

UNINGÁ - UNIDADE DE ENSINO SUPERIOR INGÁ LTDA

# Uningá Review

Online ISSN 2178-2571



# 23(1)

Julho / Setembro  
July / September

# 2015



Master Editora  
*The Greatest Step Across Borders*

**Título / Title:**

UNINGÁ Review

**Periodicidade / Periodicity:**

Trimestral / Quarterly

**Diretor Geral / Main Director:**

Ricardo Benedito de Oliveira

**Diretor de Ensino / Educational Director:**

Ney Stival

**Diretor de Pós-Graduação / Post-Graduation Director:**

Mário dos Anjos Neto Filho

**Diretora de Assuntos Acadêmicos / Academic Subjects Director:**

Gisele Colombari Gomes

**Diretor Administrativo / Administrative Director:**

Flávio Massayohi Sato

**Editor-Chefe / Editor-in-Chief:** Prof. Dr. Mário dos Anjos Neto Filho

**Corpo Editorial / Editorial Board**

Prof. Dr. Afonso Pelli, **UFTM** (MG)  
Prof. Dr. Aissar Eduardo Nassif, **UNINGÁ** (PR)  
Prof. Dr. Alaor Aparecido Almeida, **CEATOX-UNESP** (SP)  
Prof. MS. Alex Sanches Torquato, **UTFPR** (PR)  
Profa. Dra. Carolina Baraldi Araujo Restini, **UNAERP** (SP)  
Profa. Dra. Claure Nain Lunardi Gomes, **UnB** (Brasília/DF)  
Prof. Dr. Fabiano Carlos Marson, **UNINGÁ** (PR)  
Prof. Dr. Gerson Jhonatan Rodrigues, **UFSCar** (SP)  
Prof. Dr. Jefferson José de Carvalho Marion, **UFMS** (MS)  
Profa. Dra. Kellen Brunaldi, **UEM** (PR)  
Prof. Dr. Luiz Fernando Lolli, **UNINGÁ** (PR)

Profa. Dra. Michele Paulo, **USP** (SP)  
Prof. Dr. Paulo Roberto Barbosa Évora, **USP** (SP)  
Prof. Dr. Roberto Barbosa Bazotte, **UEM** (PR)  
Prof. Dr. Roberto DeLucia, **USP** (SP)  
Prof. MS. Rogério Tiyo, **UNINGÁ** (PR)  
Profa. MS. Rosana Amora Ascari, **UDESC** (SC)  
Prof. Dr. Sérgio Spezzia, **UNIFESP** (SP)  
Profa. Dra. Tatiliana Geralda Bacelar Kashiwabara, **IMES** (MG)  
Profa. MSd. Thais Mageste Duque, **UNICAMP** (SP), **UNINGÁ** (PR)  
Profa. MS. Valéria Garcia da Silva, **UNINGÁ** (PR)

**Indexações:** Latindex, Google Acadêmico, EBSCO host (Fonte Acadêmica), Periódicos CAPES e *Directory of Research Journals Indexing* - DRJI.

**Distribuição:** Master Editora – Publicações Científicas

A Revista **UNINGÁ Review** é um Projeto Especial para divulgação científica apenas em mídia eletrônica, estando inscrito na Coordenação do Núcleo Pesquisa da Faculdade INGÁ sob o número (171/2-2009) da Faculdade INGÁ.

Todos os artigos publicados foram formalmente autorizados por seus autores e são de sua exclusiva responsabilidade.

As opiniões emitidas nos trabalhos aqui apresentados não correspondem necessariamente, às opiniões da Revista **UNINGÁ Review** e de seu Corpo Editorial.

*The **UNINGÁ Review** Journal is a special project to scientific dissemination only in electronic media, registered in the Coordination of the Research Center - Faculty INGÁ (171/2-2009).*

*All published articles were formally authorized by their authors and are your sole responsibility.*

*The opinions expressed in the studies published do not necessarily correspond to the views of **UNINGÁ Review** Journal and its Editorial Board.*



Master Editora

Prezado leitor, é com grande satisfação que divulgamos a vigésima terceira edição, volume um, da Revista **UNINGÁ Review**.

**UNINGÁ Review** recebeu a estratificação B4 pelo sistema QUALIS CAPES, após a avaliação das edições anteriores, desde o ano de 2010.

Atualmente a **UNINGÁ Review** é indexada no seguintes portais de periódicos: Latindex, Google Acadêmico, Bibliomed, EBSCO host, DRJI e Periódicos CAPES

Desde o dia 01/07/2013, a Revista **UNINGÁ Review** passou a ser distribuída pela Master Editora, adotando o formato *Open Access Journal* (Revista Científica de Acesso Aberto) que garante a manutenção do acesso irrestrito e gratuito aos artigos publicados. Os autores não terão nenhum custo financeiro para submissão e a subsequente análise do manuscrito pelo conselho editorial do periódico. Entretanto, caso um manuscrito seja aceito para publicação, o autor responsável (autor de correspondência) confirmará o interesse pela publicação realizando o pagamento de uma taxa de publicação, no valor de R\$ 180,00 (cento e oitenta reais), em função dos custos relativos aos procedimentos editoriais; valor atualizado em 01/01/2015.

Aproveitamos a oportunidade para agradecer aos autores dos trabalhos que abrilhantam esta edição e para convidar aos autores de trabalhos científicos que se enquadram em nosso escopo editorial para o envio de seus artigos para nossa análise *ad hoc*, visando o aceite de sua obra para publicação em uma das edições futuras da Revista **UNINGÁ Review**.

Boa leitura!

Mário dos Anjos Neto Filho  
Editor-Chefe

*Dear reader, it is a great satisfaction to disclose the twenty-third edition, volume one of the Journal UNINGÁ Review.*

*UNINGÁ Review received the concept of stratification B4 by QUALIS CAPES system, according to the evaluation of the previous editions, since 2010.*

*Currently UNINGÁ Review is indexed in the following journals portals: Latindex, Google Scholar, Bibliomed, EBSCO host, DRJI and Periódicos CAPES.*

*Since July, 01, 2013, the UNINGÁ Review Journal became distributed by Master Publisher, adopting the format Open Access Journal that ensures the free and unrestricted access to published articles. The authors have no financial cost to any submission and subsequent analysis of the manuscript by the editorial board of the journal. However, if a manuscript is accepted for publication, the mailing author can confirm the interest in publishing by the payment of a publication (R\$ 180,00 - one one hundred and eighty Reais), according to the costs relating to the procedures editorials; updated on 01/01/2015.*

*We take this opportunity to thank the authors of the works that brightens this issue and to invite the authors of scientific papers that fit with our editorial scope to send your articles to our ad hoc aiming at acceptance of your paper for publication in a future issue of the Journal UNINGÁ Review.*

Happy reading!

Mario dos Anjos Neto Filho  
Editor-in-Chief

**ORIGINAIS**

**BIOCONTROLE *in vitro* DE *Didymella bryoniae* POR FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE *Piper amalago* L.**

SANDRA CRISTINA ZOTTI, BRUNA THAIS FLECK, PABLO LUAN ELI, JULIANA BERNARDI- WENZEL ..... 05

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SECAGEM NA VIABILIDADE DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS MICROENCAPSULADOS EM ALGINATO**

LAURA ADRIANE DE MORAES PINTO, GUSTAVO AFFONSO PISANO MATEUS, FERNANDA DE OLIVEIRA TAVARES, ALINE TAKAOKA ALVES BAPTISTA, ALCEU KAZUO HIRATA, MARIANA OLIVEIRA SILVA, RAQUEL GUTIERRES GOMES, RITA DE Cássia BERGAMASCO ..... 11

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA ERVA-MATE E LESÃO CELULAR EM EXERCÍCIO AGUDO DE ALTA INTENSIDADE**

TELMA APARECIDA COSTA, JEFFERSON JOVELINO AMARAL DOS SANTOS, JULIANO HENRIQUE BORGES ..... 15

**OCORRÊNCIA DE GALHAS ENTOMÓGENAS EM PLANTAS DO PARQUE FLORESTAL DOS PIONEIROS, EM MARINGÁ, PARANÁ, BRASIL**

LIVEA LORENA GONÇALVES DE CARVALHO, RUTE NOEMIA DE SOUZA SANTOS, JOSÉ FELINTO BARBOSA ..... 21

**ATUALIZAÇÃO DA LITERATURA**

**SANEAMENTO BÁSICO: MEIO AMBIENTE E SAÚDE**

KARINE FOLLADOR, GEISA PERCIO DO PRADO, MANUELA GAZZONI DOS PASSOS, SIMONE CRISTINA NOTHAFT ..... 24



# BIOCONTROLE *in vitro* DE *Didymella bryoniae* POR FUNGOS ENDOFITICOS ISOLADOS DE FOLHAS DE *Piper amalago* L.

IN VITRO BIOCONTROL OF *Didymella bryoniae* BY ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATED FROM *Piper amalago* L. LEAVES

SANDRA CRISTINA ZOTTI<sup>1</sup>, BRUNA THAIS FLECK<sup>2</sup>, PABLO LUAN ELI<sup>3</sup>, JULIANA BERNARDI-WENZEL<sup>4\*</sup>

1. Bióloga graduada no Curso de Ciências Biológicas– Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade de Toledo; 2. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas– Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade de Toledo; 3. Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas– Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade de Toledo; 4. Bióloga, Doutora pela Universidade Estadual de Maringá, docente do Curso de Ciências Biológicas– Universidade Paranaense – UNIPAR – Unidade de Toledo.

\* Av. Parigot de Souza, 3636, Jardim Prada, Toledo, Paraná, Brasil. CEP: 85903-170. [julianab@unipar.br](mailto:julianab@unipar.br)

Recebido em 29/05/2015. Aceito para publicação em 11/06/2015

## RESUMO

Microrganismos endofíticos habitam principalmente as partes aéreas das plantas, como folhas e caules, em geral são constituídos por fungos e bactérias, que vivem em uma relação mutualística, proporcionando proteção às plantas contra fitopatógenos, herbivoria e insetos. Uma das doenças que mais afeta a cultura da melancia (*Citrullus lanatus*) e provoca grandes prejuízos à agricultura, é o crestamento gomoso, causado pelo fungo *Didymella bryoniae*, que em condições ideais de desenvolvimento, afeta todas as fases da planta, provocando o tombamento de plântulas, lesões circulares nas folhas e formação de cancos no caule, nas hastes e nos frutos, com exsudação de goma. Fungos endofíticos podem apresentar propriedades antagonicas a fitopatógenos, sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de controle *in vitro* de fungos endofíticos isolados de *Piper amalago* ao crescimento de *D. bryoniae*. Foram avaliados 26 isolados de *P. amalago*, por meio da metodologia da cultura pareada, na qual os endofíticos e o fitopatógeno foram inoculados em lados opostos das placas de Petri, sendo incubados à uma temperatura de 27°C±2°C, por sete dias. Dos 26 fungos endofíticos isolados de *P. amalago* testados, cinco demonstraram efeito antagonico contra o *D. bryoniae*, inibindo totalmente seu crescimento, demonstrando seu potencial para o controle biológico deste patógeno.

**PALAVRAS-CHAVE:** Crestamento gomoso, antagonismo, controle biológico, melancia, *Citrullus lanatus*.

## ABSTRACT

Endophytic microorganisms live mainly in the aerial parts of the plants, as leaves and stalks; are generally constituted of fungi and bacteria, which live in a mutualistic relationship,

providing protection to the plants against phytopathogens, herbivory. One of the diseases that affects the watermelon culture (*Citrullus lanatus*) the most and that brings about great losses to agriculture, is the gummy stem blight (GSB), caused by the fungus *Didymella bryoniae*, that in ideal conditions of growth, affects all the phases of the plant, causing the fall of plantules, circular lesions in the leaves and formation of cankers on the stalk, stems and the fruits, with gummy exudation. For the control of this phytopathogen, high levels of agrototoxin are applied, causing great damage to the environment, to human health, and also economic losses to the agricultors. Thus, it is necessary to evaluate the antagonic properties of the isolated endophytic fungi of *Piper amalago* confronting the phytopathogen *Didymella bryoniae*. Twenty-six isolated of *P. Amalago* were evaluated, through the paired culture methodology, in triplicate, confronting the phytopathogen, in BDA growth means, inoculated on opposing sides of Petri dishes, being incubated to a temperature of 27°C ± 2 for seven days. Where 5 endophytic fungi showed antagonic effect against the phytopathogen.

**KEYWORDS:** Endophytic microorganisms, gummy stem blight, watermelon.

## 1. INTRODUÇÃO

Encontrados no interior dos vegetais, hospedando órgãos e tecidos, principalmente das partes aéreas como ramos ou caule e folhas, os microrganismos endofíticos podem ser tanto fungos, bactérias ou vírus, que penetram nas plantas por meio de raízes, ferimentos provocados por insetos, por entradas naturais como estômatos e hidatódios, se difundindo em diversas partes das plantas, passando a viver em uma relação mutualística com seus hospedeiros, oferecendo prote-

ção ao vegetal contra patógenos, herbivoria além de outras funções de grande importância para o metabolismo do hospedeiro<sup>1</sup>.

Os microrganismos endofíticos foram citados pela primeira vez no início do século XIX, sendo de Bary, em 1866, quem observou uma diferença entre endofíticos e patógenos de plantas<sup>2</sup>. Estes microrganismos passaram despercebidos por décadas, já que não havia conhecimento algum sobre suas verdadeiras funções nas plantas, e muito menos se conhecia sobre a produção de toxinas, produtos farmacológicos e outros produtos promissores para o uso na agricultura como biocontroladores entre outros benefícios que eles podem proporcionar<sup>1</sup>.

Passando a conhecer suas funções e a produção de metabólitos secundários, os endofíticos passaram a ser objeto de estudos de muitas pesquisas, visando a busca de novos produtos, como pode ser observado nos doze anos de estudos de SCHULZ et al. (2002)<sup>3</sup>, que conseguiram isolar mais de 6.500 fungos endofíticos de plantas, com potencial antimicrobiano e anti-herbicida<sup>3</sup>.

Entre algumas das espécies de vegetais pesquisadas quanto a presença e atividade de fungos endofíticos está a família Piperaceae, que compreende plantas que podem variar de tamanho, desde arbustos até pequenas árvores, aromáticas ou com células oleosas<sup>5</sup>. Com predominância tropical e subtropical, a família Piperaceae, inclui cerca de cinco a oito gêneros, com mais de 2500 espécies, muito comuns nas formações florestais brasileiras, principalmente na Mata Atlântica<sup>6</sup>.

As Piperaceae são plantas de grande importância para a farmacologia, em especial o gênero *Piper*, ao qual pertence a espécie *Piper amalago* L., popularmente conhecida como Pariparoba, poissão plantas usadas na medicina popular, por exemplo como analgésico, antitérmico, para diarreia, dores intensas no estômago, dores de cabeça, distúrbios renais, estomacais, dores musculares, para aliviar a coceira após picadas de insetos, queimaduras, sendo utilizada desde as folhas até as raízes, tanto em infusão, ou como no caso das folhas, maceradas ou decocção, já na aplicação farmacológica o gênero possui atividade antimicrobiana, pode ser usado para extração de óleos, entre outros compostos de grande importância<sup>5</sup>.

Juntamente com o desenvolvimento da humanidade desenvolveram-se muitas doenças, sobretudo de plantas, reduzindo a produção de alimentos necessários para a sobrevivência, induzindo ao uso de produtos altamente prejudiciais para o controle das doenças, como os fungicidas e inseticidas, porém, a partir do crescente desenvolvimento biotecnológico, desenvolveram-se alternativas menos agressivas ao ambiente, como substâncias indutoras de resistência, organismos

antagônicos, profilaxia, plantas resistentes, obtidas por meios convencionais ou pela melhoria da engenharia genética, além de manejos culturais, como a rotação de culturas<sup>7</sup>.

A melancia (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsumura & Nakai) que pertence à família das Cucurbitáceas possui centro de origem africano, cultura cosmopolita, introduzida no Brasil pelos escravos, podendo ser cultivada sob irrigação ou sequeiro, diferentemente do cultivo irrigado, o cultivo no sequeiro tem ocorrência o ano todo, o sequeiro utiliza os tipos locais apenas uma vez por ano, em períodos chuvosos, apresentando variabilidade tanto nas características externas, quanto nas internas, como cor da polpa, conservação pós colheita, teor de açúcar, entre outros sendo cultivada em vários locais do Brasil, com maior concentração nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sul<sup>9</sup>.

Segundo dados do IBGE (2010)<sup>10</sup>, a produção nacional no ano de 2010 foi de 2.052,928 toneladas, em uma área de 96.477 hectares<sup>10</sup>. Seu uso é predominantemente in natura, na forma de sucos, geleias, doces, molhos, em saladas, tanto o uso pode ser da polpa, como também da casca e sementes, tendo um papel importante na alimentação humana, pois a melancia contém antioxidantes, sais minerais, vitaminas como A, B e C, eliminação de resíduos do aparelho digestivo, funciona como laxante, diurético, além de baixo valor calórico, muito recomendada para uso em dietas<sup>9</sup>.

Mesmo estando entre os maiores produtores mundiais de melancia, o Brasil tem uma produtividade relativamente baixa, devido a ocorrência de doenças que limitam a produção e a qualidade dos frutos, entre as doenças de maior importância que ocorre na melancia é causada pelo fungo *Didymella bryoniae* (Auersw.) Rhen, que provoca o crestamento gomoso do caule, também conhecida como cancro das hastes, podridão gomosa, podridão negra, presente em todas as regiões de clima tropical, produtoras de cucurbitáceas, que sem um controle eficiente, as perdas são muito grandes<sup>9</sup>. Essa doença pode acometer as partes aéreas da planta, em todas as fases do seu desenvolvimento<sup>12</sup>. Na fase de plântula, a doença é caracterizada por lesões em forma de círculos nos cotilédones, levando ao tombamento e morte, quando adultas, as folhas também apresentam manchas circulares que podem variar de milímetros a centímetros, os ramos afetados apresentam-se encharcados, com exsudação de goma, coloração parda, com presença de numerosos corpos de frutificação negros, na maioria dos casos os ramos, acima da lesão, acabam secando, quando a infecção ocorre no colo, induz as plantas a morte, nos frutos, os sintomas iniciam-se com pequenas manchas marrons, com exsudação de goma, e com o tempo, as lesões se aprofundam no fruto provocando o apodre-

cimento parcial ou total do mesmo, as formas de transmissão ocorrem por meio de restos culturais de uma safra para outra, ou mesmo pelo solo, sementes infectadas retiradas dos frutos doentes, umidade relativa do ar alta e temperaturas em torno dos 20°C a 28°C, são algumas das condições ideais para o desenvolvimento do fungo<sup>13</sup>.

O fungo possui grande resistência ao sol, chuvas fortes, ventos, permanecendo com capacidade de desenvolvimento no solo e nos restos de plantas por um longo período de tempo, que pode variar de um a três anos, ele também pode ser encontrado nas sementes dos frutos doentes, outro meio de dispersão e de sobrevivência do fungo<sup>12</sup>.

As primeiras descrições do fungo, que é um parasita necrotrófico facultativo, das plantas da família das cucurbitáceas<sup>14</sup>, foram citadas na França em 1891, em sua fase anamórfica, com o nome de *Ascochyta cucumis* Fautr & Roum, e mais tarde na fase teleomórfica como *Didymellamelonis* Pass<sup>15,16</sup>, atualmente, a fase teleomórfica recebe a denominação *D. bryoniae*<sup>11</sup>.

A principal medida de controle a *D. bryoniae* baseia-se na aplicação de fungicidas, o que tem aumentado os custos de produção de melancia, devido aos altos índices de aplicação de fungicidas, e também, o uso indiscriminado desses produtos contribuem para a contaminação de mananciais hídricos e solo, além do patógeno apresentar resistência à alguns componentes dos produtos químicos aplicados<sup>17</sup>.

Uma vez que o controle químico tem baixa eficiência no controle do fitopatógeno, há necessidade de se buscar alternativas que não venham a provocar prejuízos econômicos aos agricultores, já que o custo dos agrotóxicos é bastante alto, e que se faz necessário aplicar várias vezes durante as todas as fases de desenvolvimento da planta. Como uma possível alternativa sustentável de controle de patógenos como *D. bryoniae* está o uso de microrganismos endofíticos com potencial antagonico.

Levando em conta os altos custos financeiros e as consequências desastrosas para o meio ambiente e à saúde humana, o uso de produtos químicos para controle de diversos tipos de pragas vem sendo substituído pelo uso de controladores biológicos, todavia, ainda existem dificuldades, como exemplo a disponibilidade no mercado desses produtos e a baixa taxa de eficiência dos que já estão disponíveis<sup>8</sup>. O biocontrole pode ser realizado por meio da utilização de microrganismos de maneira natural, ou por indução de um agente biocontrolador, e vem sendo realizado no Brasil com algumas espécies como o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin 1883 e com vírus *Baculovirus*, para o controle das cigarrinhas da cana e de pastagens e no controle da *Anticarsia gematalis* na soja, respectivamente e na

cultura de cacau, o fungo *Moniliophthora perniciosa*, causador da doença vassoura de bruxa, é controlado por fungos do gênero *Trichoderma*<sup>1</sup>.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de controle de fungos endofíticos isolados de *Piper amalago* contra o crescimento do fitopatógeno *D. bryoniae*, já que estes vivem em um nicho semelhante ao dos patógenos, podendo competir com os mesmos, limitando ou impedindo sua ação sobre a planta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os fungos endofíticos avaliados neste trabalho foram isolados de folhas de *Piper amalago* no ano de 2013 na Universidade Paranaense Unidade de Toledo e encontram-se armazenados no laboratório de Biotecnologia. O fitopatógeno *Didymella bryoniae* foi gentilmente doado pelo Prof. João Lúcio de Azevedo (ESALQ – USP). Os fungos endofíticos foram enumerados de acordo com o ponto de coleta e a sequência de isolamento. Os pontos de coleta foram dois, sendo P1 e P2, de acordo com o nome da planta e conforme a sequência de isolamento os endofíticos foram enumerados como: Pa1, Pa2, Pa3, consecutivamente, para cada um dos pontos de coleta (P1Pa1, P1Pa2...).

Para avaliação do potencial antagonico, foram utilizados 26 fungos endofíticos isolados de *P. amalago* contra o fitopatógeno *D. bryoniae*. A metodologia empregada foi a cultura pareada descrita por Campanile et al. (2007)<sup>18</sup>, com modificações. Os fungos endofíticos foram rejuvenescidos em meio BDAAe incubados por sete dias a 27°C ± 2°C. Após esse período de incubação, foram extraídos fragmentos de 10mm<sup>2</sup> de cada um dos fungos endofíticos e do fitopatógeno, em sequência, inoculados nas placas de Petri, em lados opostos, a uma distância de 4 cm entre os fungos, sendo incubados novamente por sete dias a 27°C. Os testes foram realizados em triplicata. Para controle negativo, foi inserido um fragmento, do mesmo tamanho e na mesma posição do teste, contendo apenas o fitopatógeno.

Para análise das interações entre o patógeno e os endofíticos, foi adotada a escala de Badalayan (2002)<sup>19</sup>, seguindo os três tipos de interações possíveis, que são: A, B e C, sendo C dividida em quatro subcategorias: CA1, CA2, CB1 e CB2. Sendo: A = “deadlock” com contato micelial; B = “deadlock” a distância ou liberação do substrato no meio; C = crescimento do endofítico sobre o fitopatógeno sem “deadlock” inicial; CA1 e CA2 = crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial com contato micelial; CB1 e CB2 = crescimento parcial e completo do endofítico sobre o fito-

patógeno depois de “deadlock” à distância.

Para cada tipo de interação foi atribuída uma pontuação específica: A=1,0; B=2,0; C=3,0; CA1=3,5; CB1=4,0; CA2=4,5 e CB2=5,0.

O índice de antagonismo foi calculado para a interação entre cada isolado x *D. bryoniae* usando a fórmula:

$$IA = \sum N \times I$$

Onde:

N = número de cada tipo de interação e

I = pontuação correspondente.

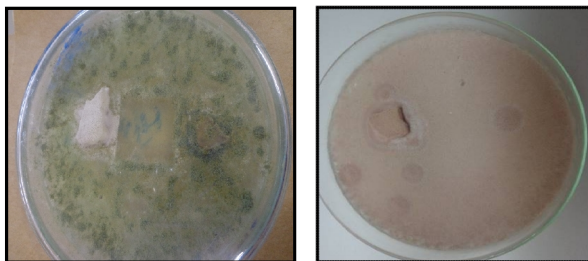
Para a observação das interações em nível microscópico entre os endofíticos e o fitopatógeno foram colocadas lâminulas sobre o meio de cultura entre os dois fungos, para visualização do aspecto das hifas no microscópio.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da metodologia da cultura pareada, pôde-se observar as interações entre os endofíticos e patógeno *D. bryoniae*, nas quais, dos 26 endofíticos isolados testados, cinco conseguiram controlar o crescimento do fitopatógeno. A interação observada entre os endofíticos e o fitopatógeno foi do tipo CB1, em que ocorreu o crescimento completo do endofítico sobre o fitopatógeno, depois de deadlock a distância, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Índice de Antagonismo (IA) e os tipos ou subtipos de interações entre fungos endofíticos isolados de *Piper amalago* e o fitopatógeno *Didymella bryoniae*, usando a pontuação da escala de Badalyan.

| Fungos isolados | IA | Tipos de interações |
|-----------------|----|---------------------|
| P1Pa1           | 12 | CB1*                |
| P1Pa10          | 12 | CB1                 |
| P1Pa11          | 12 | CB1                 |
| P2Pa3           | 12 | CB1                 |
| P2Pa6           | 12 | CB1                 |



**Figura 1.** Interação apresentada entre os fungos endofíticos e o fitopatógeno. A: interação do tipo CB1: crescimento completo do endofítico sobre o patógeno após “deadlock” à distância. B: controle do fitopatógeno *Didymella bryoniae*. CB1 = crescimento

completo do endofítico sobre o fitopatógeno depois de “deadlock” inicial a distância.

Para observação em nível microscópico das interações foram colocadas lâminulas entre os fungos endofíticos e o fitopatógeno, mas não houve crescimento dos fungos sobre a lâminula, não possibilitando assim a visualização das interações microscópicas.

### 4. DISCUSSÃO

Os resultados mostrados no presente trabalho corroboram com os encontrados por Campanile et al. (2007)<sup>18</sup>, que observaram interações entre os fungos endofíticos isolados de *Quercus cerris* e *Q. pubescens* e *Diplodia corticola*, agente causal do cancro e morte de espécies de carvalho. De maneira semelhante, Bernardi-Wenzel et al. (2012)<sup>20</sup> verificaram a atividade antagonística de fungos endofíticos isolados de soja contra os patógenos *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis* sp., *Fusarium solani* f. sp. *glycines*.

Em estudos semelhantes Souza et al. (2004)<sup>21</sup> isolaram um total de 645 endófitos entre bactérias e fungos e puderam observar nos primeiros isolados bacterianos uma resistência ao antibiótico terramicina e o potencial de inibição do crescimento dos fungos *Guignardia* e *Colletotrichum*. Já Chapla et al. (2012)<sup>4</sup>, no desenvolvimento de suas pesquisas, estudaram fungos endofíticos isolados de oito espécies de plantas: *Alibertia macrophylla* K.Schum., *Casearia sylvestris* Swatz, *Ocotea corymbosa* (Meisn.) Mez, *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby, *Piper aduncum* Vell., *Cryptocaria mandioccana* Meissn., *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. e *Palicourea marcgravii* A.St.-Hil., onde obtiveram 42 produtos naturais, que foram submetidos à avaliação das atividades antifúngica, antioxidante, anticolinesterásica e anticancerígena, estas substâncias encontradas apresentaram algum tipo de atividade biológica, inclusive contra os fungos fitopatogênicos como *Cladosporium sphaerospermum* e *C. Cladosporoides*.

Assim como Almeida et al. (2005)<sup>22</sup> isolaram endófitos de ápices de pupunheiras com potencial inibitório dos patógenos causadores do apodrecimento radicular de pupunheiras, sendo os isolados identificados como *Epicoccum nigrum* e *Neotyphodium*, podendo ser verificado o grande potencial destes microrganismos, e sua aplicação na medicina, agricultura ou indústria, assemelhando-se aos resultados do presente estudo na avaliação de fungos para biocontrole e que ainda terão suas propriedades químicas descritas.

Em outros trabalhos também foi possível verificar que nem todos os fungos endofíticos possuem capacidade para biocontrole, esta condição é dependente de vários fatores da interação entre microrganismos, bem como as características próprias de cada espécie. Cor-



rêa (2008)<sup>23</sup>.

Silva et al. (2008)<sup>8</sup> isolaram o fungo patogênico *Phytophthora citrophthora* de plantas infectadas de Limão cravo, de um pomar comercial, onde observaram que os isolados de *Trichoderma stromaticum*, *Trichoderma viride* e *Trichoderma virens* apresentaram maior antagonismo ao patógeno estudado, sendo que o isolado *T. stromaticum* foi o que apresentou maior inibição, ocupando mais de 52% da placa. Já o isolado *T. harzianum* apresentou o menor índice antagônico de pouco mais de 15% e Rubini et al. (2005)<sup>24</sup> estudaram uma comunidade de fungos endofíticos de cacaueiros resistentes e suscetíveis à doença vassoura-de-bruxa provocada pelo fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa*. Neste estudo foram identificados e avaliados *in vitro* e *in vivo* isolados com potencial de inibir o fitopatógeno, entre os avaliados o fungo *Gliocladium catenulatum* reduziu a ocorrência da doença do cacaueiro em 70%, indicando que os endófitos testados no presente trabalho que apresentaram potencial para o biocontrole de *D. bryoniae* apresentaram atividade antagônica elevada, já que apresentaram crescimento superior a 90% da área da placa.

Em estudos de antibiose *in vitro* Silva et al. (2013)<sup>25</sup> testaram actinomicetos isolados da rizosfera de plantas do cerrado baiano contra o fungo entomopatogênico *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae*, tendo como resultado do trabalho efeito antagônico significativo sobre o patógeno., do mesmo modo como no atual estudo, obteve-se resultado considerável.

Silva et al. (2008)<sup>26</sup> usaram 52 bactérias endofíticas isoladas de tomateiros e pimentões, para o controle da pinta bacteriana do tomateiro, que provoca grandes perdas na cultura, desses 53 isolados 9 apresentaram eficiência no controle do fitopatógeno do tomateiro, assim como no presente trabalho índice de endófitos promissores no biocontrole do fitopatógeno estudado é baixo por ser um patógeno de difícil controle.

Rocha et al. (2009)<sup>27</sup> testaram em cultura pareada 12 linhagens de fungos endofíticos isolados de folhas de confeiteiro frente a linhagem fitopatogênica *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 1884, agente causal do mofo branco de culturas de feijão, desses 12 isolados 4 apresentaram zonas de inibição, sendo um indicativo de antibiose com um valor de 46,7% a 50,0% de redução de crescimento micelial do fitopatógeno. Quanto que, nesse trabalho observou-se, na avaliação *in vitro*, 90% de redução no crescimento do fitopatógeno estudado.

Os resultados verificados neste trabalho intensificam a importância de estudos sobre uma gama de fungos endofíticos, já que os fitopatógenos provocam grandes danos à várias culturas e que muitos deles são de difícil controle, pois em algumas ocasiões pouco se conhece sobre eles, tornando assim mais difícil seu

controle. Assim como pode ser verificado no trabalho de Louzada et al. (2009)<sup>28</sup>, onde fizeram coleta de amostras de solo de seis estados diferentes com o objetivo de selecionar isolados com potencial controlador de doenças, foram conduziram testes em cultura pareada em BDA contra *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 1884, *Fusarium solani* f.sp. *phaesoli*. Dos 230 isolados obtidos identificaram ser pertencentes ao gênero *Trichoderma*, destes 50 isolados inibiram o crescimento micelial de *F. solani* e 111 inibiram *S. sclerotiorum*. Aproximadamente metade dos isolados de *Trichoderma* não foram efetivos contra *F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw. 1910, enquanto para *S. sclerotiorum* esse índice foi de apenas 14%.

## 5. CONCLUSÃO

O fitopatógeno *D. bryoniae* demonstrou ser um patógeno de difícil controle, principalmente por apresentar crescimento rápido, tendo sido controlado por apenas cinco dos 26 fungos endofíticos isolados de *Piper amalago*, o que demonstra a necessidade de mais estudos visando o biocontrole deste fitopatógeno.

## REFERÊNCIAS

- [1] Peixoto Neto PAS, Azevedo JL, Araújo WL. Micro-organismos endofíticos: Interação com plantas e potencial biotecnológico. Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento 2002; 29:62-76.
- [2] Azevedo JL. Micro-organismos endofíticos. Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Goiás UFGO, Campus Samambaia 1998; 117-137.
- [3] Schulz B, Boyle C. Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. Cambridge University Press 2002; 106(9): 996-1004.
- [4] Chapla VM, Biasetto CR., Araújo AR. Fungos Endofíticos: Uma Fonte Inexplorada e Sustentável de Novos e Bioativos Produtos Naturais. Revista Virtual Química 2012; 5(3): 421-437.
- [5] Di Stasi LC, Hiruma-Lima CA, Mariot A, Portilho WG, Reis MS. Piperales medicinais. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2ª ed. São Paulo: UNESP; 2002.
- [6] Lemes SAL, Silva MR, Vieira AMC, Silva CPA, Batista JS, Andrade MLF, Carniello MA. Espécies da família Piperaceae ocorrentes na Estação Ecológica Serra das Araras, Mato Grosso, Brasil. In: 64º Congresso Nacional de Botânica Belo Horizonte; 2013; nov 10-15; Belo Horizonte. Minas Gerais; 2013.
- [7] Costa AZM. A fitopatologia, o meio ambiente e a sustentabilidade. In: XXXIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia Bahia; 2006; Bahia; 2006.
- [8] Silva KS, Rebouças TNH, Bonfim MP, Silva DS, São José AR, Benett CGS. Atividade antagônica *in vitro* de isolados de *Trichoderma* spp. ao fungo *Phytophthora citrophthora*. Semina: Ciências Agrárias 2008; 29(4): 749-754.

- [9] Souza Dias RC, Rezende GM. Sistema de produção de melancia. Embrapa 2010. [acesso 10 jun. 2014] Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/Fontes-HT-ML/Melancia/SistemaProducaoMelancia/socioeconomia.htm>
- [10] Instituto Brasileiro de Geografia Estatística: IBGE 2010. [acesso 10 jun. 2014] Disponível em : [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010\\_Publicacao\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf):
- [11] Santos GR, Leão EU, Castro HG, Nascimento IR, Sarmiento RA, Brum RBCS. Crestamento gomoso do caule da melancia: Etiologia, epidemiologia e medidas de controle. Journal of Biotechnology and Biodiversity 2011 May; 2(2): 52-58.
- [12] Cardoso MO, Boher B, Ávila AC, Assis LAG. Doenças das cucurbitáceas do Estado do Amazonas. Circular Técnica 2001. [acesso 5 jun. 2014] Disponível em: [http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAA-2009-09/7055/1/circ\\_tec9.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAA-2009-09/7055/1/circ_tec9.pdf)
- [13] Ferrari GN, Suguino E, Martins AN, Compagnol R, Furlaneto FPB, Minami K. A cultura da melancia, p. 35. Universidade de São Paulo USP, 2013. [acesso 25 jun. 2014] Disponível em: [www.esaERRARI, G. N. Et al. A cultura da melancia, p. 35. Universidade de São Paulo USP, 2013.lq.usp.br/biblioteca/PUBLICACAO/SP54/Melancia.pdf](http://www.esaERRARI.G.N.Et.al.Acultura.damelancia.p.35.Universidade.de.São.Paulo.USP,2013.lq.usp.br/biblioteca/PUBLICACAO/SP54/Melancia.pdf)
- [14] Svedelius G. Effects of environmental factors and leaf age on growth and infectivity of *Didymella bryoniae*. Mycological Research 2002; 97: 885-889.
- [15] Wiant, JS. Mycosphaerella black rot of cucurbits. Journal of agricultural Research 1945; 71, 193-213.
- [16] Chiu WF, Walker JC. Physiology and pathogenicity of the cucurbit blackrot fungus. Journal of Agricultural Research 1949; 78: 589-615.
- [17] Santos GR, Leão Eu, Garcia MMV, Maluf WR, Cardon CH, Gonçalves CG, Nascimento IR. Manejo e adubação potássica e da irrigação no progresso de doenças fúngicas e produtividade da melancia. Horticultura Brasileira 2013; 31(4): 540-548.
- [18] Campanile G, Ruscelli A, Luisi N. Antagonistic activity of endophytic fungi towards *Diplodia corticola* assessed by in vitro and in plant tests. Eur J, Plant Pathol 2007; 117: 237-246.
- [19] Badalyan SM, Innocenti G, Garibyan NG. Antagonistic activity of xylotropic mushrooms against pathogenic fungi of cereal in dual culture. Phytopathologia Mediterranea 2002; 41(3): 200-225.
- [20] Bernardi-Wenzel J, Siqueira AL, Burini FAG, Hein DPR, Silveira JA, Romani S. Isolamento e atividade-antagonística de fungos endofíticos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) 2012; 7(3): 86-96.
- [21] Souza AQL, Souza ADL, Astolfi Filho S, Pinheiro MLB, Sarquis MIM, Pereira JO. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens bentham*. ACTA Amazônica 2004; 34(2): 185-195.
- [22] Almeida CV, Yara R, Almeida M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada in vivo e in vitro. Pesquisa agropecuária brasileira 2005; 40(5): 467-470.
- [23] Corrêa AS. Avaliação da microbiota endofítica de citros com potencial antagonico no controle biológico de *Guignardia citricarpa*. [tese] Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
- [24] Rubini MR. Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witch's broom disease. International Journal of Biological Sciences 2005.
- [25] Silva JS, Coimbra JL, Tavares DG, Afonso GO. Inibição in vitro do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* utilizando isolados de actinomicetos obtidos da rizosfera de plantas nativas do cerrado baiano. Natureza on line 2013; 11(1): 15-19.
- [26] Silva JRC, Souza RM, Zacarone AB, Silva LHCPs, Castro AMS. Bactérias endofíticas no controle e inibição in vitro de *Pseudomonas Syringae* pv *tomato*, agente da pinta bacteriana do tomateiro. Ciênciaagrotecnologia. 2008; 32(4): 1062-1072.
- [27] Rocha R. Selection of endophytic fungi from comfrey (*Symphythum officinale* L.) for in vitro biological control of the phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib). Brazil Journal of Microbiology 2009; 40:73-78.
- [28] Louzada GAS, Carvalho DDC, Mello SCM, Lobo Júnior M, Martins I, Braúna LM. Potencial antagonico de *Trichoderma* spp. Originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. Biota Neotrop 2009; 9(3): 145-149.



# AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SECAGEM NA VIABILIDADE DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS MICROENCAPSULADOS EM ALGINATO

## EVALUATION OF THE EFFECT OF DRYING IN FEASIBILITY MICROORGANISMS PROBIOTICS MICROENCAPSULATED IN ALGINATE

LAURA ADRIANE DE MORAES **PINTO**<sup>1\*</sup>, GUSTAVO AFFONSO PISANO **MATEUS**<sup>2</sup>, FERNANDA DE OLIVEIRA **TAVARES**<sup>3</sup>, ALINE TAKAOKA ALVES **BAPTISTA**<sup>4</sup>, ALCEU KAZUO **HIRATA**<sup>5</sup>, MARIANA OLIVEIRA **SILVA**<sup>6</sup>, RAQUEL GUTIERRES **GOMES**<sup>7</sup>, RITA DE CÁSSIA **BERGAMASCO**<sup>8</sup>

1. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Maringá; 2. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Ambiental - Universidade Estadual de Maringá; 3. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Estadual de Maringá; 4. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos - Universidade Estadual de Maringá; 5. Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia - Universidade Estadual de Maringá; 6. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Estadual de Maringá; 7. Professora do Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Maringá; 8. Professora do Departamento de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Maringá.

\* UEM – Universidade Estadual de Maringá – Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87020-90. [lauraampinto@gmail.com](mailto:lauraampinto@gmail.com)

Recebido em 22/05/2015. Aceito para publicação em 26/06/2015

### RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes condições de secagem na viabilidade de microrganismos probióticos encapsulados em alginato de cálcio, para posterior adição em alimento pet. A encapsulação da cultura probiótica de *Enterococcus faecium* foi realizada por meio da técnica de extrusão, utilizando alginato de sódio como agente encapsulante. O material microencapsulado foi analisado quanto a umidade residual, contagem de probióticos inicial e final do processo de secagem e rendimento de encapsulação. A contagem de microrganismos ao final de 7 dias de armazenamento foi satisfatória, com um valor de 7,59 log UFC/g porém, após 14 dias de armazenamento a viabilidade das células apresentou uma diminuição. A microencapsulação apresentou bons resultados de rendimento, atingindo 68,27%, demonstrando que tanto a técnica de extrusão como o processo de secagem, mesmo não sendo os mais recomendados, foram satisfatórios.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microencapsulação, extrusão, alginato de sódio, *Enterococcus faecium*.

### ABSTRACT

The present study aimed to evaluate different drying conditions and the feasibility of the process of microencapsulation of probiotic micro-organisms encapsulated in calcium alginate for later addition to pet food. The encapsulation of probiotic culture *Enterococcus faecium* was given by the extrusion technique using alginate as the encapsulating agent. The microen-

capsulated material was analyzed by residual moisture, count probiotics initial and final of the drying process and performance. The count after 7 days of storage was satisfactory, reaching 7.59 log CFU / g, however when it got at 14 days cell viability decreased by almost two logarithmic cycle. The results even not reaching levels required by legislation for the characterization of probiotic has proved satisfactory since the yield obtained for values ranging from 25.3 to 67.9%, thus showing that the extrusion process so as drying while not the most recommended were satisfactory.

**KEYWORDS:** Microencapsulation, extrusion, sodium alginate, *Enterococcus faecium*.

### 1. INTRODUÇÃO

A tecnologia de microencapsulação consiste na aplicação de finas coberturas poliméricas a materiais, estes podendo ser sólidos, gasosos e líquidos na forma de gotículas. Após o encapsulamento o material recebe o nome de microcápsula, esta além de realizar a proteção do material encapsulado pode também liberar seu conteúdo sob velocidade e condições específicas<sup>1</sup>.

A microencapsulação é uma das técnicas mais promissoras para a proteção de células bacterianas. O encapsulamento atua como agente protetor dos microrganismos probióticos das condições ambientais adversas<sup>2</sup>.

A escolha do processo de microencapsulação é feita com base nas propriedades físicas e químicas tanto do

material a ser encapsulado como do material encapsulante, além da finalidade e uso. Bons encapsulantes devem atender aos seguintes requisitos: não reatividade com o material a ser encapsulado, habilidade de dispersar, emulsificar, capacidade de promover máxima proteção ao material a ser encapsulado contra os agentes externos, ser economicamente viável<sup>3</sup>.

A secagem além de reduzir o tamanho da microcápsula, tem por finalidade melhorar as suas propriedades de armazenamento. Contudo um ponto importante do processo de secagem é uma técnica utilizada, uma vez que as condições empregadas nesse processo podem ser agressivas aos microrganismos<sup>4</sup>.

A utilização do alginato como um agente encapsulante tem como vantagens sua não-toxicidade, a formação de matrizes suaves com cloreto de cálcio, para interceptar materiais sensíveis, tais como as células microbianas, baixo custo e, por ser um aditivo alimentar, tem sua utilização liberada para o uso em alimentos. O revestimento de alginato protege as bactérias probióticas melhorando sua estabilidade e aumentando a viabilidade dos microrganismos encapsulados<sup>5</sup>.

Várias técnicas de microencapsulação têm sido empregadas a fim de prolongar a sobrevivência dos microrganismos. A microencapsulação por extrusão é o método bastante utilizado para a proteção dos microrganismos devido sua facilidade, simplicidade e baixo custo, além de propiciar sua sobrevivência e viabilidade<sup>6</sup>. A microencapsulação de probióticos é uma alternativa para redução da morte celular, uma vez que esta torna os microrganismos mais resistentes ao processo de digestão, reduz a contaminação e aumenta sua viabilidade<sup>7</sup>.

Algumas bactérias do gênero *Enterococcus*, tais como o *E. faecium* e o *E. faecalis* vem sendo usadas como probióticos em alguns países<sup>8</sup>. De acordo com a legislação vigente no Brasil, para um produto ser considerado probiótico ele deve conter entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC na recomendação diária do produto pronto para consumo diário, sendo que, para quantidades menores a aceitação depende da comprovação da eficiência pelo fabricante<sup>9</sup>.

Atualmente sugere-se para a alimentação animal a ingestão de  $10^{10}$  UFC/dia para cães e  $10^8$  UFC/dia para gatos. No entanto hoje encontram-se disponíveis no mercado seringas contendo mix de microrganismos probióticos com concentrações variando de  $10^5$  e  $10^7$  UFC/dia<sup>10</sup>.

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Produtos para Animais de Estimação, o Brasil possui cerca de 37,1 milhões de cães e 21,3 milhões de gatos (população estimada). No ano de 2012 o setor pet brasileiro cresceu 16,4 % e faturou R\$ 14,2 bilhões, colocando o Brasil como o segundo lugar no mercado mundial, atrás apenas dos EUA, com 8% de participação<sup>11</sup>. Tornando o seguimento pet um mercado atrativo e de potencial investidor.

Para atender esse mercado em crescente expansão os fabricantes de produtos pet visam evoluir, buscando novos produtos para atender esse consumidor cada vez mais exigente e antenado com a tecnologia, sempre à procura de melhorar a qualidade de vida dos seus animais.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência de diferentes condições de secagem na viabilidade de microrganismos probióticos microencapsulados em alginato de sódio, para posterior aplicação em alimento pet.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Materiais

Os materiais utilizados para a realização do presente estudo foram: cultura de *Enterococcus faecium*; Alginato de sódio (FMC Biopolymer); Cloreto de cálcio (NUCLEAR); Seringa descartável de 10 mL (BD plastipak); Agulha 0,70x25mm (BD PrecisionGlide).

### Métodos

#### Recuperação dos microrganismos

As cepas estoque de *Enterococcus faecium* sob refrigeração a 10°C em ágar nutritivo foram inoculadas em 50 mL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubadas a 37°C por 24h. Após o período de incubação o caldo foi centrifugado a 8000 rpm por 5 minutos a 25°C. O *pellet* formado foi posteriormente adicionado a solução de alginato de sódio para posterior microencapsulação.

#### Microencapsulação

O método utilizado para a microencapsulação do probiótico seguiu a metodologia proposta por Mc Master et al. (2005)<sup>12</sup>, com adaptações. Após a recuperação e centrifugação dos microrganismos, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi retirado e adicionado à solução de alginato de sódio estéril (1%). Com o auxílio de uma seringa estéril, a solução foi extrusada manualmente em solução de cloreto de cálcio (0,1 M) estéril, sob agitação. As microesferas formadas foram lavadas e separadas por meio de filtração asséptica com água destilada estéril. As microcápsulas obtidas foram acondicionadas em placas de Petri e levadas para secagem em estufa, sob diferentes temperaturas e tempos.

As microesferas foram analisadas quanto a sua contagem de microrganismos probióticos inicial e após 7 e 14 dias da secagem.

#### Secagem

A secagem das microcápsulas foi realizada em estufa incubadora para BOD modelo 347F, variando tempo e temperatura de secagem, conforme expresso na Tabela 1.



**Tabela 1.** Tempo e temperatura de secagem das microcápsulas.

| Temperatura (°C) | Tempo de Secagem (horas) |
|------------------|--------------------------|
| 30               | 24                       |
|                  | 48                       |
| 40               | 24                       |
|                  | 48                       |

### Contagem dos microrganismos

A avaliação da viabilidade dos microrganismos nas microcápsulas foi realizada a partir de diluições seriadas decimais, onde 0,1g da amostra foi transferida de forma asséptica para um erlenmeyer estéril contendo 9,9 mL de água peptonada (0,1 %). A solução foi agitada vigorosamente e em seguida, foram feitas as diluições de 1mLsubsequentes utilizando-se o mesmo diluente. As inoculações foram realizadas por superfície em meio Ágar BHI na forma de meio de cultura e incubadas à 37°C por 24 horas. As contagens foram realizadas inicialmente ao processo de microencapsulação, com 7 e 14 dias de armazenamento após o processo de secagem. Os resultados das contagens foram expressos em UFC/g.

### Umidade residual

O teor de umidade das amostras foi determinado em duplicata, por meio da diferença dos pesos inicial e após secagem das microcápsulas.

### Rendimento de Processo

Para se avaliar a eficiência de processo foram utilizadas a contagem dos micro-organismos viáveis nas microcápsulas secas em log UFC/g e o número de micro-organismos existentes na cultura estoque log UFC/g.

$$EYp \% = \frac{\text{Número de m.o nas microcápsulas secas}}{\text{Número de m.o da cultura estoque}} \times 100$$

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da população de *Enterococcus faecium* antes da secagem em estufa incubadora e após 7 e 14 dias de armazenamento estão apresentados na tabela 1.

**Tabela 2.** Contagem de células viáveis antes e após secagem, nos dias 7 e 14 de armazenamento e umidade residual.

| Temperatura (°C)      | 30    |       | 40    |       |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|
| Tempo de secagem (h)  | 24    | 48    | 24    | 48    |
| Dias de armazenamento |       |       |       |       |
| Inicial               | 10,78 | 10,78 | 11,32 | 11,32 |
| 7                     | 7,36  | 5,90  | 5,91  | 5,49  |
| 14                    | 6,11  | 4,23  | 3,80  | 3,98  |
| Umidade %             | 1,29  | 1,42  | 1,39  | 1,23  |

\*Os valores apresentados para tempo de secagem encontram-se expressos em log UFC/g e umidade em porcentagem de base seca.

Pode-se observar pela Tabela 1 que a população inicial reduziu significativamente, após 14 dias de estocagem. Para todas as temperaturas avaliadas, houve uma queda na viabilidade do micro-organismos de 0,6 a 2,11 ciclos logaritmos.

Rosa (2010)<sup>7</sup> cita em seu trabalho que uma das limitações para o uso de alginato como agente encapsulante é a sua alta porosidade. A interação com o ambiente propicia a difusão de água e outros líquidos para dentro da célula, alterando o alginato e expondo o material encapsulado a condições desfavoráveis. A porosidade do gel está diretamente ligada a capacidade de manter a célula e na difusividade com o meio. Apesar de muito baixos, os valores obtidos para a umidade são satisfatórios, e estão relacionados ao período de secagem no qual as amostras foram submetidas. A exposição das microcápsulas ao calor por longos períodos reduziu consideravelmente o teor de água presente na amostra. Além de baixos teores de umidade para as cápsulas secas, outro fator importante é a redução no volume após secagem. Estes pontos são esperados e fundamentais para a qualidade do produto final, pois altas umidades podem propiciar a proliferação de fungos e perda das células imobilizadas.

Chávarri e colaboradores (2005)<sup>13</sup> relataram que o processo de secagem afeta diretamente a sobrevivência das bactérias, podendo resultar em sua completa inativação, uma vez que microrganismos probióticos são sensíveis aos processos de secagem devido à deterioração do estado fisiológico de suas células.

Boscarioli (2010)<sup>14</sup>, em seu trabalho sobre a influência de prebióticos na encapsulação de bactérias probióticas, relatou problemas quanto a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 55°C, onde esta se mostrou ineficiente uma vez que reduziu em aproximadamente dois ciclos logarítmicos a população de *L. acidophilus*. Para o autor essa ineficiência foi decorrente das temperaturas aplicadas no processo de secagem, que levaram a um aumento de temperatura na superfície das cápsulas e morte dos micro-organismos. Fato semelhante foi observado neste trabalho, todas as temperaturas diminuíram de 4 a 5 ciclos logarítmicos na contagem de *Enterococcus faecium* após o processo de secagem. Tal fato pode ser atribuído a sensibilidade dos micro-organismos probióticos ao aumento da temperatura e ao tempo de secagem. O que ficou evidente na secagem à temperatura de 30°C, onde o aumento de 24h foi responsável pela diminuição de quase 1,5 ciclos logarítmicos na sobrevivência das células após secagem.

O ciclo logarítmico diminuiu igualmente a temperatura de 30°C, porém sua viabilidade celular foi maior ao final das 36 horas de secagem, este fato pode ser atribuído a proximidade da temperatura a faixa ótima de desenvolvimento do micro-organismo. O prolongado tempo de secagem juntamente com a alta temperatura fizeram a temperatura de 40°C não ser recomendada, uma

vez que esta apresentou os menores índices de viabilidade celular ao final do processo de secagem. Os rendimentos de secagem e de processo são apresentados na tabela 2.

**Tabela 3.** Rendimentos de secagem de processo da microencapsulação de *Enterococcus faecium* em alginato de sódio.

| Temperatura (°C) | Secagem (h) | EYp % |
|------------------|-------------|-------|
| 30               | 24          | 68,27 |
|                  | 48          | 54,73 |
| 40               | 24          | 52,21 |
|                  | 48          | 48,49 |

Ao analisar os valores de rendimento de processo, podemos perceber que a temperatura de 30°C com 24 horas de secagem obteve o melhor rendimento entre todas as amostras,

Nota-se que mesmo a técnica de extrusão não sendo a mais indicada e havendo uma diminuição na população de células viáveis ao fim do processo de secagem e armazenamento os rendimentos obtidos nesse estudo foram satisfatórios quando comparados a outros autores, mostrando assim a eficiência do perfil de tempo e temperatura estudados. Para o rendimento Chávarri (2010)<sup>13</sup>, seu estudo com microencapsulação de probióticos *B. bifidum* e *Lactobacillus gasseri* utilizando quitosana e alginato como encapsulante pela técnica de extrusão, encontrou valores variando de 19,5 a 40,2% para suas amostras.

#### 4. CONCLUSÃO

Conclui-se que o processo empregado para a secagem das microcápsulas de alginato adicionadas da cultura de *Enterococcus faecium* por extrusão se mostrou eficiente para a sobrevivência dos microrganismos, contudo não se manteve durante o armazenamento.

Apesar da contagem final de probióticos estando abaixo da recomendada pela legislação que é de 10<sup>8</sup> UFC/g, o processo de extrusão obteve bons rendimentos.

Uma alternativa para melhores resultados seria a cobertura das cápsulas para diminuir a porosidade, assim aumentando as condições favoráveis de sobrevivência.

#### REFERÊNCIAS

- [1] Oliveira DLP. Produção e avaliação de micropartículas lipídicas contendo *Lactobacillus acidophilus* ou *Bifidobacterium lactis* produzidas por spray chilling. [Dissertação] Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo; 2011.
- [2] Arul V, Kanmani P, Kumar SR, Yuvaraj N, Paari KA, Pattukumar V. Effect of cryopreservation and microencapsulation of lactic acid bacterium *Enterococcus faecium* MC13 for long-term storage. *Biochemical Engineering Journal*; 2011; 59(1):140–7.
- [3] Cislighi FPC, Freire CBF, Sant'anna FS. Potencial do soro de leite líquido como agente encapsulante de *Bifidobacterium* Bb-12 por *spray drying*: comparação com goma arábica. *Ciência Rural*; 2012; 42(9):1694-700.
- [4] Charalampopoulos D, Cook MT, Khutoryanskiy VV, Tzortzis G. Production and Evaluation of Dry Alginate-chitosan Microcapsules as Enteric Delivery Vehicle for Probiotic Bacteria. *Biomacromolecules*; 2011; 12: 2834-40.
- [5] Charalampopoulos D, Cook MT, Khutoryanskiy VV, Tzortzis G. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*; 2012; 162:56-67.
- [6] Hardie J, Whitley R. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Journal Applied Microbiology*; 1997; 83:1-11.
- [7] Rosa PRF. Produção de probióticos com *Lactobacillus* imobilizados em alginato de cálcio impregnado de soro de queijo. [Dissertação] Uberlândia – Universidade Federal de Uberlândia, 2010.
- [8] Franz CMAP, Stiles ME, Scheleifer KH, Holzapfel WH. Enterococci in foods – a conundrum for food safety. *International Journal of Food Microbiology*; 2003; 80:105-22.
- [9] ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IX-Lista de Alegações de Propriedades Funcional Aprovadas. Brasília, 2008. [Acesso em 20 mai. 2014]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_list\\_a\\_alega.html](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_list_a_alega.html).
- [10] VETNIL, Produtos veterinários. 2013. [Acesso em mai, 2014]. Disponível em: [vetnil.com.br](http://vetnil.com.br).
- [11] ABINPET, Associação Brasileira das Indústrias de Produtos para Animais de Estimação. 2013 [Acesso em 23 de mai. 2014]. Disponível em: <http://abinpet.org.br>.
- [12] McMaster LD, Kokott SA, Slatter P. Microencapsulation of *Bifidobacterium lactis* for incorporation into soft foods. *World Journal of Microbiology e Biotecnologia*; 2005; 21:723-8.
- [13] Chávarri M, Marañón I, Ares R, Ibáñez FC, Marzo F, Villarán M, Del C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*; 2010; 142:185-9.
- [14] Boscarioli MP. Influência de probióticos na encapsulação de bactérias probióticas adicionadas em sorvete. [Dissertação] São Caetano do Sul: Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de tecnologia, 2010.



# ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA ERVA-MATE E LESÃO CELULAR EM EXERCÍCIO AGUDO DE ALTA INTENSIDADE

YERBA MATE ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CELL DAMAGE IN HIGH INTENSITY ACUTE EXERCISE

TELMA APARECIDA COSTA<sup>1</sup>, JEFFERSON JOVELINO AMARAL DOS SANTOS<sup>2</sup>, JULIANO HENRIQUE BORGES<sup>3</sup>

1. Doutora em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Professora Titular do curso de Educação Física- Universidade Paranaense, Unidade Universitária de Toledo; 2. Pós-Doutor pela Universidade Fernando Pessoa – Portugal, Professor Titular do Curso de Fisioterapia - Universidade Paranaense, Unidade Universitária de Toledo; 3. Doutorando pela Faculdade de Ciências Médicas – UNICAMP.

\* Universidade Paranaense, *Unidade Universitária de Toledo* - Toledo, Av. Parigot de Souza, 3636, 85906-090, Toledo, Paraná, Brasil. [telmacosta@unipar.br](mailto:telmacosta@unipar.br)

Recebido em 25/05/2015. Aceito para publicação em 11/06/2015

## RESUMO

Este estudo teve por como objetivo avaliar a atividade antioxidante da erva mate e a lesão celular em exercício agudo de alta intensidade. Participaram da pesquisa 28 indivíduos jovens, saudáveis e que foram divididos em dois grupos, controle (GC) que recebeu cápsulas com placebo e experimental (GEM) que recebeu cápsulas contendo 800mg/ erva-mate a ingestão das cápsulas aconteceu 40 min. antes do exercício (teste de Cooper). Foram realizadas coletas de sangue antes do exercício e imediatamente após o mesmo para as análises bioquímicas. As variáveis analisadas foram: Marcadores de lesão muscular (LDH) e Atividade antioxidante da erva-mate, distância percorrida e sensação afetiva em relação ao esforço (Valência afetiva). As diferenças observadas entre os experimentos foram analisadas aplicado o Teste *t* de “student”. Já para analisar as correlações entre as variáveis foi utilizado o teste de Correlação de Pearson. Os resultados do presente estudo permitem concluir que a ingestão do extrato de erva-mate 40 minutos antes do exercício agudo exibiu atividade antioxidante e demonstrou proteção ao dano celular desencadeado pelo exercício intenso o que foi demonstrado pela menor concentração da enzima biomarcadora LDH dosada no soro dos participantes.

**PALAVRAS-CHAVE:** LDH, *Ilex paraguariensis* A. St. Hil, radicais livres.

## ABSTRACT

This study had as aim to evaluate the yerba mate antioxidant activity and acute cell injury in high intensity exercise. Participants were 28 young, healthy individuals and were divided into two groups, control group (CG) what received placebo capsules and experimental (GEM) what received capsules containing 800mg / mate-herb ingestion of capsules happened 40 min. before exercise (Cooper test). Blood samples were taken before exercise and immediately after it for biochemical analysis. The analyzed variables were: muscle injury markers (LDH) and mate-herb antioxidant activity, distance and emotional feeling about the effort (affective valence). The differences between the experiments were analyzed applying the Student's *t* test. For analyzing the correlations between variables we used the Pearson's correlation test. The results of this study showed that the intake of mate-herb extract 40 minutes before acute exercise exhibited antioxidant activity and shown to protect the cell damage triggered by intense exercise that has been shown by the lower concentration of the enzyme LDH biomarker measured in the serum of participants.

**KEYWORDS:** LDH, *Ilex paraguariensis* A. St. Hil., free radicals.

## 1. INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil) da família Aquifoliaceae é uma árvore perene, com seis a oito metros de altura, sendo uma planta nativa da região sul do continente americano. Da infusão de suas folhas, depois de devidamente processadas, são preparadas duas bebidas: o chimarrão e o chá. Há algumas décadas, a erva-mate aparece como uma das espécies arbóreas naturais de maior importância econômica para o sul do Brasil, nordeste da Argentina e todo Paraguai. As regiões brasileiras produtoras abrangem os estados do Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (1,2).

Ferreira; Matsubara (1997)<sup>3</sup> realizaram um trabalho de revisão com o intuito de esclarecer diversos termos importantes para o estudo da atividade antioxidante em diferentes organismos. Segundo eles o termo radical livre refere-se “ao átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas”.

Antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparadas àquela do substrato oxidável, retarda ou previne significativamente, a oxidação daquele substrato. (Halliwell; Gutteridge, 1999 *apud* Maia, 2006)<sup>4</sup>.

O exercício físico agudo, em função do incremento do consumo de oxigênio, promove o aumento da formação de radicais livres. No entanto, o treinamento físico é capaz de gerar adaptações capazes de amenizar os efeitos deletérios provocados pelos ROS. Estas adaptações estão relacionadas a uma série de sistemas, dos quais os mais importantes são os sistemas enzimáticos, compostos pela superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, e o não enzimático, composto por ceruloplasmina, hormônios sexuais, coenzima Q, ácido úrico, proteínas de choque térmico e outros. Tais adaptações, apesar das controvérsias sobre os mecanismos envolvidos, promovem maior resistência tecidual a desafios oxidativos, como aqueles proporcionados pelo exercício de alta intensidade e longa duração<sup>5</sup>. Durante o metabolismo aeróbico, que acontece na mitocôndria, o O<sub>2</sub> sofre redução tetravalente, resultando na formação de H<sub>2</sub>O. Durante esse processo são formados intermediários reativos, tais como, Superóxido (O<sub>2</sub>-), hidroperoxila (HO<sub>2</sub>) e hidroxila (OH), além de o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sup>3</sup>.

Um desbalanço em favor dos radicais livres do oxigênio (ou nitrogênio e cloro) em relação aos níveis de moléculas do sistema de defesa antioxidante, resulta no chamado estresse oxidativo. As consequências do estresse oxidativo incluem desde danos e mutações ao DNA, até morte celular induzida por necrose ou apoptose que podem desencadear cerca de uma centena de doenças que estão intimamente associadas as consequên-

cias bioquímicas deste estresse<sup>6</sup>.

Bloomer (2007)<sup>7</sup> também enfatiza que a formação de radicais livres podem participar dar início e progressão do dano na fibra muscular, pela promoção de diversos eventos, como a peroxidação lipídica, início de processos inflamatórios e oxidação de proteínas, tais mecanismos podem afetar tanto proteínas estruturais como contráteis e contribuir para queda da *performance* muscular. O dano muscular pode ser identificado dosando algumas enzimas, entre elas a desidrogenase láctica (LDH)<sup>7</sup>.

Diante do exposto este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante da erva-mate e a lesão celular em exercício agudo de alta intensidade.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A amostra inicial deste estudo era constituída por 50 indivíduos, no entanto, após desistências, problemas na coleta e ausência no dia da coleta fizeram parte do mesmo 28 indivíduos com idade média de 25±3,04 anos, saudáveis que não faziam uso de nenhum tipo de anabolizante ou qualquer outro fármaco e que faziam parte da Escola da Polícia Militar do Paraná, o treinamento da escola aconteceu em Toledo – PR.

O estudo, caracterizado como transversal, foi previamente encaminhado e avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos (CAAE: 07581812.3.0000.0109). Anteriormente ao início dos experimentos, foi apresentado aos voluntários um termo de consentimento com informações sobre os riscos, benefícios e procedimentos realizados no estudo, com intuito de obter autorização para coleta de dados.

### - Delineamento experimental

Os indivíduos que participaram da pesquisa foram divididos em dois grupos sendo um considerado controle (GC, n =11) que recebeu cápsulas com placebo e o grupo erva-mate (GEM, n =17) que recebeu cápsulas contendo 800mg de erva-mate (que corresponde a aproximadamente quatro cuias de chimarrão). A ingestão das cápsulas foi 40 min. antes do exercício em ambos os grupos.

Imediatamente antes do exercício, um alongamento padrão foi realizado pelos sujeitos, constituído por uma extensão de ombro com flexão de cotovelos atrás da cabeça, flexão de quadril em pé, rotação torácica e uma flexão de joelho em pé. Após o alongamento os voluntários realizaram do Teste de Cooper (COOPER, 1972)<sup>8</sup>, que constitui-se em correr a maior distância possível em 12min.

Antes do exercício e imediatamente após 24h após o teste foram realizadas coletas de sangue para dosar atividade antioxidante e a enzima Lactato desidrogenase (LDH) um biomarcador de lise celular.

O potencial antioxidante foi avaliado por de um ensaio espectrofotométrico, utilizando-se uma solução de 2,2 difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 0,004% em meta-



nol (MeOH), que foi misturada à solução da amostra em análise. Após 30 minutos de reação, as absorbâncias das soluções foram determinadas em 540 nm e em espectrofotômetro Microplate Reader, Multiskan Ascent e Labsystems (EUA). A molécula radicalar DPPH apresenta absorção máxima a 540 nm e coloração violeta, que se transforma em amarela quando se reduz. Essa forma reduzida corresponde à molécula do radical livre DPPH pareado com um hidrogênio do antioxidante (DPPH-H). A descoloração resultante é estequiométrica, com o número de moléculas radicalares sequestradas.

O potencial antioxidante foi avaliado por meio de um ensaio espectrofotométrico utilizando-se uma solução de 2,2 difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 0,004% em metanol (MeOH), que foi misturada à solução das amostras em análise.

Para realização das análises as amostras do soro foram desproteinizadas do com metanol (CH<sub>3</sub>OH) 100%. Ao final, foi adicionado 200 mL de CH<sub>3</sub>CN em 200 mL de soro e a mistura foi incubada por dois minutos à temperatura ambiente e centrifugada por dez minutos, 11.000 rpm, 4°C, sendo retirado 150 µL (0,15 mL) do sobrenadante, que corresponde ao soro desproteinizado. A esta fração foi adicionado 5820 µL (5,82mL) de CH<sub>3</sub>OH e 30 µL de solução de DPPH. A mistura foi agitada em vortex, colocada em repouso à temperatura ambiente por 20 minutos, centrifugada por dez minutos e, então, submetida a 11.000 rpm a 4°C. Quatro (4) mL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para a cubeta, sendo realizada leitura em 540 nm. A solução de referência (branco) foi constituída por 4mL de H<sub>2</sub>O em substituição ao volume do soro sanguíneo (amostra).

A capacidade de reduzir o radical DPPH (% de Atividade Antioxidante) será calculada utilizando a seguinte equação:

Atividade Antioxidante (%) = (A controle – A amostra / A controle) x 100 onde:

O controle é a absorbância da solução de DPPH sem a amostra;

A amostra é a absorbância da amostra com o DPPH.

A metodologia proposta foi utilizada por Nasser et al. (2011)<sup>9</sup> que avaliaram o estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja.

A valência afetiva (VA) foi determinada utilizando a Escala de Sensação de Hardy e Regeski (1989). Esse instrumento é composto por uma medida bipolar (positivo/negativo ou conforto/desconforto) em uma escala de 11 pontos (-5 até +5) de item único, com âncoras variando dos descritores verbais “Muito Bom” (+5) até “Muito Ruim” (-5).

### Análise estatística

As informações obtidas da Valência afetiva foram correlacionadas com a distância percorridas pelos voluntários utilizando o teste de Correlação de Pearson. As

demais variáveis foram analisadas utilizando o Teste T de “student” pareado. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software GraphPad InStat versão 2.01 (San Diego, CA, EUA).

## 3. RESULTADOS

A análise dos resultados demonstra que a dosagem enzimática (LDH) realizada antes do exercício não apresentou diferença significativa entre os grupos (GC = 392 ± 63,7; GEM = 371 ± 102,6). Por outro lado, as dosagens realizadas após o exercício apontam que os indivíduos que ingeriram placebo apresentaram concentrações significativamente maiores (p= 0.087) de enzima no soro (GC = 445,6 ± 109; GEM = 364,5 ± 55,6), indicando que a micro lesão foi maior neste grupo. Ao analisar os resultados da distância percorrida pelos indivíduos durante o exercício se observa que, o grupo GC apresentou um percurso médio de 2.592 ± 376,6 metros e o GEM de 2.409 ± 311,3 metros, esses valores não são significativamente diferentes (Tabela 1).

**Tabela 1.** concentração da enzima LDH dosadas no soro e distância percorrida pelos indivíduos que participaram do estudo (n = 28).

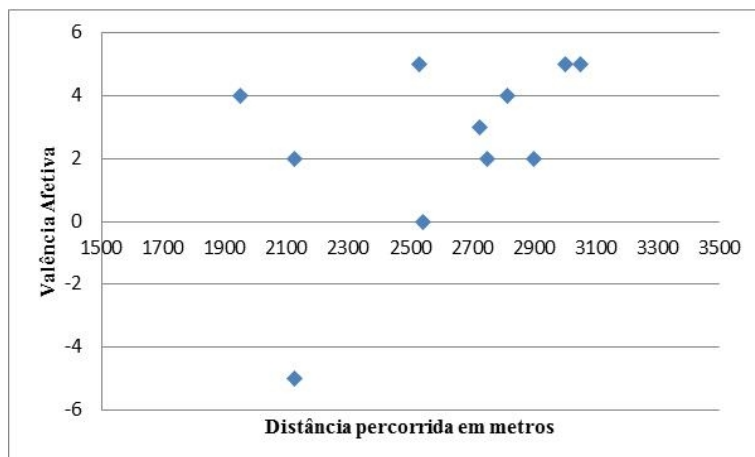
| Variáveis          | Grupo Controle |                | Grupo Erva-mate |                 |
|--------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                    | Antes          | Depois         | Antes           | Depois          |
| LDH (UI/L)         | 392<br>± 63,7  | 445,6<br>± 109 | 371<br>± 102,6  | 364,5<br>± 55,6 |
| Distância (metros) | 2.592 ± 376,6  |                | 2.409 ± 311,3   |                 |

A Tabela 2 apresenta a atividade antioxidante dosada no soro dos indivíduos que participaram do estudo antes e após o exercício por ambos os grupos, para melhor compreensão os valores estão apresentados em porcentagem. É possível observar que o percentual de redução do grupo controle foi de 82,3% e 71,4% no GEM, indicando que neste grupo ou maior redução dos radicais livres.

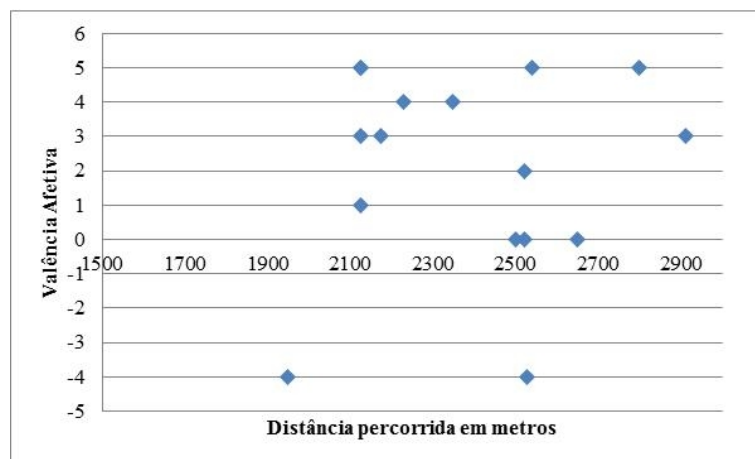
**Tabela 2.** Atividade antioxidante dosada no soro dos indivíduos que participaram do estudo (n = 17)

| Atividade Antioxidante (%) |        |                       |                 |        |                       |
|----------------------------|--------|-----------------------|-----------------|--------|-----------------------|
| Grupo Controle             |        |                       | Grupo Erva-mate |        |                       |
| Antes                      | Depois | Percentual de redução | Antes           | Depois | Percentual de redução |
| 0,017                      | 0,014  | 82,3%                 | 0,021           | 0,015  | 71,4%                 |

Com o intuito de observar se a ingestão do extrato da erva-mate interferia na sensação afetiva em relação realizado foi aplicado um teste de correlação, este indicou que não houve correlação entre a distância percorrida e a sensação afetiva em relação ao esforço em ambos os grupos (Figuras 1 e 2).



**Figura 1.** Correlação entre a distância percorrida e a sensação afetiva em relação ao esforço no GC (n = 11), não foi observada correlação entre as variáveis ( $r = 0,46$ ).



**Figura 2.** Correlação entre a distância percorrida e a sensação afetiva em relação ao esforço no GEM (n = 17), não foi observada correlação entre as variáveis ( $r = 0,098$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

O grupo Controle apresentou mais microlesões, demonstrada pelas elevações nos níveis de desidrogenase láctica (LDH), quando comparado a grupo da Erva-mate, a distância percorrida, embora tenha sido maior neste grupo, não apresentou diferenças significativas. Embora a falta de especificidade LDH total no estabelecimento do tecido lesado esta enzima pode ser um indicador relativamente sensível para lesão tecidual da musculatura esquelética, seu valor de referência em homens e mulheres é 91 a 450 UI/L<sup>10</sup>.

No presente estudo verificamos que os valores encontrados da enzima LDH, embora elevados apresentaram-se nos limites superiores para normalidade. Estes achados corroboram com os encontrados por Mannrich (2007)<sup>11</sup> que analisou os marcadores e lesão músculo-esquelética em jogadores profissionais de futebol de uma equipe da primeira divisão em diferentes fases da

temporada.

Zoppi et al. (2003)<sup>12</sup> desenvolveram um estudo com o objetivo de analisar o comportamento de marcadores sanguíneos do sistema de defesa antioxidante, de ataque oxidativo, bem como dos níveis de alteração muscular ao longo de cinco meses de campeonato paulista de um time de futebol, categoria sub-20. Os marcadores de estresse oxidativo e lesão muscular analisados não mostraram alterações significativas ao longo do estudo. Esses dados sugerem que a capacidade de defesa antioxidante do organismo foi eficiente em tamponar o possível aumento na produção de radicais livres induzidos pelos treinamentos e jogos da competição, impedindo a ocorrência de lesões musculares de origem oxidativa ao longo do campeonato.

Durante o exercício físico, o consumo energético do tecido muscular pode aumentar de 20 (anaeróbio) a 50 (aeróbio) vezes. No exercício aeróbio, tanto o fluxo de oxigênio quanto o fluxo sanguíneo aumentam grandemente. Na passagem do estado de repouso para o exercício, nenhum outro tecido, é capaz de sofrer tamanha mudança quanto ao consumo de oxigênio. Assumindo que uma porcentagem fixa deste oxigênio (1% a 2%) é reduzida a radical superóxido(O<sub>2</sub>-), a musculatura exercitada é uma fonte geradora em potencial de radicais livres (AMORIN;TIRAPEJI, 2008)<sup>13</sup>.

De acordo com Bloomer (2007)<sup>7</sup> a formação de radicais livres pode participar dar início e progressão do dano na fibra muscular, pela promoção de diversos eventos, como a peroxidação lipídica, início de processos inflamatórios e oxidação de proteínas, tais mecanismos podem afetar tanto proteínas estruturais como contráteis e contribuir para queda da *performance* muscular. Os radicais livres podem desencadear dano muscular que está associado com aumentos dos níveis plasmáticos da enzima LDH.

Uma revisão de literatura feita por Amorin; Tirapeji (2008)<sup>13</sup> esclarece que até recentemente, acreditava-se que a síntese de radicais livres na atividade física tinha apenas efeitos deletérios para o organismo. No entanto, é reconhecido que baixos níveis de radicais livres presentes na musculatura em repouso podem sinalizar etapas da contração normal. As espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio modulam vários elementos da função celular, como captação de glicose, metabolismo mitocondrial, transcrição gênica e catabolismo muscular.

Ao refletir sobre os resultados da avaliação da atividade antioxidante, o grupo que ingeriu o extrato de erva-mate apresentou maior redução nos radicais livres, isso poderia explicar o menor dano apresentado pela

célula. Possivelmente o extrato de erva-mate desencadeou um mecanismo de proteção contra dano celular causado pelos radicais livres liberados durante o exercício. Uma revisão dos estudos publicados nos últimos anos mostra que a capacidade antioxidante do plasma, bem como expressão de enzimas antioxidantes é positivamente modulada por intervenção com *Ilex paraguariensis* em estudo com humanos<sup>14</sup>.

Como já mencionado o exercício físico agudo, em função do incremento do consumo de oxigênio, promove o aumento da formação de radicais livres. No entanto, o treinamento físico promove adaptações capazes de amenizar os efeitos deletérios provocados pelos ROS. Estas adaptações estão relacionadas a uma série de sistemas, dos quais os mais importantes são os sistemas enzimáticos, compostos pela superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, e o não enzimático, composto por ceruloplasmina, hormônios sexuais, coenzima Q, ácido úrico, proteínas de choque térmico e outros. Tais adaptações, apesar das controvérsias sobre os mecanismos envolvidos, promovem maior resistência tecidual a desafios oxidativos, como aqueles proporcionados pelo exercício de alta intensidade e longa duração<sup>5</sup>.

De acordo com revisão feita por Cruzat et al. (2007)<sup>15</sup> a frequência e a intensidade do exercício físico alteram o balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes. Alguns autores demonstraram que de forma aguda, o músculo esquelético submetido a uma carga isolada de trabalho exaustivo produzia aumento da peroxidação lipídica e estimulava a atividade de diversas enzimas antioxidantes como a glutathione-peroxidase (GPx), superóxido-dismutase (SOD) e catalase (CAT). Segundo os autores, a síntese dessas enzimas não só indica aumento do estresse oxidativo, mas também estimula adaptações nos mecanismos de defesa antioxidante.

Os efeitos do exercício aeróbico também podem ser observados sobre os antioxidantes não enzimáticos. Alguns estudos mostram que a glutathione (GSH), principal antioxidante celular não enzimático, ou a relação entre GSH e sua forma oxidada (GSSG) podem ser reduzidas durante o exercício físico. Após exercícios intensos e prolongados, a concentração plasmática de outros antioxidantes não enzimáticos, como a vitamina E, a vitamina C e o ácido úrico, também tendem a aumentar. De forma geral, o conjunto de alterações nos antioxidantes não enzimáticos pode promover aumento na capacidade total de antioxidantes, indicando uma adaptação ao treinamento físico<sup>15</sup>.

A literatura é pobre em estudos da atividade antioxidante da erva-mate *in vivo*, Canterle (2005)<sup>16</sup> desenvolveu um ensaio Biológico com a levedura utilizando extratos de erva-mate de diferentes regiões do Rio Grande do Sul e Santa Catarina e avaliou a atividade antioxidante com DPPH e também observou que os extratos apresentavam efeito antioxidante. Por outro no estudo

realizado por Tadashi (2013)<sup>17</sup> com jogadoras de futebol o consumo agudo de erva mate, em forma de chá, não resultou em aumento significativo da capacidade antioxidante total.

Alguns estudos apontam que a sensação percebida em relação ao esforço esta correlacionada com a intensidade do mesmo. A escala de sensação de Hardy; Rejeski (1989)<sup>18</sup> ainda é pouco conhecida no Brasil, para sua validação foi realizado estudos comparativos com a escala da PSE de Borg (1982)<sup>19</sup>, no qual verificaram-se correlações moderadas, podendo-se sugerir que nem sempre existe uma relação autêntica entre as sensações afetivas com a percepção do esforço.

Por ser a erva-mate primeiramente uma bebida estimulante, que elimina a fadiga, e estimula a atividade física e mental, atuando benéficamente sobre os nervos e músculos, favorecendo o trabalho intelectual<sup>20</sup>. Possivelmente poderia aumentar a sensação de prazer durante o exercício, entretanto essa hipótese não foi confirmada.

## 5. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem concluir que a ingestão do extrato de erva-mate 40 minutos antes do exercício agudo exibiu atividade antioxidante e demonstrou proteção ao dano celular desencadeado pelo exercício intenso o que foi demonstrado pela menor concentração da enzima biomarcadora LDH dosada no soro dos participantes.

Divido a escassez de estudo *in vivo* com extratos desta planta torna-se necessário o desenvolvimento de mais pesquisas para consolidar os achados deste estudo.

## AGRADECIMENTOS:

A Universidade Paranaense – Unipar, pelo apoio financeiro;

Aos integrantes da Escola da Polícia Militar do Paraná que voluntariamente participaram do estudo.

## REFERÊNCIAS

- [1] Boguszewski HJ. Uma história cultural da erva-mate: o alimento e suas representações. (Dissertação) Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
- [2] Santos AK, Sossela de Freitas JR, Rapacci M, Guolo WCM. Polifenóis em chá de erva-mate. Nutr Brasil 2004; 3(1):47-50.
- [3] Ferreira ALA, Matsubara L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Rev Ass Med Brasil 1997; 43(1): 61-81.

- [4] Maia SM. Viabilidade espermática de geração de metabólitos reativos do oxigênio (ROS) no sêmen ovino criopreservado em diluidor aditivado de lauril sulfato de sódio (OEP), trolox -C e catalase. (Tese) Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2006.
- [5] Schneider DC, Reischak de Oliveira, A. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. *Rev Bras Med Esporte* 2004; 10 (4):308-13.
- [6] Ferrari BCK, Capacidade antioxidante total (CAT) em estudos clínicos, experimentais e nutricionais. *J Health Sci Inst* 2010; 28 (4):307-10.
- [7] Bloomer JR, The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise induced skeletal muscle injury. *Sports Med* 2007; 37(6):519-32.
- [8] Cooper HK Capacidade aeróbica. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Fórum Editorial; 1972.
- [9] Nasser ALM., Dourado GK, Manjate DA, Carlos IZ, Cesar, TB, Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2011; 32(2):275-9.
- [10] Cosendy EA, Moraes SM, Dinis SAP, Araujo FC Avaliação Bioquímica e Hematológica da 1ª turma feminina de catetes da Força Aérea Brasileira. *Rev Brasileira de Análises clínicas* 2003; 35 (1):11-15.
- [11] Mannrich GMS. Perfil dos marcadores bioquímicos de lesões músculo esquelética relacionado ao estado psicológico em atletas profissionais de futebol (Dissertação). Florianópolis: Universidade do Estado de Santa Catarina; 2007.
- [12] Zoppi, C. C. *et al.* Alterações em biomarcadores de estresse oxidativo defesa antioxidantes e lesão muscular em jogadores de futebol durante uma temporada competitiva. *Rev Paul Educ Fís* 2003; 17(2):119-30.
- [13] Amorin GA, Tirapeji J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. *Rev Nutr* 2008; 21(5):563-75.
- [14] Bracesco, N. *et al.* Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 136(3):378-84.
- [15] Cruzat FV, Rogero MM, Borges CM, Tirapegui, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte* 2007; 13(5): 336-42.
- [16] Canterle L. P. Erva-mate e Atividade anti-oxidante . 2005. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, rio Grande do Sul, 2005.
- [17] Tadashi KH. Efeito da suplementação de erva mate (*Ilex paraguariensis*) sobre a capacidade antioxidante total em atletas futebolistas em teste exaustivo em esteira (Trabalho de conclusão de curso) Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2013.
- [18] Hardy CJ, Rejeski WJ. Not what, but how one feels: The measurement of affect during exercise. *Journal of Sport and Exercise Psychology* 1989; 11:204-317.
- [19] Borg G. Escalas de Borg para a dor e o esforço percebido, 1ª ed. trad. Fernando Gomes do Nascimento São Paulo: Manole; 2000.
- [20] Cansian RL. Variabilidade genética e de compostos voláteis e semi-voláteis em populações nativas de *Ilex paraguariensis* (St. Hil.) do Brasil, visando a conservação da espécie. (Teste) São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2003.





# OCORRÊNCIA DE GALHAS ENTOMÓGENAS EM PLANTAS DO PARQUE FLORESTAL DOS PIONEIROS, EM MARINGÁ, PARANÁ, BRASIL

OCCURRENCE OF ENTOMOGENOUS GALLS IN PLANTS OF THE FOREST PARK OF PIONEERS, IN MARINGA, PARANA, BRAZIL.

LIVEA LORENA GONÇALVES DE **CARVALHO**<sup>1\*</sup>, RUTE NOEMIA DE SOUZA **SANTOS**<sup>2</sup>, JOSÉ FELINTO **BARBOSA**<sup>3</sup>

1. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Ingá; 2. Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Ingá; 3. Biólogo, Mestre pela Universidade Federal de Santa Catarina, Docente da Faculdade Ingá

\* Rodovia PR317, Saída para Astorga, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87.035-510. [j\\_felinto@yahoo.com.br](mailto:j_felinto@yahoo.com.br)

**Recebido** em 10/05/2015. **Aceito** para publicação em 25/05/2015

## RESUMO

Galhas entomógenas são alterações atípicas em tecidos vegetais induzidas por insetos para a obtenção de abrigo e nutrição durante seu desenvolvimento. O crescimento anormal dos tecidos vegetais é coordenado pelo indutor e apresenta variações específicas de acordo com a espécie de inseto parasita. No Parque Florestal dos Pioneiros, em Maringá –PR, uma área remanescente de floresta estacional semidecidual, foi verificada a ocorrência de galhas induzidas por insetos em 35 morfoespécies vegetais. O órgão vegetal mais atacado foram as folhas, sendo a face abaxial a preferida. Nos caules foi observada a ocorrência em cinco morfoespécies. Quanto a morfologia, as galhas irregulares foram as mais comuns.

**PALAVRAS-CHAVE:** Interação inseto-planta, parasitas de plantas, insetos galhadores.

## ABSTRACT

Galls are atypical changes in plant tissues induced by insects to the obtain shelter and nutrition during development. The abnormal growth of plant tissues is coordinated by the inductor and show specific changes according to the species of parasite insects. In Forest Park of the Pioneers, in Maringá-PR, a remaining area of semideciduous stationary forest, was verified the occurrence of galls induced by insects on 35 plants morphospecies. The plant organ most affected were the leaves, being the abaxial face the preferred. Stems was observed to occur in five morphospecies. Morphologically irregular galls were the most common.

**KEYWORDS:** Interaction insect – plant, plant-parasites, galling insects.

## 1. INTRODUÇÃO

As galhas representam um fascinante fenômeno do mundo natural, reflexo de íntimas interações dos organismos envolvidos e resultado de milhares de anos de

evolução orgânica. Trata-se de transformações atípicas nos tecidos vegetais que podem ser induzidas por vírus, bactérias, fungos, ácaros e insetos, sendo o último grupo com maior número de indutores<sup>1</sup>. Estudos recentes propõem a exclusão da formação de galhas por bactérias e fungos, passando estes à serem chamados apenas de tumores. Galhas induzidas por insetos resultam em formas de crescimento principalmente simétricas. A partir de um ponto de vista evolutivo, galhas podem ser vistas como adaptações que permitem que os insetos indutores se alimentem de tecidos de alta qualidade, e se protejam de inimigos naturais e de ambientes agressivos<sup>2</sup>. Os insetos induzem as plantas atacando os órgãos, causando hiperplasia (aumento do número de células) e ou hipertrofia (aumento no tamanho de células)<sup>3</sup>. As características morfológicas das galhas são específicas para cada espécie de inseto indutor, pois são resultado da interação deste com a planta hospedeira<sup>4</sup>.

Recentemente as galhas passaram a ter uma importância relativamente alta, devido seu uso como agentes de controle biológico de plantas invasoras e até como bioindicadores da qualidade e da saúde ambiental. O modo de vida sésil garante uma maior facilidade e confiabilidade nos estudos da relação planta animal e muitos autores passaram a utilizar insetos galhadores como “organismos-modelo”<sup>1</sup>. Latitude, altitude, temperatura e umidade são fatores que influenciam a diversidade e a distribuição dos agentes galhadores. Vários estudos indicam uma maior riqueza de galhas em ambientes mais secos e expostos à luz solar do que em ambientes mais sombreados e úmidos<sup>5</sup>. As galhas são encontradas em todas as partes das plantas, desde a extremidade da raiz até as gemas apicais do caule, nos órgãos vegetativos e reprodutivos, sendo que a grande maioria ocorre nas folhas<sup>6</sup>.

O objetivo desse trabalho foi verificar e caracterizar

as galhas entomógenas observadas em plantas do sub-bosque do Parque Florestal dos Pioneiros, um fragmento de floresta estacional semidecidual, de preservação permanente, no município de Maringá – PR.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado em um fragmento de Floresta Estacional Semidecidual, denominado Parque Florestal dos Pioneiros, localizado em Maringá, Paraná, Sul do Brasil (S23° 25' 57", W51° 56'33"). Esse parque foi declarado como Área de Preservação Permanente através da Lei Municipal nº1556/82 e, ratificada em 1990, pelo artigo 174 da Lei Orgânica do Município. O Parque é fechado à visitação pública e apresenta, no seu interior, um problema gravíssimo de degradação devido a erosões de grande porte. Acredita-se que a vegetação original da área do Parque foi quase eliminada em sua totalidade pela ampla devastação ocorrida para fins agrícolas e criação de gado. Após o abandono da área, ocorrido provavelmente há cerca de 50 anos, esta passou a ser progressivamente ocupada pela regeneração da vegetação, chegando até a fase atual<sup>7</sup>.

Para a amostragem, a área total do Parque foi dividida em parcelas de 200m<sup>2</sup>, das quais foram selecionadas, mediante programa de aleatorização, 10 parcelas (figura 1). Nessas parcelas as partes aéreas das plantas do sub-bosque (até 2 m de altura) foram observadas em busca de galhas. Foram coletados os órgãos que apresentavam as galhas e também material botânico vegetativo e reprodutivo (quando presente) para posterior identificação da planta hospedeira. Em campo, as galhas foram fotografadas e tiveram suas principais características documentadas: cor, local de ocorrência na planta, agrupamento e medidas de largura, comprimento e diâmetro. Cada amostra coletada foi classificada como morfoespécie devido a impossibilidade de classificação em campo. Essas amostras vegetais, com suas respectivas galhas, foram acondicionadas em potes plásticos com solução fixadora de FAA (álcool 70<sup>0</sup>, formaldeído 37% e ácido acético, nas proporções de 90, 5 e 5 %, respectivamente), sendo na sequência transportados ao Laboratório de Botânica da Faculdade Ingá. No laboratório as galhas encontradas foram analisadas morfológicamente e foi elaborada uma tabela contendo informações sobre cor, a forma (clíndricas, globóides, ovais, redondas e irregulares), pubescência (glabras ou pilosas), medidas e distribuição (totalidade da folha, central ou próxima à base). Posteriormente foram observadas com o auxílio de microscópio estereoscópico para caracterização interna, observando-se o número e o tipo de câmara larval onde se desenvolveu o inseto. Com essa observação foi possível visualizar, em algumas espécies de plantas, resquícios de exoesqueleto e larvas de insetos dentro da câmara larval. As amostras vegetais, organizadas em excisas estão em processo de identificação, no entanto,

a ausência de partes reprodutivas limitou o trabalho.

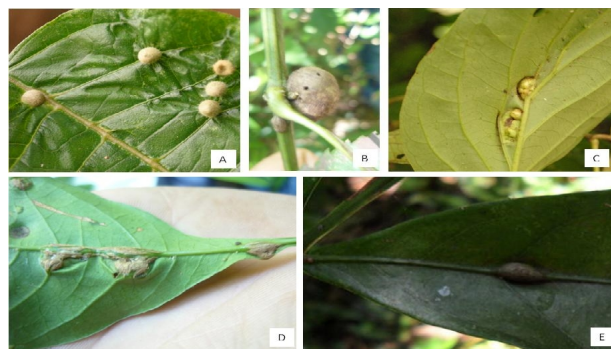


**Figura 1.** Pontos de coleta de galhas no Parque dos Pioneiros. Adaptado de Google Earth® (2011).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas 35 morfoespécies vegetais com a presença de galhas entomógenas. Dessas plantas, foi possível a identificação de sete ao nível de família e duas ao nível de gênero. O gênero *Ingá* aparece com galhas em duas morfoespécies e a família Sapindaceae com quatro morfoespécies. Piperaceae, Melastomataceae e Rubiaceae apresentaram uma morfoespécie. O restante das plantas aguardam identificação adequada.

Os órgãos vegetais mais atacados foram as folhas (figura 2), sendo observada a ocorrência em 30 morfoespécies, perfazendo 85% do total de espécimes coletadas. A ocorrência da maioria das galhas em folhas também foi observada em outros trabalhos que estudaram a ocorrência de galhas em plantas de várias fitofisionomias de Cerrado na Serra dos Pirineus, Estado de Goiás, encontrando 62 morfotipos de galhas, sendo 82% nas folhas<sup>8</sup>. A ocorrência de galhas em um remanescente de Mata Atlântica (387,4 ha), localizado na região noroeste do município de Recife, Estado de Pernambuco, relatou 32 morfotipos de galhas, sendo as folhas o órgão mais atacado (67%)<sup>9</sup>. Esses resultados indicam que as folhas são locais ideais para oviposição e sobrevivência das larvas até a eclosão dos adultos.



**Figura 2.** Galhas entomógenas. A: galha foliar em um morfotipo da família Rubiaceae; B e D: galha caulinar e foliar em um morfotipo da família Sapindaceae ; C: galha foliar em um morfotipo da família Piperaceae; E: Galha foliar em *Ingá* sp1.

Quando considerada a superfície foliar na ocorrência das galhas nota-se que a face abaxial foi a preferida, sendo observada em um total de 23 morfoespécies. A preferência pela face abaxial das folhas pode estar relacionada com as condições microclimáticas menos estressantes quando comparada com a superfície adaxial<sup>5</sup>.

Em relação à morfologia as galhas irregulares foram mais comuns (40%), seguidas pelas de formato globóide (24 %), ovais (16 %), cilíndrica (11%) e redondas (9%). A variação morfológica encontrada nas galhas pode ser explicada pela diversidade de insetos galhadores, visto que diversas hipóteses têm confirmado o controle da morfologia da galha pelos seus agentes indutores<sup>10</sup>. Quanto à distribuição das galhas nas folhas coletadas observou-se que a maioria se localiza distribuída por toda folha, nas margens, nervuras e pecíolos, incluindo também gavinhas.

Galhas caulinares foram observadas em cinco morfoespécies (15%). As galhas apareceram em apenas algumas partes do caule, apresentando formato esférico e irregular, sendo a maioria próxima aos nós, como mostrado na figura 2. Galhas caulinares geralmente são formadas a partir do espessamento desse órgão, o que proporciona uma reduzida variabilidade morfológica<sup>9</sup>.

Em relação à pubescência observou-se que estava presente em 26% das galhas, mostrando que, a despeito do acréscimo de proteção fornecido pelos pelos, estes estavam ausentes na estrutura da maior parte dos morfotipos coletados. Quanto à coloração ocorreram principalmente galhas verdes (62%), marrons (32%), amarelas (3%) e cinzas (3%).

#### 4. CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que as galhas entomógenas são frequentes no fragmento florestal estudado evidenciando a importância do Parque como refúgio para numerosas espécies. Considerando que a área também apresenta grande diversidade de abelhas e plantas melíferas<sup>11, 12</sup> devemos intensificar as medidas de conservação, pois os problemas já constatados no interior do parque são comprometedores para a integridade da área.

#### REFERÊNCIAS

- [01] Fernandes GW, Carneiro MAA. Insetos galhadores. Em: AR Panizzi ; JRP Parra. (Org.). Bioecologia e nutrição de insetos base para o manejo integrado de pragas. Brasília, DF. :Embrapa, p.595-636, 2009.
- [02] Carneiro MAA, *et al.* Are gall midge species (Diptera, Cecidomyiidae) host-plant specialists?. Revista Brasileira de Entomologia. São Paulo, v.53, n.3, 2009.
- [03] Arduin M, Kraus JE. Anatomia de galhas de ambrosia em folhas de *Baccharis concinna* e *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). Revista Brasileira de Botânica, V.24,

- n.1, p.63-72, mar. 2001.
- [04] Fernandes SPC, Branco BPC. Galhas entomógenas em um fragmento urbano de mata atlântica no centro de endemismo de Pernambuco. Revista Brasileira de Biociências, v.7, n.3, 2009.
- [05] Fernandes GW, Paula AS, Loyola-Jr, R. Distribuição diferencial de insetos galhadores entre habitats e seu possível uso como bioindicadores. Vida Silvestre Neotropical v.4 n.2 p.133-139, 1995.
- [06] Silva ASM. Ecologia da Floresta Amazônica: Vigor, arquitetura e estresse vegetal na Amazônia Central: agentes galhadores se importam com isso?. Manaus: INPA/ Smithsonian, 2006.
- [07] Maringá. Prefeitura Municipal de Maringá. Plano de Manejo do Parque do Ingá. Maringá, 1994.
- [08] Araujo WS, Santos BB, Gomes-Klein VL. Insect galls from Serra dos Pireneus, GO, Brazil. Biota Neotrop. [online]. v.11 n.2. p.357-365, 2011.
- [09] Fernandes SPC, *et al.* Galhas entomógenas em um fragmento urbano de mata Atlântica no Centro de Endemismo de Pernambuco. Revista Brasileira de Biociências, v.7 n.3 p.240-244, 2009.
- [10] Stone GN, Schönrogge K. The adaptive significance of insect gall morphology. Trends Ecology Evolution, v.18 p.512-522, 2003.
- [11] Taura *et al.* Melissocenótica (Hymenoptera, Anthophila) no Parque Florestal dos Pioneiros, Maringá, PR. (sul do Brasil) — I. Abundância relativa e diversidade. Acta Biol. Par., Curitiba, 36 (1-2): 47-65. 2007.
- [12] Taura, *et al.* Melissocenótica (Apoidea, Anthophila) no Parque Florestal dos Pioneiros, Maringá, PR (sul do Brasil): Parte II. Utilização de recursos florais. Acta Biol. Par., Curitiba, 36 (3-4): 175-192. 2007.



# SANEAMENTO BÁSICO: MEIO AMBIENTE E SAÚDE

## BASIC SANITATION: ENVIRONMENT AND HEALTH

KARINE FOLLADOR<sup>1</sup>, GEISA PERCIO DO PRADO<sup>2\*</sup>, MANUELA GAZZONI DOS PASSOS<sup>3</sup>, SIMONE CRISTINA NOTHAFT<sup>4</sup>

1. Bióloga. Pós-graduada em Gestão e Educação Ambiental pelo Centro Universitário Leonardo da Vinci – pólo de Indaial-SC; 2. Bióloga. Mestre em Ciências Ambientais pela UNOCHAPECÓ, orientadora do Centro Universitário Leonardo da Vinci – pólo de Indaial-SC; 3. Bióloga. Mestre em Ciências Ambientais pela UNOCHAPECÓ; 4. Enfermeira. Docente da Universidade do Oeste de Santa Catarina – UDESC.

\* Rua: Voluntários da Pátria, 1560E, Bairro: Esplanada, Chapecó, Santa Catarina, Brasil. CEP: 89812-583. [biologageisa@gmail.com](mailto:biologageisa@gmail.com)

Recebido em 14/06/2015. Aceito para publicação em 16/06/2015

### RESUMO

O presente trabalho discute saneamento básico, ressaltando sua relação com o meio ambiente e a saúde da população. A prática de fazer instalações de coleta e tratamento dos efluentes líquidos cada vez mais se alastra para mais cidades ocasionando impacto na estrutura das cidades, grande investimento e trabalho de pessoas. Tendo em vista essas condições, este trabalho objetiva investigar o impacto que a falta de saneamento básico causa ao meio ambiente e a qualidade de vida da população. Buscou-se através de material bibliográfico digital e impresso o tema para subsidiar e fundamentar este referencial. Conclui-se que a falta de saneamento básico acarreta sérios riscos a saúde, muitos gastos, mortes, o que a torna um problema de saúde pública. Sugere-se que políticas efetivas de saneamento básico sejam implementadas e monitoradas como forma de promoção à saúde ambiental e humana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Saneamento básico. Saúde pública. Promoção da saúde.

### ABSTRACT

This paper addresses on basic sanitation, highlighting its relation with the environment and people's health. The construction of places for collection and treatment of wastewater is increasingly spreading to more cities, resulting impacts on the structure of cities, large investment and working people. Given these conditions, this paper aims to investigate the impact that the lack of basic sanitation cause to the environment and quality of life. We researched through digital and printed library materials to support the theme and explain this reference. We conclude that the lack of basic sanitation causes serious health risks, big expenses, death, what makes it a public health problem. It is suggested that effective sanitation policies are implemented and monitored so as to promote the environmental and human health.

**KEYWORDS:** Basic sanitation. Public health. Health dissemination.

### 1. INTRODUÇÃO

O saneamento básico é definido como o conjunto de serviços e ações que objetivam alcançar níveis crescentes de salubridade ambiental, nas condições que maximizem a promoção e a melhoria das condições de vida nos meios urbano e rural. Além disso, especifica os quatro conjuntos de serviços públicos que o constituem: abastecimento de água, o esgotamento sanitário, o manejo de resíduos sólidos e o manejo de águas pluviais<sup>1</sup>.

Saneamento básico envolve ações de recuperação de mananciais e de reservatórios d'água poluídos, eliminando as fontes contaminadoras, à drenagem pluvial por meio de galerias fechadas ou a céu aberto, à implantação e manutenção de parques urbanos e aos problemas da sub-habitação<sup>2</sup>.

O abastecimento de água consiste em produzir água potável a partir de uma fonte de água bruta e distribuí-la sem interrupções e com o mínimo possível de falhas. A captação de água bruta pode ser feita tanto de um manancial superficial (cursos d'água, lagos e represas), quanto de um manancial de água subterrânea<sup>3</sup>.

Os dejetos do esgoto sanitário tendem a ser lançados diretamente sobre o solo, criando, desse modo, situações favoráveis a transmissão de doenças. A solução recomendada é a construção de privadas com veiculação hídrica, ligadas a um sistema público de esgotos, com adequado destino final. Porém no meio rural, é recomendado que seja feito tratamento individual para cada domicílio<sup>4</sup>.

Ainda nos dias de hoje, mesmo com os diversos meios de comunicação existentes, verifica-se a falta de divulgação desses conhecimentos. Em áreas rurais a população consome recursos para construir suas casas sem incluir as facilidades sanitárias indispensáveis, como poço protegido, fossa séptica, etc. Assim sendo, o processo saúde versus doença não deve ser entendi-



do como uma questão puramente individual e sim como um problema coletivo<sup>5</sup>.

Nas duas últimas décadas, o saneamento no Brasil careceu de planejamento sistemático, associado à Indefinição de políticas e programas que efetivamente trouxessem respostas às demandas sociais. Em consequência, o saneamento como ação socioeconômica de caráter coletivo nunca alcançou níveis estáveis de institucionalização, resultando em uma realidade extremamente precária, não apenas dos indicadores de salubridade ambiental, mas também nos fatores que caracterizam as expressões econômicas, financeiras, organizacionais, gerenciais e tecnológicas desse setor de atividade humana do País<sup>6</sup>.

A legislação brasileira traz a informação que o acesso ao saneamento básico é um direito de todos e um dever do estado. Contudo, o contexto real, em especial das comunidades rurais e marginalizadas do país, demonstra uma realidade divergente do proposto na constituição<sup>7</sup>.

Em estudo realizado por enfermeiros, observou-se que problemas ambientais, tais como, a falta de saneamento básico, presença de vetores de doenças, manejo inadequado de resíduos sólidos e domésticos e ruas sem pavimentação exercem influência sobre a saúde da comunidade<sup>8</sup>.

O saneamento básico é definido como o conjunto de serviços e ações que objetivam alcançar níveis crescentes de salubridade ambiental, nas condições que maximizem a promoção e a melhoria das condições de vida nos meios urbano e rural. Além disso, especifica os quatro conjuntos de serviços públicos que o constituem: abastecimento de água, o esgotamento sanitário, o manejo de resíduos sólidos e o manejo de águas pluviais<sup>1</sup>.

Saneamento básico envolve ações de recuperação de mananciais e de reservatórios d'água poluídos, eliminando as fontes contaminadoras, à drenagem pluvial por meio de galerias fechadas ou a céu aberto, à implantação e manutenção de parques urbanos e aos problemas da sub-habitação<sup>2</sup>.

O abastecimento de água consiste em produzir água potável a partir de uma fonte de água bruta e distribuí-la sem interrupções e com o mínimo possível de falhas. A captação de água bruta pode ser feita tanto de um manancial superficial (cursos d'água, lagos e represas), quanto de um manancial de água subterrânea<sup>3</sup>.

Os dejetos do esgoto sanitário tendem a ser lançados diretamente sobre o solo, criando, desse modo, situações favoráveis a transmissão de doenças. A solução recomendada é a construção de privadas com veiculação hídrica, ligadas a um sistema público de esgotos, com adequado destino final. Porém no meio rural, é recomendado que seja feito tratamento individual para cada domicílio<sup>4</sup>.

Ainda nos dias de hoje, mesmo com os diversos meios de comunicação existentes, verifica-se a falta de divulgação desses conhecimentos. Em áreas rurais a população consome recursos para construir suas casas sem incluir as facilidades sanitárias indispensáveis, como poço protegido, fossa séptica, etc. Assim sendo, o processo saúde versus doença não deve ser entendido como uma questão puramente individual e sim como um problema coletivo<sup>5</sup>.

Nas duas últimas décadas, o saneamento no Brasil careceu de planejamento sistemático, associado à Indefinição de políticas e programas que efetivamente trouxessem respostas às demandas sociais. Em consequência, o saneamento como ação socioeconômica de caráter coletivo nunca alcançou níveis estáveis de institucionalização, resultando em uma realidade extremamente precária, não apenas dos indicadores de salubridade ambiental, mas também nos fatores que caracterizam as expressões econômicas, financeiras, organizacionais, gerenciais e tecnológicas desse setor de atividade humana do País<sup>6</sup>.

A legislação brasileira traz a informação que o acesso ao saneamento básico é um direito de todos e um dever do estado. Contudo, o contexto real, em especial das comunidades rurais e marginalizadas do país, demonstra uma realidade divergente do proposto na constituição<sup>7</sup>.

Em estudo realizado por enfermeiros, observou-se que problemas ambientais, tais como, a falta de saneamento básico, presença de vetores de doenças, manejo inadequado de resíduos sólidos e domésticos e ruas sem pavimentação exercem influência sobre a saúde da comunidade<sup>8</sup>.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os Este trabalho foi desenvolvido através de levantamento bibliográfico e documental, sendo, portanto, de caráter qualitativo<sup>9</sup>. Como não se trata de revisão bibliográfica, apenas os textos e informações julgadas pertinentes compuseram o desenvolvimento deste trabalho.

## 3. DESENVOLVIMENTO

A falta de disposição final adequada dos resíduos pode provocar disseminação de doenças e poluição atmosférica pelo gás metano. A possível solução seria a disposição em aterros, mas, neste caso, existe uma capacidade limite de acomodação do lixo, o que torna necessário reduzir a produção de lixo<sup>3</sup>.

O tratamento da água e esgoto, entre outras condições adequadas do ambiente contribuem à promoção da saúde, evitam e auxiliam na melhora de doenças

como cólera, dengue, esquistossomose e leptospirose. Para isso, é preciso haver a superação dos entraves tecnológicos políticos e gerenciais principalmente em regiões mais carentes<sup>4</sup>.

Em alguns casos, como o ocorrido em Fortaleza, mesmo com a implantação de redes de esgoto, grande parte das famílias utilizam fossas sépticas ou rudimentares agrava a contaminação dos lençóis freáticos, lançam esgoto a céu aberto e utilizam águas que correm à beira das calçadas. Determinada quantia dos esgotos domiciliares escoam para o rio Ceará, causando graves problemas de contaminação das águas e perigo para a saúde das populações que as utilizam seja para consumo doméstico, ou mesmo para o lazer nos banhos de mar<sup>2</sup>.

No Brasil, os municípios com mais de 300.000 habitantes tem quase três vezes mais domicílios ligados à rede geral de esgoto do que os domicílios de municípios com população de até 20.000 habitantes. Entre as regiões, permanece a tendência geral do País, a desigualdade da prestação do serviço de rede geral é bem diferenciada dependendo do tamanho da população do município<sup>10</sup>.

Entre os serviços de saneamento básico, o esgotamento sanitário é o que tem menor presença nos municípios brasileiros. Dos 4.425 municípios existentes no Brasil, em 1989, menos da metade (47,3%) tinha algum tipo de serviço de esgotamento sanitário e, 11 anos mais tarde, os avanços não foram muito significativos: dos 5 507 municípios, 52,2% eram servidos. Apesar de no período de 1989-2000 haver tido um aumento de, aproximadamente, 24% no número de municípios, o serviço de esgotamento sanitário não acompanhou este crescimento, pois aumentou apenas 10%<sup>10</sup>.

O Plano Nacional de Saneamento Básico deve abrange o abastecimento de água, o esgotamento sanitário, o manejo de resíduos sólidos e o manejo de águas pluviais e outras ações de saneamento básico de interesse para a melhoria da salubridade ambiental, incluindo o provimento de banheiros e unidades hidrossanitárias para populações de baixa renda<sup>6,223</sup>.

Todos têm direito ao Meio Ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao poder público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo às presentes e futuras gerações<sup>11</sup>.

§ 1º Para assegurar a efetividade desse direito incumbe ao Poder Público:

[...] VI. Promover a Educação Ambiental em todos os níveis de ensino e a conscientização pública para a preservação do meio ambiente<sup>11</sup>.

As constituições estaduais também consagram em seus textos, a promoção da educação ambiental em todos os níveis de ensino e a conscientização pública

para a preservação do meio ambiente. Entretanto, a responsabilidade do Poder Público não exclui a participação da comunidade em todo processo<sup>4</sup>.

Os investimentos em saneamento básico no Brasil devem atender a requisitos técnicos, ambientais, sociais e econômicos e particularmente dos recursos hídricos, refletindo diretamente no planejamento das ações de saneamento básico<sup>12</sup>.

Mas, a falta de saneamento básico é a principal responsável pela morte por diarreia de crianças menores de 5 anos no Brasil, sendo que em geral, os índices de mortalidade infantil caem 21% quando são feitos investimentos em saneamento básico. Porém, a eficácia dos programas federais de combate à mortalidade infantil esbarra na falta de saneamento básico<sup>12</sup>.

O saneamento básico promove a prevenção de doenças, e a partir disso a menor procura de hospitais e transmissão de doenças, ou seja, vida mais saudável. Assim os índices de mortalidade permanecem com menores patamares onde existe o tratamento do esgoto sanitário<sup>5</sup>.

Dados divulgados pelo Ministério da Saúde afirmam que para cada R\$1,00 investido no setor de saneamento, economiza-se R\$ 4,00 na área de medicina curativa<sup>5</sup>.

A ausência de uma definição clara das responsabilidades peculiares à União, estados, Distrito Federal e municípios tornou difusa a aplicação dos recursos em saneamento, não respeitando uma visão de planejamento global dos investimentos. Além disso, o setor apresenta baixa capacidade de endividamento das organizações estatais e pequena participação do setor privado<sup>12</sup>.

Mas a natureza não é uma fonte inesgotável de recursos, que pode ser depredada em ritmo ascendente, sem controle para alavancar o consumismo. É preciso ter relações harmônicas e equilibradas, evitando a degradação do meio ambiente e de fontes preciosas de matérias-primas<sup>5</sup>.

Conforme, Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Rio Grande do Norte a implantação de sistemas de tratamento da água e esgoto tem aspectos positivos, tais como a geração de emprego e renda, promoção da saúde, bem estar e justiça social, favorece o desenvolvimento social e econômico<sup>13</sup>. Porém durante a implantação e manutenção também causam prejuízos ao meio ambiente como: alteração da paisagem natural, interferência no patrimônio arqueológico, histórico e cultural, interferência em áreas sensíveis ou protegidas, instabilidade de terrenos e taludes, perturbação e afugentamento da fauna, degradação hídrica, danos a saúde e bem estar por acidentes diversos, inundação e degradação do solo.

A Política Nacional dos Resíduos Sólidos, se refere aos artigos:

Art. 18. A elaboração de plano municipal de gestão integrada de resíduos sólidos, nos termos previstos por esta lei, é condição para o Distrito Federal e os municípios terem acesso a recursos da União, ou por ela controlados, destinados a empreendimentos e serviços relacionados à limpeza urbana e ao manejo de resíduos sólidos, ou para serem beneficiados por incentivos ou financiamentos de entidades federais de crédito ou fomento para tal finalidade<sup>14</sup>.

E Art. 19. O plano municipal de gestão integrada de resíduos sólidos tem o seguinte conteúdo mínimo:

I – diagnóstico da situação dos resíduos sólidos gerados no respectivo território, contendo a origem, o volume, a caracterização dos resíduos e as formas de destinação e disposição final adotadas;

II – identificação de áreas favoráveis para disposição final ambientalmente adequada de rejeitos, observado o plano diretor de que trata o § 1º do art. 182 da Constituição Federal e o zoneamento ambiental, se houver;

III – identificação das possibilidades de implantação de soluções consorciadas ou compartilhadas com outros municípios, considerando, nos critérios de economia de escala, a proximidade dos locais estabelecidos e as formas de prevenção dos riscos ambientais;

[...] XIV – metas de redução, reutilização, coleta seletiva e reciclagem, entre outras, com vistas a reduzir a quantidade de rejeitos encaminhados para disposição final ambientalmente adequada; [...] <sup>14</sup>.

#### 4. CONCLUSÃO

Pode ser observado que a precariedade das condições de saneamento básico praticadas nos municípios é um dos principais fatores veiculadores de doenças humanas. As quais poderiam ser evitadas com melhores condições de higiene, tratamento de esgoto, respeito ao meio ambiente e cumprimento do que está previsto em lei.

Espera-se que com a Política Nacional de Resíduos Sólidos seja implantada de forma adequada para haver condições de saúde da população em geral, diminuindo os casos de doenças, mortalidade, perdas ao trabalho dos cidadãos. Além disso, diminuição dos gastos como saúde, melhor qualidade de vida, ou seja, melhor desenvolvimento do país no que envolve saúde e meio ambiente.

É necessário um olhar mais atento por parte das autoridades políticas, pois já se percebe perdas devido ao descaso ou falta de atenção frente à questão saneamento básico. Visto que, um dos direitos do ser humano, previsto em lei é o de ter dignidade a vida, dentre outros que envolvem a vida de outros seres vivos.

#### REFERÊNCIAS

- [1] Brasil. Lei n. 5.296, de 2 de dezembro de 2004. Regulamenta as Leis nos 10.048, de 8 de novembro de 2000, que dá prioridade de atendimento às pessoas que especifica, e 10.098, de 19 de dezembro de 2000, que estabelece normas gerais e critérios básicos para a promoção da acessibilidade das pessoas portadoras de deficiência ou com mobilidade reduzida, e dá outras providências. [acesso 07 maio 2014]. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2004/decreto/d5296.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/decreto/d5296.htm)
- [2] Souza MS. Meio ambiente urbano e saneamento básico. Rev Geograf UFC: Mercator 2002; 1(1):41-52.
- [3] Kobiyama M, Mota AA. Recursos hídricos e saneamento. In: Seminário Saneamento Ambiental (2008: Rio Negrinho), Rio Negrinho: ACIRNE, Anais; 2008. CD-rom. 33p.
- [4] Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Manual de saneamento. 3ª ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 2004.
- [5] Guimarães AJA, Carvalho DF, Silva LDB. Saneamento e meio ambiente. Ago. 2007. [acesso 07 maio 2014]. Disponível em: <http://www.ufrj.br/institutos/it/deng/leonardo/download/APOSTILA/Apostila%20IT%20179/Cap%203.pdf>
- [6] Brasil. Confederação Nacional dos Municípios. Saneamento básico para gestores públicos. Brasília, 2009.
- [7] Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 3., 2011, Londrina. Anais eletrônicos... Londrina-PE: Campus Piza/UNOPAR; 2011. [acesso 07 maio 2014]. Disponível em: <http://www.ibeas.org.br/congresso/anais.htm>
- [8] Cezar-Vaz MR, Weis AL, Costa VZ, Soares JFS, Bonon CA, Cardoso LS, et al. Estudos com enfermeiros e médico da atenção básica à saúde: uma abordagem socioambiental. Texto e Contexto Enfermagem 2007; 16(4):645-53. [acesso 07 maio 2014]. Disponível em: <https://www.nescon.medicina.ufmg.br/biblioteca/imagem/0536.pdf>
- [9] Severino AJ. Metodologia do trabalho científico. 23ª ed., rev. e atual. São Paulo: Cortez; 2007.
- [10] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000. Rio de Janeiro: IBGE; 2002.

- [11] Brasil. Constituição (1988). Constituição da República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal; 1988.
- [12] Leoneti AB, Prado EL, Oliveira SVW. Saneamento básico no Brasil: considerações sobre investimentos e sustentabilidade para o século XXI. *Rev Adm Pública* 2011; 45(2). [acesso 07 maio 2014].  
[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-76122011000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-76122011000200003&script=sci_arttext)
- [13] Rio Grande do Norte (Estado). Companhia de Águas e Esgotos do Rio Grande do Norte – CAERN. Manual de impactos ambientais do saneamento. Natal, ago. 2013. 136 p.
- [14] Brasil. Política Nacional de Resíduos Sólidos. 2ª ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara; 2012. 73 p. (Série legislação; n. 81).

