório, mas necessita de cuidados específicos para manter o perfeito funcionamento e garantir a durabilidade. Sua manutenção óptica e mecânica deve ser realizada dia a dia para evitar danos e também aumentar a vida útil do aparelho. O passo mais crítico para a conservação do microscópio é sem dúvida a prevenção, como transporte adequado, manuseio, limpeza e armazenamento corretos. Estes cuidados não substituem a manutenção periódica realizada por técnicos qualificados, mas irão reduzir muito a

frequência de grandes reparações e o desgaste do equipamento KASVI (2016). Existe uma grande diversidade de microscópios, sendo que contamos três tipos principais: Monoculares, Binoculares e Trinoculares (Figura 1).

Figuras 1 - Tipos principais de microscópios **a.** Monocular; **b.** Binocular e **c.** Trinocular.



Fonte: Autores.

3 RISCOS DE SAÚDE E PERIGOS NA UTILIZAÇÃO DO MICROSCÓPIO

3.1 Riscos de saúde

O local de trabalho com microscópios facilita e melhora a tarefa de visualização, mas também exigem muito esforço dos olhos e dos músculos do usuário. Dependendo do período de trabalho ininterrupto, podem ocorrer problemas de astenopia e musculoesqueléticos.

Por este motivo, medidas apropriadas para redução da carga de trabalho devem ser tomadas:

- O Layout ideal do local de trabalho;
- Mudanças frequentes de atividade;
- Instrução minuciosa dos funcionários sob a consideração dos aspectos ergonômicos e organizacionais do trabalho.

3.2 Perigos de infecção

- O contato direto com as lentes oculares pode ser um meio de contágio para infecções bacterianas, fúngicas e virais do olho;
- O risco de contágio pode ser minimizado através da utilização de oculares individuais ou de borrachas oculares encaixáveis e uma higienização sempre antes do uso.

3.3 Perigos durante o uso

- O microscópio deve ser conectado somente a uma tomada aterrada.
- O microscópio não pode ser operado a menos que esteja nas condições

ideais de funcionamento.

- Nunca olhe diretamente para o feixe do LED ou Lâmpada no equipamento de iluminação – com ou sem aparelhos ópticos – pois isso aumenta a classificação de risco. Desrespeitar essa norma acarreta em risco de lesão ocular.

3.4 Informações para os responsáveis pelo instrumento

- Certifique-se de que o microscópio seja usado somente por pessoas qualificadas.
- Faça inspeções regulares para garantir que usuários autorizados estejam respeitando os requisitos de segurança.
- Ao instruir novos usuários, faça isto de forma detalhada e explique os significados dos sinais e mensagens de advertência.
- Atribua responsabilidades individuais para iniciar, operar e fazer manutenção do instrumento e monitore o cumprimento destas responsabilidades.
- A instalação elétrica do local deve atender às normas nacionais, ex. recomenda-se proteção contra a fuga de corrente à terra (proteção contra falha de corrente).

4 DESCRIÇÃO DO EQUIPAMENTO

Ter conhecimento das partes e funcionalidades do microscópio é de fundamental importância para uma limpeza e manutenção correta. Possibilitando ao usuário um domínio maior do equipamento. Conheça as principais peças de um microscópio na Figura 2:

Figura 2 - Microscópio Óptico.



Fonte: Autores.

4.1 Parte Mecânica

Tubo de observação ou canhão – nos microscópios que possuem uma só ocular (monoculares), o tubo é um cilíndrico metálico reto ou oblíquo. Nos microscópios que possuem duas oculares (binoculares) o tubo pode ser inclinado, com ajustes para os diferentes espaços entre os olhos de cada observador.

Estativa, braço ou coluna – suporte que sustenta os tubos, a mesa, o condensador e todo o conjunto. Espaço destinado para o deslocamento do microscópio.

Charriot – peça destinada a fixação da lâmina, com engrenagens para movimentação localizando o campo de observação desejado.

Controle do Charriot – permite a movimentação do charriot para todos os lados, fornecendo melhor precisão do objeto estudado.

Trava mecânica – parafuso de fixação do tubo de observação.

Revólver ou tambor – conjunto mecânico de inserção das lentes objetivas que se movimentam durante análise. O movimento sempre ocorre no sentido da objetiva de menor para a de maior aumento.

Platina ou mesa mecânica – elemento que pode ser fixo, móvel ou giratória no plano horizontal. Local destinado à colocação da lâmina que apresenta uma abertura central onde há passagem da luz, esta é capturada junto com a imagem sendo replicada pela objetiva do tubo e da ocular, chegando ao globo ocular do observador.

Parafuso macrométrico – permite uma focalização grosseira do material. Apresenta um percurso vertical com cerca de 7,5 cm.

Parafuso micrométrico – permite uma focalização mais fina e precisa, deslocando o tubo no máximo dois milésimos de milímetro.

Pé ou base – é o local de apoio do aparelho feito de ligas de metais pesados.

4.2 Parte Óptica

Lente ocular – formada por lentes côncavas, ampliam a imagem do objeto analisado juntamente com as lentes objetivas. Fica encaixada na extremidade superior do tubo nas oculares.

Lente objetiva – conjunto de ampliação de imagem formado por lentes convexas. Corrige os defeitos de cores dos raios luminosos direcionados pelo espelho. Apresenta objetiva de imersão (100x), onde coloca-se entre ela e a lamínula uma gota de óleo

de imersão. Geralmente os aumentos apresentados nos microscópios binoculares são: 10x, 25x, 65x e 100x.

Espelho ou fonte de luz – O espelho apresenta duas faces: uma plana e outra côncava. A face plana, usada nas grandes ampliações e na observação com a lente de imersão. Sua função é colher e projetar os raios paralelos e divergentes. A face côncava é usada em pequenas ampliações.

Condensador e diafragma de abertura – localizado abaixo da mesa mecânica apresenta função de controle de passagem de luz para melhor precisão, em objetivas de pequeno aumento o diafragma deve apresentar-se fechado para evitar fuga de raios laterais. Já em maiores ampliações a abertura do diafragma permite melhor observação.

Ajuste da luz – controle de intensidade da luz na sua fonte, parte integrante fundamental no controle da incidência de luz no diafragma.

5 LIMPEZA DA PARTE MECÂNICA E ÓPTICA DO MICROSCÓPIO

De acordo com Macedo *et. al* (1997), a limpeza das partes óptica e mecânica deve ser criteriosa, uma vez que dela depende o perfeito funcionamento do microscópio. Portanto, cuidados especiais com lentes, filtros e espelhos precisam sempre ser tomados para maior durabilidade do equipamento. O procedimento da limpeza do microscópio deve ser de baixo para cima, ou seja, se limpa a parte mecânica do aparelho em seguida os vidros e espelhos da base, da lâmpada até chegar-se ao topo, nas lentes oculares. O material necessário à higienização das partes citadas é composto de:

- Algodão;
- Solução de limpeza (50% éter sulfúrico PA, 50% clorofórmio PA);
- Água oxigenada – 10 volumes;
- Xilol ou álcool-cetona (7:3);
- Cotonete caseiro ou palito (isento de farpas), envolvendo a ponta com algodão;
- Detergente neutro líquido;
- Borrifador;
- Panos limpos, de um tecido macio que não solte fiapos (Ex.: morim);
- Lupa de bolso, com aumento mínimo de 2,5X.

5.1 Limpeza das superfícies da parte mecânica

As superfícies externas da óptica, ou seja, a parte mecânica do microscópio é composta de: pé ou base, parafusos macro e micrométricos, charriot, estativa braço ou coluna, tubo ou canhão, revólver ou tambor e platina ou mesa; conforme demons-

tradas na Figura 3. Estas peças devem ser inspecionadas e limpas periodicamente, utilizando um fluxo de ar a partir de um bulbo de borracha. Sujeira acumulada na superfície do metal deve ser limpa com um pano úmido. Sujeira mais persistente deve ser removida usando uma solução de detergente neutro líquido.

Figura 3 - Passo a passo da limpeza e manutenção das superfícies da parte mecânica; **a.** Limpeza da base; **b.** Limpeza da mesa ou platina; **c.** Limpeza do parafuso macrométrico e micrométrico; **d.** Limpeza do revolve ou tambor; **e.** Limpeza do tubo ou canhão; **f.** Limpeza do braço ou coluna.



Fonte: Autores.

5.2 Manutenção da parte mecânica

Segundo Peixinho et.al. (2019), a lubrificação também deve ser regular, especialmente do macrométrico, que é a parte mecânica mais vulnerável, evitando assim o acúmulo de poeira e areia. Antes de proceder a lubrificação, a sujeira das partes metálicas deve ser eliminada com álcool, e enxugadas com tecido de algodão macio e lubrificadas, colocando uma pequena quantidade de lubrificante na base da cremalheira

fotografia. Depois move-se para cima e para baixo, a fim de espalhá-lo. A cremalheira do condensador assim como macro e micrométrico podem ser lubrificados com vaselina neutra

Importante: Esses procedimentos só são válidos para equipamentos que têm cremalheiras visíveis.

- Nunca force um macro ou micrométrico que esteja emperrado ou duro;
- Evite deixar o equipamento em locais que recebam luz solar ou calor por muito tempo, pois estes podem derreter as graxas, danificando o mecanismo, ou descolar as lentes;
- É útil reservar uma pinça para limpar detritos ou fragmentos acumulados em reentrâncias, bem como dispor de alicates e chaves de fenda para apertar ou folgar alguma peça deslocada;
- Para as partes expostas, é suficiente limpá-las com tecido umedecido com água e sabão neutro, mas pode-se aplicar à platina uma diminuta quantidade de vaselina neutra.

5.3 Limpeza da parte óptica

Antes de se iniciar a limpeza da parte óptica do microscópio, os seguintes cuidados devem ser tomados:

- Observar se as lentes possuem fungos;
- Observar se a camada de filme fino anti-reflexiva, não está deteriorada. Isto pode ser observado através da diferença de coloração entre o vidro e o filme. Esta deterioração pode ser causada por fungos, por soluções de limpeza inadequada ou por agressão mecânica, como o uso de palha de aço, papel impróprio e objetos pontiagudos.

O procedimento de limpeza dessa parte deve iniciar a partir do espelho ou fonte de luz, seguindo para o condensador ou diafragma e finalizando com a higienização das lentes objetivas e oculares conforme ilustrado no passo a passo da Figura 4.

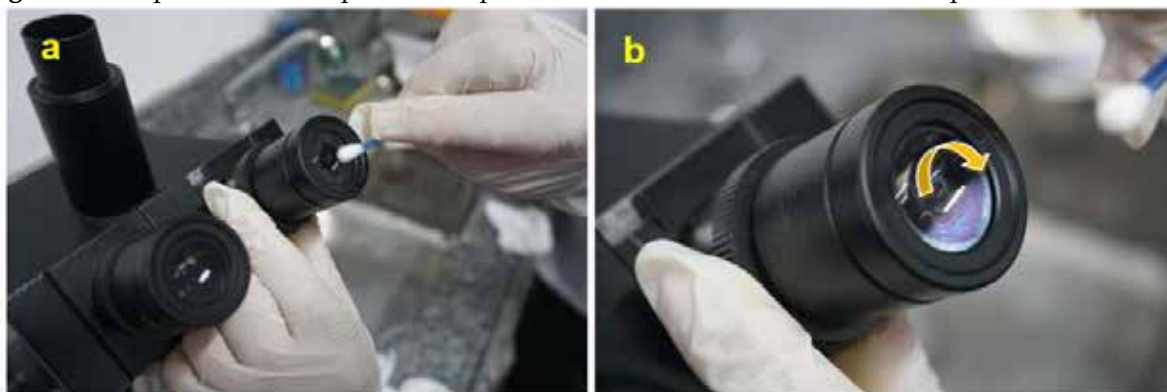
Figura 4 - Passo a passo da limpeza e manutenção da parte óptica do microscópio; **a.** Limpeza da fonte de luz; **b.** Limpeza da fonte de luz; **c.** Limpeza do condensador ou diafragma, **d.** Desenroscar objetivas, **e.** Limpeza da parte externa da lente objetiva, **f.** Limpeza da parte interna da lente objetiva, **g.** limpeza das oculares e **h.** Limpeza das lentes oculares.



Fonte: Autores.

Nesse procedimento utiliza-se água oxigenada, se segura o cotonete sem tocá-lo, para evitar a gordura das mãos no algodão; inicia-se a aplicação pelo centro, seguindo movimento em espiral (Figura 5). Os filtros e as lentes de plástico ou acrílico devem ser limpos com álcool etílico. Estes nunca podem ser limpos com éter ou clorofórmio, pois podem danificá-los tornando-os opacos. O mesmo padrão deve ser seguido para limpeza de lentes contendo fungos.

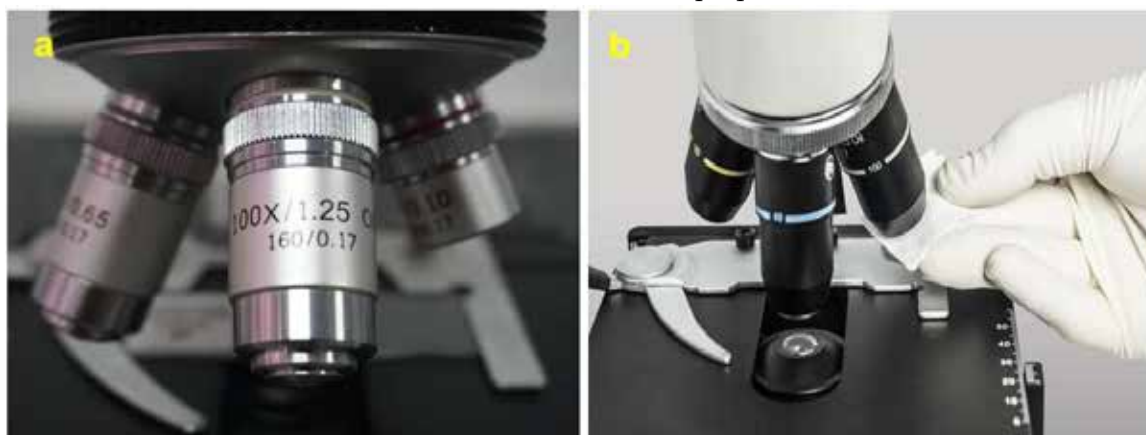
Figura 5 - Limpeza da Parte Óptica **a.** Limpeza das oculares; **b.** Movimento de limpeza da lente ocular.



Fonte: Autores.

Para uso de objetiva de imersão deve-se proceder à limpeza da objetiva nos seguintes passos da Figura 6.

Figura 6 - Limpeza das objetivas **a.** Objetiva de imersão 100 X/ 1.25; **b.** Limpeza da objetiva de imersão com auxílio de álcool isopropílico.



Fonte: Autores.

- Encostar um pedaço de lenço macio ou algodão limpo e seco na objetiva para retirar o excesso de óleo;
- Encostar um pedaço de lenço macio ou algodão limpo e embebido em solução de sabão neutro líquido na objetiva e depois retirar o excesso. Jamais os movimento em contato com a lente da objetiva, pois isto pode danificar a mesma e aguardar secar.

5.4 Limpeza das lentes internas objetivas e oculares

A objetiva deve ser desatarraxada cuidadosamente do revólver e após a limpeza recolocada na posição original, para tanto, usar o mesmo método descrito para as oculares. No entanto, como as superfícies das lentes são menores que as das oculares, recomendamos inspecioná-las com uma pequena lupa manual. Para retirar poeira da face posterior da objetiva, usa-se um pincel de muito macio. Após o uso da objetiva de imersão, retirar o excesso de óleo com um papel toalha e terminar a limpeza com um cotonete levemente embebido de éter (éter sulfúrico PA). Não é recomendada a utili-

zação de álcool na limpeza do óleo de imersão, pois este não é dissolvido pelo álcool, pois forma com ele um precipitado branco.

6 MANUTENÇÃO DA ELÉTRICA

Caso o equipamento apresenta problemas na hora de acender a lâmpada pode-se verificar a tomada, o fusível e a lâmpada do mesmo.

Tomadas: devem estar inteiras, com os fios bem firmes a ela, caso contrário, aconselha-se a sua substituição.

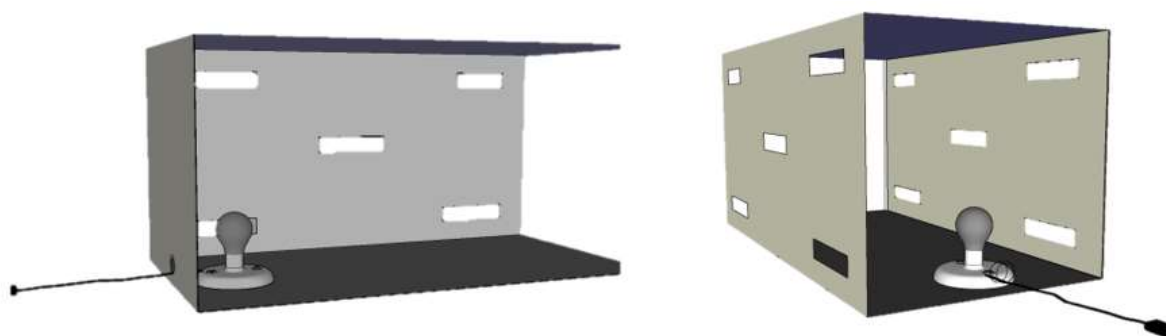
Fusíveis: Desligue e retire o equipamento da tomada e procure o fusível geralmente localizado na parte inferior ou posterior do equipamento. São constituídos por um tubo de vidro com duas extremidades de metal (uma de cada lado) com um diminuto fio no meio. Este fio deve estar inteiro. Caso contrário, o fusível deverá ser trocado por outro do mesmo tipo. A sua identificação fica em uma das partes de metal (caso não tenha identificação, consulte o manual do equipamento).

Lâmpadas: verifique se ela está bem atarraxada no bocal e se seus “filamentos” se encontram inteiros. Evite pegar na lâmpada com os dedos, faça-o com um lenço de papel, pois existem lâmpadas alógenas que ao serem tocadas com os dedos, queimam.

7 ARMAZENAMENTO

É importante ressaltar que a prevenção no manuseio do microscópio se faz imprescindível para que o aparelho possa funcionar de modo adequado. Assim, enfatizam que o microscópio, quando não está em uso, merece cuidados especiais, que irão desde armazenamento até o acondicionamento e transporte para se evitar a formação de fungos. O recomendado é mantê-los em locais com baixa umidade, revestido por capas protetoras, estas não devem ser de plástico, pois este retém a umidade, mas sim de pano ou qualquer outro tecido que permita a aeração do microscópio e que não solte fiapos (BISCEGLI, 1997).

Para evitar a formação de fungos no microscópio, ele deve ser mantido em sala com ar condicionado, pois este auxilia a manutenção de uma umidade relativa baixa no ambiente, caso isso não seja possível deve-se confeccionar uma caixa, como a indicada na Figura 7.

Figura 7 - Caixa para armazenamento de microscópio.

Fonte: Autores.

8 ACONDICIONAMENTO PARA O TRANSPORTE

Caso seja necessário o transporte do microscópio, deve-se tomar cuidados especiais na embalagem, para garantir que não sejam causados danos ao equipamento durante a viagem. As oculares e objetivas devem ser embaladas individualmente se possível em plástico bolha e protegidas dentro da caixa de isopor ou bolas de jornal (MACEDO et al, 1997). O tubo ocular também deve ser desconectado da estativa, para evitar que o soquete de engate seja quebrado. Quaisquer outras peças desmontáveis, em nível de usuário, devem receber a mesma atenção. A caixa da embalagem deverá ser preferencialmente, de madeira reforçada ou material similar.

9 AJUSTE DE IMAGENS DO MICROSCÓPIO

Para garantir a incidência correta da luz pelo eixo óptico, cuidados especiais devem ser tomados. Microscópios que apresentam acoplamento de equipamentos fotográficos exigem que o filamento da lâmpada esteja perfeitamente centralizado em relação ao espelho difusor (MACEDO et al, 1997).

Para ajuste e centralização, deve-se utilizar o filtro colocado na saída do diafragma de iluminação. Não há necessidade do uso de lâminas. Com a ajuda das objetivas de ganho 6,3 ou 10, observa-se a imagem do filamento da lâmpada, através das oculares. Se ele estiver desregulado, ou seja, se a imagem estiver fora do padrão normal, a lâmpada deverá ser centralizada, utilizando-se os dois parafusos de ajuste, que fazem os deslocamentos vertical e horizontal.

Este procedimento deve ser executado com muita cautela, pois tanto os parafusos de ajuste da lâmpada quanto a base desta são muito frágeis.

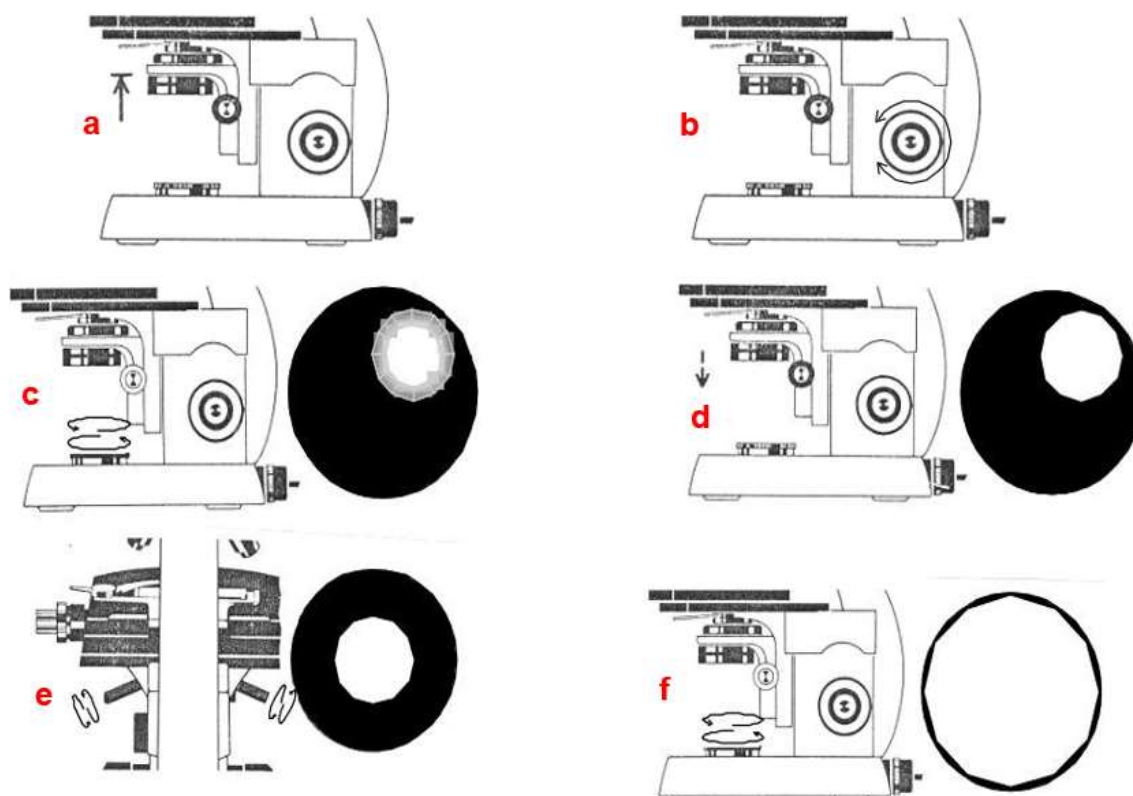
9.1 Alinhamento do eixo óptico

O eixo óptico, ou caminho que a luz deve percorrer, é composto das seguintes partes:

- Espelho côncavo (*);
- Lâmpada (*);
- Jogos de lentes (*);
- Espelho plano (*);
- Diafragma de iluminação (*);
- Condensador;
- Objetivas;
- Tubos binoculares, contendo divisor de luz e prisma de desvio. (*) Partes localizadas na base do microscópio.

Um correto alinhamento do eixo óptico faz com que o campo visual permaneça, uniformemente, iluminado, com a imagem brilhante, sem reflexos, permitindo uma nitidez adequada do objeto a ser analisado. Na figura 8 pode ser visto o procedimento de alinhamento do eixo óptico.

Figura 8 - Passo a passo para alinhamento do eixo óptico a. Subir, completamente, o condensador; b. Focalizar o diafragma da iluminação, com a lente frontal inscrita utilizando as objetivas de ganho 6,3 ou 10; c. Observar e fechar diafragma; d. Abaixar, ligeiramente até obter nitidez na imagem; e. Abrir o diafragma de borda do campo visual; f. Alinhamento do eixo óptico do microscópio.



Fonte: GALLOWAY, 2016.

10 PRÁTICAS DE USO DO MICROSCÓPIO

Na observação de uma preparação, inicie sempre pela objetiva de menor aumento. Para focalizar com as objetivas de 20 ou 40 vezes, proceda da seguinte forma:

Escolha uma estrutura na preparação, mova a lâmina até que o objeto fique exatamente no centro do campo e em seguida mude para a objetiva de maior aumento, olhando por fora para evitar o choque com a lamínula.

Olhe pela ocular e abaixe o tubo ou eleve a platina com o macrométrico muito lentamente. Assim que a imagem aparecer, mesmo confusa, pare e complete a focalização com o micrométrico. O uso da objetiva de imersão é mais delicado, pois, a distância focal entre a face da objetiva e a parte superior da lamínula diminui quando a ampliação é aumentada.

Em primeiro lugar, assegure-se da existência de algo no campo, posicionando a objetiva de menor aumento. Certifique-se que a iluminação e o objeto estão bem centralizados, suspenda o tubo e coloque uma gota de óleo no centro da operação. O óleo deve ter o mesmo índice de refração da objetiva. Abaixar o tubo até colocar a lente frontal em contato com a gota de óleo ainda convexa, até a mudança de forma da mesma. Suspenda levemente o tubo, mas sem perda de contato com a gota, coloque os olhos nas oculares e abaixe o tubo muito lentamente. Assim que a imagem aparecer, complete a focalização com o micrométrico.

Apesar das precauções mencionadas, caso a imagem não fique no ponto, verifique se o revólver está bem centralizado, se a preparação está invertida, muito espessa ou se a lamínula não é tão fina quanto deveria.

11 PROBLEMAS COMUNS NA PRÁTICA DA MICROSCOPIA

- **Campo escuro:** é resultante de má centralização de iluminação, tente regular a iluminação.
- **Falta de nitidez da imagem:** se persistir após a regulagem da iluminação e de uma focalização cuidadosa, a causa deve ser buscada metodicamente.
- ✓ A preparação pode estar suja em uma das faces e isto pode ser reconhecido pela movimentação de estrias e sombras, assim deve-se limpá-la com um lenço de papel extra macio, embebido em álcool ou éter.
- ✓ A ocular pode estar suja.
- ✓ A objetiva pode estar com algum líquido na lente frontal ou com poeira na lente posterior. Ao usar a lente de imersão servir-se de óleo de imersão suficientemente fluído e nunca o deixar secar sobre a objetiva ou sobre as preparações.

Ao terminar as observações certifique-se que nenhuma lâmina permaneça sobre a platina, ponha a objetiva de menor aumento em posição, mova o macrométrico até o limite máximo e cubra o aparelho.

12 REGULAGEM DA ILUMINAÇÃO

Os microscópios cujos condensadores ABBE são móveis, para verificar a centralização, feche completamente o diafragma e examine a imagem com a objetiva de menor aumento focalizada numa preparação. Em microscópios que possuem condensador de campo (por onde passam os feixes de luz), este também deve ser fechado, reduzindo assim o cone de luz.

Em ambos os casos, a centralização é feita girando os parafusos laterais do condensador ABBE Figura 9, até que a íris do diafragma esteja exatamente no centro, ou seja, coincidindo com o eixo óptico do sistema de lentes.

A imagem da íris do diafragma, uma vez centralizada, deve ser regulada movimentando o condensador, para cima ou para baixo, até que sua borda azulada esteja nítida. Abre-se então o condensador de campo ou o diafragma para preencher todo o campo, obtendo-se assim um feixe luminoso exatamente centrado.

Esta iluminação crítica ou de Köhler é, portanto, obtida quando o condensador focaliza a luz no objeto e a luz transmitida do objeto para a objetiva quase que preenche completamente as lentes.

Figura 9 - Condensador e limpeza do Condensador ou diafragma



Fonte: Autores.

13 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Compreende-se assim, que a limpeza e a manutenção adequada dos microscópios torna-se algo essencial no âmbito laboratorial, pois além de potencializar as funções, reduz possíveis distorções, aumentando a vida útil do equipamento. Neste documento, discutiu-se sobre as instruções gerais, os riscos e procedimentos de utilização uso dos microscópios visando expandir o conhecimento do usuário para as novas funcionalidades deste equipamento. Desta forma, embora já mencionados, os seguintes aspectos merecem ser ressaltados:

- Não tentar solucionar problemas que estejam descritos neste guia sem a consulta prévia de um técnico responsável;
- Na rotina de limpeza, ater-se apenas às partes de fácil acesso, que não necessitem do uso de ferramentas específicas;
- Dedicar especial cuidado na limpeza das lentes, principalmente oculares e objetivas de fácil acesso;
- Não utilizar soluções a base de clorofórmio e éter em partes plásticas, pois alguns microscópios possuem partes plásticas ou em acrílico que são sensíveis a estes produtos;
- Não utilizar solventes orgânicos tais como Xilol, Toluol e Acetona, dentre outros, pois estes podem se infiltrar entre as lentes e dissolver o verniz utilizado para colá-las;
- Nas desmontar o controle de foco macro e micro do equipamento;
- Não desmontar a base do microscópio.

Assim, este guia não tem o intuito de estabelecer conclusões definitivas sobre o uso, a limpeza e a manutenção de microscópios, pois, periodicamente ocorre a criação de modelos cada vez mais modernos. Porém, as considerações aqui traçadas podem contribuir de forma singular para que usuários comuns possam conduzir melhor a utilização dos microscópios no âmbito laboratorial.

REFERÊNCIAS

BISCEGLI, C.I.; RABELLO, L.M.; CRUVINEL, P.E.; SELUQUE, W.; HERRMANN, P.S.P. **Introdução à manutenção de instrumentos laboratoriais utilizados na pesquisa agropecuária**. EMBRAPA-SPI, Brasília-DF, 1997. (no prelo).

DELACROIX, R. et al. **Cerebrospinal fluid lens-free microscopy: a new tool for the laboratory diagnosis of meningitis**. *Scientific Reports*, v. 7, p. 39893, 2017.

GALLOWAY, D. A. et. Al. **A smartphone-based chip-scale microscope using ambient illumination**. *Lab on a Chip*, v. 14, n. 16, p. 87-92, 2016.

HOGG, J. **The microscope: its history, construction, and application**. London: The Illustrated London Library, 1854.

LABORATÓRIO MULTIUSUÁRIO DE ESTUDOS EM BIOLOGIA. **Microscópios Verticais do LAMEB: Cuidados Gerais e Focalização das Lâminas**. Santa Catarina: UFSC, nº 42, p.1-5, 2016.

LAMEB; **Microscópios Verticais: Cuidados Gerais e Focalização das Lâminas**. Disponível em: <<http://lameb.ccb.ufsc.br/files/2016/01/POP-042-Cuidados-Gerais-com-os-Microsc%C3%B3pios-Verticais-do-LAMEB.pdf>> Acesso em: 14 de outubro 2019.

LEICA MICROSYSTEMS (SCHWEIZ) AG. **DM750 User Manual**. Switzerland, 2019. Disponível em: <https://downloads.leica-microsystems.com/Leica%20DM750/user20Manuals/Leica_DM750_UserManual_EN.pdf> Acesso em: 11 de janeiro de 2021.

MACEDO, Á.; BISCEGLI, C. I.; LADISLAU, M. R.; HERRMANN, P., S, P. **Cuidados Básicos com microscópios ópticos**. EMBRAPA, nº 3, pág. 2, Brasília-DF, 1996.

MUDANYALI, O. et al. **Compact, light-weight and cost-effective microscope based on lensless sharpness and speckle of holographic displays**. Scientific Reports, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

MURPHY, D. B. **Fundamentals of light microscopy and electronic imaging**. New York: John Wiley, 2001.

SHECHTMAN, Y. et al. **Phase retrieval with application to optical imaging: a contemporary overview**. IEEE Signal Processing Magazine, v. 32, n. 3, p. 87-109, 2015.

SOBIERANSKI, A. C. **Proposta de uma plataforma de imageamento microscópica portátil baseada em holografia digital inline**. 2015. 174 p. Tese (Doutorado em Informática) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

CAPÍTULO 3

ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE CENTROSEMA CORIACEUM (FABACEAE) CONTRA PARASITAS GASTROINTESTINAIS DE LAGARTOS: ESTUDO IN VITRO

ANTHELMINTIC ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT FROM CENTROSEMA CORIACEUM (FABACEAE) LEAVES AGAINST LIZARD GASTROINTESTINAL PARASITES: IN VITRO STUDY

*Ellen De Carvalho¹
Ari Sérgio. O. Lemos²
Fabiano M. Vieira³
Luciana M. Chedier⁴
Rodrigo L. Fabri⁵
Bernadete M. De Sousa⁶*

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.3

¹ Federal University of Juiz de Fora. E-mail: ellencarvalhomed@gmail.com
² Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora. E-mail: arisergiolemos@hotmail.com.
³ Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, Rio de Janeiro. E-mail: fmatosvieira@gmail.com.
⁴ Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora. E-mail: Luciana.chedier@ufjf.edu.br
⁵ Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora. E-mail: rodrigo.fabri@ufjf.edu.br
⁶ Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora. E-mail: bernadete.sousa@gmail.com

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar a bioatividade do extrato etanólico de folhas de *Centrosema coriaceum* contra os Nematóides gastrointestinais adultos *Parapharyngodon binae* e *Physaloptera* sp. de *Tropidurus torquatus*. O extrato foi aplicado nas concentrações de 3 mg / mL, 2 mg / mL e 1 mg / mL, em indivíduos adultos das espécies *Parapharyngodon binae* e *Physaloptera* sp., recentemente coletados de hospedeiros, separadamente. Os nematoides expostos às concentrações de 3 mg/mL e 2 mg/mL apresentaram alterações morfológicas significativas com ruptura completa do tegumento da cutícula quando comparados ao controle, analisado por microscopia eletrônica de varredura. Cortes histológicos transversais da porção mediana do corpo de helmintos adultos, corados com hematoxilina e eosina, de ambas as espécies, mostraram descolamento subcutâneo total da cutícula quando comparados ao controle nas concentrações de 3 mg / mL e 2 mg / mL. Esses resultados indicam, pela primeira vez, o potencial anti-helmíntico do extrato etanólico das folhas de *C. coriaceum* em nematóides adultos.

Palavras-chave: Microscopia eletrônica de varredura. Análise histológica. Nematoda. *Centrosema coriaceum*. Anti-helmíntico

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the bioactivity of the ethanolic extract of *Centrosema coriaceum* leaves against adult *Parapharyngodon binae* and *Physaloptera* sp., gastrointestinal nematodes of *Tropidurus torquatus*. The extract was applied at concentrations of 3 mg/mL, 2 mg/mL and 1 mg/mL, in adult individuals of the species *Parapharyngodon binae* and *Physaloptera* sp., newly collected from hosts, separately. The nematodes exposed to concentrations of 3 mg/mL and 2 mg/mL showed significant morphological alterations with complete detachment and disruption of the integument from the cuticle when compared to the control, analyzed via scanning electron microscopy. Cross-sectional histological cuts of the mid-body portion of adult helminths, stained with hematoxylin and eosin, of both species showed total subcutaneous detachment from the cuticle when compared to the control at concentrations of 3 mg/mL and 2 mg/mL. These results indicate, for the first time, the anthelmintic potential of ethanolic extract from *C. coriaceum* leaves in adult nematodes.

Keywords: Scanning electron microscopy; histological analysis; Nematoda; *Centrosema coriaceum*; anthelmintic

1 INTRODUCTION

Gastrointestinal helminth infections are an important limitation for livestock worldwide. The development of anthelmintic resistance is reported in several countries (SOUTELLO et al., 2007; KAPLAN; VIDYASHANKAR, 2012; PAPADOPOULOS et al., 2012) and this is a major obstacle to the control of endoparasitoses in small ruminants, which justifies the search for new alternatives to control them. A viable alternative in combating nematodes is the use of herbal medicine, a promising field, which promotes slow resistance development, biodegradability and minimizes environmental contamination.

The ingestion or topical application of plants by animals has been observed and described for several species including sheep, bees, and primates (HUFFMAN et al., 1996; FOWLER et al., 2007; LISONBEE, 2009; SIMONE-FINSTROM; SPIVAK, 2012). In studies of diet, prevalence, and intensity of parasitic infection with gastrointestinal nematodes in lizards of the species *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Squamata, Tropiduridae) from a rocky outcrop in the district of Toledos, in the municipality of Juiz de Fora, state of Minas Gerais, Brazil. Pereira et al. (2012) found that there was a significant decrease in parasite intensity of two parasitic nematode species of the stomach and intestinal cecum in the population of lizards that had ingested parts of the plant species *Centrosema coriaceum* Benth. (Fabaceae), a fact that suggests a possible anthelmintic activity of this plant.

Centrosema (DC.) Benth. (Fabaceae) comprises 35 herbaceous species and the main biochemical components produced by plants of this genus are flavonoids and tannins (WILLIAMS; CLEMENTS, 1990; DA SILVA et al., 2007). The species *C. coriaceum* is a sub-shrub occurring in Caatinga (stricto sensu), Highland Rocky Field, Cerrado (lato sensu), Riverine Forest and/or Gallery Forest, Ombrophylous Forest (Tropical Rain Forest), Coastal Forest (Restinga) in the cerrado biome in southeastern Brazil, popularly known as “jequitirana”, recognized by leaf with shape pinnate, texture coriaceous, foliar rachis conspicuous, limb trifoliolate, leaflet ovate/elliptic. Flower with colour lilac/purple, spur present. Blooming from January to May and bearing fruit from February to May (MENDONÇA, 1998; SOUZA, 2015; BFG, 2015).

The aim of this study was to analyze the action of different concentrations of the ethanolic extract of *Centrosema coriaceum* Benth leaves on the morphology of the nematodes *Physaloptera* sp. (Spirurida, Physalopteridae) and *Parapharyngodon bainae* Pereira, Sousa & Souza Lima, 2010 (Oxyurida, Oxyuroidea), gastrointestinal parasites of *Tropidurus torquatus*, collected in the region of Toledos, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Plant material

The plant specimens used in the present study were collected in a quartzite outcrop area of approximately 5,400 m² in the district of Toledos, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil, in Zona da Mata Mineira (one of many regions within the state of Minas Gerais), southeastern Brazil (21 ° 48 ' 27.5 "S; 43 ° 35'31.7"W, datum: WGS84, altitude: 697).

The aerial parts of *Centrosema coriaceum* Benth. were collected on December 4, 2014 at 1:00 p.m. The exsiccata was deposited in the Leopoldo Krieger Herbarium, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) under the code CESJ 49986 and according to the license number A032F41-SISGEN/BRAZIL.

2.2 Preparation of the *C. coriaceum* ethanolic extract (CCE)

The aerial parts of *C. coriaceum* were shade dried on a bench and at room temperature for 15 days, pulverized in order to obtain the dried plant material. The dried material was separated into a 29.23 g sample for extraction by static maceration for 24 hours with the solvent ethanol (5 x 500 mL). The extract was concentrated under reduced pressure using a rotary evaporator (Heidolph-Laborota 4000). The solvent was evaporated, thus obtaining the ethanol extract of leaves from the aerial parts of *C. coriaceum* (8.39 g), obtaining a yield of 28.7%. The sample was named of CCE and left under refrigeration until *in vitro* tests were performed.

2.3 Host collection, Identification and Necropsy

Two specimens of *Tropidurus torquatus* were collected with the aid of a glue trap (Victor Mouse® gluetraps) (RIBEIRO-JUNIOR *et al.*, 2006), during daytime in September 2015, under license from IBAMA (Process 02015.010660/05-88 license number 261/05-NUFAS/MG), from the same locality where the aerial parts of *C. coriaceum* were collected. The specimens were identified according to Rodrigues (1987), and euthanized with Tiopental®, applied with 1 mL disposable syringes (UETANABARO *et al.*, 2007). After necropsy, the hosts were fixed in 10% formalin, preserved in 70% ethanol and deposited in the Coleção Herpetológica of the Universidade Federal de Juiz de Fora - Repteis (CHUFJF-Repteis 1467 and 1468).

The hosts were necropsied through a longitudinal ventral incision and the digestive tract was transferred to Petri dishes with 0.9% saline solution. The digestive tract was dissected in search of parasites. The analysis of the gastrointestinal contents was done with the aid of binocular stereomicroscope model XT-3H-BI.

2.4 Nematode Collection and Identification

The collected nematodes were kept alive in Petri dishes containing 0.9% saline solution until the time of the experiments. After the experiments, the nematodes were killed and fixed in 4% hot formalin, for 15 days, and stored in 70° GL ethanol. The anterior and posterior regions of nematodes were sectioned for studies with a scanning electron microscope (SEM) and the median parts of the same specimens were studied histologically.

From each nematode infrapopulation, specimens were separated for specific identification. For this, the specimens were clarified in Amann's Lactophenol, mounted on temporary slides and identified with the use of Olympus BX41 light microscope.

All nematodes were identified to the genus according to Anderson et al. (2009). In the case of nematodes of the genus *Parapharyngodon*, it was possible to collect a male and a female specimen, and the identification at the specific level was made according to Pereira *et al.* (2011). In the infrapopulations of *Physaloptera* sp. no male specimens were found, which made identification at the specific level impossible. Voucher specimens of these helminths were deposited in the Helminthological Collection of the Oswaldo Cruz Institute.

2.5 *In vitro* anthelmintic activity test

Live adults of *Parapharyngodon bainae* collected from the intestinal cecum and kept alive in 0.9% saline were individualized in 2 mL eppendorf tubes containing 100 µL of saline solution for 15 min. Afterwards, the experiment was outlined as follows: 1- Control tube: addition of 100 µL of saline solution; 2- Control tube + 10% DMSO: Addition of 100 µL of 10% DMSO solution; 3- Tube C1: Addition of 100 µL of ethanolic extract of *C. coriaceum* at 3 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO); 4- Tube C2: Addition of 100 µL of ethanolic extract of *C. coriaceum* at 2 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO); 5- Tube C3: Addition of 100 µL of ethanol extract of *C. coriaceum* at 1 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO). Time Zero (T=0) was considered as the moment immediately after the application of the solutions, and final time was the absence of parasite motility, even with stimulation by agitation, for the treated individuals. The nematodes were fixed with 4% formalin heated at 90 °C. After seven days in the fixative, the nematodes were packed in eppendorf tubes containing 70°GL ethanol.

Each of the live adult specimens of *Physaloptera* sp. collected from the stomach was immediately transferred to a 2 mL eppendorf tube containing the following treatments: 1- Control tube: addition of 100 µL of saline solution; 2- Control tube + 10%

DMSO: Addition of 100 µL of 10% DMSO solution; 3- Tube C1: Addition of 100 µL of ethanolic extract of *C. coriaceum* at 3 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO); 4- Tube C2: Addition of 100 µL of ethanolic extract of *C. coriaceum* at 2 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO). 5- Tube C3: Addition of 100 µL of ethanol extract of *C. coriaceum* at 1 mg/mL concentration (diluted in saline + 10% DMSO). Time Zero (T=0) was considered as the moment immediately after the application of the solutions, and since the nematodes did not die in these tests, the final time of the experiment was established in 360 min. The nematodes were then killed and fixed in 4% formalin heated to 90°C. After seven days in the fixative, the nematodes were packed in eppendorf tubes containing 70 °GL ethanol.

2.6 Scanning electron microscopy (SEM) of nematodes

For the SEM studies, the anterior and posterior regions of the specimens fixed in 4% formalin and packed in 70 °GL ethanol were dehydrated in increasing concentrations of ethanol and subsequently dried in 1, 1, 1, 3, 3, 3-hexamethyldisilazane at 97%. After drying, the body parts were mounted on stubs with adhesive carbon tape, gold coated and analyzed by a quanta scanning electron microscope FEG 3D FEI operating at 10 kV located at the Microscopy Center of the Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais.

2.7 Histological processing of nematodes

For the histological studies, the median regions of the nematode bodies previously fixed in 4% formalin and packed in 70 °GL ethanol were transferred to tubes containing 10% formalin solution for 24 h and subsequently processed in the Automatic Tissue Processor PT-05 LUPETEC, dehydrated in absolute alcohol in 6 cycles in a total of 8 h, diaphonized in absolute xylene for 3 cycles of 1 h and impregnated with paraffin in 2 cycles of 2 h at 70 °C to obtain serial cuts of 3µm of thickness in 3 levels. The slides were stained with hematoxylin-eosin (HE) in an automatic stainer Bellatrix EP-31-05103 EASYPATH (RHEUBERT *et al.*, 2011). The histological processing was performed at the Pathology Laboratory of the University Hospital of University Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Minas Gerais.

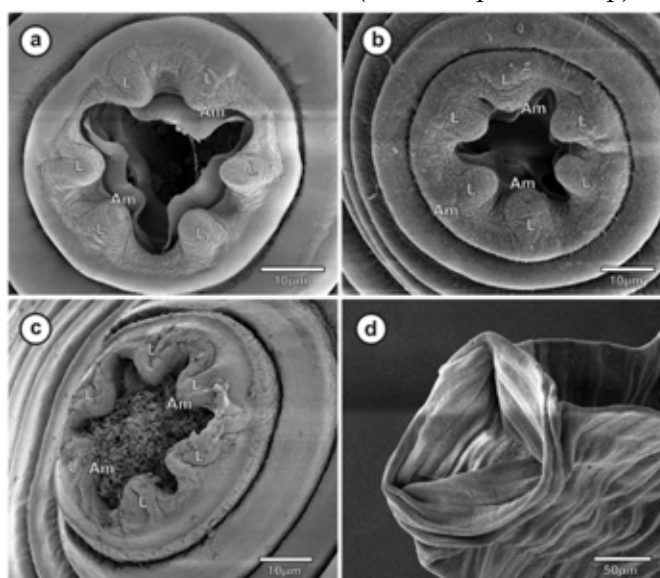
The analysis of the material and the respective photodocumentation was conducted with an Olympus BX41 microscope coupled with a Canon A3100S digital photographic equipment and ocular micrometer, located at the Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Helminthos - Odile Bain, UFJF, Juiz de Fora, Minas Gerais.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The nematodes analyzed by SEM and histological sections at the concentrations of 3 mg/mL, 2 mg/mL and 1 mg/mL with the extract showed an evident increase in invaginations and irregularities of the cuticle resulting from the disarrangement of the syncytial epidermis, located between the cuticular layer and the basal layer. The control group and 10% DMSO saline solution presented intact cuticle with regular morphology (Figure 1, 2 and 5).

In addition, alterations in the cuticle morphology of the circumoral region were observed for the higher concentration treatment (Figure 1d), with evident loss of shape and structure of the cephalic papillae and lips, when compared to the circumoral structures of the control group specimens.

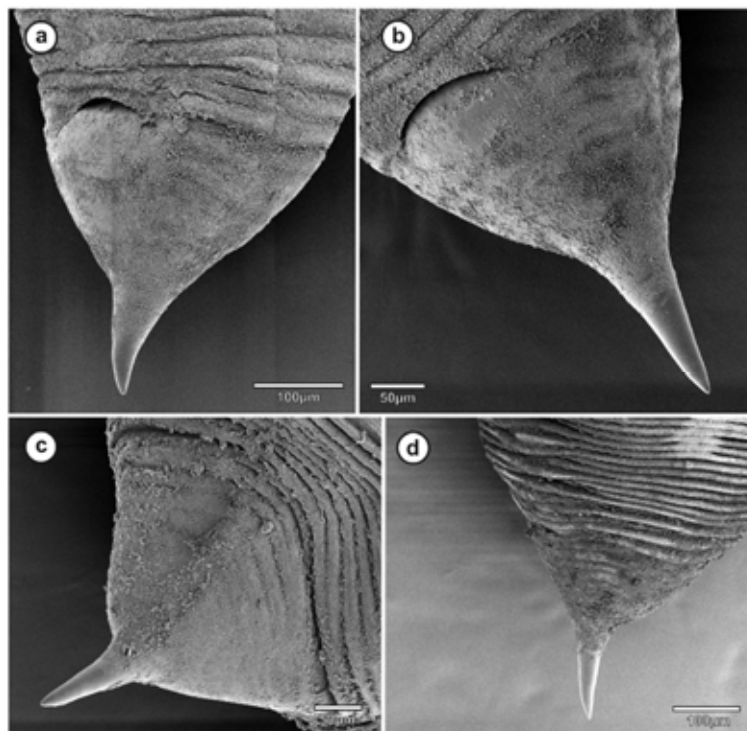
Figure 1 - SEM images of cephalic regions of adult females of *Parapharyngodon binae*. (A). Control group treated with saline solution 0.9%. (B). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (C). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (D). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (Am = amphid; L = lip).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

For the 2 mg/mL concentration the architecture of the six lips are still visible, however it is not possible to distinguish the papillae when compared to the controls (Figure 1c). For the the caudal region treatments, it can be observed that the transverse annulations of the cuticle became more prominent, juxtaposed and in greater number when compared to the controls (Figure 2c and 2d).

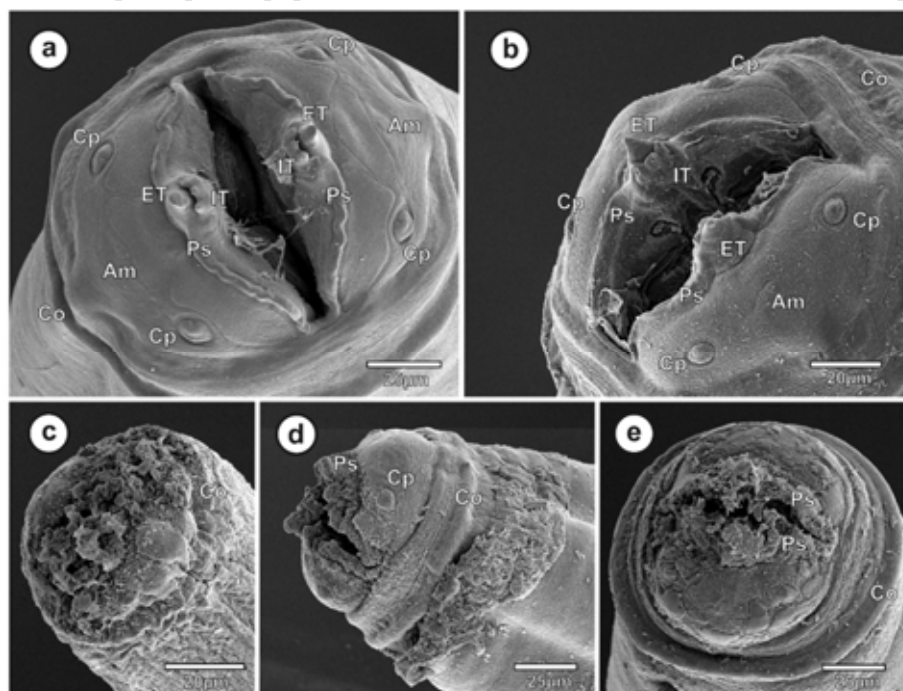
Figure 2 - SEM images of posterior regions of adult females of *Parapharyngodon baina*. (A). Control group treated with saline solution 0.9%. (B). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (C). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (D). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

There was no significant alteration of the outermost layer of the cuticle in the treatments in relation to the control and control DMSO 10% in saline solution 0.9% (Figure 3).

Figure 3 - SEM images of cephalic regions of adult females of *Physalopterasp*. (A). Control group treated with saline solution 0.9%. (B). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (C). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (D). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (E). Group treated with 1 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (Am = amphid; Co = cephalic collarette; Cp = cephalic papillae; ET = external tooth; IT = internal tooth; Ps = pseudo lip)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

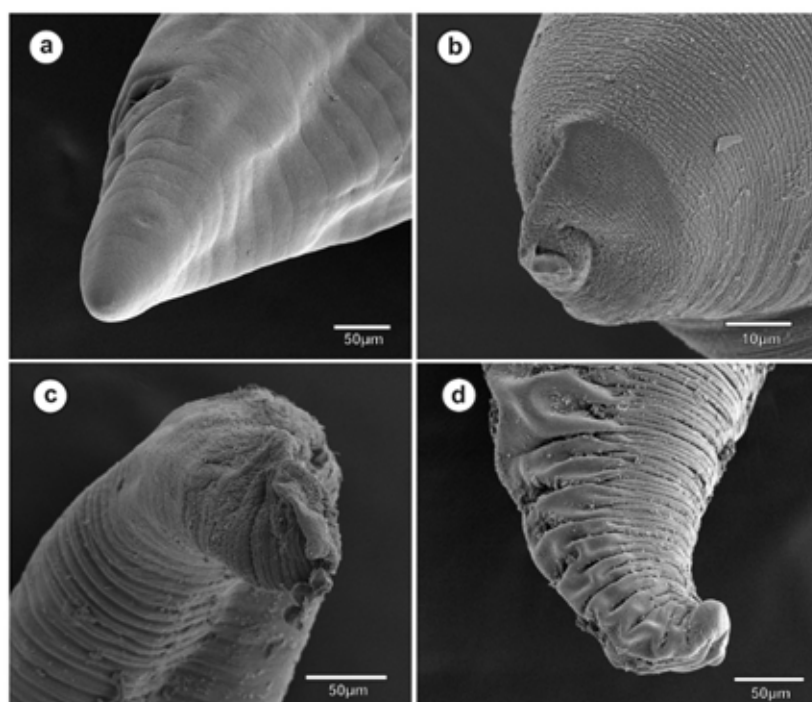
For the groups treated with the ethanolic extract of *C. coriaceum* at the 2 mg/mL concentration, complete detachment of the cuticle is evident in relation to the longitudinal musculature and disarrangement of syncytial epidermis in a smaller magnification (Figure 5b). At higher magnification, detachment points alternated with preserved points of the syncytial epidermis in relation to the cuticle were observed, with consequent overlap in cuticle undulations (Figure 5b and 5c). The cortical, middle, and basal layers of the cuticle, in addition to the muscle cell morphology, were preserved, when compared to the control group (Figure 5c).

For the treatment with the ethanolic extract of *C. coriaceum* at the 3 mg/mL concentration, complete detachment of the cuticle in relation to the longitudinal musculature and disarrangement of syncytial epidermis evidenced in a smaller magnification (Figure 5c). At higher magnification, a complete disarrangement of syncytial epidermis from the cuticle is observed (Figure 5c). In this treatment, the thickness of the cortical, middle, and inner layers of the cuticle are smaller when compared to the control group (Figure 5a).

Therefore, in all three concentrations of ethanolic extract of *C. coriaceum*, some degree of derangement of the syncytial epidermis was evident. The morphology of the cuticle and musculature were little or not affected by the action of the extract in their respective concentrations.

The treatments with the ethanolic extract of *C. coriaceum* in female specimens of *Physaloptera* sp. analyzed by SEM and histological sections presented disruption and significant loss of external morphology of the anterior and caudal regions at 2 mg/mL and 3 mg/mL, when compared to the control group and 10% DMSO saline solution, which presented an intact and homogeneous cuticle (Figure 5d-f), preserving the architecture of the pair of pseudolabia and cephalic papillae (Figure 3a-e), as well as the caudal region (Figure 4a-d).

Figure 4. SEM images of posterior regions of adult females of *Physaloptera* sp. (A). Control group treated with saline solution 0.9%. (B). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (C). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (D). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Significant morphological changes such as derangement of the cephalic cuticular structure of nematodes at concentrations of 1 mg/mL, 2 mg/mL and 3 mg/mL (Figure 3c-e) were observed. These changes were not observed in the specimens of the control group and 10% DMSO control in saline solution (Figure 3a).

The histological analysis of the body wall of the adult *Physaloptera* sp. (Figure 5d-f) reveals that, for the groups treated with the ethanolic extract of *C. coriaceum* at 1 mg/mL concentration, it is evident that there was no morphological alteration in the cuticle, syncytial epidermis, basal layer and the longitudinal musculature of the body. However, in the group with ethanolic extract with 2 mg/mL partial cuticle detachment occurred due to syncytial epidermis disarrangement, but changes in the cuticle and musculature were not evident (Figure 5e). Treatment with the ethanolic extract of *C. coriaceum* at 3 mg/mL presents complete detachment of the cuticle in relation to the

syncytial epidermis (Figure 5f). In this case, a syncytial epidermis disarrangement is also observed when compared to the control group (Figure 5d).

Figure 5 - Photomicrographs of histological sections of adult females of *Parapharyngodon binae* (A-C) and *Physaloptera* sp. (D-F). (A). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (B). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract (C). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (D). Control group treated with DMSO 10% diluted in saline solution 0.9%. (E). Group treated with 2 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (F). Group treated with 3 mg/mL of *C. coriaceum* extract. (C = cuticular layer; E = epidermis; M = muscular layer).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Regarding the time of inhibition or mortality of specimens studied *in vitro*, the death of all specimens of *Parapharyngodon binae* was observed in all treatments after 120 min, only remaining alive the ones from the control group (0.9% saline and 10% DMSO). In contrast, in a period of 360 min, all treated specimens of *Physaloptera* sp. remained alive, as well as the control groups (0.9% saline solution and 10% DMSO) for this species. However, more studies are needed to obtain conclusive results on the mortality of these nematodes through the action of *C. coriaceum* ethanolic extract.

Significant alteration in the morphology of the anterior and caudal portion of the nematodes was observed in the present study for *P. binae* and *Physaloptera* sp. in the SEM analysis and confirmed by the histological analysis, resulting from the detachment of the cuticle from the epidermis, due to derangement of syncytial epidermis, with consequent shortening of the cuticle and a marked increase of the transverse streaks. Similar results were observed in *Ascaris suum* Goeze 1782 (Nematoda, Ascaridoidea), treated with crude ethanolic extract of *Lysimachia ramosa* Wall (Primulaceae) (YADAV; TANDON; RAO, 1992; CHALLAM, 2010). The aim of the comparison of how the extracts act in *P. binae* and *Physaloptera* sp. was to evaluate the efficacy of the consumption of the parts of *C. coriaceum* by *T. torquatus* as an anthelmintic action for both nematodes, because they have specific and non-overlapping sites of infection.

The ultrastructural analyses by SEM suggest that the extract of the leaves of *C. coriaceum* acts in greater intensity in the anterior region, with total morphological transfiguration of the lips and cephalic papillae of females from both species submitted to the treatments, as well as the vulva area, independently of the site of infection. The results found for *C. coriaceum* fit with other plants of its family, since other plants of the Fabaceae family possess anthelmintic activity. Studies of Koné *et al.* (2005) with crude ethanol extracts of the *Andirainermis* (leaves), *Eriosemagriseum* (leaves), *Pericopsis laxiflora* (leaves), and *Pseudarthria hookeri* (leaves) species showed larvicidal activity against the nematode *Haemonchus contortus* Rudolphi (1803).

Lesions in the oral and vulva regions of females in the *in vitro* tests suggest *in vivo* that the main mechanism to decrease the parasitic load in these lizards would be the impossibility of nutrition and egg release by females with disrupted reproductive appendixes, as suggested by Hoste *et al.* (2012). Similar alterations were observed by Martínez-Ortíz-de-Montellano (2010), in *in vivo* tests on *H. contortus* (Rudolphi) obtained from sheep, via the consumption of *Lysiloma latisiliquum* (L.) Benth. (Fabaceae) extract.

Species of the *Centrosema* (DC.) Benth. (Fabaceae) are widely used for foraging in animal husbandry, because they are palatable and of low toxicity (CAMERON, 1984). The phytochemical results found for *C. coriaceum* are consistent with other species from genus *Centrosema*. The species *Centrosema plumieri* (OLADIMEJIN *et al.*, 2007) and *Centrosema pubescens* (EKPO *et al.*, 2011) are species that presented flavonoids and tannin in their composition. The anthelmintic activity found can be related to the presence of tannin and flavonoid metabolites, therefore, tanniferous plants used like anthelmintic remedies against intestinal helminthiasis have become prominent, especially in veterinary medicine (SPIEGLER *et al.*, 2017a). The anthelmintic ability of these species is related to the presence of condensed and hydrolysable tannins, substances that affect different nematode species at different life stages, e.g. inhibition of egg hatch, larval migration, feeding and larval development, and can still affect adult worms (SPIEGLER *et al.*, 2017b). Moreover, according to the studies by Hoste (2006), plants containing 30-40 g of condensed tannins per kg of dry matter would be sufficient to have anthelmintic activity in some animals. The flavonoids are another group of important secondary metabolites found in several plant species that may have antiparasitic activity (SANTOS *et al.*, 2018).

4 FINAL CONSIDERATIONS

Our findings showed, for the first time, that the ethanolic extract of *C. coriaceum* leaves caused several degrees of changes in the morphology of body wall in both species of nematodes in *in vitro* conditions, which may be an indication of first anthelmin-

tic activity already reported for this species. Our data also provided the first insights to demonstrate by scanning electron microscopy and histological analysis morphological changes from the treatment with crude extract of plants in nematodes originating from a wild reptile species under *in vitro* conditions. Thus, we can affirm that the present study model can be applied for studies with the same focus in nematode species parasitic of other animals.

REFERENCE

- ANDERSON, R.C.; CHABAUD, A.G. CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates. **Farnham Royal, England**, v. 26, n.3, p.576 – 577, 2009.
- BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113, 2015.
- CAMERON, D.G. Tropical and subtropical pasture legumes. 2. Centro (*Centrosema pubescens*): a legume for the wet tropical coast. **Queensland agricultural journal**, v.110, n.4, p. 2221-2225, 1984.
- CHALLAM, M.; ROY, B.; TANDON, V. Effect of *Lysimachia ramosa* (Primulaceae) on helminth parasites: motility, mortality and scanning electron microscopic observations on surface topography. **Veterinary Parasitology**, v.169, n.1-2, p.214-218, 2010.
- DA SILVA, B.P.; TOSTES, J.B.F.; PARENTE, J.P. Immunologically active polysaccharides from *Centrosema pubescens*. **Fitoterapia**, v.71, n.5, p.516-521, 2007.
- DUH, P.D.; YEN, G.C. Antioxidative activity of three herbal water extracts. **Food Chemistry**, v.60, n.4, 639-645, 1997.
- EKPO, M.; MBAGWU, H.; CLEMENT, J.C.; ENO, M. 2011. Antimicrobial and wound healing activities of *Centrosema pubescens* (Leguminosae). **Journal of Physics: Conference Series**, v.1, p.1-6, 2011.
- FOWLER, A.; KOUTSIONI, Y.; SOMMER, V. Leaf swallowing in Nigerian chimpanzees: evidence for assumed self-medication. **Primates**, v.48, p.73-76, 2007.
- GLANDER, K.E. Nonhuman primate self-medication with wild plant foods. In Etkin, N. L. (ed.). Eating on the wild side: The pharmacologic, ecologic, and social implications of using cultigens. **University of Arizona Press**, Tuscon, p.305, 1994.
- HOSTE, H.; JACKSON, F.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S.M.; HOSKIN, S.O. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology** v,22, n.6, 253-261, 2006.
- HOSTE, H.; MARTINEZ-ORTIZ-DE-MONTELLANO, C.; MANOLARAKI, F.; BRUNET, S.; OJEDA-ROBERTOS, N.; FOURQUAUX, I.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; SANDOVAL-CASTRO, C.A. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.186, n.1-2, 18-27, 2012.

HUFFMAN, M.A.; PAGE, J.E.; SUKHDEO, M.V.; GOTOH, S.; KALUNDE, M.S.; CHANDRASIRI, T.; TOWERS, G.N. Leaf swallowing by chimpanzees: a behavioral adaptation for the control of strongyle nematode infections. **International Journal of Primatology**, v.17, n.4, p.475-503, 1996.

KAPLAN, R.M.; VIDYASHANKAR, A.N. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v.186, n.1-2, p.70-78, 2012.

KONÉ, W.M.; ATINDEHOU, K.K.; DOSSAHOUA, T.; BETSCHAT, B. Anthelmintic activity of medicinal plants used in Northern Côte d'Ivoire against intestinal helminthiasis. **Pharmaceutical Biology**, v.43, n.1, p.72-78, 2005.

LISONBEE, L.D.; VILLALBA, J.J.; PROVENZA, F.D.; HALL, J.O. Tannins and self-medication: implications for sustainable parasite control in herbivores. **Behavioural Processes**, v.82, n.2, 184-189, 2009.

MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C.; VARGAS-MAGAÑA, J.J.; CANUL-KU, H.L.; MIRANDA-SOBERANIS, R.; CAPETILLO-LEAL, C.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; TORRES-ACOSTA, J.F.J. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v.172, n.3-4, p.283-290, 2010.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Cerrado: ecologia e flora. 1 ed, **Embrapa**, Brazil, p.289-556, 1998.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN-BEEK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and plant extracts. **Food Chemistry**, v.85, n.2, 231-237, 2004.

OLADIMEJIN, H.O.; NIA, R.; OFORAH, E. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Centrosema pulmieri* Benth. (Leguminosae - Papilionaceae). **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.2, n.6, p.580-585, 2007.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: a selected review. **Veterinary Parasitology**, v.189, n.1, 85-88, 2012.

PANSERA, M.R.; SANTOS, A.C.A.; PAESE, K.; WASUM, R.; ROSSATO, M.; ROTA, L.D.; PAULETTI, G.F.; SERAFINI, L.A. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, n.1, p.17-22, 2003.

PEREIRA, F.B.; GOMIDES, S.C.; SOUSA, B.M.; LIMA, S.S.; LUQUE, J.L. The relationship between nematode infections and ontogeny and diet of the lizard *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820) (Squamata: Tropiduridae) from the Atlantic Rainforest in South-Eastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v.87, n.3, p.364-370, 2012.

PEREIRA, F.B.; SOUSA, B.M.; LIMA, S.A.S. New species of Pharyngodonidae (Nematoda) of *Tropidurus torquatus* (Squamata: Tropiduridae) from Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 97, n.2, p.311-317, 2011.

RHEUBERT, J.L.; SIEGEL, D.S.; VENABLE, K.J.; SEVER, D.M.; GRIBBINS, K.M. Ultrastructural description of spermiogenesis within the Mediterranean Gecko, *Hemidactylus turcicus* (Squamata: Gekkonidae). **Micron**, v.42, n.7, p.680-690, 2011.

RIBEIRO-JÚNIOR, M.A.; GARDNER, T.A.; ÁVILA-PIRES, T.C.S. The effectiveness of glue traps to sample lizards in a tropical rainforest. **South American Journal of Herpetology**, v.1, n.2, p.131-137, 2006.

RODRIGUES, M.T. Sistemática, ecologia e zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *torquatus* ao Sul do Rio Amazonas (Sauria, Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 31, n.3, 105-230, 1987.

SANTOS, A.C.V.; SANTOS, F.O.; LIMA, H.G.; SILVA, G.D.; UZÊDA, R.S.; DIAS, E.R.; BRANCO, A.; CARDOSO, K.V.; DAVID, J.M.; BOTURA, M.B.; COSTA, S.L.; BATA-TINHA, M.J.M. *In vitro* ovicidal and larvicidal activities of some saponins and flavonoids against parasitic nematodes of goats. **Parasitology**, v.145, n.14, p.1-6, 2018.

SIMONE-FINSTROM, M.D.; SPIVAK, M. Increased resin collection after parasite challenge: a case of self-medication in honey bees? **Plos One**, v.7, n.3, 1-7, 2012.

SOUTELLO, R.G.V.; SENO, M.C.Z.; AMARANTE, A.F.T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, n.3-4, 360-364, 2007.

SOUZA, V.C. 2015. *Centrosema* in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB29518> > acessado em 09 de março de 2020.

SPIEGLER, V.; HENSEL, A.; SEGGEWISS, J.; LUBISCH, M.; LIEBAU, E. Transcriptome analysis reveals molecular anthelmintic effects of procyanidins in *C. elegans*. **Plos One**, p.1-19, 2017a.

SPIEGLER, V.; LIEBAU, E.; HENSEL, A. Medicinal plant extracts and plant-derived polyphenols with anthelmintic activity against intestinal nematodes. **Natural Product Reports**, v.34, n.6, p.627-643, 2017b.

UETANABARO, M.; SOUZA, F.L.; FILHO, P.L.; BEDA, A.F.; BRANDÃO, R.A. Anfíbios e répteis do Parque Nacional da Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Biota Neotropica**, v.7, n.3, p.279-289, 2007.

WILLIAMS RJ & CLEMENTS RJ. *Centrosema*: Biology, agronomy, and utilization. **Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**, Cali, Colombia, p.668, 1990.

YADAV, A.K.; TANDON, V.; RAO, H.S.P. In vitro anthelmintic activity of fresh tuber extract of *Flemingia vestita* against *Ascaris suum*. **Fitoterapia**, v.63, n.3, 395-398, 1992.



CAPÍTULO 4

RELAÇÃO DA TESTOSTERONA, GORDURA CORPORAL E DESEMPENHO EM SALTO VERTICAL

TESTOSTERONE RELATIONSHIP, BODY FAT AND VERTICAL JUMP PERFORMANCE

José Morais Souto Filho¹

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.4

¹ Faculdade de Integração do Sertão. <http://orcid.org/0000-0001-8874-1708>. morais.edpe@gmail.com

RESUMO

Introdução: A testosterona é o principal hormônio sexual masculino que tem seu pico de produção na adolescência. Desempenha algumas funções, como regulação da fertilidade, massa muscular, distribuição da gordura corporal, produção de glóbulos vermelhos e tem efeitos na capacidade cognitiva. A importância da testosterona para atletas de diferentes modalidades se deve ao seu desempenho na síntese proteica, contribuindo assim para a manutenção e hipertrofia da massa muscular, o que permite um maior desenvolvimento da força e potência muscular. Objetivo: verificar o quanto os valores séricos da testosterona estão correlacionados e explicados pelo percentual de gordura corporal e a contribuição da testosterona no desempenho em teste de salto vertical. Metodologia: participaram do estudo 23 homens fisicamente ativos, de 18 a 30 anos. O estudo consistiu em uma única sessão de teste contendo: composição corporal, pressão arterial, coleta de sangue e teste de salto vertical com os voluntários em repouso por 48 horas de qualquer exercício. Resultados: Foi encontrada forte correlação negativa ($r = -0,633$; $p = 0,001$) entre o percentual de gordura e testosterona. Entre a testosterona e a altura do salto vertical, foi observada correlação positiva moderada ($r = 0,599$; $p = 0,003$). Conclusão: Em indivíduos fisicamente ativos, o percentual de gordura corporal se correlaciona fortemente e explica 40% dos níveis séricos de testosterona. Por sua vez, os níveis de testosterona circulante contribuem com 35% para o desempenho do salto vertical na amostra estudada.

Palavras-chave: Hormônio; Desempenho; Atividade Física.

ABSTRACT

Introduction: Testosterone is the main male sex hormone that has its peak production in adolescence. It performs some functions such as the regulation of fertility, muscle mass, the distribution of body fat, the production of red blood cells, and has effects on cognitive ability. The importance of testosterone for athletes from different sports is due to its performance in protein synthesis, thus contributing to the maintenance and hypertrophy of muscle mass, which allows for greater development of muscle strength and power. Objective: to verify how much the serum values of testosterone are correlated and explained by the percentage of body fat and the contribution of testosterone in the performance in vertical jump test. Methodology: 23 physically active men aged 18 to 30 years participated in the study.

The study consisted of a single test session containing: body composition, blood pressure, blood collection, and vertical jump test with the volunteers at rest for 48 hours of any exercise. Results: A strong negative correlation ($r = -0.633$; $p = 0.001$) was found between the percentage of fat and testosterone. Between the testosterone and

the vertical jump height, a moderate positive correlation was observed ($r = 0.599$; $p = 0.003$). Conclusion: In physically active individuals, body fat percentage correlates strongly and explains 40% of serum testosterone levels. In turn, circulating testosterone levels contribute 35% to the vertical jump performance in the studied sample.

Keywords: Hormone; Performance; Physical activity.

1 INTRODUÇÃO

A testosterona é o principal hormônio sexual masculino tem seu pico de produção na adolescência. Desempenha algumas funções como a regulação da fertilidade, a massa muscular, a distribuição da gordura corporal (KELLY; JONES, 2013), a produção de glóbulos vermelhos e tem efeitos na capacidade cognitiva como o desenvolvimento da memória (HÖFER; LANZENBERGER; KASPER, 2013; CIOCCA et al., 2016). Nas mulheres a testosterona também está presente, em menor quantidade e tem funções ovarianas e no crescimento ósseo (ANTONIO et al., 2018).

A testosterona nos homens é produzida nos testículos pelas células de Leydig a partir do colesterol. Também é produzida em menores quantidades nas glândulas adrenais e nas mulheres pelos ovários. Sua produção é controlada pelo hipotálamo e glândula pituitária. Quando os níveis da testosterona estão baixos o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) é liberado pelo hipotálamo estimulando a glândula pituitária que libera os hormônios Foliculo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) estes por sua vez estimulam o testículo que produz a testosterona (NIESCHLAG; NIESCHLAG, 2019).

Dentre os fatores que influenciam os níveis da testosterona estão a idade onde é observado uma redução gradual após os 30 anos, o treino de resistência que estimula o aumento dos níveis circulantes (ZIEMBA et al., 2020), deficiência de vitamina A que pode reduzir os níveis plasmáticos e a gordura corporal que influencia na produção testicular da testosterona (BOONCHAYA-ANANT et al., 2016).

A importância da testosterona para atletas de diversas modalidades esportivas se deve pela sua atuação na síntese proteica contribuindo assim com a manutenção e hipertrofia da massa muscular o que possibilita um maior desenvolvimento da força e potência muscular (CREWETHER et al., 2020). Entretanto pouco se tem investigado o quanto a concentração de gordura corporal explica os níveis séricos da testosterona e qual a magnitude da influência desta no desempenho neuromuscular em teste de salto em praticantes de atividades físicas.

Assim o objetivo deste estudo foi verificar quanto os valores séricos da testosterona é correlacionado e explicado pelo percentual de gordura corporal e a contribuição da testosterona no desempenho em teste de salto vertical.

2 MATERIAIS E METODOS

Participaram do estudo 23 homens fisicamente ativos com idade entre 18 a 30 anos. Os critérios de inclusão foram: A) praticar pelo menos 150 minutos de exercício físico por semana, B) não fazer uso de qualquer tipo de suplementação ou recurso anabolizante, C) Não apresentar quaisquer doenças crônica metabólicas, E) não ter nenhum tipo de lesão óssea ou muscular que impossibilitasse a realização dos testes.

Os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido de acordo com a Declaração de Helsinque. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Católica de Brasília, sob o protocolo número CAAE: 08754219.3.0000.0029.

Os dados de caracterização da amostra estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Dados de caracterização da amostra (n=23)

	Média	DP (±)
Idade (anos)	26,08	5,48
Peso (Kg)	80,19	12,03
Altura (m)	1,73	0,06
IMC (Kg/m²)	26,55	3,52
Gordura (%)	16,80	5,39
PAS (mmHg)	120,91	11,34
PAD (mmHg)	71,26	9,18
Testosterona (ng/dl)	467,13	258,74
Salto (cm)	33,73	9,89
Atividade semanal (min)	320,86	29,219

IMC: Índice de massa corporal; PAS: Pressão Arterial Sistólica; PAD: Pressão Arterial Diastólica.

Fonte: Autoria própria.

2.1 Procedimentos Gerais

O estudo consistiu em uma única sessão de testes contendo: composição corporal, pressão arterial, coleta de sangue e teste de salto vertical com os voluntários em repouso de 48 horas de qualquer tipo de exercício.

2.2 Coleta de Sangue Venoso

Com os indivíduos sentados com um torniquete amarrado em seu braço, foi coletado de 2,5 ml de sangue na veia cubital mediana, usando agulhas estéreis após assepsia do local.

A análise da concentração de testosterona foi realizada no soro pelo método de eletroquimioluminescência, seguindo as especificações do fabricante do Kit. A técnica foi desenvolvida no aparelho Elecsys 2010 da Roche Diagnóstica (SIMÕES et al., 2004).

2.3 Composição Corporal

A estatura foi mensurada com o voluntário em pé e descalço, com tornozelos, panturrilhas, nádegas, escápula e cabeça encostados na parede. A posição da cabeça acompanhava o plano de Frankfurt e a estatura foi medida no momento da inalação do ar. A massa corporal foi obtida enquanto os participantes usavam roupas leves, utilizando-se de uma balança Filizola® com precisão de 100 gramas. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela equação $\text{peso (kg)} / \text{altura (m)}^2$ (Mill-Ferreyra, Camaño-Carrillo, Saúl-Gordo, & Camí-Lavado, 2019).

O percentual de gordura corporal foi estimado pela técnica de dobras cutâneas, na qual a densidade corporal foi calculada usando o protocolo de três dobras proposto por (JACKSON; POLLOCK, 1978), coletado em cada ponto em uma sequência rotacional no lado direito do corpo, registrando-se o valor médio de três medidas. As medidas foram realizadas por um único avaliador, usando uma bússola cutânea (Lange®, Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, Maryland, EUA). Após o cálculo da densidade corporal, foi convertido em porcentagem de gordura corporal pela equação proposta por (SIRI; BROZEK; HENSCHER, 1961).

2.4 Test de Salto Vertical

Os participantes realizaram os testes de salto em plataforma de contato Cefice®, sendo 2 tentativas para o registro do maior salto vertical - os participantes realizaram esforços concêntricos apenas, sendo orientados a partir da posição de 90° de flexão dos quadris, e saltar verticalmente o mais alto possível. O resultado da altura do salto foi registrado em centímetro (cm).

2.5 Análise estatística

Os dados foram apresentados em média e desvio padrão. Para testar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para estabelecer a relação entre a variável testosterona, percentual de gordura corporal e altura do salto vertical uti-

lizou-se a correlação de Pearson (r) e a regressão linear simples. Os dados foram tratados com auxílio do pacote estatístico SPSS 20.0 e GraphPad Prisma 8.0.2. O nível de significância adotado foi de $p \leq 0,05$.

3 RESULTADOS

Na tabela 2, são apresentados os dados da correlação de *Pearson*, entre a testosterona, percentual de gordura corporal e a altura no teste de salto vertical que apresentaram correlação forte e moderada com o nível sérico da testosterona.

Tabela 2 - Correlações de *Person* (r) entre a testosterona, percentual de gordura e salto vertical ($n=23$)

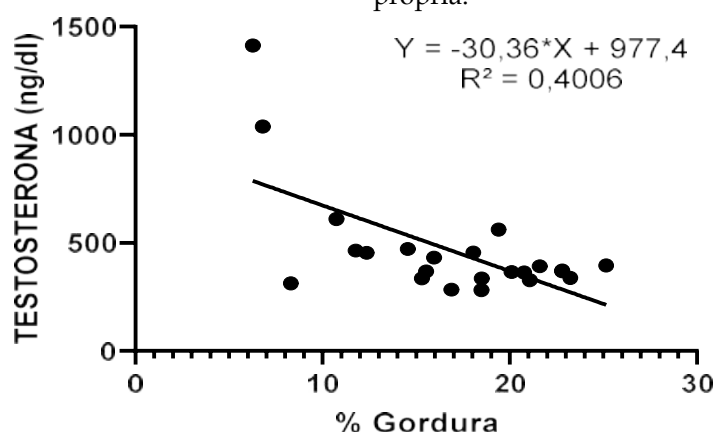
Testosterona	% Gordura	Salto vertical
<i>R</i>	-0,633	0,599
<i>P</i>	0,001*	0,003*

*: Significância estatística.

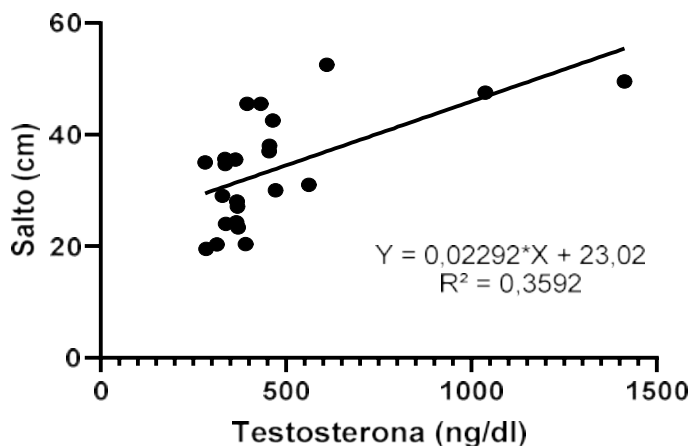
Fonte: Autoria própria.

A regressão linear entre a testosterona e o percentual de gordura e altura do salto vertical estão representados nas figuras 1 e 2. Encontramos uma forte correlação negativa ($r = -0,633$; $p = 0,001$) entre o percentual de gordura e a testosterona. Observando o valor do coeficiente de determinação (R^2) apresentado na figura 1, pode-se inferir que o percentual de gordura corporal explica em 40% os níveis séricos da testosterona nos voluntários do estudo. A equação (figura 1) estima a concentração da testosterona nestes indivíduos.

Figura 1 - Regressão linear entre a Testosterona e o Percentual de Gordura corporal. Fonte: Autoria própria.



Entre a testosterona e a altura no salto vertical foi observado uma moderada correlação positiva ($r = 0,599$; $p = 0,003$). Na figura 2, o coeficiente de determinação nos permite inferir que 35% do desempenho na altura do salto vertical pode ser atribuído aos valores séricos da testosterona. Foi gerada uma equação (figura 2) para estimar a influência da testosterona na altura do salto vertical.

Figura 2 - Regressão linear entre altura do Salto Vertical e a Testosterona. Fonte: Autoria própria

4 DISCUSSÃO

A literatura atual apresenta poucos trabalhos que buscam associar os níveis séricos da testosterona, percentual de gordura corporal e desempenho em testes de salto vertical, embora essas variáveis sejam frequentemente observadas e influenciam na prática de diversas modalidades esportivas.

O objetivo deste estudo foi verificar quanto os valores séricos da testosterona é correlacionado e explicado pelo percentual de gordura corporal e a contribuição da testosterona no desempenho em teste de salto vertical.

Os achados do presente estudo mostraram que o percentual de gordura prevê os níveis de testosterona [$F(1,21) = 14,032$; $p = 0,001$; $R^2 = 0,4006$] e que a concentração da testosterona pode ser utilizada para explicar o desempenho no teste de salto vertical [$F(1,21) = 11,774$; $p = 0,003$; $R^2 = 0,3592$] em homens adultos fisicamente ativos.

Nossos achados corroboram com o estudo de (RYMARZ et al., 2019) que encontraram correlação embora fraca ($r = -0,36$, $p = 0,018$) entre os níveis de testosterona e o percentual de gordura corporal em homens em hemodiálise. Da mesma forma (HAYES et al., 2013) observaram correlação negativa entre a testosterona e a gordura corporal ($R^2 = 0,285$; $p = 0,001$) em 28 homens de meia idade sedentários. Analisando fisiologicamente, é razoável supor que a testosterona apresente correlação negativa com o percentual de gordura corporal, uma vez que o aumento da produção de citocinas pró inflamatória como a Interleocina-1 (IL-1), Interleocina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF- α) além de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Proteínas-C reativas decorrente do aumento da adiposidade corporal interfere na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-testicular reduzido a produção de testosterona (MARTINI et al., 2012; VODO et al., 2013; FUI; DUPUIS; GROSSMANN, 2014; KAHN; BRANNIGAN,

2017). Portanto, sugere uma importante associação composição entre a corporal e os níveis séricos de testosterona.

Quanto ao desempenho no teste de salto vertical (MOREIRA et al., 2013) observaram que para a altura do salto com contra movimento realizados por jogadores de elite de futebol o modelo explicou 42,88% ($R^2 = 42,88$; $p < 0,001$) pela concentração da testosterona. Este dado está de acordo com o achado em nosso estudo que observou um coeficiente de determinação de 35% ($R^2 = 35,92$; $p = 0,003$) de contribuição da testosterona no desempenho do salto vertical em nossos voluntários. A contribuição da testosterona no salto vertical em atletas ou indivíduos fisicamente ativos pode ser compreendido pela sua importante atuação na síntese proteica contribuindo com a hipertrofia muscular através do processo de transcrição que ocorre no núcleo da célula, a regeneração dos danos musculares (BASUALTO-ALARCÓN et al., 2013; HOOPER et al., 2017; GORGEY et al., 2020), e consequentemente na melhoria da força, da eficiência mecânica e incremento na potência muscular (HERBERT et al., 2017; COOK; KILDUFF; CREWETHER, 2018) durante a execução do salto vertical.

Apontamos as seguintes limitações em nosso estudo: as equações não foram submetidas à validação na presente investigação. A pesquisa transversal caracterizamos como uma segunda limitação uma vez que este tipo de pesquisa realiza medidas em um único momento sem possibilitar o acompanhamento dos voluntários, não sendo possível observar as variáveis investigadas durante um período específico.

5 CONCLUSÃO

Em indivíduos fisicamente ativos o percentual de gordura corporal se correlaciona fortemente e explica em 40% os níveis séricos da testosterona. Por sua vez os níveis circulantes da testosterona contribuem em 35% no desempenho do salto vertical na amostra estudada.

Encorajamos estudos posteriores com atletas de elite e outros grupos populacionais para confirmar estes achados em diferentes indivíduos.

REFERÊNCIAS

ANTONIO, L.; PAUWELS, S.; LAURENT, M. R.; VANSCHOU BROECK, D.; JANS, I.; BILLEN, J.; CLAESSENS, F.; DECALLONNE, B.; DE NEUBOURG, D.; VERMEERSCH, P.; VANDERSCHUEREN, D. Free Testosterone Reflects Metabolic as well as Ovarian Disturbances in Subfertile Oligomenorrheic Women. **International Journal of Endocrinology**, v. 2018, n., p. 7956951, 2018.

BASUALTO-ALARCÓN, C.; JORQUERA, G.; ALTAMIRANO, F.; JAIMOVICH, E.; ESTRADA, M. Testosterone signals through mTOR and androgen receptor to induce muscle hypertrophy. **Med Sci Sports Exerc**, v. 45, n. 9, p. 1712-1720, 2013.

BOONCHAYA-ANANT, P.; LAICHUTHAI, N.; SUWANNASRISUK, P.; HOUNGN-GAM, N.; UDOMSAWAENG SUP, S.; SNABBOON, T. Changes in Testosterone Levels and Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Extremely Obese Men after Bariatric Surgery. **International Journal of Endocrinology**, v. 2016, n., p. 1416503, 2016.

CIOCCA, G.; LIMONCIN, E.; CAROSA, E.; DISANTE, S.; GRAVINA, G. L.; MOLLAIO-LI, D.; GIANFRILLI, D.; LENZI, A.; JANNINI, E. A. Is Testosterone a Food for the Brain? **Sex Med Rev**, v. 4, n. 1, p. 15-25, 2016.

COOK, C. J.; KILDUFF, L. P.; CREWETHER, B. T. Basal and stress-induced salivary testosterone variation across the menstrual cycle and linkage to motivation and muscle power. **Scand J Med Sci Sports**, v. 28, n. 4, p. 1345-1353, 2018.

CREWETHER, B.; COOK, C.; FITZGERALD, J.; STARCZEWSKI, M.; GORSKI, M.; ORY-SIAK, J. J. P. E. S. Vitamin D and Cortisol as Moderators of the Relationship Between Testosterone and Exercise Performance in Adolescent Male Athletes. v. 32, n. 4, p. 204-209, 2020.

FUI, M. N.; DUPUIS, P.; GROSSMANN, M. Lowered testosterone in male obesity: mechanisms, morbidity and management. **Asian J Androl**, v. 16, n. 2, p. 223-231, 2014.

GORGEY, A. S.; GRAHAM, Z. A.; CHEN, Q.; RIVERS, J.; ADLER, R. A.; LESNEFSKY, E. J.; CARDOZO, C. P. Sixteen weeks of testosterone with or without evoked resistance training on protein expression, fiber hypertrophy and mitochondrial health after spinal cord injury. **J Appl Physiol (1985)**, v. 128, n. 6, p. 1487-1496, 2020.

HAYES, L. D.; GRACE, F. M.; SCULTHORPE, N.; HERBERT, P.; RATCLIFFE, J. W.; KILDUFF, L. P.; BAKER, J. S. J. S. The effects of a formal exercise training programme on salivary hormone concentrations and body composition in previously sedentary aging men. v. 2, n. 1, p. 1-5, 2013.

HERBERT, P.; HAYES, L. D.; SCULTHORPE, N. F.; GRACE, F. M. HIIT produces increases in muscle power and free testosterone in male masters athletes. **Endocr Connect**, v. 6, n. 7, p. 430-436, 2017.

HÖFER, P.; LANZENBERGER, R.; KASPER, S. Testosterone in the brain: neuroimaging findings and the potential role for neuropsychopharmacology. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 23, n. 2, p. 79-88, 2013.

HOOPER, D. R.; KRAEMER, W. J.; FOCHT, B. C.; VOLEK, J. S.; DUPONT, W. H.; CALDWELL, L. K.; MARESH, C. M. Endocrinological Roles for Testosterone in Resistance Exercise Responses and Adaptations. **Sports Med**, v. 47, n. 9, p. 1709-1720, 2017.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. J. B. J. O. N. Generalized equations for predicting body density of men. v. 40, n. 3, p. 497-504, 1978.

KAHN, B. E.; BRANNIGAN, R. E. Obesity and male infertility. **Curr Opin Urol**, v. 27, n. 5, p. 441-445, 2017.

KELLY, D. M.; JONES, T. H. Testosterone: a metabolic hormone in health and disease. **J Endocrinol**, v. 217, n. 3, p. R25-45, 2013.

MARTINI, A. C.; MOLINA, R. I.; RUIZ, R. D.; FIOL DE CUNEO, M. [Obesity and male fertility]. **Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba**, v. 69, n. 2, p. 102-110, 2012.

MOREIRA, A.; MORTATTI, A.; AOKI, M.; ARRUDA, A.; FREITAS, C.; CARLING, C. Role of free testosterone in interpreting physical performance in elite young Brazilian soccer players. **Pediatr Exerc Sci**, v. 25, n. 2, p. 186-197, 2013.

NIESCHLAG, E.; NIESCHLAG, S. ENDOCRINE HISTORY: The history of discovery, synthesis and development of testosterone for clinical use. **Eur J Endocrinol**, v. 180, n. 6, p. R201-r212, 2019.

RYMARZ, A.; MATYJEK, A.; GOMÓŁKA, M.; NIEMCZYK, S. Lean Tissue Index and Body Cell Mass Can Be Predictors of Low Free Testosterone Levels in Men on Hemodialysis. **J Ren Nutr**, v. 29, n. 6, p. 529-535, 2019.

SIMÕES, H. G.; MARCONI, F.; CAMPBELL, C. S. G.; DE OLIVEIRA, F.; ROSA, L. F. B. P. C.; BALDISSERA, V. J. R. B. D. E. F. E. E. Resposta da razão testosterona/cortisol durante o treinamento de corredores velocistas e fundistas. v. 18, n. 1, p. 31-46, 2004.

SIRI, W.; BROZEK, J.; HENSCHEL, A. J. W., DC: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Techniques for measuring body composition. v., n., p. 223-224, 1961.

VODO, S.; BECHI, N.; PETRONI, A.; MUSCOLI, C.; ALOISI, A. M. Testosterone-Induced Effects on Lipids and Inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, n., p. 183041, 2013.

ZIEMBA, A.; ADAMCZYK, J. G.; BARCZAK, A.; BOGUSZEWSKI, D.; KOZACZ, A.; DĄBROWSKI, J.; STECZKOWSKA, M.; PEPLŃSKA, B.; ŻEKANOWSKI, C. Changes in the Hormonal Profile of Athletes following a Combat Sports Performance. **BioMed Research International**, v. 2020, n., p. 9684792, 2020.

CAPÍTULO 5

UM ESTUDO LITERÁRIO DA IMPORTÂNCIA DA MICROBIOLOGIA NA SAÚDE PÚBLICA DO BRASIL

*A LITERARY STUDY OF THE IMPORTANCE OF
MICROBIOLOGY IN PUBLIC HEALTH IN BRAZIL*

*Gardjany da Costa Moreira¹
Gleidiany da Costa Moreira²*

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.5

¹ Instituto Federal de Educação Ciências e Tecnologia. <https://orcid.org/0000-0002-5362-5608>. gardjanymoreira@gmail.com

² Universidade Federal do Maranhão. <https://orcid.org/0000-0002-2188-6352> . gleidianydacostamoreira@gmail.com

RESUMO

O presente estudo tem como principal preocupação básica a análise da importância da microbiologia na saúde pública do Brasil, na qual cada vez mais é necessário divulgar o que este ramo das ciências biológicas tem como busca de melhoria da vida populacional no planeta. Este artigo tem o objetivo de investigar as grandes façanhas que levaram a microbiologia a ser colocada num ponto referencial do cotidiano social para a saúde de todos os seres humanos, principalmente no Brasil. O trabalho partiu de um estudo bibliográfico considerando os pressupostos de autores como Edilsa (2013), Jaime (2000) e Suassuna (2006), entre outros estudiosos que embasaram as afirmações de que a microbiologia é um marco científico da busca incessante de melhorias da saúde populacional. Contudo, a importância da microbiologia é um fator essencial que deve ser divulgada, apreciada e incentivada no país, principalmente nas instituições educativas e veículos midiáticos, para demonstrar que nossa vida depende de seus estudos e pesquisas.

Palavras-chave: Microbiologia. Ciências. Conhecimento. Pesquisa.

ABSTRACT

The present study has as its main basic concern the analysis of the importance of microbiology in public health in Brazil, in which it is increasingly necessary to divulge what this branch of biological sciences has as a quest to improve population life on the planet. This article aims to investigate the great feats that led microbiology to be placed in a referential point of social daily life for the health of all human beings, especially in Brazil. The work started from a bibliographic study considering the assumptions of authors such as Edilsa (2013), Jaime (2000) and Suassuna (2006), among other scholars who grounded the statements that microbiology is a scientific landmark of the incessant search for improvements in population health. However, the importance of microbiology is an essential factor that should be disseminated, appreciated and encouraged in the country, especially in educational institutions and media vehicles, to demonstrate that our life depends on its studies and research.

Keywords: Microbiology. Sciences. Knowledge. Research.

1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho tem como tema a importância da microbiologia na saúde pública do Brasil, que se tem como uma das áreas peculiares ao saneamento básico existente em nosso país, para o desvendamento de micro seres que podem afetar a vida humana em sociedade, desencadeando uma série de enfermidades.

Nesta perspectiva, construiu-se questões que nortearam este trabalho:

- Qual a importância da microbiologia na saúde da população brasileira?
- Quais aspectos são relevantes para que esta área se torne o marco social no avanço para uma vida melhor?

Quando se fala em microbiologia, pouco se sabe a importância que esta atividade representa na vida cotidiana da população. Por ser ainda uma parte da ciência pouco demonstrada no dia a dia dos seres humanos, ela se tem como oculta, por estar escondida dentro dos grandes centros laboratoriais ou industriais. É a partir deste pensamento que parti esta pesquisa, a de exibir para as pessoas que antes delas produziram, consumirem ou adquirirem um produto ou serviço de saúde, que estes processos sempre passam por uma análise microbiológica, se tornando adequados a nosso uso.

Vários historiadores relatam em suas pesquisas a aparição de uma ciência investigativa, que com suas análises microscópicas se tornam um marco para o combate de inúmeras enfermidades que surgiam nas épocas de poucos conhecimentos microbiológicos e de saneamento.

Conforme Edilsa e Aparecida,

A Microbiologia é uma ciência derivada da Biologia que vem se desenvolvendo nos últimos séculos devido a contribuição de inúmeros personagens, profissionais, estudiosos ou simplesmente pessoas curiosas e dedicadas a conhecer um mundo aparentemente invisível. O principal objetivo da Microbiologia é estudar todos os aspectos que envolvem o mundo microbiano, constituído pelas bactérias, fungos (filamentosos, “bolores”, “mofos” e leveduras), protozoários, vírus e algas microscópicas (SILVA; SOUZA, 2013, p.13).

Neste contexto, o objetivo primordial deste estudo é investigar as grandes façanhas que levaram a microbiologia a ser colocada num ponto referencial do cotidiano social para a saúde de todos os seres humanos, principalmente no Brasil.

Para alcançar os objetivos propostos, utilizou-se como recurso metodológico, a pesquisa bibliográfica, realizada a partir da análise de conteúdo de materiais como artigos científicos, livros e outros documentos literários divulgados no meio eletrônico.

O trabalho de autores como: Edilsa (2013), Jaime (2000) e Suassuna (2006) se fazem presentes como principais teóricos de embasamentos de afirmações e análises.

2 DESENVOLVIMENTO

A microbiologia é a área que trabalha com o tratamento de análise dos micro-organismos que podem servir como benéficos aos indivíduos ou provocar uma série de doenças em humanos. Sua dimensão de estudos corresponde a uma ampla gama de busca, desenvolvimento e tratamento destes micros seres. Para Edilsa (2013):

Os microrganismos estão presentes em todos os aspectos da vida humana. Desde o início de nossa vida pós-uterina, a colonização do corpo humano por determinados grupos microbianos (principalmente bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Bacteróides*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e fungos e leveduras dos gêneros *Cândida* e *Pityrosporum*). (SILVA; SOUZA, 2013, p.8).

Os estudos microbiológicos pelo mundo tiveram início no século XVII com as observações de Antony Van Leewenhoek (1632-1723), que usava lentes rústicas, onde ampliavam até 300x as imagens através de um microscópio primitivo (Guerra, 1940). A partir deste comerciante holandês, foram surgindo novos pesquisadores e novos instrumentos de trabalhos mais modernos.

No Brasil, este ramo das ciências biológicas, historicamente teve como pioneiro Oswaldo Cruz (1872 – 1917), formado em medicina pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro em 1892, desvendou os mistérios da Febre Amarela que assolava o Rio de Janeiro em meados de 1897 a 1906. Anterior a este feito, foi diretor de um Instituto Soroterápico Municipal para combater a peste bubônica (SUASSUNA, 2006), que conseguiu com êxito através de suas pesquisas.

Ainda no período de 1897 a 1906, O. Cruz, então Diretor Geral de Saúde Pública, deflagra as campanhas de saúde em combate a febre amarela e a varíola, na qual houve grande repercussão de contrariedade pela sociedade, abrindo um movimento chamado de “Revolta da Vacina”. Mas que tempos depois mostrou-se aos cidadãos como um ato de garantia da saúde dos munícipes.

Além deste, houveram outros cientistas da microbiologia, um deste foi Carlos Chagas, que estudou a doença popularmente conhecida como Doença de Chagas (*Trypanosomas cruzi*), causada pelo parasita do barbeiro. E também Adolfo Lutz, que foi um grande médico pesquisador, que estudou a fundo a transmissão da febre amarela pelo mosquito *Aedes aegypti*, além de desvendar que este é um inseto vetor de muitas outras doenças (SUASSUNA, 2006).

A consagração destes homens é pertinente das pesquisas microbiológicas associada a medicina tropical¹ em que sempre buscou a desvendar os vetores de proliferação de endemias populares de suas épocas. Com isto, o avanço na medicina higiênica, preventiva e sintomática para uma melhoria habitacional.

Não somente se destacaram pesquisadores relacionados a medicina, a também aqueles que produziram estudos no ramo da agronomia com Johanna Döbereiner, pesquisadora agrônoma que especificou os tipos de bactérias que sustentam a alimentação das plantas por meio da fixação de nitrogênio nas raízes, através da análise mi-

1 Medicina Tropical é um termo usado para destacar um conjunto de pesquisas e conhecimentos medicinais no Brasil e intercalado pelo médico pioneiro Adolpho Lutz e depois pela fundação da Escola Tropicalista Baiana que foi cunhada em 1952, por Coni, para designar um grupo de médicos que se organizou em torno de um periódico fundado em 1866, a *Gazeta Médica da Bahia* (1866-1915), à margem da Faculdade de Medicina existente na antiga capital do Brasil colônia (BENCHIMOL, 2000).

crobiológica. Seus estudos hoje em dia são utilizados no campo para modernização do plantio da soja (DÖBEREINER, 1983).

A descoberta da insulina humana recombinante também foi um marco brasileiro na microbiologia, descoberta por Marcos Luiz dos Mares Guia na década de 90. Antes desta, a insulina que provinha do pâncreas de animais como porcos e bois trazia consigo um patógeno que causava alergia em diabéticos, com este problema, o bioquímico Marcos Mares selecionou a bactéria *E. coli* presente no nosso corpo a auferir o gene que produz insulina humana, assim ela passa a fabricar naturalmente em nosso sistema endócrino (MARES-GUIA, 1990).

É necessário que todos estes cientistas médicos micro biólogos sejam retratados na história brasileira como sendo indivíduos revolucionários e provocadores do *status* de saúde e vida adequada que todos os brasileiros têm. Se faz essencialmente intercalar que a microbiologia em uma de suas competências está a segurança social contra doenças.

A microbiologia assegura a nação um risco baixo de contaminação, pois a partir dela, alimentos, remédios, processos hospitalares e clínicos, se tornaram meios, que em tese, não provem contaminação, mas que na realidade pela falta de competência e fiscalização rígida, muitos casos de contaminação por agentes microscópicos ainda acontecem.

Em consonância a afirmação a cima, é destacável que a educação seja uma destas vitrines da microbiologia, principalmente na disciplina de ciências ou de biologia, onde seja pertinente o estudo aprofundado deste conteúdo. Trazendo conhecimentos da realidade do indivíduo como: os tipos de micro-organismos e as causas que estes agentes provocam em humanos, suas formas de contaminação, transmissão e seu combate. Porém, é necessário que os docentes se atentem ao fato de aproximar este assunto a realidade do aluno, em seu trabalho, Welker (2007) relata:

“O ensino de Biologia no Ensino Médio – assim como o de Ciências no Ensino Fundamental – muitas vezes é realizado de forma pouco atrativa para os alunos, fazendo com que eles vejam essas disciplinas como algo meramente teórico, distante da realidade da qual fazem parte e, por isso, pouco interessante de ser estudado.” (Welker, 2007, p.69)

A instituição de ensino é a primordial fonte de disseminação do conhecimento microbiológico. Quantos pesquisadores e cientistas são esquecidos por suas descobertas e quantas doenças simplórias são adquiridas simplesmente pela falta de conhecimento preventivo destas. É por isso que é necessário desenvolver mais e mais conhecimento e informação que advenham do ramo científico aqui estudado.

Contudo, a microbiologia como aspecto crucial da saúde brasileira merece atenção, reflexão e apoio para que esta seja vista com bons olhos, com mais importância, pois foi a partir desta que a vida social se tornou propícia e ainda hoje está em desenvolvimento para mais e mais melhorias populacionais e desenvolvimento nas áreas alimentícias, agrícolas, astronômicas e outras.

3 CONCLUSÃO

Diante do exposto, concluiu-se que a microbiologia ainda se faz um campo raso de apresentação desta como importante no mundo e principalmente no Brasil. Apesar das magníficas mentes nacionais que provocaram uma revolução na área médica e agrícola, ainda é muito pouco falado dos inúmeros trabalhos, aspectos e relevâncias para o nosso mundo.

Desde Carlos Chagas até Johanna Döbereiner, a microbiologia nacional teve bastante destaque, impulso ao seu desenvolvimento de seus objetivos humanitários e éticos. As façanhas científicas de Oswaldo Cruz e outros prevalecem o Brasil como ainda sendo um país do moderno estudo microbiológico, mas infelizmente a falta de divulgação constante, estudo aprofundado e o incentivo, corroboram para uma defasagem e esquecimento de trabalhos importantes desta área.

Contudo, é crucial que este ramo das ciências biológica e da medicina, seja mais exibida as pessoas, elevada ao público principalmente na escola, compreendida como importante na saúde do Brasil, fazendo com que novos precursores surjam em meio ao enfrentamento de doenças que ainda assolam alguns povos e que se faça destaque ao incentivo financeiro e científico.

REFERÊNCIAS

BENCHIMOL, Jaime Larry. **A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil**. Ciência & Saúde Coletiva, 5(2):265-292, 2000.

DÖBEREINER, J. **Entrevista a Carlos Chagas Filho, do Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro**. Canal Ciência, Ibict, 1983. Disponível em: http://www.canalciencia.ibict.br/notaveis/livros/johanna_dobereiner_23.html. Acesso em junho de 2015.

Guerra, E. Sales. **Oswaldo Cruz**. Vecchi Editores, Rio de Janeiro, 1940.

MARES-GUIA, M.; NASCIMENTO, V. V.; LOVRIEN, R.; MELO, M. N. Microcalorimetric **determination of glucose utilization by Leishmania**. Thermochemica Acta, v. 172, p. 203-211, 1990.

SILVA, Edilsa Rosa da; SOUZA, Aparecida Sônia de. **Introdução ao estudo da microbiologia: teoria e prática**. Brasília: Editora do IFB, 2013.

SUASSUNA, Ítalo. **Brasileiros Pioneiros Na História Da Microbiologia Médica.** Revista Paraense de Medicina V.20 (2) abril - junho 2006.

WELKER, C. A. D. **O estudo de bactérias e protistas no ensino médio:** uma abordagem menos convencional. In: Experiências em Ensino de Ciências. V. 2, nº 2, p. 69-75. Porto Alegre: 2007.



CAPÍTULO 6

EFEITO DO FITORREGULADOR ÁCIDO INDOLBUTÍRICO NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE *ALLOPHYLUS EDULIS* (A. ST.- HIL., CAMBESS. & A. JUSS.) RADLK E *PRUNUS* *MYRTIFOLIA* (L.) URBAN

EFFECT OF INDOLBUTYRIC ACID PHYTOREGULATOR IN THE ROOTING OF ALLOPHYLUS EDULIS (A. ST.-HIL., CAMBESS. & A. JUSS.) RADLK AND PRUNUS MYRTIFOLIA (L.) URBAN CUTTINGS

*Letiele Bruck de Souza*¹

*Amanda Leitão Gindri*²

*Maurício Ricardo de Melo Cogo*³

*Tiago Silveira Ferrera*⁴

*Viviane Dal-Souto Frescura*⁵

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.6

¹ Universidade Federal do Pampa. <https://orcid.org/0000-0001-9949-6891>. litibio@gmail.com

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Santiago. <https://orcid.org/0000-0002-1214-7419>. amandagindri@gmail.com

³ Universidade Federal do Pampa. <https://orcid.org/0000-0002-2885-7212>. mauriciomcogo@hotmail.com

⁴ Escola Municipal de Ensino Fundamental Padre Afonso Rodrigues. <https://orcid.org/0000-0002-8258-8906>. tsferrera@yahoo.com.br

⁵ Universidade Federal de Santa Maria, Campus Cachoeira do Sul <https://orcid.org/0000-0003-1520-6979>. viviane.frescura@ufsm.br

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento de estacas de *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. e *Prunus myrtifolia* (L.) Urban, a fim de obter mudas uniformes em um curto espaço de tempo. As estacas foram coletadas de ramos de plantas matrizes, com 10 cm de comprimento, onde foram submetidas as dosagens de 0, 10, 20 e 40 mg.L⁻¹ por sete dias. Posteriormente as estacas referentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram transferidas para meio MS líquido e as de T0 permaneceram em água destilada, ambas mantidas em sala de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 16 horas, por 60 dias com avaliações semanais, referentes ao número de raízes e número de brotos apicais e submersos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições com quatro estacas por repetição. Os tratamentos com as doses de 0, 10, 20 e 40 mg.L⁻¹ de AIB apresentaram redução significativa no número de brotos apicais e ausência de raízes em *A. edulis* e em *P. myrtifolia* também ocorreu diferença significativa entre esses tratamentos e o controle em água destilada para as variáveis analisadas. Conclui-se que o AIB e o meio de cultura utilizado prejudicam o enraizamento de estacas das espécies em estudo, sendo os melhores resultados observados em água destilada.

Palavras-chave: Regulador de crescimento. Estaquia. Sapindaceae. Rosaceae.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of the indolbutiric acid (AIB) in the stakes rooting of *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. and *Prunus myrtifolia* (L.) Urban, in order to obtain uniform seedling in a few time. The stakes were collected from branches of matrices plants with 10 cm of length, and submitted to the dosage of 0, 10, 20 and 40 mg.L⁻¹ for seven days. Afterwards, the stakes from T1, T2, T3 and T4 were transferred to a MS liquid medium and T0 remained in distilled water. Both treatment were maintained in a growth room at 25°C and photoperiod of 16 hours, for 60 days with weekly evaluations that considering the root's number and apical and submerged shoot's number. The experimental delineation was very casual, with five treatments and four repetitions with four stakes per repetition. The treatments with the dosage of 0, 10, 20 and 40 mg.L⁻¹ of AIB presented a significative reduction in the apical shoots and absence of roots in *A. edulis* and *P. myrtifolia*. A significative difference between the treatments and distilled water were also verified to the variables. It was concluded that the AIB and the culture medium used damaged the stakes rooting of the species, whereas the best results were evidenced in distilled water.

Keywords: Growth Regulators. Sapindaceae. Rosaceae.

1 INTRODUÇÃO

Os recursos florestais vêm sendo explorados através do desmatamento para suprir as diferentes necessidades de matéria-prima. Essa exploração ocasiona, posteriormente, a utilização das áreas para fins agropecuários. Sabendo-se que a cobertura florestal exerce uma importante função na estabilização e formação do solo, protegendo-o contra a ação dos raios solares e ventos que o dessecam e das águas pluviais que os arrastam, provocando a erosão (GLUFKE, 1999), há a preocupação em recuperar áreas degradadas que está ligada a fatores como recomposição da paisagem, conservação de recursos hídricos, fixação e conservação da fauna e da flora, preservação de encostas e o cumprimento da legislação ambiental vigente (GLUFKE, 1999). Diante do atual cenário florestal, toda tecnologia que facilita ou viabiliza ecologicamente e comercialmente a produção de espécies nativas é atrativa.

Uma das tecnologias utilizadas para a produção de espécies nativas atualmente é a propagação vegetativa pelo enraizamento de estacas. A propagação vegetativa é comum em muitas espécies comercialmente importantes, como nas espécies *Lippia alba* (BIASE & COSTA, 2003), *Acca sellowiana* Berg (FRANZON et al., 2004), *Litchi chinensis* Soon. (CARVALHO et al., 2005), *Eucalyptus grandis* (WENDLING & XAVIER, 2005) dentre outras, resultando em mudas mais uniformes, produzidas em um menor período de tempo do que as obtidas por sementes, sendo esta tecnologia, o procedimento mais econômico na propagação em grande escala (FOSTER, 1993). Na estaquia, para a maioria das espécies, a aplicação de reguladores de crescimento é decisiva para a formação de raízes (KESTER & SARTORI, 1966). Assim, propicia a iniciação, aumento e qualidade das raízes em formação, além de causar uma uniformidade em tal característica (FACHINELLO et al., 1994).

Reguladores de crescimento são substâncias que possuem efeitos fisiológicos semelhantes aos hormônios vegetais, sendo, no entanto sintéticos. O ácido indolbutírico (AIB) por ser estável à fotodegradação e possuir boa capacidade de promover o enraizamento, tem sido utilizado em estacas de várias espécies, principalmente aquelas que apresentam dificuldade em emitir raízes (FACHINELLO et al., 1996) é a auxina sintética mais utilizada e mais eficiente para promover o enraizamento de estacas, sendo efetivo para um grande número de plantas, como as espécies *Aniba canelilla* (H.B.K) Mez (SAMPAIO et al., 2010), *Ficus carica* L. (PAULA et al., 2009), *Rubus* sp. (RADMANN et al., 2003), *Litchi chinensis* Soon. (BASTOS et al., 2006) cultivares de pessegueiro (TOFANELLI et al., 2002a) e ameixeira (TOFANELLI et al., 2002b), entre outras.

Dentre as espécies de interesse para arborização destacam-se *Allophylus edulis* (A. St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. e *Prunus myrtifolia* (L.) Urban, espécies arbóreas

nativas recomendada para arborização de represas, reposição de matas ciliares em locais sem inundação (CARVALHO, 1994) e estão, inclusive, na listagem das espécies arbóreas indicadas para o reflorestamento heterogêneo de áreas degradadas (GLUFKE, 1999). *A. edulis* pertence à família Sapindaceae, é conhecida popularmente como vacum, vacunzeiro, chal-chal, бага-de-morcego, fruta-de-pombo, murta vermelha, entre outros (REITZ, 1980; LORENZI, 1992; BACKES & IRGANG, 2004). *P. myrtifolia* pertence à família Rosaceae e é conhecida popularmente como pessegueiro-bravo, pessegueiro-do-mato, coração-de-negro, marcela-do-mato, entre outros (LORENZI, 1992). Para atender o crescente interesse por espécies nativas em programas de reflorestamento e na indústria madeireira, é necessária uma produção de mudas rápida e eficiente. Assim, o objetivo do presente estudo consistiu em avaliar o efeito do fitorregulador AIB no enraizamento de estacas de *A. edulis* e *P. myrtifolia*, a fim de obter mudas uniformes em um curto espaço de tempo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Biologia do Centro de Ciências Naturais e Exatas - CCNE da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Ramos apicais foram coletados das plantas matrizes de *A. edulis* e *P. myrtifolia* nas dependências do Jardim Botânico da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Destes ramos foram retiradas estacas no tamanho de 10 cm, cuja base foi cortada em bisel e manteve-se duas folhas na porção apical. Em seguida, foram submetidas a tratamento fitossanitário com hipoclorito de sódio a 2,0% durante cinco minutos, e posteriormente lavadas em água corrente e, imersas em água destilada por mais cinco minutos.

Para a indução do enraizamento utilizou-se os seguintes os tratamentos: T0 = água destilada (controle); T1= meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) líquido; T2 = meio MS líquido acrescido de 10 mg.L⁻¹ de AIB; T3 = meio MS líquido acrescido de 20mg.L⁻¹ de AIB; T4 = meio MS líquido acrescido de 40mg.L⁻¹ de AIB.

Os tratamentos tiveram o pH ajustado para 5,8 e foram autoclavados à 121°C, sob pressão de 1,5 atm, por 20 minutos. Posteriormente, as estacas foram imersas em frascos com 13 cm de altura e 10 cm de diâmetro contendo 250 mL de cada tratamento por sete dias.

Após o período de sete dias, as estacas referentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram transferidas para meio MS líquido e as de T0 permaneceram em água destilada. As estacas foram mantidas em sala de crescimento (25°C e fotoperíodo de 16 horas),

por 60 dias com avaliações semanais, referentes ao número de raízes e número de brotações apicais e submersas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições com quatro estacas por repetição. Os dados coletados foram analisados quanto à normalidade pelo teste Anderson Darling e homogeneidade pelo teste de Bartlett para verificar o atendimento às pressuposições da análise de variância e como não atenderam aos pressupostos foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

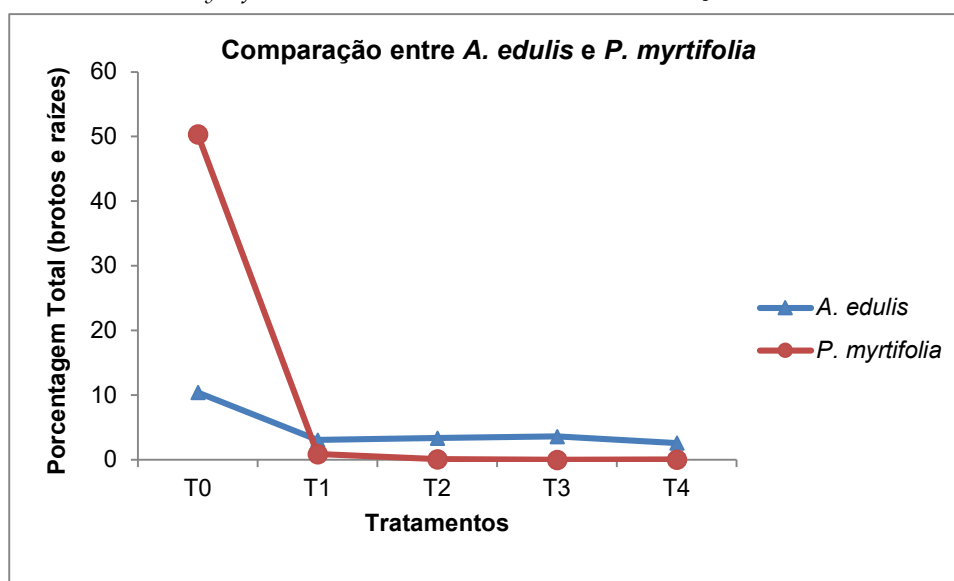
Os tratamentos com as doses de 0, 10, 20 e 40 mg.L⁻¹ de AIB apresentaram redução significativa no número de brotos apicais e ausência de raízes em *A. edulis* e em *P. myrtifolia* também ocorreu diferença significativa entre esses tratamentos e o controle em água destilada para brotos apicais, raízes e para brotos submersos, observados nessa espécie (Fig. 1; Tabelas 1 e 2).

O AIB pode ter afetado negativamente o número de brotos e raízes das estacas de *A. edulis* e *P. myrtifolia* (Fig. 1), sendo que resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho et al. (2005), em estacas de *Litchi chinensis* Soon. Em estudo realizado por Rosalski et al. (2003), os mesmos verificaram que níveis elevados de AIB no meio de cultura afetaram negativamente o comprimento de raízes de porta-enxertos de *Prunus* spp., mas não afetaram as brotações de raízes, corroborando com os resultados do presente trabalho.

O fato dos tratamentos controles terem sido os únicos a enraizar, provavelmente se justifica pela presença de folhas mantidas nas estacas, já que nos outros tratamentos a queda foliar foi uniforme. O efeito das folhas é explicado pela continuidade da fotossíntese na estaca, fornecendo carboidratos, hormônios e outras substâncias necessárias para o estímulo e crescimento de brotos e raízes (HARTMANN, 1997).

Outro fator relevante é que a ausência de emissão de raízes nas estacas das espécies em estudo pode estar relacionada a diversos fatores, dentre eles o tipo de estaca utilizada, o meio de cultura onde foram inseridas contendo as concentrações de auxina, e ao próprio potencial genético das espécies para formação de brotos e raízes (VIA-GANÓ et al., 2007).

Figura 1 - Comparação entre as médias de brotações (apicais e submersos) e enraizamento de *A. edulis* e *P. myrtifolia* submetidas a diferentes concentrações de AIB.



As estacas de *A. edulis* não apresentaram brotos submersos, diferindo do tratamento controle com água destilada, ocorreram brotos apicais em todos os tratamentos, com maior número no controle em água destilada e somente as estacas do tratamento controle apresentaram raízes (Tabela 1).

Tabela 1 - Número e média de brotos apicais, brotos submersos e raízes de estacas da espécie *A. edulis*.

TRATAMENTO	Nº DE BROTOS APICAIS	MÉDIA DE BROTOS APICAIS	Nº DE RAÍZES	MÉDIA DE RAÍZES	Nº DE BROTOS SUBMERSOS	MÉDIA DE BROTOS SUBMERSOS
T0	136	9,06 ^a	31	1.93 ^a	0	0 ^a
T1	49	3.06 ^b	0	0 ^b	0	0 ^a
T2	54	3.37 ^b	0	0 ^b	0	0 ^a
T3	58	3.62 ^b	0	0 ^b	0	0 ^a
T4	42	2.62 ^{bc}	0	0 ^b	0	0 ^a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade

Na espécie *P. myrtifolia* ocorreu grande número de raízes sem o emprego do AIB, já com o uso de AIB não ocorreram raízes (Tabela 2).

Tabela 2 - Número e média de brotos apicais, brotos submersos e raízes de estacas da espécie *P. myrtifolia*.

TRATAMENTO	Nº DE BROTOS APICAIS	MÉDIA DE BROTOS APICAIS	Nº DE RAÍZES	MÉDIA DE RAÍZES	Nº DE BROTOS SUBMERSOS	MÉDIA DE BROTOS SUBMERSOS
T0	131	8,18 ^a	531	33,18 ^a	144	9 ^a
T1	13	0,81 ^b	0	0 ^b	1	0,06 ^b
T2	0	0 ^b	0	0 ^b	2	0,12 ^b
T3	0	0 ^b	0	0 ^b	0	0 ^b
T4	0	0 ^b	0	0 ^b	1	0,06 ^b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade

Assim como no presente estudo, Martins (1998) também não observou efeito da aplicação de AIB em estacas de *L. chinensis*, sendo as estacas sem o tratamento com o fitorregulador as que apresentaram melhores potenciais de enraizamento. e, Lone et al. (2010) observaram que não é necessário a aplicação de AIB para obter o enraizamento de porta-enxerto em videira. Contudo, Bastos et al. (2006) obtiveram bons resultados de enraizamento, em estacas de lichieira, utilizando altos níveis de fitorregulador. Isso demonstra a diferença de comportamento entre as espécies, com o uso ou não do AIB, já que o AIB é a principal auxina sintética para a formação de raízes, porém apresenta resultados bastante variáveis conforme a espécie utilizada, tipo de estaca, época do ano, concentração, modo de aplicação, entre outras (SOUZA et al., 1995).

Chalfun et al., (1997) conduziram experimento com estacas de azaléia coletadas no mês de abril, utilizando diferentes concentrações de AIB durante 24 horas e não observaram diferença comparando com a testemunha. Entretanto, Scarpate Filho et al., (1999) verificaram efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas de jabuticabeira, em imersão rápida por cinco segundos. Ainda, Tofanelli et al., (2002) observaram que houve baixo índice de enraizamento em estacas lenhosas de pessegueiro, mesmo utilizando diferentes métodos de aplicação do AIB, imersão rápida (cinco segundos) e imersão lenta (vinte e quatro horas).

A partir dos resultados do presente trabalho também formula-se a hipótese de que o melhor desempenho do tratamento controle em água destilada, observado para as duas espécies estudadas em todas as variáveis analisadas, pode ser devido a composição do meio de cultura líquido utilizado para o enraizamento das estacas T1, T2, T3 e T4, visto que T0 apresentou resultados significativos em todas as variáveis comparado aos demais tratamentos utilizados, sendo o único tratamento sem os componentes do meio de cultura e sem AIB e, quando os tratamentos foram comparados entre si, não foram observadas diferenças entre T1, T2, T3 e T4, 0, 10, 20 e 40 mg.L⁻¹ de AIB.

4 CONCLUSÃO

O ácido indolbutírico e o meio de cultura líquido utilizado prejudicam o enraizamento de estacas de *A. edulis* e *P. myrtifolia*, sendo os melhores resultados observados em água destilada.

REFERÊNCIAS

- BACKES, P.; IRGANG, B. **Mata Atlântica**. As árvores e a paisagem. Porto Alegre: Paisagem do Sul, 2004. p. 351.
- BASTOS, D. C.; PIO, R.; SACARPARE FILHO, J. A.; ALMEIDA, L. P.; ENTELMANN, F. A.; ALVES, A. S. R. Tipo de estacas e concentração de ácido indolbutírico na propagação da lichieira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, nº 1, p. 97-102, jan./fev., 2006.
- BIASE, L. A.; COSTA, G. Propagação Vegetativa de *Lippia alba*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 455-459, mai-jun , 2003.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Brasília: EMBRAPA, 1994. 640p.
- CARVALHO, C. M.; CUNHA, R. J. P.; RODRIGUES, J. D. Enraizamento de estacas semilenhosas de Lichieira utilizando ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 95-97, 2005.
- CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A; CHALFUN JR, A; JESUS, A. M. dos S. Efeito da auxina e do anelamento no enraizamento de estacas semi-lenhosas de azaléia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.21. n.4, p.516-520, out/dez., 1997.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1994. 179p.
- FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura**: fundamentos e práticas. Pelotas: Editora UFPEL, 1996. 311p.
- FOSTER, G.S. Selection and breeding for extreme genotypes. In: AHUJA, M.R.; LIBBY, W.J. (Ed.). **Clonal forestry - I: genetics and biotechnology**. Berlin: Springer, p. 50-67, 1993.
- FRANZON, R. C.; ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Efeito do AIB e de diferentes tipos de estacas na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca selowiana* Berg). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p.515-518, out-dez, 2004.
- GLUFKE, C. **Espécies florestais recomendadas para recuperação de áreas degradadas**. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 1999. 48p.
- HARTMANN, H. T.M. et al. Plant propagation:Principles and practices. 6 ed. New York: Englewood Clippis/Prentice Hall, 1997. 770p. NÃO ENCONTREI NO TEXTO

KESTER, D.E.; SARTORI, E. Rooting of cuttings in populations of peach (*Prunus persica* L.), almond (*Prunus amygdalus* Batsch) and their F1 hybrids. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, v.88, p.219-223, 1966.

LONE, A.B.; LÓPEZ, E.L.; ROVARIS, S.R.S.; KLESNER, D.F.; HIGASHIBARA, L.; ATAÍDE, L.T.; ROBERTO, S.R. Efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas de porta-enxerto de videira VR 43-43 em diferentes substrates. **Sêmima: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p.599-604. 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. p. 315.

MARTINS, A. B. G. **Enraizamento de estacas enfolhadas de três variedades de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.)**. 1998. 100 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

MENZEL, C. M. Propagation of lychee: a review. **Scientia Horticulture**, Canterbury, v.25, p.31-48, 1985.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-97, 1962.

NACHTIGAL, J.C.; HOFFMANN, A.; KLUGE, R.A.; et al. Enraizamento de estacas semilenhosas de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) com o uso do ácido indolbútrico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, n.1, p.229-235. 1994.

PAULA, L.A.; CORRÊA, L.S.; BOLIANI, A.C.; SANTOS, P.C. Efeito do ácido indolbútrico e épocas de estaqueamento sobre o enraizamento de estacas herbáceas de figueira (*Ficus carica* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n.1, p.87-92. 2009.

RADMANN, E.B.; GONÇALVES, E.D.; FORTES, G.R.L. Concentrações de ácido indolbútrico e períodos de escuro, no enraizamento “in vitro” de amoreira-preta (*Rubus* sp.), cv. Ébano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.1, p.124-126. 2003.

REITZ, P. Sapindáceas. In: REITZ, P. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí-SC: Herbário Barbosa Rodrigues, 1980. p.108-112.

RODERJAN, C. V., GALVÃO, F., KUNIYOSHI, Y. S., HATSCHBACH, G. G. As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência & Ambiente**, Santa Maria, n.24, p. 78-118, 2002.

ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A.; FELISBINO, C.; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.293-296, ago., 2003.

SAMPAIO, P.T.B.; SIQUEIRA, J.A.S.; COSTA, S.; BRUNO, F.M.S. Propagação vegetativa por miniestacas de preciosa (Aniba canellila (H. B.K) MEZ). **Acta Amazônica**, v.40, n.4, p. 687-692. 2010.

SANCHONETE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre:SAGRA, 1989. 306 p.

SCARPARE FILHO, J. A.; NETO, J. T.; COSTA, Jr. Da W. H.; KLUGE, R. A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de jaboticabeira 'Sabará' (*Myrciaria jaboticaba*) em condições de nebulização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.2, p.146-149. 1999.

SOUZA, C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. Efeito da lesão e do ácido indobutírico no enraizamento de duas cultivares de ameixeira (*Prunus salicina*, Lindl) através de estacas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.1, n.3, 171-174, Set.-Dez., 1995.

SOUZA; V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odesa: Plantarum, 2005. p.387.

TOFANELLI, M. B. D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Potencial de enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro tratadas com ácido indolbutírico em diferentes concentrações e métodos de aplicação. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.2, p.159-160, maio-ago, 2002a.

TOFANELLI, M. B. D.; CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A.; JÚNIOR, A. C. Enraizamento de estacas lenhosas e semilenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 24, n. 2, p.509-513, 2002b.

WENDLING, Ivar; XAVIER, Aloisio. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaqueia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.921-930, 2005

VIAGANÓ, R. C.; BIANCHI, V. J.; ROCHA, P. S. G.; SCHUCH, M. W.; FACHINELLO, J. C. Enraizamento in vitro do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 1/8: concentrações de IBA em meio de cultura acrescido de ágar ou vermiculita. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 60-65, July./Sept. 2007

CAPÍTULO 7

ESTUDO DAS CONCHAS UTILIZADAS PELOS POVOS INDÍGENAS SAMBAQUIANOS NO SÍTIO ARQUEOLÓGICO DA PRAIA DA VILA EM IMBITUBA - SC

STUDY OF SHELLS USED BY SAMBAQUIAN INDIGENOUS PEOPLES IN THE ARCHEOLOGICAL SITE OF PRAIA DA VILA IN IMBITUBA - SC

Thiago Domingos Marques¹

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.7

¹ Instituto Federal Catarinense. Thiago Marques (0000-0001-9161-067X) - ORCID | Connecting Research and Researchers . E-mail. thiagomestradoifsc@gmail.com

RESUMO

Este artigo tem por objetivo a análise dos moluscos que eram utilizados pelos povos do sambaqui da praia da vila no Município de Imbituba em Santa Catarina, o estudo traz uma avaliação das conchas presentes no sítio, com a análise das diferentes espécies existentes, bem como, o contexto em que estas se encontram, com demonstrativo de alterações que são produzidas no meio ambiente, pela constante movimentação das pessoas na região e a presença dessas espécies nos dias atuais. Será feita uma análise das conchas presentes no local em outrora utilizado. O estudo buscou identificar as principais espécies que ocorriam no passado e que ainda existem nessa localização.

Palavras-chave: Sambaqui. Praia da Vila. Conchas. Alimentação. Espécies

ABSTRACT

This article aims to analyze the mollusks that were used by the people of the sambaqui of the village beach in the municipality of Imbituba in Santa Catarina, the study brings an evaluation of the shells present on the site, with the analysis of the different existing species, as well as, the context in which they find themselves, with demonstrations of changes that are produced in the environment, by the constant movement of people in the region and the presence of these species nowadays. An analysis will be made of the shells present in the place previously used. The study sought to identify the main species that occurred in the past and that still exist in that location.

Keywords: Sambaqui. Praia da Vila. Shells. Food. Species

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros povos ancestrais de Imbituba, que habitaram o local, foram os índios, que habitavam a região litorânea de Vila nova e Laguna, eles moravam em choças de palha tendo um chefe na tribo, tal qual a cultura indígena da época. Os sambaquis existentes na região de Roça Grande e Barbacena comprovam a proliferação indígena na região de Imbituba. (Prefeitura de Imbituba, Histórico, 2014).

As diferentes populações, inicialmente indígenas, e depois com a chegada dos Portugueses Açorianos, utilizavam a pesca e extração de frutos do mar, para sua alimentação e assim, ter a energia necessária à sobrevivência e habitação da região. As diferentes espécies de moluscos do local, serviam de alimentos para essas populações. Desta maneira, podemos observar a real importância dos animais invertebrados marinhos, como fonte de energia desde nossos ancestrais, passando pelos colonizadores, até homens contemporâneos .

Além da questão alimentícia, os moluscos também são indicadores da qualidade da água no ambiente de seu habitat, são utilizados em artesanato, e fazem movimentar a economia local em muitas regiões.

O objetivo dessa pesquisa é identificar se os moluscos que eram utilizados pelos povos dos sambaquis, são os mesmos que ainda são consumidos hoje, e se estes ainda não forma extintos.

As justificativas e argumentações para a elaboração do trabalho deve-se a importância de estudarmos os povos passados, para entendermos nesse caso, como esses povos sobreviviam e se alimentavam.

A metodologia utilizada foi a pesquisa bibliográfica e estudo *in loco*, delimitando-se no sítio arqueológico do canto da vila, com presença de sambaqui e oficina lítica no local.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Segundo Marques e Souza (2021), conforme histórias dos nativos da região é observado que os moluscos em geral, como o berbigão, que é usado como alimento típico de comunidades caiçaras, possui carne saborosa e é preparado em diversos pratos: refogados, espaguete, omeletes, ao vinagrete, tortas, panquecas, moquecas, sopas, suflês e risotos. Desta maneira define se a preservação da sua época reprodutiva, para não haver extinção.

A presença de diferentes espécies de moluscos não se limita ao mar aberto, mas também há forte presença em bacias hidrográficas, de diferentes regiões, sendo comum uma diversidade de espécies de moluscos. Segundo Mansur & Pereira, o número de espécies constatado na bacia do rio dos Sinos, na região sul do país, é superior aos números de espécies conhecidas em outras bacias gaúchas. O número de espécies de bivalves límnicos foi mais elevado em direção à foz do rio dos Sinos (MANSUR; PEREIRA, 2006). Podemos verificar, que as biodiversidades de moluscos marinhos é fruto de diversos estudo na região sul do Brasil.

Observa-se que ao passar dos anos aumento com a poluição, tanto nos oceanos, quanto nas faixas de areia na orla marítima, motivado pelo mau comportamento do homem contemporâneo. Sendo este o efeito, a causa seria vários impactos ambientais. Justificando com a história e tendo a percepção da importância dos bivalves na gastronomia do local. A presença de certos moluscos na água, como o berbigão (*Tivela mactroides*), indica que o ambiente é propício para banho, já que este molusco não sobrevive em regiões poluídas (SILVA, 2019).

Fauna de Bentos são considerados filtradores, e se alimentam retirando partículas orgânicas por processo de filtração da água. Visto que, além do alimento, compõem microalgas e matéria orgânica. Esses animais podem acumular substâncias tóxicas ou organismos que sejam nocivos à saúde humana, quando consumido. Os berbigões são um exemplo de organismos filtradores da água, servindo também de fonte de renda e alimentação humana. Estes moluscos servem de alimentação, iscas para pesca e produção de artesanato (SILVA, 2019).

3 METODOLOGIA

A localização de Imbituba, está situada no sul do Brasil, dentro do Estado de Santa Catarina, e têm suas coordenadas geográficas da área de estudo em Latitude: -28.2405, e Longitude: -48.6703 28° 14' 26" Sul, 48° 40' 13" Oeste.

Figura 1 - Localização do Sambaqui Imbituba – SC



O estudo foi realizado na cidade de Imbituba, a mesma localizada geograficamente ao norte com Garopaba e Paulo Lopes, ao sul com Laguna e ao oeste com Imaruí. O município de Imbituba tem 182.929 quilômetros quadrados.

Figura 2 - Região de Localização do Sambaqui – Imbituba – SC



Fonte: Google Earth.

A metodologia da pesquisa será uma amostragem, tendo como delimitação a praia da vila, será avaliado as espécies, através da existência de suas conchas, que encontram-se expostas nas superfícies do sítio arqueológico.

Figura 3 - Região de Localização do Sambaqui - Imbituba - SC



Foto: Autor (2021).

Na análise foram verificadas as espécies, através da existência de suas conchas, que encontram-se expostas nas superfícies do sítio arqueológico. As análises nos locais de pesquisa e amostragem verificadas, situam-se nos trechos do canto da vila, onde encontra-se exposto o sambaqui, não sendo feita quaisquer intervenções neste. Inclu-

sive não foram feitas coletas de materiais. A pesquisa foi realizada no período de 01 janeiro de 2021 a 01 maio de 2021. No local delimitado. O local de amostragem é o da Figura 04.

Figura 4 - Sambaqui.



Foto: Autor (2021).

A metodologia seguiu a etapa de verificação das espécies *in loco*, identificação científica das espécies, e comparativo com as atuais espécies presentes na região de entorno.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No local de estudo, além de ser caracterizado como sambaqui, também encontra-se ao lado deste, uma oficina lítica, que possivelmente foi criado pelos povos que produziram o sambaqui, utilizando esse local para produção de seus utensílios líticos.

Figura 5 - Oficinas Líticas ao lado do Sambaqui.



Foto: Autor (2021).

Segundo Aguiar (2001), por volta de 10 mil anos atrás, as transformações da natureza foram responsáveis pelo deslocamento das populações que habitavam o continente americano. A elevação dos níveis de temperatura e dos oceanos motivou os homens dessa época a se deslocarem para as regiões litorâneas da América. A presença humana nessas localidades foi comprovada por meio de aglomerados de conchas e restos de peixes, muitos com mais de trinta metros de altura.

No local da produção da oficina lítica é observado que há um desgaste natural das pedras, demonstrando que já estão há um longo tempo no local. No local de estudo, com base nos desgastes naturais das oficinas, podemos verificar que o sítio está presente no local há muitos séculos.

Figura 6 - Oficinas Líticas ao lado do Sambaqui – Desgaste.



Foto: Autor (2021).

Já o nome sambaqui, do termo em tupi que significa “monte de conchas”. A tese mais comum sobre a existência dos sambaquis, menciona que com a sucessão contínua de comunidades litorâneas foi responsável pela acumulação de conchas, ossos de peixes e outros restos de alimento próximos a vestígios de casas e ossadas humanas. Com o passar dos tempos, esses depósitos foram se acumulando e formaram os sambaquis. O litoral catarinense é rico em sambaquis.

A formação dessas comunidades corresponde à transformação dos hábitos alimentares do homem pré-histórico das Américas. Com o passar do tempo, a caça e a coleta perderam espaço para uma dieta marcada pelo sistemático consumo de peixes, moluscos, crustáceos e outros frutos do mar. Examinando a estrutura interna e os terrenos próximos aos sambaquis, percebemos que suas comunidades desenvolveram o artesanato, a escultura e trabalharam com a pedra polida (AGUIAR, 2001).

Figura 8 - Partes de Gastrópodes – *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767)



Foto: Autor (2021).

O caracol acima é comestível, e atualmente ainda serve de alimentação para alguns pescadores da região. Essa espécie fica aderida a rochas nos costões e é de fácil retirada e como as demais deve ser consumida após ir ao fogo e ser fervida ou assada.

Figura 9 - Partes de Gastrópodes – *Buccinanops moniliferum* (Kiener, 1834)



Foto: Autor (2021).

Esse gastrópode de caracol não é usado na alimentação atualmente, sendo raro encontrá-lo vivo na região. Só foi identificado essa parte desse tipo de caracol.

Figura 10 - Partes de Bivalve no Sambaqui - *Perna perna* (Linnaeus, 1758)



Foto: Autor (2021).

Essa espécie conhecida como marisco, é comestível, e atualmente ainda serve de alimentação para alguns pescadores da região, também é comum vela vendida em peixarias da região, sendo um plato típico. É a espécie mais abundante e comum da região.

Figura 11 - Parte Bivalve no Sambaqui – *Amiantis purpurata* (Lamarck, 1818)



Foto: Autor (2021).

Esse bivalve não é usado na alimentação atualmente, sendo raro encontrá-lo vivo na região. Suas conchas são grandes e possuem um brilho peculiar quando estão vivas sendo muito usadas em artesanato, mas não são consumidas atualmente.

Figura 12 - Partes de Bivalve no Sambaqui – *Olivancillaria carcellesi* (1965)



Foto: Autor (2021).

O caracol acima, também conhecido como “Busela”, é comestível, e atualmente ainda serve de alimentação para alguns pescadores da região.

Figura 13 - Partes Bivalve no Sambaqui – *Tegula hotesseriana* (Orbigny, 1842)



Foto: Autor (2021).

Esse gastrópode também não é usado na alimentação atualmente, sendo raro encontrá-lo vivo na região. Assim como o *Buccinanops moniliferum* (Kiener, 1834), só

foi identificado essa parte desse tipo de caracol. Possivelmente não foi usado como alimentação.

Durante a pesquisa foram identificadas seis espécies, que através de partes de sua estrutura, pode-se fazer uma identificação precisa.

Figura 14 - Partes de crustáceo no Sambaqui – *Tetraclita stalactifera* (Lamarck, 1818)



Essa espécie também conhecida como craca, é comum nas pedras e não é usado na alimentação atualmente, sendo um crustáceo, exclusivamente marinhos, da classe dos cirrípedes, que geralmete vivem fixados a rochas.

Vemos a seguir as espécies encontradas no sambaqui:

Quadro 1 - Espécies encontradas no Sambaqui do Canto da Vila

N	Nome da Espécie
01	<i>Thais haemastoma</i> (Linnaeus, 1767)
02	<i>Buccinanops moniliferum</i> (Koch, 1844)
03	<i>Perna perna</i> (Linnaeus, 1758)
04	<i>Amiantis purpurata</i> (Lamarck, 1818)
05	<i>Olivancillaria carcellesi</i> (1965)
06	<i>Tegula hotesseriana</i> (Orbigny, 1842)
07	<i>Tetraclita stalactifera</i> (Lamarck, 1818)

Fonte: Marques, 2021.

Na pesquisa intitulada: Uma análise das biodiversidades presentes na faixa de areia da Praia da Vila em Imbituba – SC, Através dos estudos das conchas foram identificadas as espécies atuais presentes nas faixas de areia da praia da vila. Segundo Marques e Souza (2021), na praia da Vila, na faixa de areia em suas pesquisas, os dados identificados sugerem que, dentre os moluscos, o táxon da espécie *Donax hanleyanus* (Philippi, 1842), *Anadara Brasiliana* (Lamarck, 1819) e *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Amiantis purpuratus* (Lamarck, 1818), e *Olivancillaria auricularia* (Lamarck, 1810) é o recurso mais frequentemente encontrado na praia.

Quadro 2 - Espécies encontradas na Praia da Vila

N	Nome da Espécie
01	<i>Amiantis purpurata</i> (Lamarck, 1818)
02	<i>Pitar rostrata</i> (Koch, 1844)
03	<i>Anadora Brasiliana</i> (Lamarck, 1819)
04	<i>Anadora ovalis</i> (Bruguière, 1789)
05	<i>Barbatia Candida</i> ()
06	<i>Olivancillaria carcellesi klappenbach</i> (1965)
07	<i>Donax hanleyanus</i> (Philippi, 1842)
08	<i>Perna perna</i> (Linnaeus, 1758)
09	<i>Diodora dysoni</i> (Reeve, 1850)
10	<i>Lucapina aegis</i> (Reeve, 1850)
11	<i>Tegula Viridula</i> (Gmelin, 1791)
12	<i>Lottia subrugosa</i> (d'Orbigny, 1846)
13	<i>Thais haemastoma</i> (Linnaeus, 1767)
14	<i>Bostrycapulus odites</i> Collin, 2005
16	<i>Olivancillaria contorturplicata</i> (Reeve, 1850)

Fonte: Marques e Souza, 2020.

Com a análise dos quadros 01 e 02, podemos verificar que as espécies do táxon da espécie *Donax hanleyanus* (Philippi, 1842), *Anadara Brasiliana* (Lamarck, 1819), não foram identificados no sítio arqueológico, contudo as espécies *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767), *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Amiantis purpuratus* (Lamarck, 1818), e *Olivancillaria auricularia* (Lamarck, 1810) foram identificadas no sambaqui.

Logo, as espécies em maior número encontrada no sambaqui, foram as espécies *Perna perna* (Linnaeus, 1758), *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767), *Amiantis purpuratus* (Lamarck, 1818), e *Olivancillaria auricularia* (Lamarck, 1810) que foram identificadas em grandes quantidades no sambaqui.

O estudo pode confirmar as espécies de moluscos que eram utilizadas pelos povos primeiros que habitavam a região, fazendo-se um panorama com as espécies utilizadas nos dias atuais, sendo que, grande parte dessas espécies ainda é utilizada na alimentação dos povos que habitam os locais de presença dos sítios arqueológicos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo conseguiu fazer um comparativo com as espécies presentes no sambaqui, com as espécies que encontramos atualmente, desmontando-se que não foram extintas nenhuma das espécies, sendo que, muitas dessas espécies ainda servem de alimento e são fruto do consumo cotidiano nos dias atuais.

O objetivo da pesquisa foi alcançado, na medida que identificamos os moluscos que eram utilizados pelos povos dos sambaquis, e que, partes desses, ainda são consumidos, e servem como fonte de renda e alimentação das comunidades locais.

Com o estudo podemos compreender que os povos sambaquianos utilizavam os moluscos como fonte de subsistências em grande quantidades e variedades, utilizando de diferentes espécies.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, Lilian Maria Martins de. **"Os povos sambaquis"**; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/historiag/os-povos-sambaquis.htm>. Acesso em 29 de abril de 2021.

AZEVEDO, D. M. C. DE. **Os Serviços Ecossistêmicos e sua valoração**. The Ecosystem Services and their valuation VI Simposio de Ciência do Agronegócio. Anais...Porto Alegre / Rio Grande do Sul: 2018.

Prefeitura Municipal de Imbituba - **História**. Disponível em <<https://www.imbituba.sc.gov.br/cms/pagina/ver/codMapaItem/49267>> Acesso em 18 de Agosto de 2020.

MARQUES, Thiago Domingos; SOUZA, Manuela Pereira de. **Uma análise das biodiversidades presentes na faixa de areia da Praia da Vila em Imbituba - SC: Através dos estudos das conchas**. RCMOS - Revista Científica Multidisciplinar O Saber, [S. l.], v. 4, n. 4, 2021. DOI: 10.51473.

Maria C. D. Mansur & Daniel Pereira. **Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil** (Bivalvia, Unionoida, Unionoida, Veneroida e Mytiloida) oida e Mytiloida) Revista Brasileira de Zoologia 23 (4): 1123-1147, dezembro 2006.

Lara Bellintani Salvador, Osmar Domaneschi, Antonia Cecília Zacagnini Amaral, Eloisa Helena Morgado, Silvana Aparecida Henriques. **Malacofauna da região entremarés de praias da ilha de São Sebastião** (SÃO PAULO, BRASIL). *Revta bras. Zool.* 15 (4): 1013 -1035, 1998

Gustavo Simões Bruno, Jorge Luis do Santos. **Análise qualitativa dos detritos acumulados na praia do Cuiúba, Guarujá, SP.** *Revista Ceciliana* : 66-70, 2012 ISSN 2175-7224. Universidade Santa Cecília Disponível online em <http://www.unisanta.br/revistaceciliana> Dez 4(2). 2011/2012

Ojea, J., PAzos, A.J., Martínez, D., Novoa, S., Sánchez, J.L., Abad, M., 2004. **Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle.** *Aquaculture* 238: 451-468.

SOLANGE BURRI, PAULO VALE. **Contaminação de bivalves por DSP: risco de episódios de gastroenterites numa região de toxicidade endêmica.**

Revista Portuguesa de Saúde Pública 24 (1), 115-124, 2006. Disponível online : S Burri, P Vale - *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, 2006 - run.unl.pt:

Silva, Juliana Nascimento. **Análise do riscos aos serviços ecossistêmicos prestados pela biodiversidade de praias arenosas: um estudo de caso com a gestão do bivalve *Tivela mactroides* na Enseada de Caraguatatuba (São Paulo - Brasil).** 2019. Dissertação (Mestrado em Oceanografia) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Trindade Ana Beatriz Gonçalves. Estudo do ciclo reprodutivo do berbigão (*Cerastoderma edule*, Linnaeus, 1758), da Lagoa de Óbidos, Leiria Portugal. Disponível online. : <https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/2995/1/Dissertação%20Beatriz%20Trindade.pdf>

Museu Nacional - UFRJ - Disponível em: <http://www.museunacional.ufrj.br/dir/exposicoes/zoologia/zoo_invertebrados/zoo_moluscos/index.html> Acesso em 18 de Agosto de 2020.



CAPÍTULO 8

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE AGENTES PATÓGENOS

ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS ON PATHOGENS

*Daniel Lopes Araújo¹
Bruno Abilio da Silva Machado²
Hudson Avelar Caminha Leal³
Emanuel Osvaldo de Sousa⁴
Allan Bruno Alves de Sousa Santos⁵
Larissa de Lima Machado Bandeira⁶
Sarah Maria Osório de Carvalho⁷
José Eufrazino Júnior⁸
João Eduardo Gomes de Oliveira⁹*

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.8

1 Mestrando em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco. E-mail: lopes.araujo@ufpe.br
2 Tecnólogo em Radiologia pelo Centro Universitário Maurício de Nassau. E-mail: brunnoabilio92@gmail.com
3 Graduando em Enfermagem pela Universidade Federal do Piauí. E-mail: hudson_leal@hotmail.com.
4 Especialista em Fisioterapia Traumato ortopédica e Docência. E-mail: emanfisio@hotmail.com
5 Graduando em Enfermagem pela Faculdade de Educação São Francisco – FAESF. E-mail: abass@faesf.com.br
6 Graduanda em Enfermagem pela Faculdade Estácio de Teresina. E-mail: larissabandeiraphb@gmail.com
7 Centro Universitário Santo Agostinho – UNIFSA. E-mail: sarahosorio34@gmail.com
8 Graduando em Direito pela Universidade Estadual do Piauí – UESPI. E-mail: eufrazinojunior@gmail.com
9 Graduando em Nutrição pela UNIRB ARAPIRACA. E-mail: joaoeduardogo@gmail.com

RESUMO

O objetivo desse trabalho é analisar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano e do cravo-da-índia através de uma revisão de literatura integrativa. Trata-se de um estudo de revisão da literatura. Para tanto, utilizamos na busca os descritores: produtos naturais; óleo essencial; *Origanum vulgare*; concentração inibitória mínima (juntos e separados). No critério de seleção optamos por artigos completos, no período de: 2017 – 2021 (últimos 5 anos), nos idiomas: português e inglês. As buscas foram realizadas nos bancos de dados: Scielo, Pubmed, Google acadêmico. Os artigos foram selecionados primeiramente por título, posteriormente por resumo, e por fim, por leitura completa. A medicina alternativa vem tentando utilizar meios naturais para o tratamento de infecções causadas por bactérias, diante desse contexto, é muito perceptível o grande interesse de agentes terapêuticos vindo de produtos naturais, mais especificadamente aqueles que são derivados de plantas. O *Origanum vulgare* (orégano) tem sido usado como um elemento de pesquisas científicas em laboratórios como estratégia para inúmeros tipos de bactéria, onde foi comprovado o seu alto teor terapêutico e antimicrobiano. O óleo essencial de *O. vulgare* expõe uma gama variável de compostos ativos, onde os fenóis, como temos o exemplo do carvacrol e timol, possuem a capacidade de alcançar entre 80,2 e 98% da composição total do óleo. Já o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae) é uma especiaria muito apreciada desde a antiguidade, não só por seu sabor e qualidades culinárias, mas também por suas utilizações terapêuticas. Várias aplicações desta especiaria na cultura popular têm sido relatadas na literatura bem como diversos estudos científicos sobre esses usos.

Palavras-chave: Produtos naturais; Óleo essencial; *Origanum vulgare*; Concentração inibitória mínima.

ABSTRACT

The objective of this paper is to analyze the antimicrobial activity of oregano and clove essential oil through an integrative literature review. For this, we used the following descriptors in the search: natural products; essential oil; *Origanum vulgare*; minimum inhibitory concentration (together and separately). In the selection criteria we opted for complete articles, in the period: 2017 - 2021 (last 5 years), in the languages: Portuguese and English. The searches were performed in the databases: Scielo, Pubmed, Google academic. The articles were selected first by title, then by abstract, and finally by complete reading. Alternative medicine has been trying to use natural means for the treatment of infections caused by bacteria. In this context, it is very noticeable the great interest in therapeutic agents coming from natural products, more

specifically those derived from plants. The *Origanum vulgare* (oregano) has been used as an element of scientific research in laboratories as a strategy for numerous types of bacteria, where its high therapeutic and antimicrobial content was proven. The essential oil of *O. vulgare* exposes a variable range of active compounds, where the phenols, such as carvacrol and thymol, have the ability to reach between 80.2 and 98% of the total oil composition. The clove (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae) is a spice that has been appreciated since ancient times, not only for its taste and culinary qualities, but also for its therapeutic uses. Several applications of this spice in popular culture have been reported in the literature as well as several scientific studies on these uses.

Keywords: Natural products; Essential oil; *Origanum vulgare*; Minimum inhibitory concentration.

1 INTRODUÇÃO

O óleo essencial (OE) possui origem do metabolismo secundário de plantas, que neste contexto, pode ser extraído de suas flores, folhas, ramos, cascas, raízes e frutos. Nesse processo apresentam composições aromáticas voláteis (carvacrol, timol, eugenol, terpineno, linalol e carvona), que são os elementos fundamentais para que ocorra a ação antimicrobiana. Estas composições são preparadas para agir em diferenciados tipos de moléculas alvo e na funcionalidade das células bacterianas, para que dessa maneira possam acabar se tornando mecanismos antibacterianos, principalmente no que se diz respeito ao bloqueio da síntese de ácido nucléico, alterações nos sítios da membrana citoplasmática e em seu metabolismo energético (BARBOSA, 2015; DE SOUZA, 2019).

Várias plantas são utilizadas para extração de OE tais como: *Origanum vulgare* (orégano), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Mentha piperita* (hortelã), *Cuminum cyminum* (cominho), *Cinnamomum zeylanicum* (Canela), *Ocimum basilicum* (manjerição), *Zingiber officinale* (gengibre), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Cymbopogon nardus* (citronela) *Coriandrum sativum* (coentro), entre outras. A combinação destes óleos de diferentes espécies de plantas pode representar alternativa para potencializar a ação dos mesmos, criando um sinergismo, uma interação positiva em que dois ou mais agentes em combinação exercem efeito inibitório maior que cada agente isolado (CARVALHO et al., 2016; TARCITANO, 2017).

Dentre os óleos com propriedades antimicrobianas, destacam-se o cravo, que é uma espécie pertencente à família Myrtaceae e possui como principal constituinte o eugenol e baixos teores de acetato de eugenila e β -cariofileno[8,9]; bem como o orégano, pertencente à família Lamiaceae, que apresenta como componentes majoritários o carvacrol e o timol e como componentes minoritários alcoóis

monoterpênicos (linalool, 4-terpineol), hidrocarbonetos monoterpênicos (p-cimeno, terpinoleno, terpineno e pineno) e sesquiterpenos (β -cariofileno, germacreno e espatuleno) (CUI et al., 2019; VILANOVA et al., 2018).

É importante salientar que o uso desses extratos naturais adquiridos através de plantas pode fornecer uma alternativa por serem na maioria das vezes de fácil obtenção, tanto na natureza quanto no laboratório, sua utilização apresenta características favoráveis no que se diz respeito ao custo e por normalmente não apresentarem efeitos adversos, genotóxicos e mutagênicos a seres humanos (LIMA et al., 2017).

Nesse sentido, o objetivo dessa pesquisa é de realizar uma revisão de literatura sobre a atividade antimicrobiana de óleos essenciais, com um interesse maior nos OEs de *origanum vulgare* (orégano) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia)

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Óleo essencial de *origanum vulgare* (orégano)

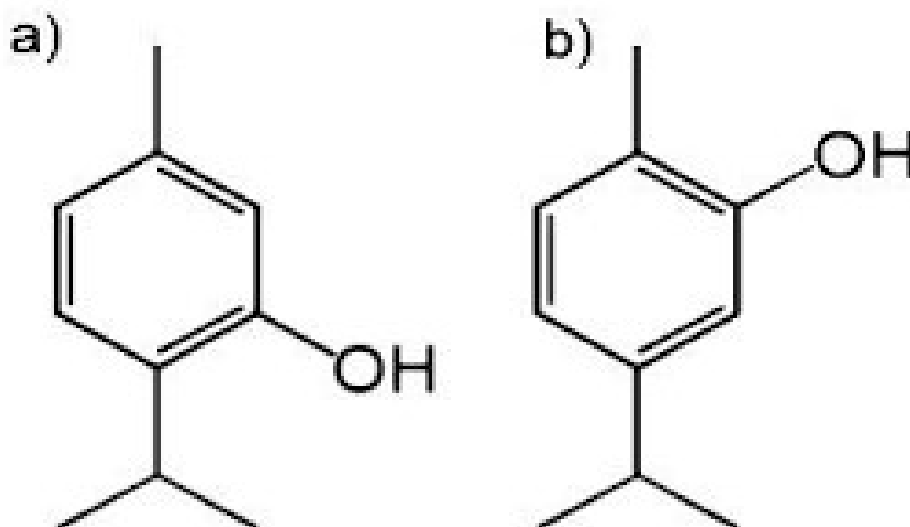
Origanum vulgare (orégano) (figura 1) é um dos condimentos mais utilizados no Brasil para o preparo de alimentos devido a sua alta capacidade de acrescentar sabor aos mesmos. É usado também para produção de óleo essencial tendo em vista suas propriedades antimicrobianas, pois possui os compostos carvacrol e timol, que podem agir e terem efeitos positivos contra alguns tipos de bactérias e fungos. O carvacrol, substância encontrada no óleo essencial de óregano (OEO), possui a capacidade de permeabilização da membrana citoplasmática microbiana, essa ação pode acabar causando uma perda de ATP. Isso tudo se deve pelo poder de interação com a membrana, no que pode se dissolver na bicamada lipídica, fazendo um tipo de alinhamento entre as cadeias de ácidos graxos (SILVA et al., 2020).

Figura 1 - Folhas de *Origanum vulgare* (orégano).

Fonte:

2.1.1 Timol e carvacrol

Os monoterpenos aromáticos timol (figura 2a) e carvacrol (figura 2b) são os principais constituintes de vários óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas. Atualmente encontram-se entre os constituintes de óleos essenciais mais estudados, sobretudo devido ao amplo espectro de ação, como anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano, antifúngico, anticarcinogênico e por suas características favoráveis, por possuírem alguma solubilidade em água e baixa toxicidade (ALMEIDA, 2015; SOUZA, 2018).

Figura 2 - Estruturas químicas do timol e carvacrol.

Fonte:

2.2 Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia)

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, Myrtaceae) (figura 3) é uma especiaria muito apreciada desde a antiguidade, não só por seu sabor e qualidades culinárias, mas também por suas utilizações terapêuticas. Várias aplicações desta especiaria na cultura popular têm sido relatadas na literatura bem como diversos estudos científicos sobre esses usos. No extrato bruto de *S. aromaticum*, esse componente é o eugenol ou 4-alil-2-metoxifenol (BATIHA et al., 2020).

Figura 3 - Árvore, folhas, frutos e botões florais secos do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*).

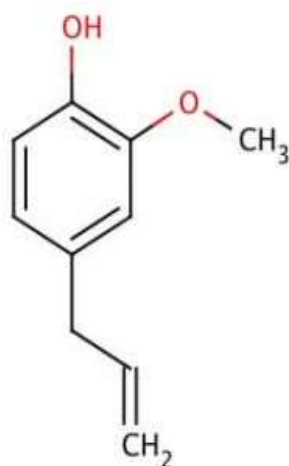


Fonte:

2.2.1 Eugenol

O eugenol é um composto aromático que está presente nos cravos, canela, sassafrás e mirra. Possui um marcante efeito anestésico, sendo usado no tratamento de dores de dente. É também empregado na indústria de cosméticos.

Figura 4 - Estrutura química do eugenol.



Fonte:

3 METODOLOGIA

Para alcançar o objetivo, foi realizada uma revisão integrativa (RI) da literatura nacional e internacional com abordagem retrospectiva em plataformas virtuais que disponibilizam coleções selecionadas de periódicos científicos. Desenvolveu-se em etapas recomendadas por Carvalho (2018): identificação do tema e questão de pesquisa, análise de critérios para inclusão e exclusão de artigos científicos; informações a serem extraídas dos estudos selecionados; avaliação dos estudos incluídos; interpretação dos resultados e apresentação da síntese do conhecimento.

Foram selecionados artigos científicos nas plataformas virtuais de dados bibliográficos Google Acadêmico, Scielo, PubMed e Lilacs. As pesquisas destes foram realizadas no período de abril à junho do ano de 2020, de forma bastante criteriosa, através das seguintes perguntas norteadoras: O que é um óleo essencial?, quais seus aspectos e quais os parâmetros da atividade antimicrobiana desenvolvida por ele? A consulta à esses dados também fora realizada através de busca utilizando as seguintes terminologias cadastradas no DeCS: óleo essencial, concentração inibitória mínima, *Origanum vulgare* e ação antimicrobiana. Os artigos foram selecionados de acordo com o idioma em que o mesmo está escrito, onde optou-se por artigos nos idiomas inglês e português.

A princípio foram encontrados 45 artigos que contemplavam o tema em questão e que estavam de acordo com a proposta do estudo, porém foram selecionados 23 artigos após análise e aplicação dos seguintes critérios de inclusão e exclusão: foram selecionados artigos científicos que contemplavam o tema em questão, que estavam escritos nos seus diversos tipos de pesquisa correlacionados, casos clínicos ou relato de caso, estudo de coorte, pesquisa de campo, revisões de literatura e ensaios iconográficos, indexados as plataformas no período de 2015 a 2020. Foram excluídos os artigos que não estavam relacionados com o tema, publicados anteriormente ao ano de 2015, que não estavam escritos nos idiomas escolhidos, não continham abordagem quantitativa e qualitativa, além de terem sido duplicados em bases de dados divergentes.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Atividade farmacológica dos OEs de orégano e cravo-da-índia

Os óleos essenciais são considerados produtos naturais privilegiados por atuar em diversos alvos e ainda ter um grande espectro de atividade biológica desencadeada por os mesmos. São compostos que apresentam favores mais favoráveis em relação aos sintéticos, já que por muitas vezes seu processo de obtenção é mais fácil, ocasio-

nando assim um baixo custo, além de serem menos tóxicos (BEDOYA-SERNA et al., 2018; ABDEL-LATIF et al., 2020).

Os OEs de *O. vulgare* e *S. aromaticum* possuem diversos estudos descritos na literatura, onde possuem atividade antimicrobiana (DE CASTRO GUIMARÃES et al., 2017), antioxidante (DE ARAUJO SOUSA, 2020), anti-inflamatória (BARROS GOMES et al., 2018), entre outros.

4.2 Atividade antimicrobiana de *Origanum vulgare*

Alguns estudos acerca da ação antimicrobiana do óleo essencial de orégano já puderam confirmar a eficácia do método. Isso acontece por causa das aplicações de suas concentrações, puras ou associadas a outro tipo de extrato a colônias de bactérias resultados de estudos de alguns pesquisadores que desenvolvem pesquisas nesse parâmetro. O efeito inibitório para com as bactérias é consideravelmente significativo, chegando a atingir ($p \leq 0,05$) (ARAÚJO, 2016). Pombo (2018) sugere em seu experimento que as bactérias Gram-positivas são mais sensíveis que as do tipo Gram-negativas ao óleo essencial. Isso acontece justamente pelo grau de complexidade estrutural da parede celular de bactérias Gram-negativas. Os autores também geram uma discussão em relação a utilização do óleo essencial de cravo, onde, ficou comprovado no estudo que as substâncias encontradas no orégano apresentam mais acurácia no que se diz respeito a atividade antimicrobiana em relação ao cravo.

A atividade antimicrobiana não se deve somente à presença das substâncias dos óleos essenciais, mas da presença de outros componentes em menores concentrações que podem promover dinâmicas sinérgicas, por exemplo, o p-cimeno não tem efeito antibacteriano se usado sozinho, mas quando combinado com carvacrol, facilita o transporte do carvacrol por meio da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana (REIS, 2020; FIGUERÊDO, 2019).

4.3 Atividade antimicrobiana de *Syzygium aromaticum*

O principal mecanismo farmacológico descrito para o eugenol, quanto a sua ação bactericida, é devido a sua alta penetrabilidade na membrana citoplasmática, promovendo seu rompimento e aumentando sua permeabilidade não específica, desta forma gerando um extravazamento do conteúdo celular e posterior morte da bactéria. Fármacos que promovem a destruição da membrana celular são muito importantes para o uso médico, pois possuem menor probabilidade de selecionar bactérias resistentes (DE CASTRO GUIMARÃES et al., 2017).

O óleo de cravo da Índia apresentou acentuada atividade antimicrobiana, quando testado para os micro-organismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobac-*

ter jejuni, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* (diminuindo significativamente a taxa de crescimento) e *Staphylococcus epidermidis*. O óleo também apresentou atividade contra 26 cepas de *S. epidermidis* isoladas de fluidos de diálise e mostrou-se efetivo, de maneira geral, contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (HASHEMINEJAD, 2019; HADIDI et al., 2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados aqui apresentados indicam que os óleos essenciais de *Origanum vulgare* e *Syzygium aromaticum* podem ser um bom método farmacológico para a terapia combinada com seus constituintes para o combate de diversos microrganismos que podem causar problemas no organismo humano, uma vez pode dificultar a seleção de parasitas resistentes à fármacos e medicamentos já existentes. Entretanto, novos estudos são necessários para elucidar melhor os efeitos dessa associação *in vivo*, visando o desenvolvimento de alternativas farmacológicas adicionais para o tratamento de agentes patógenos.

AGRADECIMENTOS

O autor principal deste artigo gostaria de agradecer à CAPES pelo apoio financeiro em forma de bolsa de estudos para curso de mestrado.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, Hany MR et al. Dietary oregano essential oil improved the growth performance via enhancing the intestinal morphometry and hepato-renal functions of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. **Aquaculture**, v. 526, p. 735432, 2020.

ALMEIDA, Regiamara Ribeiro. Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol. **São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei**, 2015.

ARAUJO, Márcio Martins de; LONGO, Priscila Larcher. Teste da ação antibacteriana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

BARBOSA, Lidiane Nunes et al. In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria. **Journal of oleo science**, v. 64, n. 3, p. 289-298, 2015.

BARROS GOMES, Paulo Roberto et al. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.

BATIHA, Gaber El-Saber et al. *Syzygium aromaticum* L.(Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, 2020.

BEDOYA-SERNA, Carolina M. et al. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, n. 4, p. 929-935, 2018.

CARVALHO, Nairany Paula B. de et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de óleos essenciais de especiarias: uma revisão. **Hig. aliment**, p. 12-20, 2016.

CARVALHO, João Francisco Sarno; PIMENTA, Carlos Alberto Máximo; DE OLIVEIRA, Silas Dorival. Entre a ciência e a complexidade dos novos objetos de pesquisa. A construção interdisciplinar de uma metodologia de pesquisa científica. **Educação, Cultura e Comunicação**, v. 9, n. 18, 2018.

CUI, Haiying et al. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 139, p. 111498, 2019.

DE ARAUJO SOUSA, Paulo Sérgio; RODRIGUES, Marciele Gomes; ALVARENGA, Elenice Monte. Prospeção Tecnológica, com Ênfase nas Atividades Biológicas Nematocida e Larvicida, do Óleo Essencial do Cravo-da-Índia e do Eugenol. **Cadernos de Prospeção**, v. 13, n. 1, p. 154, 2020.

DE CASTRO GUIMARÃES, Caroline et al. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 15, n. 2, 2017.

DE SOUZA, Marina Andreia et al. Métodos alternativos de controle microbiano. 2019.

FIGUERÊDO, Juliana de Sousa. Estudo fitoquímico e potencial biológico de *Origanum vulgare* (orégano). 2019.

HADIDI, Milad et al. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate polymers**, v. 236, p. 116075, 2020.

HASHEMINEJAD, Nayeresadat; KHODAIYAN, Faramarz; SAFARI, Mohammad. Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. **Food chemistry**, v. 275, p. 113-122, 2019.

LIMA, Dijaci Santos de et al. Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpenos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, p. 17-21, 2017.

POMBO, Joseane Cristina Pinheiro et al. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

REIS, Juliana Borges et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

SILVA, Letícia Clementino Pereira et al. Análise in vitro da atividade antimicrobiana do extrato de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) e óleo essencial de *Origanum vul-*

gare (Orégano) frente à cepa de *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 70057-70069, 2020.

SOUZA, Luciana Thaís Rangel et al. IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF TIMOL AND CARVACROL ON CANDIDA SPECIES. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v. 4, 2018.

TARCITANO, Luiz Antonio Costa; MESQUITA, Eliana de Fatima Marques de. Ação dos condimentos alimentares in natura sobre a microbiota patógena durante o processamento, preparo e/ou consumo do pescado: uma revisão sistemática de literatura. 2017.

VILANOVA, Crisálida Machado et al. Effect of different water application rates and nitrogen fertilisation on growth and essential oil of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 186-197, 2018.

LIMA, Dijaci Santos de et al. Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpenos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, p. 17-21, 2017.

POMBO, Joseane Cristina Pinheiro et al. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.

REIS, Juliana Borges et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

SILVA, Letícia Clementino Pereira et al. Análise in vitro da atividade antimicrobiana do extrato de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) e óleo essencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente à cepa de *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 70057-70069, 2020.

SOUZA, Luciana Thaís Rangel et al. IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF TIMOL AND CARVACROL ON CANDIDA SPECIES. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v. 4, 2018.

TARCITANO, Luiz Antonio Costa; MESQUITA, Eliana de Fatima Marques de. Ação dos condimentos alimentares in natura sobre a microbiota patógena durante o processamento, preparo e/ou consumo do pescado: uma revisão sistemática de literatura. 2017.

VILANOVA, Crisálida Machado et al. Effect of different water application rates and nitrogen fertilisation on growth and essential oil of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 186-197, 2018.



CAPÍTULO 9

AÇÃO ANTIOFÍDICA DAS SEMENTES DE ABELMOSCHUS ESCULENTUS (QUIABO) FRENTE A VENENOS DE COBRAS DO GÊNERO BOTHROPS SP. E CROTALUS SP.

ANTIOPHIDIC ACTION OF ABELMOSCHUS ESCULENTUS SEED (OKRA) AGAINST OF SNAKES POISONS OF THE GENUS BOTHROPS SP. AND CROTALUS SP.

Rodrigo Luiz Fabri¹
Karollina Chaves Ferreira²
Laura Moraes de Oliveira³
Thalita de Freitas Souza⁴
Thayná Gomes Ferreira⁵
Priscila de Lima Paula⁶
Ari Sérgio de Oliveira Lemos⁷
Lara Melo Campos⁸
Irley Olívia Mendonça Diniz⁹
Natasha Silva Mayrink¹⁰
Luciana Moreira Chedier¹¹

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.9

- 1 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0002-0167-2277>. rodrigo.fabri@ufjf.edu.br
2 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0002-5972-990X>. karollina.chaves@farmacia.ufjf.br
3 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0002-9749-3707>. lauramoraissjf@gmail.com.
4 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0002-7316-2233>. thalitadf.souza@gmail.com.
5 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0001-6170-7841>. thaynagferreira@hotmail.com.
6 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0003-1586-7283>. plppriscila23@gmail.com.
7 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0002-2980-7647>. arisergiolemos@hotmail.com.
8 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0003-3039-0559>. laramelo95@yahoo.com.br
9 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0003-4449-624X>. olivia.diniz95@gmail.com.
10 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0003-2410-1802>. natymayrink@gmail.com.
11 Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://orcid.org/0000-0001-8212-8056>. luciana.chedier@ufjf.edu.br

RESUMO

O uso de plantas como antídoto do veneno de cobras é milenar e muitas vezes é o único recurso terapêutico disponível em determinadas regiões. O presente estudo propõe verificar a propriedade antiofídica das sementes de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, conhecida popularmente como quiabo, contra o veneno de cobras dos gêneros *Bothrops* sp. e *Crotalus* sp. As sementes foram desidratadas e pulverizadas, e prepararam-se os extratos aquoso e alcoólico, expressando sua concentração na relação veneno:semente: 1:5, 1:10, 1:20. As atividades coagulantes dos venenos de *Bothrops* sp. e *Crotalus* sp. foram neutralizadas para as Doses Coagulante Mínima (DCM) de 5 µg e 1 µg, respectivamente, proporcional à relação veneno:semente dos extratos. As atividades hemolítica e proteolítica do veneno de *Bothrops* sp. foram proporcionalmente neutralizadas pelos extratos para as Doses Hemolítica Mínima (DHM) de 20 µg e 10 µg, respectivamente. Para o veneno de *Crotalus* sp., a atividade hemolítica foi pouco evidente, obtendo-se uma diminuição do halo de hemólise para a relação 1:20 veneno:semente e não apresentou atividade proteolítica. Foram evidenciados potenciais efeitos de antídoto de *A. esculentus*, porém estudos complementares devem ser realizados para avaliar a viabilidade deste como antídoto em paralelo à terapia convencional.

Palavras-chave: *Abelmoschus esculentus*. Veneno. *Bothrops* sp. *Crotalus* sp. Antídoto.

ABSTRACT

The use of plants as antidote to snake venom is ancient and often is the only therapeutic option available in certain regions. This study proposes to verify the antiofidic activity of *Abelmoschus esculentus* seeds, popularly known as okra, against the poison of snakes of the genera *Bothrops* sp. and *Crotalus* sp. The seeds were dehydrated and pulverized, then were prepared aqueous and alcoholic extracts, expressing its concentration in relation to poison:seed 1:5, 1:10, 1:20. The coagulant activities of *Bothrops* sp. and *Crotalus* sp. were neutralized for Minimum Coagulant Dose (MCD) of 5 mg and 1 mg, respectively, in the proportion of poison:seed extracts. The hemolytic and proteolytic activities of *Bothrops* sp. were proportionally neutralized by extracts for Hemolytic Dose Minimum (HDM) of 20 mg and 10 mg, respectively. For *Crotalus* sp. venom, the hemolytic activity was less evident, resulting in a decrease in the halo of hemolysis compared to 1:20 poison:seed and showed no proteolytic activity. Potential effects were evidenced by *A. esculentus* antidote, but further studies should be conducted to assess the feasibility of this parallel as an antidote to conventional therapy.

Keywords: *Abelmoschus esculentus*. Poison. *Bothrops* sp. *Crotalus* sp. Antidote.

1 INTRODUÇÃO

O uso popular de plantas medicinais acompanha o ser humano desde os primórdios da civilização, sendo embasado no acúmulo de informações repassadas pelas sucessivas gerações (FRANCO e BARROS, 2006). As aplicações tradicionais, formas de uso e eficácia de determinadas espécies vegetais contribuem para a divulgação de suas propriedades terapêuticas e seus efeitos medicinais. A etnobotânica é uma estratégia que tem tido sucesso ao identificar novas moléculas bioativas de diversas espécies vegetais auxiliando, então, na pesquisa farmacológica e ainda apresentando resultados mais promissores do que um levantamento aleatório de compostos químicos utilizados em diferentes modelos experimentais (MELO et al., 2011).

O emprego das plantas como antídoto é mundial e muito antigo, sendo diversas espécies conhecidas por reverter e/ou reduzir os efeitos tóxicos produzidos pelo veneno de diferentes animais peçonhentos (MORS et al., 2000). Muitos acidentes relacionados a esses animais envolvem seres humanos e animais domésticos, na maioria das vezes, devido à invasão do habitat natural dos mesmos e às suas reações de defesa. A maior incidência de acidentes ofídicos ocorre em áreas rurais de países em desenvolvimento, onde muitas vezes os recursos terapêuticos naturais são os únicos disponíveis, incluindo várias plantas com propriedade antagônica aos efeitos tóxicos capazes de aliviar um ou mais sintomas complexos, tais como dor, hemorragia, inflamação, infecção e até envenenamento (MISE; CASAIS-E-SILVA; LIRA-DA-SILVA, 2009; SÁEZ e SOTO, 2009).

Anualmente, cerca de 2,5 milhões de pessoas no mundo são picadas por cobras. De acordo com a Fundação Nacional da Saúde/Ministério da Saúde (FUNASA/MS), no Brasil entre os anos de 2001 e 2006 ocorreram 49.650 casos de acidentes ofídicos, com uma média de 13,5 acidentes para cada 100.000 habitantes, sendo 1.200 fatais, representando 0,25%. Em 2009, ocorreram 27.069 acidentes com 0,5% de letalidade (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Mesmo com baixa letalidade, há um alto índice de sequelas relacionadas a tais acidentes, logo, faz-se necessário considerar para maiores investigações.

O Ministério da Saúde preconiza como tratamento para os acidentes ofídicos a administração endovenosa de soro antiofídico de acordo com a gravidade do envenenamento. A soroterapia normalmente pode reverter com sucesso os efeitos sistêmicos do veneno. No entanto, relatam-se alguns efeitos colaterais relacionados à terapia, tais como a reação anafilática, além de apresentar baixa possibilidade de reversão dos efeitos locais do veneno, aumentando as chances de sequelas no membro atingido (CARDOSO, 2003). A dificuldade na disponibilidade do soro para algumas regiões do país

e a incapacidade de neutralizar alguns efeitos tóxicos em alguns casos de envenenamento também colaboram com a lista de desvantagens que cercam este tipo de terapia (PAULA, 2009).

Em virtude disso, é de suma importância buscar novos tratamentos que possam complementar ou serem aplicados como uma alternativa à atual soroterapia para neutralização dos efeitos biológicos e toxicológicos do veneno nas vítimas de acidentes ofídicos (MELECCHI, 2005; PAULA, 2009).

Abelmoschus esculentus (L.) Moench, popularmente conhecido como quiabo, pertence à família Malvaceae (JARRET et al., 2011), nativo da África, sendo trazido para o Brasil pelos escravos e desde então passou a incrementar a culinária de várias regiões do país (CARVALHO, 2011; GONÇALVES, 2009), onde existe condições climáticas favoráveis para o seu cultivo, principalmente nas regiões Nordeste e Sudeste (MOTA et al., 2008). Importante na agricultura familiar brasileira, o quiabo possui importância social e cultural para o Estado de Minas Gerais indo além da alimentação típica, mas também fazendo parte da medicina tradicional (JESUS et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2007). É um alimento rico em biomoléculas como as lecitinas e seus frutos produzem mucilagem rica em polissacarídeos, ácidos associados a proteínas e diversos minerais (EBRAHIMZADEH, 2010; WOOFLE, 1977). As sementes maduras são ricas em óleo, amido, proteínas, vitaminas A, B2, B6 e C, folato, potássio, ferro e cálcio, e são pobres em calorias (EBRAHIMZADEH, 2010).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a propriedade antiofídica das sementes maduras de *A. esculentus* contra o veneno de cobras dos gêneros *Bothrops* sp. e *Crotalus* sp., por meio das atividades anticoagulante, anti-hemolíticas e antiproteolíticas. Essa investigação está fundamentada na etnobotânica, em decorrência de relatos da utilização do pó da semente do quiabo maduro por famílias residentes na zona rural do município de Juiz de Fora, Minas Gerais, como alternativa imediata de tratamento para animais domésticos vítimas de mordedura de cobras, principalmente das espécies *Bothrops jararaca* (jararaca) e *Crotalus durissus* (cascavel).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As sementes foram retiradas de frutos maduros de *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench coletados no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, entre janeiro e março de 2011. Uma exsicata foi depositada no Herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora sob o número CESJ 20131 e conforme a licença número A18AB-

08-SISGEN/BRASIL. As mesmas foram desidratadas à temperatura ambiente, moídas e tamisadas a um pó fino e seco.

2.2 Preparo do extrato aquoso das sementes de *Abelmoschus esculentus* (HeAq)

As sementes moídas e secas (1g) foram maceradas em água destilada, a 40 °C, por 72 horas. Posteriormente, o produto bruto foi filtrado em funil de Büchner e concentrado em estufa a 37 °C. O extrato obtido foi diluído em água destilada, expressando sua concentração na proporção 1:5, 1:10, 1:20 de veneno:extrato.

2.3 Preparo do extrato alcoólico das sementes de *Abelmoschus esculentus* (HeAl)

As sementes moídas e secas (1g) foram maceradas em etanol 96° GL, a temperatura ambiente, por 48 horas. Posteriormente o produto bruto foi filtrado em funil de Büchner. O líquido foi concentrado em estufa a 37 °C e o extrato obtido foi diluído em etanol 96° GL, expressando sua concentração na proporção 1:5, 1:10, 1:20 de veneno:extrato.

2.4 Veneno de *Crotalus durissus* (cascavel) e veneno de *Bothrops jararaca* (jararaca)

Os venenos brutos liofilizados de serpentes dos gêneros *Bothrops* sp. e *Crotalus* sp. foram requisitados à Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Belo Horizonte, MG, e gentilmente cedidos pelo Dr. Rômulo Antônio Righi de Toledo. Os mesmos foram mantidos a 20 °C até o momento dos ensaios biológicos. Os venenos liofilizados foram reconstituídos com solução fisiológica no momento do uso, expressando sua concentração em 1, 5, 10, 20, 30, 50, 100 e 200µg/µL, sendo as diluições conservadas à temperatura de 20 °C.

2.5 Determinação da atividade anticoagulante

Utilizou-se plasma humano citratado, diluído 1:1 em solução fisiológica. O volume de 0,2 mL de plasma diluído foi transferido para tubo de ensaio e levados ao banho-maria à 37 °C por um minuto e trinta segundos, tempo necessário para a formação do coágulo a partir da adição de 0,2 mL de CaCl₂ 0,025 M. Pequenas alíquotas das diluições do veneno foram adicionadas ao plasma e observou-se visualmente o tempo de coagulação necessário para a formação do trombo. Foi determinado o Tempo de Coagulação (TC) do plasma a partir do qual se obteve a Dose Coagulante Mínima (DCM), ou seja, a quantidade de veneno que reduziu em um minuto e trinta segundos o TC. Denominou-se DCM a concentração do veneno de *B. jararaca* (jararaca) de 5 µg de veneno por ensaio, capaz de coagular o plasma em um minuto e trinta segundos e a

concentração do veneno de *C. durissus* (cascavel) de 1 µg de veneno por ensaio, capaz de coagular o plasma em um minuto e trinta segundos. Em seguida avaliou-se a capacidade neutralizante dos extratos das sementes na atividade coagulante dos venenos de jararaca e cascavel incubando-se 5 µL da diluição correspondente a DCM durante 30 minutos a 37 °C com os extratos aquoso e alcoólico na relação veneno:extrato 1:5, 1:10, e 1:20 cada. 10 µL da mistura foi adicionada ao plasma e a coagulação monitorada como descrito acima. Adotou-se como parâmetro máximo o tempo de 10 minutos para a coagulação da solução, considerando-se dessa maneira como 100% da reação inibida. Assim, determinou-se a Inibição da Capacidade Coagulante (ICC) dos venenos (PAULA, 2009).

2.6 Determinação da atividade anti-hemolítica

A atividade anti-hemolítica foi determinada por hemólise indireta segundo Pereañez et al. (2008). Foram preparadas placas de Petri com ágar Mueller-Hinton acrescido de 5% de sangue humano e 5% de gema de ovo. Poços de 3 mm de profundidade foram cavados no ágar, onde foram colocados, em duplicata, as diluições de veneno previamente preparadas para se determinar a Dose Hemolítica Mínima (DHM), dose capaz de produzir um halo de hemólise de 20 mm em 20 horas de incubação a 37 °C em ambiente úmido. Para a determinação da atividade anti-hemolítica dos extratos, incubaram-se 20 µL da DHM com os extratos aquoso e alcoólico nas proporções veneno:extrato 1:5, 1:10, e 1:20 por 30 minutos a 37 °C. Pipetaram-se 10 µL da mistura e determinou-se a atividade anti-hemolítica como descrito previamente.

2.7 Determinação da atividade antiproteolítica

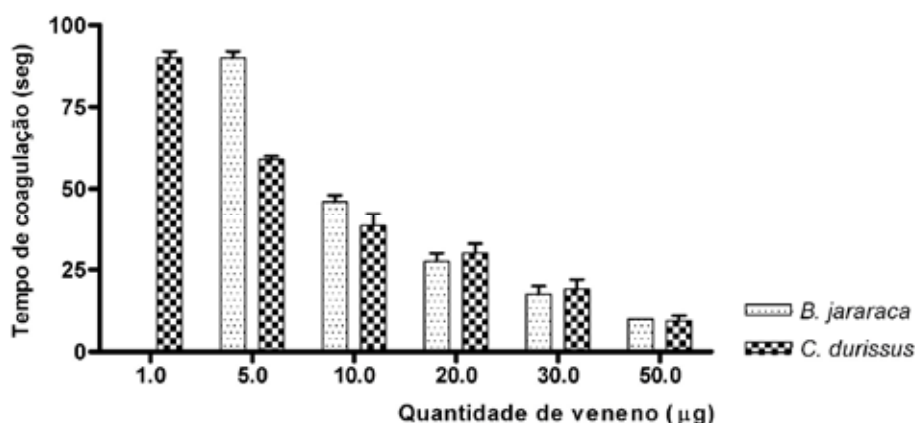
Determinou-se a atividade proteolítica seguindo a técnica de Lomonte e Gutiérrez (1983), citada por Pereañez et al. (2008). Misturaram-se as diluições dos venenos à caseína 1% em salina, deixando a solução em repouso por 30 minutos. Interrompeu-se a reação com a adição de ácido tricloroacético a 5%. Centrifugou-se e pipetou-se o sobrenadante determinando a absorbância a 420 nm em espectrofotômetro. A Dose Proteolítica Mínima (DPM) foi aquela em que se observou uma variação de 0,5 na absorbância em relação ao controle negativo. Não houve variação de absorbância significativa para o ensaio do veneno de *C. durissus* (cascavel). Para a determinação da atividade antiproteolítica dos extratos de quiabo, as provas foram feitas pré-incubando 10 µL da DPM com os extratos aquoso e alcoólico nas proporções veneno:extrato 1:5, 1:10, e 1:20 por 30 minutos a 37 °C. Procedeu-se conforme descrito acima, sendo os experimentos realizados em duplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Determinação da atividade anticoagulante

A atividade anticoagulante foi proposta a fim de verificar se HeAq e HeAl foram capazes de inibir o efeito coagulante do sangue provocada pelos venenos de *B. jararaca* (jararaca) e *C. durissus* (cascavel). Para isso foi determinado inicialmente, a Dose Coagulante Mínima (DCM) dos venenos (Figura 1).

Figura 1 - Determinação da Dose Coagulante Mínima (DCM) dos venenos de *Bothrops jararaca* (jararaca) e *Crotalus durissus* (cascavel).

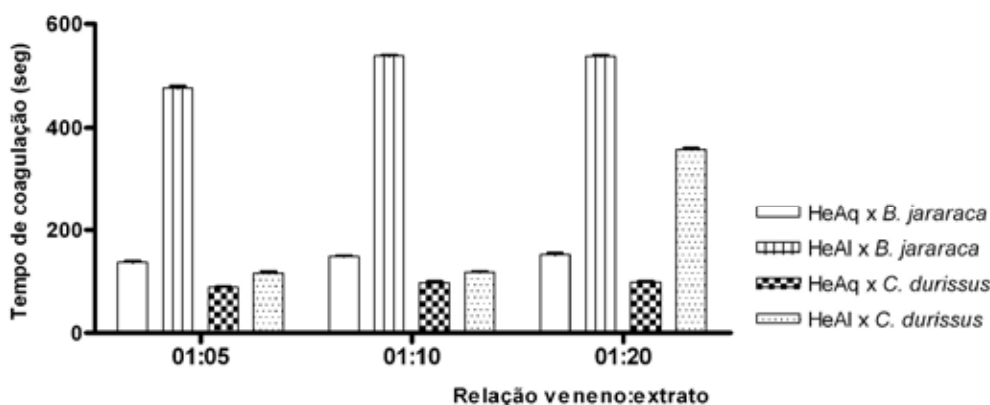


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Em relação a *B. jararaca*, observou-se coagulação nula ou não detectável para 1 µg de veneno. Já a 5 µg, o tempo de coagulação foi de 90 segundos, sendo este considerado a DCM para este veneno. A DCM do veneno de *C. durissus* a 1 µg foi capaz de coagular o plasma também em 90 segundos. As demais quantidades de venenos tiveram um tempo de coagulação inferior (Figura 1).

A Figura 2 representa a atividade anticoagulante dos extratos HeAq e HeAl frente à DCM dos venenos de cobras. HeAl apresentou uma atividade superior a HeAq em todas as diluições para ambos venenos testados, sendo que na proporção 1:20 frente à *C. durissus*, o coágulo foi bem tênue aos 360 segundos e não se alterou após os 600 segundos de ensaio. Em relação aos venenos, *B. jararaca* foi mais sensível que *C. durissus*.

Figura 2 - Atividade anticoagulante dos extratos HeAq e HeAl frente à DCM dos venenos de *Bothrops jararaca* (jararaca) e *Crotalus durissus* (cascavel).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Pereañez et al. (2008) testou três extratos aquosos de três espécies de *Heliconia* sp. frente ao veneno *Bothrops asper* na proporção 1:10 e 1:20 veneno:planta e observou que em 1:10, somente *H. curtispatha* apresentou atividade significativa, aumentando o tempo de coagulação em cerca de 175 segundos. Além disso, Paula (2009) observou em seus experimentos, que os extratos aquosos de *Stryphnodendron barbatiman*, *Eclipta alba* e *Mandevilla velutina* foram capazes de inibir o efeito coagulante do veneno de *Lachesis muta*, nas proporções de 1:10 e 1:20, por aproximadamente 600 segundos.

3.2 Determinação da atividade anti-hemolítica

Em relação ao veneno de *Bothrops jararaca* (jararaca), a Dose Hemolítica Mínima (DHM) foi de 20 µg, sendo esta concentração escolhida para o ensaio (Figura 3). Observou-se a formação de um halo disforme para concentração de 50 µg, sendo 21 mm para o menor diâmetro e 27 mm para o maior diâmetro, confirmando-se estas leituras nas duplicatas.

Figura 3 - Halo de hemólise formado após incubação com veneno de *Bothrops jararaca* (jararaca).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Obteve-se inibição da atividade hemolítica após incubação com os extratos, variando de acordo com as proporções veneno:semente (Tabela 1). Segundo Paula (2009) e Pereañez et al. (2008) as atividades hemolíticas pesquisadas em seus experimentos foram neutralizadas proporcionalmente às concentrações das diluições dos venenos pelos extratos na relação 1:10 e 1:20.

Tabela 1 - Atividade hemolítica após reação com os extratos aquoso e alcoólico (halo de hemólise)

Relação do veneno:extrato	<i>Bothrops jararaca</i> (jararaca) (halo mm)		<i>Crotalus durissus</i> (cascavel) ^a (halo mm)	
	HeAq	HeAl	HeAq	HeAl
1:5	17	14	12	12
1:10	15	12	12	11
1:20	13	14	11	07

^aAdotou-se 50 µg como DHM devido ao maior halo obtido no controle positivo.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Em relação ao veneno da *C. durissus* (cascavel), os halos de inibição não foram muito evidentes, sendo que não houve aparecimento de halo com a diluição correspondente à 1 µg do veneno. Este resultado é coerente com os dados da Funasa (2001), uma vez que, o veneno da cascavel apresenta atividade coagulante, é neurotóxico e miotóxico, não havendo referência às atividades hemolítica e proteolítica. Para as outras diluições, os diâmetros foram bastante uniformes (Figura 4). Os venenos foram diluídos de modo que a solução final foi de 1 µg para 1 µL.

Figura 4 - Halos de hemólise formados após incubação com veneno da *Crotalus durissus* (cascavel).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Mesmo não apresentando o halo necessário para caracterizar a atividade hemolítica, 50 µg do veneno foram incubadas nas mesmas condições do ensaio, obtendo-se uma diminuição do tamanho halo de hemólise para a relação 1:20 veneno:extrato.

Quando a DHM do veneno de jararaca foi incubada com os extratos aquoso e alcoólico (Figuras 5 e 6) foi demonstrado uma inibição dos halos de hemólise (Tabela 1).

Figura 5 - Veneno de *Crotalus durissus* (cascavel) 1:20 após incubação com extratos aquoso e alcoólico.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Figura 6 - Veneno de *Bothrops jararaca* (jararaca) 1:20 após incubação com extratos aquoso e alcoólico.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

3.3 Determinação atividade antiproteolítica

Em relação ao veneno de cascavel, as leituras de absorbância obtidas para as diluições propostas não diferiram em 0,5 do controle negativo (Tabela 2). Assim como descrito anteriormente, o veneno de cascavel também não apresenta atividade proteolítica. Portanto, a capacidade inibitória dos extratos para o veneno da cascavel não foi testada.

Em relação ao veneno de jararaca, a DPM foi de 10 µg, sendo tal concentração escolhida para o ensaio. Excetuando-se a leitura da mistura DPM + extrato alcoólico na relação 1:20, as leituras obtidas não foram alteradas após a incubação, o que demonstrou ser uma inibição do efeito proteolítico (Tabela 2). Esses resultados também foram relatados por Paula (2009) em seus experimentos. Pereañez et al. (2008) demonstrou inibição da atividade proteolítica dos extratos alcoólicos de *H. curtispatha*, *H. latispatha* e *Hemidesmus* quando utilizou uma relação veneno:extrato 1:1.

Tabela 2 - Atividade antiproteolítica após reação com os extratos aquoso e alcoólico.

Relação do veneno:extrato	Absorbância da solução extrato/veneno de <i>Bothrops jararaca</i> (jararaca)	
	Extrato aquoso	Extrato alcoólico
1:5	0,126	0,128
1:10	0,122	0,126
1:20	0,127	0,138

*Os extratos não foram testados para o veneno de *C. durissus*(cascavel). Leitura do branco: 0,128.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Várias pesquisas têm descrito a ação antídoto de diversas plantas, identificando e quantificando substâncias capazes de neutralizar substâncias constituintes dos venenos. O mecanismo de ação dos extratos não foi identificado, mas este efeito pode estar relacionado com alterações ocorridas sobre as proteínas contidas no veneno, como as metaloproteínas, que têm efeito tóxico. Para tal, será necessário isolar as substâncias capazes de promover esse efeito inibitório e sua ação sobre as peçonhas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que a incubação dos extratos aquoso e alcoólico das sementes do quiabo com os venenos de *Bothrops jararaca* (jararaca) e *Crotalus durissus* (cascavel) foi eficiente, uma vez que ambos extratos foram capazes de inibir os efeitos dos venenos através dos ensaios propostos. Embora os extratos aquoso e alcoólico sejam obtidos a partir da mesma matéria-prima, as sementes do quiabo, eles não apresentaram a mesma capacidade inibitória dos efeitos degenerativos dos venenos quando comparados entre si. Assim, o extrato alcoólico foi o que apresentou melhor ação como antídoto. As atividades coagulantes dos venenos de jararaca e cascavel foram neutralizadas proporcionalmente à relação veneno:planta utilizada para as reações. As atividades hemolítica e proteolítica do veneno da jararaca foram proporcionalmente neutralizadas nas condições experimentais executadas. Para os ensaios *in vitro*, os extratos aquosos e alcoólico da semente de *Abelmoschus esculentus* se mostraram potencialmente capazes de agir como antídoto, porém estudos *in vivo* são necessários para se confirmar tal propriedade. Ademais, foram evidenciados potenciais efeitos inibidores da ação dos venenos das espécies de cobras testadas para ambos extratos, porém estudos futuros devem ser realizados para avaliar a viabilidade do uso das sementes do quiabo como antídoto paralelamente à terapia convencional, de forma a contribuir no aumento da eficácia desse tratamento e diminuir os possíveis efeitos colaterais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARDOSO, J. L. C. et al. **Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. São Paulo: Sarvier, 2003. 468 p. ilus, mapas, tab. ISBN 85-7378-133-5.

CARVALHO, Maria Lúcia Braga de. **Avaliação da estabilidade termo oxidativa do óleo das sementes do quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica, concentração em Química) - Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/7051/1/arquivototal.pdf>. Acesso em: 28 maio 2021.

EBRAHIMZADEH, M. A. *et al.* Anthypoxic and antioxidant activity of *Hibiscus esculentus* seeds. **Grasas y Aceites**, v. 61, n. 1, p. 30-36, 2010. DOI: 10.3989/GYA.053809.

FRANCO, E. A. P.; BARROS, R. F. M. Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D' água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 3, p. 78-88, 2006.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde - MS. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos**. 2 ed. revisada, Brasil: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2001.

GONÇALVES, G. C. *et al.* **Estudo da viabilidade técnica da produção de quiabo (*Hibiscus esculentus* L.) e jiló (*Solanum gilo*) em Planaltina-GO**. Boletim Técnico, Brasília, Departamento de Agronomia, Faculdades Integradas, UPIS, 2009.

JARRET, R. L.; WANG, M. L.; LEVY, I. J. Seed oil and fatty acid content in okra (*Abelmoschus esculentus*) and related species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 4019-4024, 2011.

JESUS, P. P. *et al.* Transição agroecológica na agricultura familiar: relato de experiência em Goiás e Distrito Federal. **Campo-Território: revista de geografia agrária**, v. 6, n. 11, p. 363-375, 2011.

LOMONTE B; GUTIÉRREZ J. M. La actividad proteolítica de los venenos de serpientes de Costa Rica sobre la caseína. **Revista de Biología Tropical**, v. 31, n. 1, p. 37-40, 1983. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/16832558_Proteolytic_activity_of_snake_venoms_of_Costa_Rica_on_casein. Acesso em: 28 maio 2021.

MELECCHI, M. I. **Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: estudo comparativo de métodos de extração**. 2005. 197 p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

MELO, J. G. *et al.* Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-13, 2011. DOI: 10.1155/2011/365359. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21528006/>. Acesso em: 28 maio 2021.

MISE, Y. F.; CASAIS-E-SILVA, L. L.; LIRA-DA-SILVA, R M. Ação protetora da *Calendula officinalis* (Asteraceae; Compositae) sobre a atividade miotóxica do veneno de *Bothrops leucurus* (Serpentes; Viperidae). **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79, n. 1, p. 50-55, 2009. Supl. 1. Disponível em: <http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/view/996>. Acesso em: 28 maio 2021.

MORS, W. B. *et al.* Plant natural products active against snake bite - the molecular approach, **Phytochemistry** v.55, n.6, p.627-642, 2000.

MOTA, W.F. *et al.* Composição mineral de frutos de quatro cultivares de quiabeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 762-767, 2008.

OLIVEIRA, R.D.L. *et al.* Nematofauna associada à cultura do quiabo na região leste de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.1, p.88-93, 2007.

PAULA, R. C., **Efeito dos Extratos Vegetais sobre atividades biológicas do veneno da serpente *Lachesis muta***. 90f. Dissertação (Mestrado em Neuroimunologia). Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

PEREAÑEZ, J. A., JIMÉNEZ, S. L., QUINTANA, J. C., NUÑEZ, V., FERNÁNDEZ, M., RESTREPO, Y. Inhibición de las actividades proteolítica, coagulante y hemolítica indirecta inducidas por el veneno de *Bothrops asper* por extractos etanólicos de tres especies de heliconias. *Vitae*, v. 15, p. 157-164, 2008.

SAEZ, J. A. L.; SOTO, J.P., Plantas Alexitéricas: Antídotos Vegetales contra las Picaduras de Serpientes Venenosas. **Medicina Naturista**, v.3, n. 1, p. 17-24, 2009.

WOOLFE, M. L.; CHAPLIN, M. F.; OTCHERE, G. Studies on the mucilages extracted from okra fruits (*Hibiscus esculentus* L.) and baobab leaves (*Adansonia digitata* L.). **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 28, n. 6, p. 519-529, jun. 1977. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740280609>



CAPÍTULO 10

SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS DE *Potimirim brasiliانا* (VILLALOBOS, 1959) EM DIFERENTES SALINIDADES

Potimirim brasiliانا (VILLALOBOS, 1959) LARVAE
SURVIVAL ON DIFFERENT SALINITIES

Vinicius de Paula Coelho¹
Anna Julia Justi Molinari²
Nilo da Silva Nunes Pirovani³
Gilson da Silva Filho⁴
Bruno de Lima Preto⁵

DOI: 10.46898/rfb.9786558891079.10

¹ vinicius.dpcoelho@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/1001199490687511>
² annajuliajusti@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/4242935792271180>
³ Nilo2096@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/4242935792271180>
⁴ silva.filho.gilson@gmail.com, <http://lattes.cnpq.br/1040363193594196>
⁵ blpreto@ifes.edu.br, <http://lattes.cnpq.br/1302310640473426>

RESUMO

Nosso objetivo foi verificar o efeito da salinidade da água sobre a sobrevivência de larvas de *Potimirim brasiliiana*. O trabalho foi realizado no Laboratório de Carcinicultura e Maricultura (Lacam) do Instituto Federal do Espírito Santo – campus de Alegre. Fêmeas ovígeras de *P. brasiliiana*, com ovos em estágio final de desenvolvimento, foram alocadas individualmente em caixas de eclosão com água à salinidade de 5 g/L. Após a eclosão dos ovos, selecionou-se 200 larvas aleatoriamente. As larvas foram alocadas individualmente em tubos de ensaio, preenchidos com 20 mL de água, caracterizando as unidades experimentais. Utilizou-se 0; 5; 10 e 20 g de sal/L de água, totalizando 4 tratamentos e 50 repetições. As larvas foram mantidas em inanição. Em todas as unidades experimentais utilizou-se o “banho-maria”, para garantir a temperatura em 28°C. Renovou-se diariamente uma alíquota de 5 mL de água de cada tubo, a fim de garantir a qualidade do ambiente. As larvas de *P. brasiliiana* foram avaliadas como vivas através da movimentação de seus apêndices. Houve diferença de sobrevivência dos animais submetidos às salinidades 0 e 5 g de sal/L de água em relação aos submetidos aos demais tratamentos desde o primeiro dia de observação. No terceiro dia de exposição, mais da metade dos indivíduos submetidos à essas salinidades morreram. As larvas expostas a salinidade de 10 g de sal/L de água atingiram 50% da população sobrevivente no quarto dia de observação, enquanto que as larvas expostas a 20 g de sal/L de água atingiram 50% de sobrevivência no sexto dia. Constatou-se que as larvas de *P. brasiliiana* necessitam de água salobra para suas maiores sobrevivências, apontando maior tolerância a águas com salinidade de 20 g de sal/L de água.

Palavras-chave: *Potimirim brasiliiana*. Salinidade. Desenvolvimento larval.

ABSTRACT

Our objective was to verify the effect of water salinity on the survival of *Potimirim brasiliiana* larvae. The work was carried out at the Prawn Culture and Mariculture Laboratory (Lacam) of the Federal Institute of Espírito Santo – Alegre-ES. Oviparous females of *P. brasiliiana*, with eggs in the final stage of development, were placed individually in hatching boxes with water at a salinity of 5 g/L. After the eggs hatch, 200 larvae were randomly selected. The larvae were placed individually in test tubes, filled with 20 mL of water, characterizing the experimental units. 0; 5; 10 and 20 g of salt/L of water was used, totaling 4 treatments and 50 repetitions. The larvae were kept in starvation. In all experimental units, the “bain-marie” was used to guarantee the temperature at 28°C. A 5 mL aliquot of water from each tube was renewed daily to ensure the quality of the environment. *P. brasiliiana* larvae were evaluated as alive by

moving their appendages. There was a difference in the survival of animals submitted to salinity of 0 and 5 g of salt/L of water in relation to those submitted to the other treatments from the first day of observation. On the third day of exposure, more than half of the individuals subjected to these salinities died. Larvae exposed to salinity of 10 g of salt/L of water reached 50% of the surviving population on the fourth day of observation, while larvae exposed to 20 g of salt/L of water reached 50% survival on the sixth day. It was found that *P. brasiliiana* larvae need brackish water for their survival, indicating greater tolerance to water with salinity of 20 g of salt/L of water.

Keywords: *Potimirim brasiliiana*. Salinity. Larval development.

1 INTRODUÇÃO

Os crustáceos habitam uma grande variedade de habitats marinhos, dulcícolas e terrestres, nos quais vivem em vários micro-habitats, desempenhando diversas funções existentes na cadeia trófica. No ambiente de água doce, por exemplo, existe uma zonação da fauna de crustáceos decápodes relacionada a características ambientais (temperatura da água, velocidade da corrente, composição do leito do rio) e aos vários recursos (detritos orgânicos, matéria animal, matéria vegetal, fitoplâncton, zooplâncton) explorados pelas diferentes espécies ao longo das fases de vida de seus indivíduos (CHACE & HOBBS, 1969; ABELE & BLUM, 1977; HOBBS & HART, 1982).

Os palemonídeos são denominados, genericamente, como camarões de água doce, porque parte das espécies passam pelo menos uma fase de seu ciclo de vida em ambiente dulcícola (COELHO et al, 1982). Admite-se que tenham se originado evolutivamente a partir de ancestrais marinhos que invadiram a água doce (FREIRE et al., 2013). Algumas espécies adaptaram-se totalmente a este ambiente, onde ocorre todo seu ciclo de vida, enquanto que a maioria depende de água salobra para a realização do desenvolvimento larval (NEW & SINGHOLKA, 1982).

Os membros da família Palaemonidae apresentam ampla distribuição nas regiões tropicais, sub-tropicais e temperadas de todo o mundo, sendo objeto de exploração comercial em grande número de países (COELHO et al., 1982; NEW & SINGHOLKA, 1982). No Brasil, estão representados em todas as grandes bacias hidrográficas (MELO, 2003). A maioria das espécies de interesse comercial pertence ao gênero *Macrobrachium*, este gênero é bastante diversificado em relação ao tamanho, contendo aproximadamente 210 espécies, algumas com poucos centímetros de comprimento e outras atingindo cerca de 30 cm (HOLTHUIS, 1980; NEW & SINGHOLKA, 1982; SHORT, 2004). No Brasil, o gênero *Macrobrachium* está representado por 18 espécies (MELO, 2003). Atualmente, tem-se explorado camarões *M. olfersii* com a finalidade de aquarismo.

Segundo o IPEMA (Instituto de Pesquisas da Mata Atlântica) 14 espécies de crustáceos decápodes estão em estado de vulnerabilidade no Espírito Santo. Aliado a este fator, há a continuidade da exploração dos estoques naturais destes crustáceos e o aumento da destruição de seus habitats devido à poluição dos rios e córregos. A conservação desses camarões é importante tanto do ponto de vista sócio econômico (considerando a pesca extrativista por pescadores tradicionais) quanto do ponto de vista ecológico (considerando a importância ecossistêmica desses crustáceos). Este trabalho contribuirá com o ajuste de tecnologia para propagação de camarões *Potimirim brasiliiana*, por meio da identificação da tolerância das larvas por diferentes salinidades de água.

2 METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Carcinicultura e Maricultura (Lacam) do Instituto Federal do Espírito Santo – campus de Alegre. Fêmeas ovígeras de camarões *P. brasiliiana* foram coletadas no Rio Itapemirim, Itapemirim-ES, no mês de julho de 2018. A coleta foi realizada com auxílio de peneiras de 80 cm de comprimento por 50 cm de largura e malha de 1 mm entre nós. As peneiras foram passadas rapidamente em movimentos ascendentes sob a vegetação marginal parcialmente submersa. Os animais coletados foram alocados caixas térmicas providas de água e aeração e mantidos sob cuidados durante o transporte ao laboratório.

As fêmeas ovígeras, com ovos em fase final de desenvolvimento, foram acondicionadas individualmente em baldes com água na salinidade de 5 g de sal por litro de água. A água salobra foi formada a partir da mistura de água do mar com água doce. A temperatura da água foi mantida em 28°C por meio de aquecedores com termostatos. A salinidade da água foi aferida por meio de refratrômetro de salinidade. As fêmeas foram alimentadas diariamente por meio do oferecimento de uma pequena porção de filé de lula. Diariamente foi sifonada uma porção de 20% da água do fundo do balde seguida de reposição com água limpa.

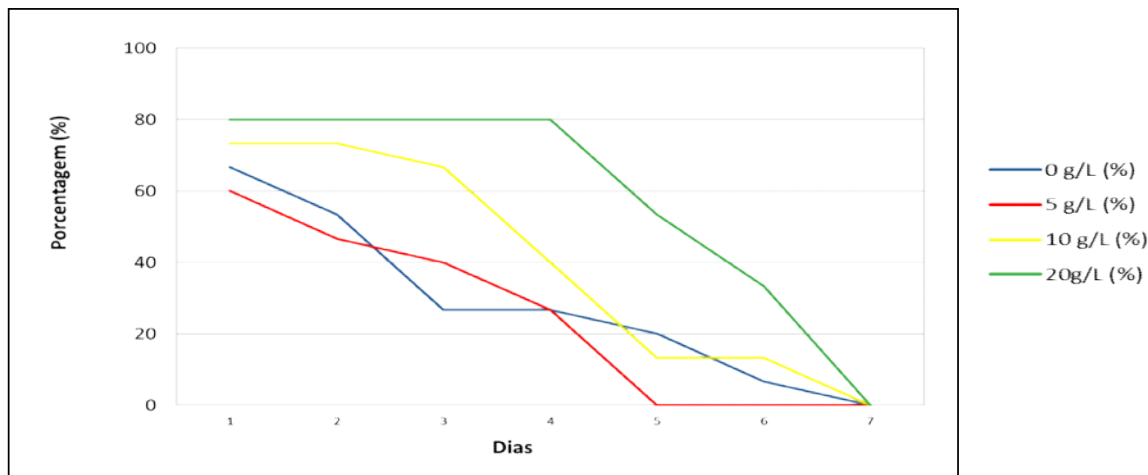
Após a eclosão dos ovos, as larvas foram retiradas dos baldes e separadas, ao acaso, em quatro (4) lotes. Cada lote foi submetido à aclimação considerando as diferentes concentrações de sal testadas. A aclimação foi realizada adicionando-se água do mar nos lotes que precisam ter a salinidade aumentada e adicionando-se água doce nos lotes que necessitavam ter a salinidade reduzida. Ao atingir as concentrações de salinidade referente a cada tratamento, 50 larvas de cada lote foram selecionadas ao acaso e submetidas aos tratamentos: 0; 5; 10 e 20 g de sal/L de água. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro (4) tratamentos e 50 repetições. Todas as larvas foram mantidas em inanição, para que apenas a salinidade fosse o fator testado.

As unidades experimentais utilizadas foram tubos de ensaio com capacidade para 30 ml. Os tubos de ensaio foram preenchidos com 20 ml de água a cada uma das salinidades. As larvas não foram alimentadas, assim como no método de Cooper e Heinen (1991) e mantidas individualmente em cada tubo de ensaio, para evitar o canibalismo. Todas as unidades experimentais ficaram mantidas em “banho-maria”, garantindo que a temperatura permanecesse a mesma em todos os tratamentos. A temperatura foi controlada em 28° C, utilizando-se aquecedores com termostatos, sendo aferida diariamente com termômetro mercúrio. A salinidade foi avaliada durante todos os dias de experimento, com auxílio de refratômetro. Diariamente retirou-se uma alíquota de 5 mL de água de cada tubo de ensaio. Esta quantidade foi repostada utilizando água tratada, referente a cada tratamento, a fim de reduzir a concentração de possíveis compostos nitrogenados excretados pelas larvas. Através do movimento da larva avaliou-se diariamente a sobrevivência de tal. Quando a análise macroscópica não foi conclusiva, a avaliação foi realizada com auxílio de estereomicroscópio. A variação da sobrevivência de larvas ao longo do tempo foi exposta em um gráfico de linhas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observa-se no Gráfico 1 que a salinidade da água interfere na sobrevivência de larvas de camarões *P. brasiliiana*. Há uma relação positiva entre a concentração de sal na água e a sobrevivência de larvas ao longo do tempo. Isto fica evidenciado pelas elevadas taxas de sobrevivência ao longo do tempo nas populações submetidas às concentrações de 10 e 20 g de sal/L de água, enquanto que as demais populações entraram em declínio antecipadamente.

A concentração de 20 g de sal/L de água proporcionou ambiente mais adequado às larvas. Nesta concentração, 80% dos indivíduos permaneceram vivos até o quarto dia de exposição. No quinto dia de exposição, ao menos 50% da população permanecia viva. Ao contrário dos demais tratamentos, neste tratamento também foi observado grande quantidade de carapaças nos tubos de ensaio. Isso significa que as larvas sofreram ecdise, que é um indicador de desenvolvimento larval.

Gráfico 1 - Sobrevivência de larvas de *P. brasiliiana* submetidas a diferentes salinidades.

Entre o terceiro e quarto dia de exposição, as larvas submetidas à concentração de 10 g de sal/L de água, apresentavam ao menos 50% de sobrevivência. Esta taxa de sobrevivência foi observada entre o segundo e terceiro dia de exposição das larvas submetidas às concentrações mais baixas de sal (0 e 5 g de sal/L de água). No quinto dia de exposição, as larvas submetidas à concentração de 5 g de sal/L de água encontravam-se todas mortas.

Mallasen e Valenti (1998 apud FAUSTINI, 2016) afirmam que larvas de camarões de água doce submetidas a condições que favoreçam a sobrevivência mantêm o metabolismo basal utilizando-se apenas do mínimo de energia para mantê-lo. Portanto, se as larvas forem submetidas à inanição, o meio que resultar maior sobrevivência de indivíduos indica o mais adequado para o seu desenvolvimento. Assim, é possível concluir que as salinidades entre 10 e 20 g/L são mais adequadas ao desenvolvimento das larvas de *P. brasiliiana*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Reconhecer que as larvas de *P. brasiliiana* sobrevivem por mais tempo em salinidades de 10 a 20 g de sal/L de água é importante tanto para o desenvolvimento de técnicas de propagação artificial desses camarões quanto para conservação dos ambientes aquáticos naturais. A partir desses resultados, sugere-se que ensaios de larvicultura sejam realizados utilizando salinidades de 10 a 20 g de sal/L de água. Além disso, considerando que estes camarões necessitam de vegetação marginal para refúgio, destaca-se a importância da preservação das margens do rio, principalmente em áreas estuarinas ou próximas ao estuário. Observa-se também a importância da conservação do regime hídrico natural do rio. Este deve possibilitar vazão suficiente para que larvas que eclodam em água doce possam atingir a água salobra, permitindo sobrevivência de larvas o suficiente para manutenção dos estoques naturais.

REFERÊNCIAS

- ABELE, L. G. & BLUM, N. 1977. Ecological aspects of the freshwater decapod crustaceans of the Pulas archipelago, Panamá. **Biotropica** 9(4):239-252.
- CHACE, F.A. Jr., and H.H. Hobbs, Jr. (1969) **The freshwater and terrestrial decapod crustaceans of the West Indies with special referece to Dominica**. United States National Museum Bulletin 292:1-258.
- COELHO, P. A., M. R. PORTO, C. M. A.. SOARES. 1982. **Biologia e cultivo de camarões de água doce**. Série Aquicultura, (1), Recife, PE: UFPE. 58 pp.
- COOPER, Richard K.; HEINEN, John M. A starvation test to determine optimal salinities for larval freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 100, n. 3, p. 537-542, 1991.
- FAUSTINI, R. G. **Salinidade da água afeta a sobrevivência de larvas de Macrobrachium acanthurus**. 2016. 24 f. il.
- FREIRE, Carolina Arruda et al. Regulation of muscle hydration upon hypo-or hyperosmotic shocks: differences related to invasion of the freshwater habitat by decapod crustaceans. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 319, n. 6, p. 297-309, 2013.
- HOBBS, H. H. & HART, C. W. 1982. The Shrimp genus *Atya* (Decapoda, Atyidae). **Smithsonian Contribution to Zoology** 364:1-143.
- HOLTHUIS, L.B. 1980. FAO species catalogue. Vol. I. Shrimps and prawns of the world (na annotated catalogue of species of interest to fisheries). **FAO Fisheries Synopses No. 125 Vol. 1**. Rome.
- MELO, G.A.S. 2003. Famílias Atyidae, Palaemonidae e Sergestidae, p. 289-415. In: G.A.S. MELO (Ed.). **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo, Editora Loyola, 430p.
- NEW, M.B. & SINGHOLKA, S. 1982. **Freshwater prawn farming: a manual for the culture of Macrobrachium rosenbergii**. FAO Fisheries Technical Paper No. 225. Rome.
- SHORT, J. W. 2004. A revision of Australian river prawns, *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Hydrobiologia*, 525 (1-3): 1-100.

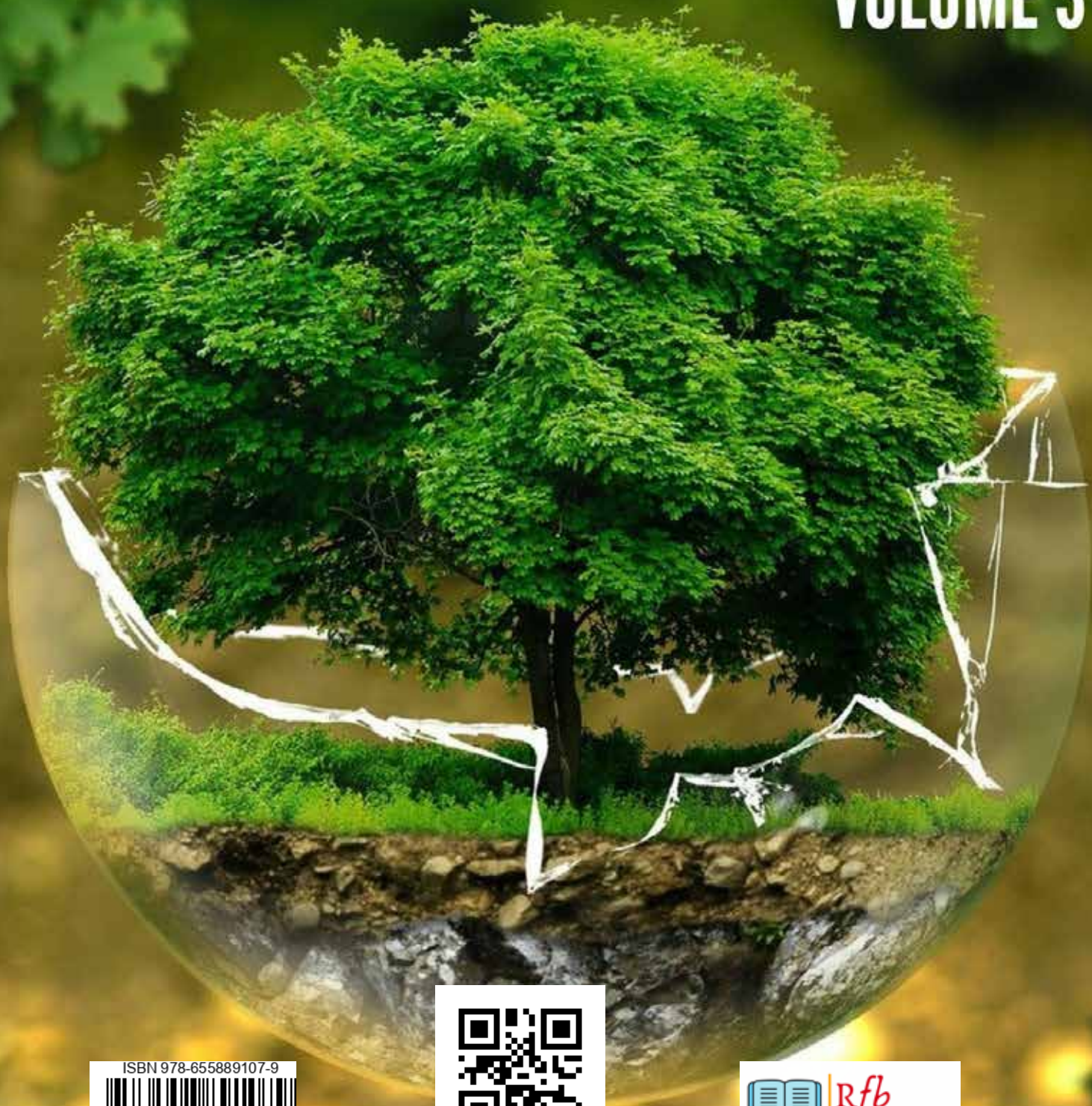


VOLUME 3



**PESQUISAS EM TEMAS DE
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

VOLUME 3



PESQUISAS EM TEMAS DE CIENCIAS BIOLOGICAS