

# TÓPICOS EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE

PESQUISAS E INOVAÇÃO  
NA AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL

ORGANIZADORES  
*Marta Adelino da Silva Faria*  
*Mauro Jorge Ribeiro*  
*Paula de Lacerda Santos Ribeiro*

# TÓPICOS EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE:

Pesquisas e Inovação na Amazônia Sul Ocidental

Marta Adelino da Silva Faria  
Mauro Jorge Ribeiro  
Paula de Lacerda Santos Ribeiro  
**(Organizadores)**



**Edufac**

Edufac 2017

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora da Universidade Federal do Acre (Edufac),

Campus Rio Branco, BR 364, Km 4,

Distrito Industrial — Rio Branco-AC, CEP 69920-900

68. 3901 2568 — e-mail [edufac.ufac@gmail.com](mailto:edufac.ufac@gmail.com)

Feito Depósito Legal

Editora Afiliada



Associação Brasileira  
das Editoras Universitárias

# **TÓPICOS EM BIOTECNOLOGIA E BIODIVERSIDADE:**

**Pesquisas e Inovação na Amazônia Sul Ocidental**

Marta Adelino da Silva Faria  
Mauro Jorge Ribeiro  
Paula de Lacerda Santos Ribeiro  
**(Organizadores)**



**Tópicos em biotecnologia e biodiversidade:  
Pesquisas e inovação na Amazônia Sul Ocidental**

ISBN: 978-85-8236-053-8

Copyright © Edufac 2017, Marta Adelino da Silva Faria, Mauro Jorge Ribeiro, Paula de Lacerda Santos Ribeiro (Organizadores)

Editora da Universidade Federal do Acre - Edufac

Rod. BR 364, Km 04 • Distrito Industrial

69920-900 • Rio Branco • Acre

**Diretor**

José Ivan da Silva Ramos

**CONSELHO EDITORIAL**

Adailton de Sousa Galvão, Antonio Gilson Gomes Mesquita, Bruno Pereira da Silva, Carla Bento Nelem Colturato, Damián Keller, Eustáquio José Machado, Fabio Morales Forero, Jacó César Piccoli, José Ivan da Silva Ramos, José Mauro Souza Uchôa, José Porfiro da Silva, Lucas Araújo Carvalho, Manoel Domingos Filho, Maria Aldecy Rodrigues de Lima, Raimunda da Costa Araruna, Simone de Souza Lima, Tiago Lucena da Silva, Yuri Karaccas de Carvalho.

**Secretária Geral**

Ormifran Pessoa Cavalcante

**Editora de Publicações**

Jocília Oliveira da Silva

**Revisão de Texto**

Gabriela Maria de Oliveira Codinhoto

**Design Editorial**

Edil Gomes (edil2003@bol.com.br)

**Arte da Capa**

Gilberto Braga de Melo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

T674t Tópicos em biotecnologia e biodiversidade: pesquisas e inovação na Amazônia Sul Ocidental / Marta Adelino da Silva Faria, Mauro Jorge Ribeiro, Paula de Lacerda Santos Ribeiro; Organizadores. - Rio Branco: Edufac, 2017.

184 p. : il.

ISBN: 978-85-8236-053-8

Colaboração de vários autores.

1. Biotecnologia. 2. Biodiversidade. 3. Pesquisa – Amazônia Sul Ocidental. 4. Acre. I. Título. II. Faria, Marta Adelino da Silva. III. Ribeiro, Mauro Jorge. IV. Ribeiro, Paula de Lacerda Santos.

CDD: 620.82098112

---

Bibliotecária: Vivyanne Ribeiro das Mercês Neves CRB-11<sup>o</sup>/600

# Agradecimento

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (Rede Bionorte), pelo fortalecimento dos laços de cooperação entre docentes, discentes e os setores público e privado;

À Universidade Federal do Acre, através de suas unidades – em especial à Unidade de Tecnologia de Alimentos (Utal) – pela cessão de laboratórios e apoio material e técnico;

Ao Governo do Estado do Acre, por meio da Fundação de Amparo à Pesquisa (Fapac), pelo financiamento de projetos no âmbito de Editais como o PPSUS e de Fomento a Pesquisa e Inovação (2013); também à Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (Funtac), responsável pela administração da Fábrica de Preservativos Masculinos Xapuri (Natex) e Laboratório de Produtos Naturais (LPN), pelo apoio técnico à realização de pesquisas;

À Embrapa Acre e Embrapa Cenargen, pelo apoio técnico e cessão de pessoal, equipamentos e laboratórios, contribuindo para o desenvolvimento dos projetos da rede Bionorte, Polo Acre;

Às Agropecuárias Ipê (Rio Branco-AC) e Asa Branca (Capixaba-AC), pela cessão de área experimental.

Ao Departamento Técnico da Polícia Federal do Acre.



# Prefácio

A Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) da Organização das Nações Unidas – ONU, em seu artigo 2º, define biotecnologia como qualquer aplicação tecnológica que utilize sistemas biológicos, organismos vivos, ou seus derivados, para fabricar ou modificar produtos ou processos para utilização específica. Porém uma definição mais ampla de Biotecnologia é o uso de organismos vivos, ou parte deles, para a produção de bens e serviços. Nessa definição se enquadram atividades que o homem vem desenvolvendo há milhares de anos para sua subsistência, como a produção de alimentos fermentados – pão, vinho, iogurte, cerveja e outros. Por outro lado, a Biotecnologia moderna se considera aquela que faz uso da informação genética, incorporando técnicas de DNA recombinante, e que combina disciplinas tais como genética, biologia molecular, bioquímica, embriologia e biologia celular com engenharia química, tecnologia da informação, robótica, bioética e a nanobiotecnologia.

Já a Biodiversidade, segundo a Wikipédia, a enciclopédia livre, pode ser definida como a diversidade da natureza viva. Refere-se tanto ao número de diferentes categorias biológicas quanto à abundância relativa – equitatividade – dessas categorias. E inclui variabilidade ao nível local, complementaridade biológica entre habitats e variabilidade entre paisagens, incluindo, assim, a totalidade dos recursos vivos, ou biológicos, e dos recursos genéticos e seus componentes.

Dessa forma, a Biodiversidade, pode ser definida como a variabilidade entre os seres vivos de todas as origens, como a terrestre, a marinha e outros ecossistemas aquáticos e os complexos ecológicos dos quais fazem parte. Essa variabilidade aparece apenas como resultado da natureza em si,



sem sofrer intervenção humana, e pode variar de acordo com as diferentes regiões ecológicas. Refere-se, portanto, à variedade de vida no planeta Terra, incluindo a variedade genética dentro das populações e espécies, a variedade de espécies da flora, da fauna, de fungos macroscópicos e de microrganismos, a variedade de funções ecológicas desempenhadas pelos organismos nos ecossistemas; e a variedade de comunidades, habitats e ecossistemas formados pelos organismos.

Apesar de termos definições tradicionais de Biodiversidade, que expusemos aqui, não há um consenso sobre a definição de tal conceito. A proposta da Wikipedia inclui a diversidade dentro da espécie, entre espécies e diversidade comparativa entre ecossistemas. Outra definição, mais desafiante, envolve a totalidade dos genes, espécies e ecossistemas de uma região. Essa definição unifica os três níveis tradicionais de diversidade entre seres vivos: diversidade genética (diversidade dos genes em uma espécie); diversidade de espécies (diversidade entre espécies); diversidade de ecossistemas (diversidade em um nível mais alto de organização, incluindo todos os níveis de variação desde o genético).

A Biodiversidade não existe para prover o homem de substratos, ativos químicos, biológicos, microbiológicos ou alimentícios, mas, sobretudo para oferecer à inteligência humana e ao planeta algo imprescindível para a existência e permanência da sua espécie: A INFORMAÇÃO, sem a qual não haveria Ciência.

O livro “Tópicos em Biotecnologia e Biodiversidade: Pesquisas e Inovação na Amazônia Sul Ocidental” é uma obra que abrange múltiplas áreas do conhecimento representadas pela Biotecnologia e Biodiversidade. Encontra-se organizado em capítulos cujos conteúdos se entrelaçam, formando um mosaico de conhecimentos com precisa sutileza, desvendando os segredos de uma das regiões de maior biodiversidade do planeta Terra, a Amazônia Sul Ocidental.

O leitor poderá acompanhar no capítulo um, ensaios para avaliar a influência do preparo do solo e do manejo da fertilidade, representados por atributos químicos, e na diversidade da comunidade bacteriana, utilizando técnicas de PCR-DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*).

Nos capítulos dois e oito o leitor poderá conhecer as ameaças fitossanitárias na implantação de espécies de Eucalipto no baixo Acre e como utilizar alternativas para renovação de pastagens na Amazônia.

A eletroflotação e eletrocoagulação, técnicas eletroquímicas para tratamento de efluentes industriais em diversos segmentos, e o uso de peixes como modelo biológico em pesquisas de toxicidade e aplicação dos índices bióticos para avaliação da qualidade ambiental de sistemas aquáticos lóticos são tecnologias utilizadas para entender e combater a ameaça que o meio ambiente vem sendo submetido, e são abordados nos capítulos três, nove e dez.

Nos capítulos quatro, seis e sete o leitor encontrará uma revisão da literatura científica sobre nanopartícula lipídica sólida, com ênfases às técnicas de síntese e técnicas de nanoencapsulamento de fármacos; técnicas na extração do óleo de peixe, identificação, análise e nanoencapsulamento; encontrará, também, farta revisão sobre nanopartículas de óxido de ferro, destacando o campo de aplicação em nanotecnologia médica.

A influência de fatores importantes a serem considerados dentro dos processos de extração do lapachol e a identificação dos efeitos biológicos da secreção da pele dos anfíbios da família *Hylidae*, são disponibilizados aos leitores nos capítulos cinco e onze dessa obra.

Por fim, o leitor encontrará um estudo muito interessante sobre Terapia Fotodinâmica (TFD) e Fotossensibilizantes, destacando-se como uma forma relativamente nova de tratar o cancro. Embora grande parte do uso da TFD se centre na oncologia, outras doenças como a degeneração macular da retina, a psoríase, a artrite reumatóide sistêmica e as infecções fúngicas são tratadas por essa terapia.

**Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria**

Professor na Universidade Federal do Acre – Ufac, Engenheiro Químico, Mestre em Tecnologia de Alimentos, Doutor em Biotecnologia e Pós-doutor em Nanobiotecnologia no Centro de Nanociência e Nanotecnologia (CNANO-UnB).



# Apresentação

Esta obra é um retrato da diversidade amazônica e das oportunidades em pesquisas biotecnológicas, produzida sob o recorte do olhar científico. Resultado de esforços de vários autores com conhecimentos multidisciplinares, tal obra envolve temas que ampliam os horizontes da pesquisa científica e da inovação tecnológica, revisando aspectos multidisciplinares que traduzem o amplo espectro de estudos implementados no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Polo Acre.

Este livro abrange os desafios e perspectivas de pesquisadores locais, a fim de tornar a região de maior biodiversidade do mundo em um ambiente de geração de oportunidades. Em 12 capítulos, a publicação reúne temas de alta relevância para as nossas comunidades, seja através de revisão bibliográfica, que dá sustentação às pesquisas desenvolvidas, seja apresentando resultados de estudos realizados, que por sua vez não se deixam limitar pela certeza do sucesso. Ao contrário, faz da incerteza um importante elemento para a geração do conhecimento aplicado.

Não há exclusão de nenhum tema relevante para o desenvolvimento de atividades econômicas na Amazônia. No entanto, os conteúdos destes capítulos revelam a busca pelo desenvolvimento sustentável da região ao ampliar o conhecimento e propor alternativas para tratamento de doenças em seres humanos e plantas. As alternativas de estudos contemplam compostos orgânicos ou químicos, melhoramento do uso da água e do solo na região, além de revelar aplicações futuras em biotecnologias, ainda que em áreas não totalmente consolidadas na região, como no caso da nanobiotecnologia.

No mundo atual, a facilidade de acesso à informação e a velocidade com que ela acontece ampliam os desafios de fazer novas publicações científicas. O objetivo dos temas aqui abordados, a partir de uma linguagem acessível, é servir de suporte a todos os envolvidos em cursos de graduação e pós-graduação, além de alcançar outros públicos, notadamente, profissionais do setor agrícola, de fármacos, da área biológica, das engenharias e afins.

Os autores.

# Sumário

<b>1</b>	<b>ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS EM SISTEMAS DE MANEJO DE SOLO NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA:</b> resultados de pesquisas Lucielio Manoel da Silva; Adriana Pereira da Silva; Tatiana de Campos; Luís Claudio de Oliveira; Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez; Paulo Guilherme Salvador Wadt; Mariângela Hungria.....	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL DE IGARAPÉS:</b> alternativas para o oeste amazônico Diego Viana Melo Lima; Lisandro Juno Soares Vieira.....	<b>31</b>
<b>3</b>	<b>DOENÇAS FOLIARES DO EUCALIPTO NO BAIXO ACRE:</b> as ameaças fitossanitárias na implantação Charlys Roweder; Amauri Siviero, Nei Sebastião Braga Gomes; Williane Bianca da Silva Souza.....	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>ECOTOXICOLOGIA:</b> o uso de peixes em pesquisas no Brasil Paula de Lacerda Santos Ribeiro; Isabela Cristina Picolo; Williane Silva do Nascimento; Matheus Calixto Moura; Junio Roney Lima Dantas; Francisco Glauco de Araújo Santos; Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti; Lisandro Juno Soares Vieira.....	<b>55</b>
<b>5</b>	<b>IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO UTILIZADO PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXES:</b> técnicas utilizadas Esperanza Lucila Hernández Angulo; Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez; Fernando Sergio Escócio Drummond Viana Faria; Marcelo de Melo Silva .....	<b>67</b>

<b>6 LAPACHOL:</b> métodos de extração. Uma avaliação dos processos e do rendimento através da revisão bibliográfica Marcelo Hubner Moreira; Alcides Loureiro Santos.....	<b>77</b>
<b>7 NANOPARTÍCULA LIPÍDICA SÓLIDA:</b> técnicas de preparo, agentes surfactantes, equilíbrio hidrófilo-lipófilo, bases lipídicas e fármacos encapsulados Marta Adelino da Silva Faria; Miguel Adelino da Silva Filho; Gabriel Silva Marques Borges; Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria; Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez; Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito.....	<b>87</b>
<b>8 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS E SUAS APLICAÇÕES BIOMÉDICAS</b> Jones Willian Soares de Queiroz; Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez	<b>103</b>
<b>9 PLANTIO DIRETO DE PASTO:</b> alternativa para renovação de pastagens na Amazônia Ocidental Mauro Jorge Ribeiro; Carlos Maurício Soares de Andrade.....	<b>119</b>
<b>10 PROCESSOS ELETROQUÍMICOS:</b> alternativas para o tratamento de efluentes industriais na Amazônia Sul Ocidental Julio Cesar Pinho Mattos; Lisandro Juno Soares Vieira; Camilo Lélis de Gouveia.....	<b>135</b>
<b>11 REVISÃO SOBRE OS COMPONENTES DA SECREÇÃO DA PELE DA FAMÍLIA HYLIDAE (AMPHIBIA, ANURA) E SEUS EFEITOS BIOLÓGICOS</b> Elvira Maria Farias de Bayá; Moisés Barbosa de Souza.....	<b>151</b>
<b>12 TERAPIA FOTODINÂMICA:</b> perspectiva de fotossensibilizante e carreadores para o tratamento de melanoma Cydia de Menezes Furtado; Igor Anatolievich Degterev; Clarice Maia Carvalho; Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria.....	<b>159</b>
<b>AUTORES</b> .....	<b>177</b>

# 1

## ATRIBUTOS QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS EM SISTEMAS DE MANEJO DE SOLO NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA:

resultados de pesquisas

Lucielio Manoel da Silva

Adriana Pereira da Silva

Tatiana de Campos

Luís Claudio de Oliveira

Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Paulo Guilherme Salvador Wadt

Mariangela Hungria

O sistema de cultivo tradicional na Amazônia normalmente é praticado sem adubação química, aproveitando apenas o estoque natural de nutrientes do solo. Essa prática resulta no esgotamento da fertilidade do solo e no abandono das áreas após alguns anos de cultivo. Como consequência, ocorre o desmatamento de novas áreas de vegetação natural, para instalação de novos cultivos (COSTA et al., 2014). Entretanto, a pressão ambiental para diminuir o desmatamento na Amazônia tem conduzido à busca de práticas agrícolas que evitem a abertura de novas áreas (CRAVO et al., 2012); entre estas práticas, está o manejo adequado do solo.

A difusão de práticas agrícolas que contribuam para a conservação do solo e da água na Amazônia pode contribuir para reverter os processos



de degradação das terras associados à agricultura tradicional. Dentre essas práticas conservacionistas podem-se citar o sistema de plantio direto, a rotação de culturas e o uso de adubos verdes, por seus efeitos na melhoria das características químicas, físicas e biológicas do solo e pelos benefícios para a conservação da fertilidade (HUNGRIA et al., 2009; BABUJIA et al., 2010; BODDEY et al., 2010; GIL et al., 2011; FRANCHINI et al., 2012; SILVA et al., 2014). A adoção de técnicas de manejo do solo que resultem em redução dos processos erosivos, além de manter a fertilidade do solo por maiores períodos de tempo, também pode impactar positivamente na redução do desmatamento de novas áreas.

Deve-se considerar, ainda, que existem no solo diversas inter-relações entre os atributos químicos, físicos e biológicos que controlam os processos relacionados ao fornecimento natural e antrópico de nutrientes para o desenvolvimento das plantas cultivadas e que qualquer alteração no uso do solo reflete diretamente estrutura e atividade microbiológica e, conseqüentemente, em sua fertilidade (KASCHUK et al., 2010). Deve-se destacar, também, que em uma análise de parâmetros microbiológicos nos ecossistemas brasileiros, os solos da Amazônia foram os mais sensíveis ao impacto pela introdução de atividades agropecuárias (KASCHUK et al., 2011). A avaliação do impacto dos sistemas de manejo e de uso do solo em seus atributos, particularmente microbiológicos é, portanto, de extrema importância para identificar agroecossistemas com maior sustentabilidade.

Matoso et al. (2012), em estudos que avaliam o teor de carbono (C) em diversos sistemas de manejo do solo na região Amazônica, verificaram que o sistema tradicional de cultivo acumulou mais C que os sistemas de cultivo mínimo e plantio direto na camada de 0-10 cm, fato atribuído ao acúmulo da massa vegetal durante o período de pousio do solo, depois incorporada na etapa de preparo do solo para o plantio. Já Cravo et al. (2012) ao avaliarem o efeito residual da calagem nos atributos químicos após quatro anos da aplicação em Latossolo Amarelo Distrófico na região Amazônica, verificaram que essa prática contribui para elevação do teor de cálcio  $Ca^{+2}+Mg^{+2}$  e redução da saturação por alumínio, proporcionando maior produtividade das culturas. A aplicação de calcário pode influenciar

positivamente ou negativamente a comunidade microbiana do solo. Xue et al. (2010), em estudos com dose de calcário, constataram que doses até 3,2 g kg<sup>-1</sup> de solo podem favorecer a comunidade microbiana.

Diante do exposto, o objetivo desse capítulo é apresentar dados de pesquisas sobre a influência do preparo do solo e do manejo da fertilidade, em atributos químicos e na diversidade da comunidade bacteriana em um Argissolo Amarelo distrófico representativo de áreas de cultivo da mandioca (*Manihot sculenta* Crantz) no sudoeste da Amazônia.

## DESCRIÇÃO DO EXPERIMENTO E AMOSTRAGEM DO SOLO

O experimento foi implantado em um Argissolo Amarelo distrófico em área de produtor rural, localizada no sudoeste da Amazônia, no município de Mâncio Lima, no Acre (7° 28' 39" S, 72° 56' 36" W).

O experimento foi estabelecido em 2006, com um delineamento em blocos ao acaso com três repetições, em arranjo de parcelas subdividas. As parcelas principais consistiram de dois sistemas de preparo do solo adequados ao nível tecnológico regional: 1) sistema tradicional (ST), com gradagem leve em uma única operação realizada no estabelecimento do experimento, com revolvimento do solo até a profundidade de 20 cm; e 2) sistema alternativo (SA), sem o revolvimento do solo, sendo realizada apenas capina manual da vegetação espontânea, evitando-se a remoção dos restos vegetais da superfície do solo.

Cada sistema de preparo do solo foi subdivido em cinco subparcelas e submetido a diferentes manejos de fertilidade (fertilizante mineral e adubação verde) e corretivo: i) testemunha (T); ii) mucuna preta (*Mucuna aterrima* Piper & Tracy) como adubo verde (M); iii) mucuna preta com aplicação de fósforo (M+P); iv) mucuna preta com aplicação de calcário (M+CaCO<sub>3</sub>); v) mucuna preta com aplicação de P e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>). As dimensões das parcelas foram de 50m x 40m e das subparcelas de 10m x 20m. No estabelecimento do ensaio, em 2006, nas subparcelas com presença de P foram aplicados 23 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, utilizando-se como fonte o superfosfato triplo. Nas parcelas com aplicação de calagem, aplicaram-se 3 Mg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico, correspondente a 100% de PRNT. A aplicação, tanto do P

como do calcário foi realizada a lanço. Em seguida, realizou-se em dezembro de 2006 a semeadura da mucuna preta, também a lanço. Em maio de 2007, antes do plantio da mandioca, a mucuna preta foi triturada com rolo-faca tracionado por animal.

No período de 2007 a 2010, o manejo do experimento consistiu do plantio de mandioca em todas as parcelas. Em dezembro de 2007 foi realizada adubação potássica entre as linhas, com  $72 \text{ kg ha}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{O}$ , utilizando-se como fonte cloreto de potássio. A colheita da mandioca foi realizada em setembro de 2008, e o crescimento espontâneo da vegetação natural ocorreu desse período até agosto de 2009. A vegetação foi eliminada com roçadeira manual sem incorporar os restos vegetais e, em setembro de 2009, novo plantio de mandioca foi realizado, com colheita em setembro de 2010. Durante o cultivo da mandioca foram realizadas apenas capinas manuais, representando o sistema adotado pelos produtores da região. Os dados apresentados no presente trabalho consistem da análise de amostras de solo coletadas em setembro de 2010 na profundidade de 0-10cm, logo após a colheita da mandioca.

### **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO SOLO**

Inicialmente as amostras de solo foram secas a  $45^\circ\text{C}$  até massa constante e, a seguir, peneiradas em malha de 2 mm. Nessas amostras realizaram-se as análises de pH em água;  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  trocáveis, P e K disponíveis, carbono para estimar a matéria orgânica (M.O), N total, acidez potencial, conforme o manual de análises de solos da Embrapa (2011) e o teor de fósforo remanescente (ALVAREZ, 2000).

### **CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO POR PCR-DGGE**

A avaliação foi realizada pela metodologia de PCR-DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), consistindo da amplificação do DNA com oligonucleotídeos universais para o gene 16S rRNA de bactérias, seguida por eletroforese em géis de gradiente desnaturantes. As amostras de solo destinadas à avaliação da comunidade bacteriana do solo foram acondicionadas em freezer à temperatura de  $-20^\circ\text{C}$  até o momento da análise.

A extração do DNA microbiano foi realizada com o “Ultraclean™ Soil DNA Kit” (MoBioLaboratories, Inc. Califórnia, EUA), conforme os procedimentos recomendados pelo fabricante. Alíquotas do DNA foram analisadas em gel de agarose a 1% (p/v) em 1X TBE para verificar a quantidade e pureza.

Para a amplificação do 16S rDNA da comunidade bacteriana do solo foram realizadas duas reações de PCR. A primeira reação utilizou o par de *primers* FD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') e rD1 (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') (WEISBURG et al., 1991), que amplifica praticamente toda a região do 16S rDNA, com cerca de 1.500 pares de bases (pb). A reação foi realizada nas condições descritas em Silva et al. (2013).

Para a segunda reação que amplifica uma região intragênica do 16S rDNA, com cerca de 600 pb, foi utilizado o par de *primers* F-968 (5'-CGCCCCGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGAACGCGAAGAACCTTAC-3') (NUBEL et al., 1996), com um grampo GC sublinhado e L-1401 (5'- GCGTGTGTACAAGACCC- 3') (MUYZER et al., 1993). A reação foi realizada nas condições descritas em Silva et al. (2013).

Para a eletroforese foi confeccionado um gel de poliacrilamida a 6%, através da combinação de soluções de 100% (7 mol L<sup>-1</sup> ureia e 40% (v/v) formamida) e 0%, (sem ureia e sem formamida), formando-se um gradiente desnaturante de 35% a 65%. Foram aplicados ao gel 20 µL (aproximadamente 300ng do produto de PCR) do produto da segunda reação de PCR. A reação de eletroforese foi realizada em um aparato DCODE vertical (BioRad) com tampão TAE 0,5x, na voltagem de 100V e temperatura de 60°C por um período de 16h. Após a eletroforese o gel foi corado com brometo de etídeo e visualizado sob luz UV.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA E ÍNDICE DE DIVERSIDADE

Os valores para todas variáveis foram estimados por meio do procedimento RSPL (Pseudo Máxima Verossimilhança Residual / Normal). Foi utilizado o procedimento PROC GLIMMIX (SAS 9.2), sendo os efeitos fixos dados por manejo, tratamentos e interação manejo/tratamentos. Efeitos aleatórios foram definidos por blocos dentro de manejo. Médias para os efeitos fixos foram comparadas utilizando o procedimento LSMEANS,

ajustadas por Tukey (SAS 9.2).

Também foi utilizada à técnica multivariada, por meio da análise discriminante canônica para construir um modelo preditivo para agrupamentos baseados nos atributos químicos do solo, utilizando o programa SPSS 15.0.

Os géis de DGGE foram analisados pelo programa Bionumerics software (*Applied Mathematics*, Kortrijk, Belgium, v.4.6) e normalizados usando uma mistura padrão de bactérias, consistindo de adição, em proporções iguais, de *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Methylobacterium*, *Azorhizobium* e *Rhizobium*. Os perfis de DNA obtidos para cada tratamento foram considerados em uma matriz binária de presença ou ausência de bandas, que foi então submetida à análise da distância Euclidiana com o programa SPSS 15.0. A matriz binária também foi usada para estimar os índices de diversidade Shannon (H) (SHANNON; WEAVER, 1949).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ATRIBUTOS QUÍMICOS DO SOLO SOB DIFERENTES MANEJOS

Na comparação dos efeitos dos sistemas de manejo referente ao preparo do solo não houve diferença estatística sobre os atributos químicos (Tabela 1). Dentro de cada sistema de preparo do solo foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos com e sem aplicação de calcário (Tabela 1). Aparentemente não houve efeito da aplicação de fosfato e nem da adubação verde nos atributos químicos dos solos, uma vez que os tratamentos que receberam adição de mucuna e a combinação mucuna para P não diferiram da testemunha.

A ausência de diferenças significativas entre o ST e o SA para os atributos químicos do solo, com destaque para os teores de M.O e N, provavelmente explica-se pelo clima tropical úmido da região (elevado índice pluviométrico e temperaturas elevadas durante todo o ano), que contribui para a rápida decomposição da biomassa vegetal. Além disso, a ausência da influência do preparo do solo nos atributos químicos dos solos possivelmente ocorreu pelo uso da grade leve no ST ter sido realizado apenas na implantação do experimento, quatro anos antes da coleta das amostras de solo usadas

no presente estudo. Trabalho anterior realizado no bioma amazônico aponta para diferenças significativas nos teores de M.O. e N entre os sistemas de plantio direto, cultivo mínimo e convencional, porém com maiores teores de M.O. e N sendo observados no sistema convencional (MATOSO et al., 2012).

Quanto ao efeito na adubação verde no aporte de M.O. dentro de cada sistema de manejo do solo, os resultados obtidos na presente pesquisa foram semelhantes aos encontrados por Longo et al. (2011), os quais observaram não haver diferença estatística no teor de M.O. com o uso da adubação verde com mucuna preta, mesmo quando combinado com a aplicação de calcário.

Com a aplicação de calcário houve aumento nos valores de pH,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  trocáveis e P remanescente e redução da acidez potencial e do teor de  $\text{Al}^{3+}$  trocável e P disponível. Resultados semelhantes foram obtidos por Cravo et al. (2012) que, ao avaliarem o efeito residual da calagem após quatro anos da aplicação do corretivo, em um Latossolo Amarelo distrófico da região Amazônica, cultivado com culturas anuais em sistema de sucessão, constataram a elevação do teor de  $\text{Ca}^{+2}+\text{Mg}^{+2}$  e a diminuição da saturação por  $\text{Al}^{3+}$ . O efeito da neutralização e o incremento nos teores de  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$  pela aplicação de calcário em solo Amazônico também foi verificado em outros trabalhos (PAVÃO et al., 2013; JÚNIOR et al., 2013; LONGO et al., 2011). Um dos objetivos da calagem é o suprimento de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  e diminuição ou neutralização da acidez, benefícios já relatados na literatura em solos das diversas regiões do Brasil (CRAVO et al., 2012; MARCELO et al., 2012; ANJOS et al., 2011) e constatados também neste trabalho.

Quanto à disponibilidade do elemento P, houve diminuição com a aplicação do calcário, em ambos os sistemas, diferindo estatisticamente entre os tratamentos T, M, M+P dos tratamentos  $\text{M}+\text{CaCO}_3$  e  $\text{M}+\text{P}+\text{CaCO}_3$  (Tabela 1).

Tabela 1- Atributos químicos de um Argissolo Amarelo distrófico (0–10 cm) cultivado com mandioca e submetido a diferentes sistemas de preparo do solo e manejo da fertilidade

Característica	Unidade	T	M	M+P	M+CaCO <sub>3</sub>	M+P+CaCO <sub>3</sub>
M.O	g kg <sup>-1</sup>	25,59aA	23,63aA	27,14aA	21,41aA	21,83aA
N	g kg <sup>-1</sup>	1,21aA	1,02aA	1,21aA	1,20aA	1,16aA
pH		5,15bA	5,02bA	5,18bA	5,65aA	5,91aA
P	mg kg <sup>-1</sup>	7,30aA	6,84aA	6,24aA	3,28bA	5,45bA
Prem <sup>2</sup>	mg L <sup>-1</sup>	29,45bA	24,57bA	26,76bA	39,56aA	39,23aA
K <sup>+</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,09aA	0,13aA	0,13aA	0,08aA	0,08aA
Mg <sup>+2</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,29bA	0,26bA	0,21bA	1,69aA	1,06aA
Ca <sup>+2</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,97bA	0,43bA	1,36bA	2,58baA	3,34aA
H+Al	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	5,61aA	6,02aA	6,34aA	2,99bA	4,22bA
Al <sup>+3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	1,26aA	1,68aA	1,38aA	0,24bA	0,22bA
Sistema Alternativo						
M.O	g kg <sup>-1</sup>	22,77aA	22,91aA	17,77aA	26,73aA	24,85aA
N	g kg <sup>-1</sup>	1,03aA	1,08aA	0,97aA	1,05aA	1,25aA
pH		5,03bA	4,89bA	5,11bA	5,92aA	6,21aA
P	mg kg <sup>-1</sup>	9,09aA	6,19aA	7,09aA	4,42bA	5,45bA
Prem <sup>2</sup>	mg L <sup>-1</sup>	30,57bA	28,87bA	28,44bA	39,03aA	40,90aA
K <sup>+</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,10aA	0,09aA	0,11aA	0,07aA	0,09aA
Mg <sup>+2</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,28bA	0,21bA	0,22bA	1,60aA	2,03aA
Ca <sup>+2</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	0,72bA	0,57bA	0,60bA	3,62aA	3,83aA
H+Al	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	6,08aA	6,07aA	5,80aA	3,50bA	2,77bA
Al <sup>+3</sup>	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	1,55aA	1,91aA	1,42aA	0,16bA	0,05bA

Sistema de preparo do solo: ST- Sistema tradicional com uma gradagem leve antes do plantio; SA - Sistema alternativo sem revolvimento do solo. Manejos da fertilidade: Testemunha (T); Mucuna preta (M); Mucuna preta e P (M+P); Mucuna preta e calcário (M+CaCO<sub>3</sub>); Mucuna preta, P e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>).

<sup>1</sup>Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma linha dentro de cada sistema de manejo do solo não diferem entre si (Tukey, p < 0,05). Letras maiúsculas distintas para o mesmo atributo, entre os sistemas de preparo do solo, indicam diferença estatística (Tukey, p < 0,05). <sup>2</sup>P remanescente.

A menor disponibilidade de P nos sistemas de preparo do solo ST e SA em que foi adicionado calcário pode ser atribuída à reação de fixação de P no solo, provavelmente pelo processo de precipitação com o Ca<sup>2+</sup>, já que nesses tratamentos houve redução do Al<sup>3+</sup> e elevação do pH e do teor

de cálcio. Dado que Costa et al. (2014), ao estudarem a produtividade da mandioca nessa mesma área experimental, observaram diferenças significativas apenas entre a testemunha e os demais tratamentos, não se pode atribuir a exportação de fósforo pela cultura a menor disponibilidade de P no solo, reforçando a possibilidade da calagem ter facilitado a fixação de P por reações de precipitação química.

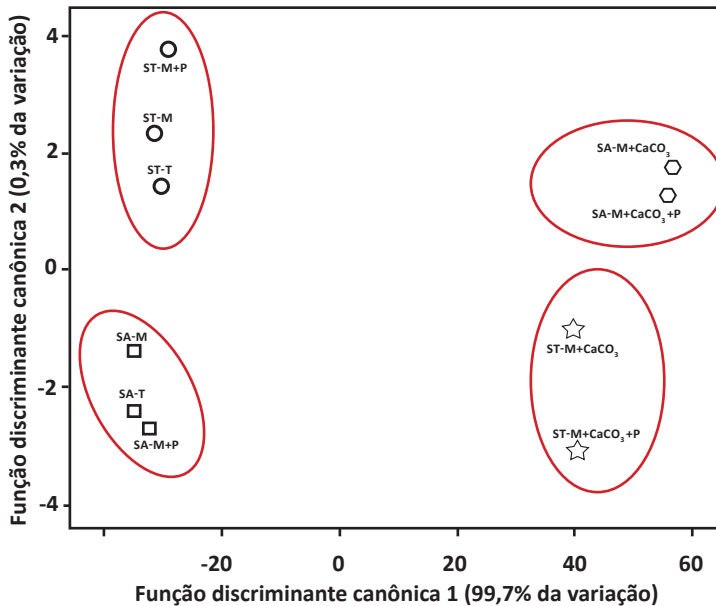
Avaliando a proximidade entre os tratamentos por meio das características químicas do solo por meio de análise discriminante canônica, quatro grupos distintos foram identificados (Figura 1). Em cada sistema de preparo do solo, os tratamentos sem calagem (T, M e M+P) foram posicionados em um grupo, enquanto que os tratamentos com calagem (M+CaCO<sub>3</sub> e M+CaCO<sub>3</sub>+P) ficaram em um segundo grupo (Figura 1), evidenciando o papel da calagem nos atributos químicos do solo.

A primeira função canônica representou 99,7% da variação e distinguiu os tratamentos com e sem calcário (Figura 1), nos quais as variações do C, do P remanescente e do pH apresentaram as maiores correlações com tratamentos em que foi aplicado calcário e os teores de P, N e K com os demais tratamentos em ambos sistemas de preparo do solo.

A segunda função canônica distinguiu os sistemas de preparo do solo (Figura 1), em que as variáveis N, C e pH foram as que se correlacionaram com os tratamentos T, M e M+P no ST e os tratamentos com calagem no sistema SA, enquanto que as variáveis P remanescente, K e P se correlacionaram aos tratamentos T, M e M+P no SA e com os tratamentos com calagem no ST. Embora a segunda função canônica separou os sistemas de preparo do solo, essa função representa apenas 0,3% da variação o que evidencia a influência da calagem nos atributos químicos dos solos em estudo, após quatro anos da aplicação.



**Figura 1.** Análise discriminante com os atributos químicos do solo em diferentes sistemas de preparo do solo e manejo da fertilidade em um Argissolo Amarelo distrófico (0–10 cm) cultivado com mandioca



Sistema de preparo do solo: ST- Sistema tradicional com uma gradagem leve antes do plantio; SA- Sistema alternativo sem revolvimento do solo. Manejos da fertilidade: Testemunha (T); Mucuna preta (M); Mucuna preta e fósforo (M+P); Mucuna preta e calcário (M + CaCO<sub>3</sub>); Mucuna preta, fósforo e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>)

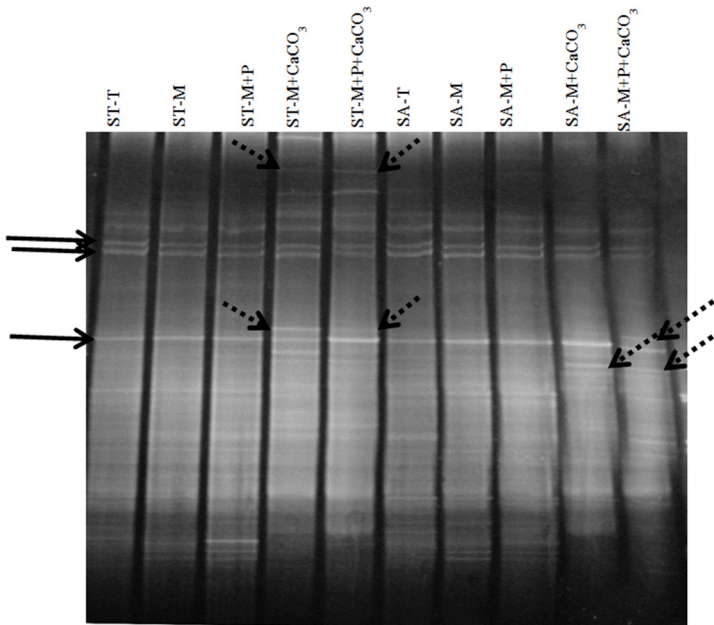
## DIVERSIDADE DA COMUNIDADE BACTERIANA DO SOLO SOB DIFERENTES MANEJOS

A análise dos perfis de DGGE do gene 16S rDNA indicou diferenças entre os sistemas de preparo do solo em função da adição de calcário. Os perfis de DGGE representativos de cada tratamento podem ser visualizados na Figura 2. A análise do perfil da comunidade bacteriana do solo leva em consideração a intensidade das bandas e sua posição no gel. Os perfis de DGGE apresentaram algumas bandas de maior intensidade, correspondentes às comunidades dominantes no solo, e um maior número de bandas de menor intensidade, correspondentes às comunidades menos dominantes. Algumas bandas, representando gêneros/espécies bacterianas estavam presentes em todos os tratamentos, indicando a presença de comunidades já estabelecidas

no solo, independente do manejo.

Nos tratamentos em que foi adicionado calcário, tanto no ST como no SA, verificou-se a presença de bandas distintas que não foram detectadas nos outros tratamentos (Figura 2). Desse modo, os resultados demonstraram que o sistema de manejo e preparo do solo e a aplicação de calcário afetaram qualitativamente a diversidade das comunidades bacterianas.

**Figura 2.** Perfis de PCR-DGGE das comunidades bacterianas de um Argissolo Amarelo distrófico (0–10cm) cultivado com mandioca em diferentes sistemas de preparo do solo e manejo da fertilidade.

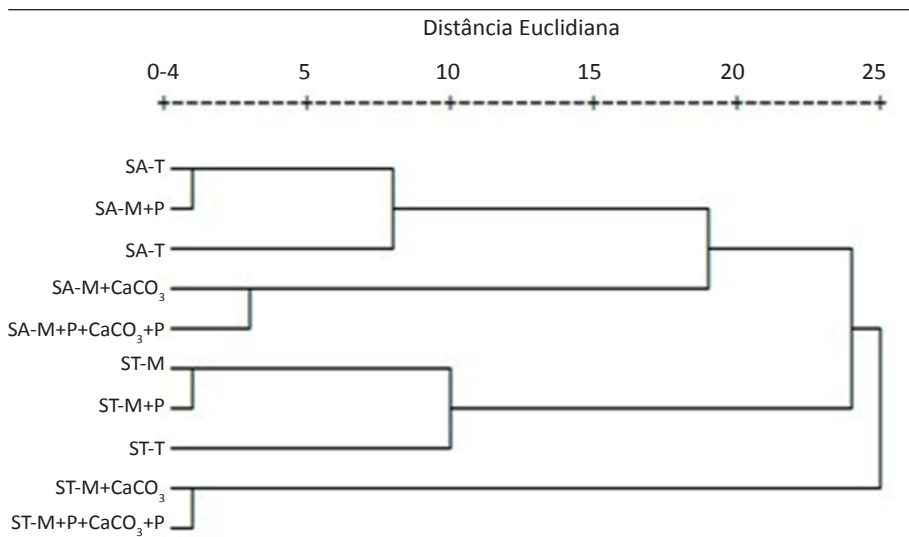


Sistema de preparo do solo: ST - Sistema tradicional com uma gradagem leve antes do plantio; AS - Sistema Alternativo sem revolvimento do solo. Manejos da fertilidade: Testemunha (T); Mucuna preta (M); Mucuna preta e fósforo (M+P); Mucuna preta e calcário (M+CaCO<sub>3</sub>); Mucuna preta, fósforo e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>).

\*Setas contínuas indicam a presença das comunidades comuns a todos os tratamentos. Setas pontilhadas indicam as comunidades presentes em apenas alguns tratamentos.

A análise de agrupamento com base na distância euclidiana separou os tratamentos em dois grandes grupos, representados pelo preparo do solo (Figura 3). A estrutura das comunidades bacterianas das áreas sob SA apresentou similaridade de apenas 20% quando comparada com as áreas sob ST (Figura 3), evidenciando a influência do preparo do solo sobre as comunidades bacterianas. Dentro dos grupos de preparo do solo, ST e SA, houve a formação de subgrupos separando os tratamentos com e sem calcário (Figura 3). Esses subgrupos indicam diferenciação da estrutura da comunidade bacteriana quando o calcário foi adicionado ao solo.

**Figura 3.** Dendrograma de similaridade genética das comunidades bacterianas de um Argissolo Amarelo distrófico (0–10 cm) cultivado com mandioca em diferentes sistemas de preparo do solo e manejo da fertilidade



Sistema de preparo do solo: ST- Sistema tradicional com uma gradagem leve antes do plantio; SA- Sistema alternativo sem revolvimento do solo. Manejos da fertilidade: Testemunha (T); Mucuna preta (M); Mucuna preta e fósforo (M+P); Mucuna preta e calcário (M+CaCO<sub>3</sub>); Mucuna preta, fósforo e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>).

O índice Shannon indicou diferenças na diversidade entre os sistemas de preparo do solo, ST e SA, apenas quando calcário foi adicionado. Foi indicada uma diversidade superior nos tratamentos em que foi aplicado calcário, no sistema alternativo de preparo do solo (Tabela 2). A exemplo dos

atributos dos solos, aparentemente não houve efeito da adubação verde e nem da adubação mineral com a aplicação do fosfato.

**Tabela 2.** Índice de diversidade genética da comunidade bacteriana de um Argissolo Amarelo distrófico (0–10 cm) obtido por perfis de PCR-DGGE em cultivo de mandioca com diferentes sistemas de preparo do solo e manejo da fertilidade

Manejo	T	M	M+P	M+CaCO <sub>3</sub>	M+P+CaCO <sub>3</sub>
	<b>Shannon (H)</b>				
ST	2,865 ± 0,081	2,967 ± 0,075	3,003 ± 0,074	2,415 ± 0,081	2,682 ± 0,078
AS	2,917 ± 0,079	3,015 ± 0,071	2,970 ± 0,069	3,130 ± 0,066	3,086 ± 0,069

Sistema de preparo do solo: ST- Sistema tradicional com uma gradagem leve antes do plantio; SA- Sistema alternativo sem revolvimento do solo. Manejos da fertilidade: Testemunha (T); Mucuna preta (M); Mucuna preta e P (M+P); Mucuna preta e calcário (M+CaCO<sub>3</sub>); Mucuna preta, fósforo e calcário (M+P+CaCO<sub>3</sub>).

Segundo Gil et al. (2011), as alterações na estrutura do solo devido ao intenso revolvimento afetam a percolação de água, temperatura, aeração e aumentam a erosão do solo, reduzindo significativamente as comunidades microbianas. Em contrapartida, sistemas de manejo com menor grau de revolvimento do solo favorecem a formação e estabilização de macroagregados (SILVA et al., 2014), que aliada à proteção do solo mediante cobertura, resulta em maior retenção de umidade, maior efeito rizosférico das culturas, maior disponibilidade de matéria orgânica, melhores condições químicas e físicas do solo, e redução de temperaturas extremas, proporcionando proteção ao habitat dos microrganismos do solo, o que contribui para a maior diversidade microbiana nesses sistemas (GIL et al., 2011).

Embora no presente trabalho não ter sido constatado diferenças no aporte maior da matéria orgânica entre sistemas de preparo do solo nem com aplicação de fertilizantes e corretivo, os outros fatores benéficos proporcionados pelo sistema sem revolvimento do solo, favoreceu a maior diversidade bacteriana no SA quando foi adicionado o calcário.

A comunidade bacteriana responde tanto às práticas de preparo do solo, como também aos fatores ambientais, como o pH; solos com pH superior a 6,0 favorecem a diversidade bacteriana, enquanto em que pH ácido a população bacteriana é reduzida (XUE et al., 2010). Dessa forma,

os tratamentos com aplicação de calcário contribuíram para a elevação do pH que, aliado ao SA com menor mobilização do solo, resultaram em maior diversidade da comunidade bacteriana do solo. Dentro de cada sistema de preparo do solo houve separação dos tratamentos com e sem calcário, similar ao agrupamento dos atributos químicos obtidos com a análise discriminante canônica (Figura 2).

Quanto ao uso do calcário, Xue et al. (2010) avaliaram diferentes doses de calcário que variaram de 0 a 6,4g CaCO<sub>3</sub>/kg de solo na atividade microbiana do solo. Nas doses de calcário de 0 a 3,2g CaCO<sub>3</sub>/kg de solo foi observado aumento da atividade microbiana, porém, doses superiores promoveram um decréscimo na atividade microbiana do solo. No presente estudo, a concentração utilizada foi de 3,0g CaCO<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> de solo, considerando que as amostras analisadas foram da profundidade de 0-10cm e o calcário aplicado a lanço e, de acordo com o intervalo de estudo de Xue et al. (2010), a diversidade deveria ser maior nos tratamentos com aplicação de calcário, fato constatado apenas no sistema alternativo, no qual não houve revolvimento do solo. Neste trabalho a adição de calcário teve papel modulador na diversidade.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Não houve influência, após quatros anos da instalação do experimento, do sistema de preparo do solo, da adubação verde e nem da adubação mineral fosfatada nos atributos químicos do solo.
2. A calagem influenciou nos atributos químicos do solo, aumentando os teores de alguns cátions e pH e reduzindo os teores de alumínio, acidez potencial e a disponibilidade de fósforo.
3. O sistema de preparo do solo combinado com a calagem influenciou positivamente na diversidade bacteriano do solo, sendo maior no sistema sem revolvimento do solo.

## REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, V. H. V.; NOVAIS, R. F.; DIAS, L. E.; OLIVEIRA, J. A. Determinação e uso do fósforo remanescente. **Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 27-32, 2000.
- ANJOS, J. L.; SOBRAL, L. F.; JÚNIOR, M.A.L. Efeitos da calagem em atributos químicos do solo na produção de laranja. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 1138-1142, 2011.
- BABUJIA, L. C.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BROOKES, P. C. Microbial biomass and activity at various soil depths in a Brazilian Oxisol after two decades of no-tillage and conventional tillage. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 2174-2181, 2010.
- BODDEY, R. M.; JANTALIA, C. P.; CONCEIÇÃO, P. C.; ZANATTA, J. A.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; DIECKOW, J.; SANTOS, H. P.; DENARDIN, J. E.; AITA, C.; GIACOMINI, S.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Carbon accumulation at depth in ferralsols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, v. 16, p. 784-795, 2010.
- CHAO, A.; LEE, S. M. Estimating the number of classes via sample coverage. **Journal of the American Statistical Association**, v. 87, p. 210-217, 1992.
- COSTA, F. S.; FILHO, M. D. C.; SANTIAGO, A. C. C.; MAGALHÃES, I. B.; CORDEIRO, L. S.; LIMA, A. P.; MAIA, G. R.; SILVA, E. P.; KLEIN, M. A.; SILVA, F. A. C.; BARDELES, N. G.; QUEIROZ, L. R.; BRITO, E. S. **Agricultura Conservacionista na Produção familiar de mandioca e milho no Juruá, Estado do Acre**: efeitos da adoção nos resultados de safras de 2006 a 2014. (Embrapa, Rio Branco, Acre, 2014, 10 p). (Embrapa. Comunicado técnico 186).
- CRAVO, M. S.; SMYTH, T. J.; BRASIL, C. Calagem em latossolo amarelo distrófico da Amazônia e sua influência em atributos químicos do solo e na produtividade de culturas anuais. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 36, p. 895-907, 2012.
- EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. -. **Manual de métodos de análises de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2011. 230 p.
- FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; TONON, B. C.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N.; TORRES, E. Evolution of crop yields in different tillage and cropping systems over two decades in southern Brazil. **Field Crops Research**, v. 137, p. 178-185, 2012.
- GIL, S. V.; MERILES, J.; CONFORTO, C.; BASANTA, M.; RADL, V.; HAGN, A.; SCHLOTTER, M.; MARCH, G. J. Response of soil microbial communities to different management practices in surface soils of a soybean agroecosystem in Argentina. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, p. 55-60, 2011.
- HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BRANDÃO-JUNIOR, O.; KASCHUK, G.; SOUZA, R. A. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. **Applied Soil Ecology**, v. 42, p. 288-296, 2009.
- JUNIOR, E. F. F.; BRITO, E. S.; ORTEGA, G. P.; MATTAR, E. P. L. Neutralização química de acidez em solos sedimentares da Amazônia Ocidental, Acre. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, p. 1566-1572, 2013.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to

- improve soil quality. **Plant and Soil**, v. 338, p. 467-481, 2011.
- KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 42, p. 1-13, 2010.
- LONGO, R. M.; RIBEIRO, A. I.; MELO, W. J. Uso da adubação verde na recuperação de solos degradados por mineração na floresta amazônica. **Bragantia**, v.70, p. 139-146, 2011.
- MARCELO, A. V.; CORÁ, J. E.; JUNIOR, N. L. A. S. Influence of liming on residual soil respiration and chemical proprieties tropical no-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 35-50, 2012.
- MATOSO, S. C. G.; SILVA, A. N.; FIORELLI-PEREIRA, E. C.; COLLETA, Q. P.; MAIA, E. F. Frações do carbono e nitrogênio de um latossolo vermelho-amarelo distrófico sob diferentes de usos na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v. 42, p. 231-240, 2012.
- MUYZER, G.; DEWAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 695-700, 1993.
- NUBEL, U.; ENGELN, B.; FELSKE, A.; SNAIDR, J.; WIESHUBER, A.; AMANN, R. I. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature-gradient gel electrophoresis. **Journal Bacteriology**, v. 178, p. 5636-5643, 1996.
- PAVÃO, V. M.; COSTA, H. L.; LEITE, L. O.; PEREIRA, C. E. Avaliação da calagem sobre os cultivares na cambará e primavera em um Latossolo de Humaitá-AM. **Revista EDUCAmazônia – Educação Sociedade e Meio Ambiente**, v. X, p. 177-194, 2013.
- SAS®9.2 Language Reference: Dictionary, Second Edition. Copyright © 2009, SAS. **Institute Inc., Cary, NC, USA**. ISBN 978-1-60764-189-6. All rights reserved. Produced in the United States of America.
- SHANNON, C. E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. Tenth printing, 1964, Urbana, University Illinois Press, 1949. 117 p.
- SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; FRANCHINI, J. C.; RALISCH, R.; HUNGRIA, M.; GUIMARÃES, M. F. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. **Soil & Tillage Research**, v. 142, p. 42-53, 2014.
- SILVA, A. P.; BABUJIA, L. C.; MATSUMOTO, L. S.; GUIMARÃES, M. F.; HUNGRIA, M. Microbial diversity under different soil tillage and crop rotation systems in an Oxisol of southern Brazil. **The Open Agriculture Journal**, v. 7, p. 40-47, 2013.
- SPSS. **SPSS Base for Windows**. Version 15.0. Chicago, 2009.
- WEISBURG, W. G.; BARNS, S. M.; PELLETIER, D. A.; LANE, D. J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. **Journal Bacteriology**, v. 173, p. 697–703, 1991.
- XUE, D.; HUANG, X.; YAO, H.; HUANG, C. Effect of lime application on microbial community in acidic tea orchard soils in comparison with those in wasteland and forest soils. **Journal of Environmental Sciences**, v. 22, p. 1253–1260, 2010.

## 2

# AVALIAÇÃO DA QUALIDADE AMBIENTAL DE IGARAPÉS:

alternativas para o oeste amazônico

Diego Viana Melo Lima

Lisandro Juno Soares Vieira

Os recursos naturais estão diretamente relacionados às necessidades da humanidade. Pode-se afirmar que a sobrevivência do homem é uma questão indissociável ao meio em que ele está inserido, levando-o a interagir de maneira mais direta nesses ambientes, promovendo mudanças (em muitos casos profundas e irreversíveis) para atender aos seus diferentes anseios (AMARAL et al., 2015; FEIO et al., 2016).

Entre os recursos naturais mais afetados pelas ações antrópicas estão os ambientes aquáticos nas suas mais diversas formas de existência (lagos, açudes, reservatórios, rios, riachos, bacias etc), onde é possível perceber mudanças na fisionomia, qualidade e estrutura da biota (RUARO et al., 2016). Atividades como agricultura, pesca, recreação, mudanças no uso do solo,



substituição/remoção da vegetação das margens (também denominada *ri-pícola*) e contaminação por insumos agrícolas compõem a lista de ações que danificam o meio ambiente.

Por conta desses múltiplos impactos ao ambiente aquático, vários pesquisadores no mundo voltaram sua atenção para a criação de mecanismos conservacionistas eficazes na tentativa de avaliar, monitorar e recuperar esses ambientes ou ainda evitar que esses impactos aconteçam. Na maioria dos casos, as ações de recuperação ambiental são mais volumosas do que a prevenção, o que tem levado os ecólogos de riacho a desenvolverem um conjunto de ferramentas para avaliar a qualidade desses ambientes (MELO et al., 2015).

No Brasil, há um crescimento considerável em práticas que visam desenvolver ferramentas capazes de avaliar a qualidade ecológica das águas, partindo das avaliações estritamente abiótica para uma abordagem mais robusta que leva em consideração a fauna que ocupa esses locais, cujos efeitos de mudanças em variáveis ambientais podem ser refletidos diretamente sobre as assembleias presentes nesses habitats (VIEIRA; DIAS-SILVA; PACIFICO, 2015).

Vários grupos biológicos são sugeridos por diferentes pesquisadores tais como peixes, algas, macrófitas aquáticas e invertebrados. Todos esses seres vivos apresentam diferenças em seus atributos e/ou comportamentos mediante alterações ambientais, de sorte que as espécies que são mais sensíveis a essas mudanças tendem a reduzir sua abundância ou até desaparecer quando submetidas à poluição e outras com características mais generalistas (ou tolerantes) aumentam drasticamente sua abundância em ambientes inóspitos. Diante desse tipo de comportamento, surge o conceito de bioindicador, ou seja, organismos que são capazes de alterar suas abundâncias mediante as alterações que ocorrem no ambiente (BUSS et al., 2015; MELO et al., 2015).

Isto posto, esse capítulo tem a finalidade de expor uma revisão da literatura sobre o uso de índices bióticos com uso em sistemas lóticos (rios, riachos e igarapés) de água doce no Brasil, com foco em macroinvertebrados bentônicos (MIB) como fundamento desses índices. Essa busca objetivou compreender quais as alternativas presentes nos diferentes estados com potencial uso para o oeste Amazônico, mais especificamente para o estado do Acre.

Para tanto, esta revisão literária se baseou em artigos científicos presentes nas bases de dados da *Web of Science*, *Scopus* e *Scielo*, no período entre 2010 a 2016. As palavras-chave utilizadas foram “*biotic index*”, “*benthic quality index*” e “*macroinvertebrates benthic*”. Foram critérios de exclusão: artigos cujos autores não disponibilizaram a versão completa e os que não aplicaram pelo menos um índice biótico.

### **POR QUE USAR ÍNDICE BIÓTICO?**

O índice biótico é uma ferramenta bastante útil para avaliação de qualidade ambiental (BRAUKO et al., 2016; DOCILE et al., 2016). Tais índices podem utilizar diferentes espécies com características específicas, capazes de refletir oscilações na abundância, presença/ausência e comportamentos variados em função das mudanças que ocorrem na vegetação do entorno. Entre as inúmeras espécies existentes na água doce, há forte propensão para o uso de macroinvertebrados bentônicos pois apresentam respostas a diferentes impactos (AMARAL et al., 2015; GIMENEZ; LANSAC-TOHA; HIGUTI, 2015; MELO et al., 2015).

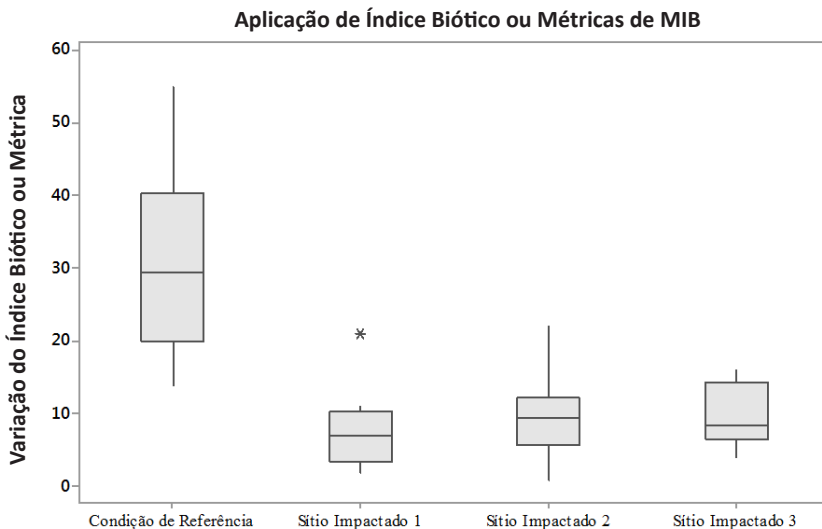
Mas a escolha de um grupo de organismos que atendam às exigências de um índice biótico não é uma tarefa fácil. É importante que se conheça várias informações sobre esses seres vivos e a logística associada ao seu estudo (taxonomia, estrutura de laboratório para análises, equipamentos). Por isso, deve-se preocupar se esse organismo é viável para estudos laboratoriais, compreendendo melhor as características ecológicas e se eles respondem de maneira mais rápida possível às mudanças no ambiente através de alterações na sua comunidade (AGUIAR et al., 2015; YOSHIDA; ROLLA, 2012).

Com isso, pode-se afirmar que um índice biótico integra respostas de vários componentes de assembleia (composição, guildas tróficas, riqueza, dominância, diversidade) os quais relacionam-se diretamente com os impactos causados por pressões antropogênicas, permitindo a correta tomada de decisão com base em um único valor representativo dessas condições ambientais com acurácia aceitável e baixo nível de erro (COPATTI et al., 2013; COUCEIRO et al., 2012).

Outrossim, os índices bióticos são capazes de revelar uma resposta integrada da multiforme pressão gerada pelas atividades humanas, evitando interferências ambientais comuns à comunidade biológica como o feito de escalas espaciais e temporais (MELO et al., 2015; MOLOZZI et al., 2012; SUGA; TANAKA, 2013). O poder e capacidade de resposta de um índice biótico permite a instalação de grandes programas de monitoramento, por exemplo, os programas da Austrália (AUSRIVAS), Europa (RIVPACS) e América do Norte (EPA) (BAILEY; LINKE; YATES, 2014; GRABOWSKI; GURNELL, 2016; PARDO et al., 2012; VISINSKIENE; BERNOTIENE, 2012).

O volume crescente de publicações evidenciam a importância dessa ferramenta e sugerem que essa técnica está consolidada para além dos limites da academia e sua aplicação possui boa acurácia (BUSS et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2011b). Por exemplo, a escolha de áreas de referência com baixo ou nenhum impacto são utilizadas para avaliar outros ambientes que estejam sujeitos a algum tipo de alteração antrópica como desmatamento, agricultura, poluição ou alteração do uso do solo (BAILEY; LINKE; YATES, 2014) (Figura 1).

**Figura 7.** Uso de índice biótico ou métricas de macroinvertebrados bentônicos (MIB) na determinação de impactos ambientais (exemplo hipotético)



A escolha dessas áreas de referência deve seguir a escolha de múltiplos critérios ambientais de maneira que o índice biótico ou métrica de MIB devem refletir apenas o impacto e não as mudanças naturais. Por isso, a comunidade de macroinvertebrados bentônicos encontrada em rios, riachos, lagos tem se destacado como principal grupo de organismos para composição de índices bióticos robustos (BAPTISTA et al., 2011). Mesmo diante dessa realidade, o Brasil ainda não apresenta um programa nacional de biomonitoramento, apesar do crescimento do número de trabalhos sobre índices bióticos. Algumas métricas tem ganhado força e integram os principais índices aplicados a rios e lagos ou sob ajustes no Brasil como o uso de diversidade funcional e filogenética (SIQUEIRA; LACERDA; SAITO, 2015).

### **ESPAIALIZAÇÃO DAS APLICAÇÕES DE ÍNDICES BIÓTICOS NO BRASIL**

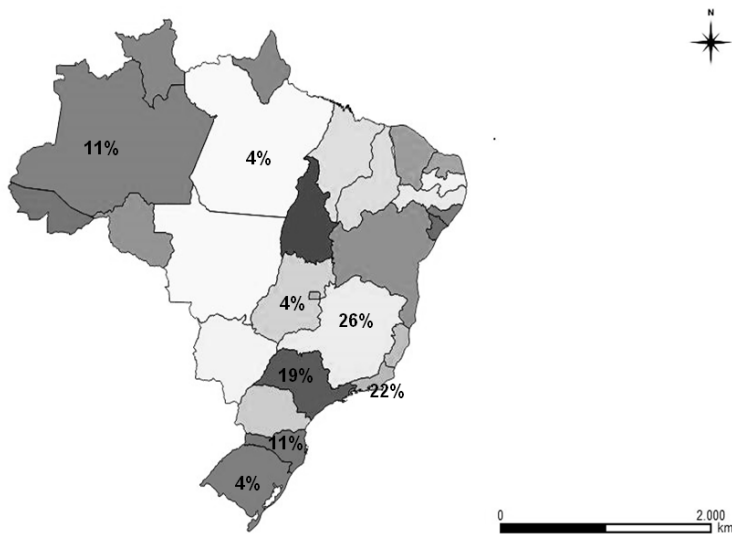
Nos últimos cinco anos o número de publicações envolvendo índices bióticos com uso de macroinvertebrados no Brasil concentrou-se predominantemente em quatro regiões: Sudeste, Sul, Norte e Centro-Oeste. A região Sudeste teve maior volume de publicações com 67% de todos os trabalhos realizados no país, tendo o estado de Minas Gerais como o principal estado a publicar essas pesquisas (figura 2). Nesse estado, o principal impacto analisado foi a urbanização com pouco mais de 50% dos casos (AMARAL et al., 2015; FEIO et al., 2016; FERREIRA et al., 2015; LIGEIRO et al., 2013; MOLOZZI et al., 2012; TANAKA et al., 2016).

O estado do Rio de Janeiro foi responsável por 22% da produção científica sobre índice biótico, com aplicações dessa ferramenta em análises de qualidade ambiental de riachos em regiões sob o efeito do desmatamento e da urbanização (BAPTISTA et al., 2011, 2013; DOCILE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2011a, 2011b). No estado de São Paulo houve maior variedade de impactos analisados pelos índices bióticos. Além de contar com a análise em áreas desmatadas e sob efeitos dos processos de urbanização, identificamos o uso de índices bióticos em riachos dentro de áreas de plantio de monocultura de cana-de-açúcar (SAITO; SIQUEIRA; FONSECA-GESSNER, 2015; SUGA; TANAKA, 2013; VALENTE-NETO et al., 2015; YOSHIDA; ROLLA, 2012).

A região Sul apresentou o segundo maior volume de publicações com

15% do total nos últimos cinco anos, dos quais 11% foram publicados no estado do Paraná (BAGATINI; DELARIVA; HIGUTI, 2012; BRAUKO et al., 2016; FOGAÇA et al., 2013; GIMENEZ; LANSAC-TOHA; HIGUTI, 2015). Essas publicações concentraram-se praticamente na avaliação dos impactos da urbanização, e em menor uso para análise do efeito do desmatamento sobre a qualidade ambiental. Já o Rio Grande do Sul apresentou apenas um trabalho envolvendo esse tema buscando testar a robustez de índices bióticos com uso de macroinvertebrados bentônicos (COPATTI et al., 2013).

**Figura 2.** Distribuição do percentual de publicações sobre índices bióticos no Brasil com uso de macroinvertebrados bentônicos, durante o período de 2010 a 2016.



E por fim, a região Centro-Oeste apresentou apenas um artigo nos últimos cinco anos abordando envolvendo o tema índice biótico com uso de macroinvertebrados (GODOY et al., 2016), seguindo a tendência dos demais estados do país, o impacto submetido à análise foi a urbanização.

Com isso, verifica-se que apenas oito estados brasileiros apresentaram estudos com uso de índice biótico, e há muitas lacunas para ciência. O bioma Mata Atlântica é o mais contemplado com publicações correspondendo a 81% do volume total. O Nordeste não teve publicações e o centro-oeste

com apenas com a publicação do estado de Goiás (figura 1). O bioma Amazônia possui a maior diversidade de seres vivos do planeta e teve poucos avanços na publicação de análises envolvendo índices bióticos.

O estado do Acre integra a lista de locais com carência de publicações sobre essa temática. Quando consideramos o período de amplo desenvolvimento de atividades produtivas, incentivadas especialmente pela política de governo atual, concordamos com a ideia de que o uso de índices bióticos se tornou uma demanda essencial para a qualidade ambiental no estado.

### **ÍNDICES BIÓTICOS: UM MUNDO DE ALTERNATIVAS**

Mas qual o índice biótico que deve-se utilizar no Brasil? Há congruência entre eles? Existe um padrão estabelecido para o Brasil que se aplica para o estado do Acre? A resposta a essas perguntas ainda parece incerta.

Em geral, as avaliações de qualidade ambiental são realizadas com base em múltiplas métricas de macroinvertebrados bentônicos, de modo que as de maior acurácia são utilizadas na construção ou adequação de índices bióticos. Durante a pesquisa bibliográfica foram identificados 77 tipos distintos de métricas aplicadas a pelo menos uma vez. A quantidade dessas métricas geralmente é reduzida em função da similaridade entre elas, o que produz redundância na análise.

Aqui aplicamos a técnica de percentis, de maneira que apenas as métricas acima do percentil 75 foram determinadas como de uso frequente, reduzindo esse número para apenas 18. As métricas selecionadas foram: % Chironomidae, % Coleoptera, % Diptera, % Ephemeroptera, % EPT (Ephemeopretra, Plecoptera e Trichoptera), % Fragmentador, % Plecoptera, % Predador, % Raspador, % Trichoptera, diversidade, equitabilidade, abundância de grupos funcionais tróficos, riqueza taxonômica, riqueza EPT (Ephemeopretra, Plecoptera e Trichoptera), Riqueza de famílias, Riqueza de famílias de Plecoptera e Riqueza de famílias de Trichoptera.

Essas métricas devem ser submetidas a análises multivariadas para seleção das potenciais medidas aplicáveis a índices bióticos. As métricas com maior número de repetições são a diversidade (aqui aplicada a gêneros e famílias), riqueza taxonômica e grupos funcionais tróficos. No entanto, é

possível identificar um padrão entre os principais grupos utilizados nessas métricas como é o caso da família Chironomidae e das ordens Plecoptera, Ephemeroptera, Trichoptera.

Quanto aos índices bióticos, registramos a ocorrência de 14 índices que vão desde o uso de modelos tradicionais como o *Biological Monitoring Working Party* (BMWP) com maior frequência de uso, até modelos menos aplicados como o índice BENTIX. O índice mais testado no Brasil é o BMWP e suas variações, sendo o seu uso registrado para os estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná. Este índice fundamenta-se no uso de macroinvertebrados aquáticos, aplicando escores a famílias de MIB, seguindo um gradiente de tolerância dos organismos quanto à poluição orgânica. Esses escores oscilam em uma escala que varia de 1 (mais tolerante) a 10 (mais sensível). Os organismos amostrados são então submetidos a essa pontuação e a soma final desses escores são incluídos em uma das cinco classes existentes: muito crítica, crítica, duvidosa, aceitável e boa (BAGATINI; DELARIVA; HIGUTI, 2012; MOLOZZI et al., 2012).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prática de índices bióticos para avaliação da qualidade ambiental de sistemas aquáticos lóticos está consolidada no mundo e no Brasil, entretanto, aqui ainda se necessita de estender suas aplicações aos diferentes biomas e localidades afim de verificar o comportamento desses medidores.

Grande parte das publicações sobre essa temática ainda se concentram na região Sudeste, porém, é possível notar uma tendência a dispersão dessa prática para o Sul e Norte. Aliás, no Norte do país verifica-se que o grupo de pesquisa do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônicas (INPA) é o pioneiro nessa temática e possuem o maior volume de publicações nesse bioma Amazônia.

No estado do Acre, os estudos com avaliação de qualidade ambiental com uso de MIB é lacunar e demanda maior concentração de pesquisas uma vez que, a exemplo de toda a Amazônia, também sofre com problemas relacionados com o desmatamento e a urbanização, sempre próximos aos principais rios e igarapés, além de suas nascentes.

Outrossim, essa revisão nos permitiu direcionar 18 métricas e um índice biótico que podem ser aplicados para fins de validação de sua acurácia, o que não impede a aplicação de outros índices que também foram frequentes como o IBE-IOC (Índice Biótico Estendido - Instituto Oswaldo Cruz) identificado em 4 trabalhos, todos no Rio de Janeiro. Recomenda-se que qualquer avaliação para o oeste Amazônico tenha que partir desse grupo de métricas e índices bióticos, considerando que o uso dos demais tornaria a análise redundante.

Embora o uso de índices bióticos tenha uma elevada amplitude de alternativas de aplicações, durante esse período foram avaliados praticamente quatro impactos: desmatamento, urbanização, agricultura e pastagem. No oeste Amazônico, é possível identificarmos todos esses impactos com maior ocorrência de desmatamento e pastagem, especialmente nas regiões do Alto e Baixo Acre.

Assim, cabe aos pesquisadores de riacho realizar estudos que verifiquem se todas essas métricas terão a mesma acurácia para identificar impactos antrópicos como desmatamento e urbanização e atribuir os escores aos táxons identificados na região, comparando com áreas de referência e áreas impactadas, com o intuito de estabelecer o perfil de pontuação dessas famílias para aplicação adequada do índice BMWP, considerando ainda as especificidades locais como tipologia de água e tipologia florestal (ROQUE et al., 2012).

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. C. F.; GÜCKER, B.; BRAUNS, M.; HILLE, S.; BOËCHAT, I. G. Benthic invertebrate density, biomass, and instantaneous secondary production along a fifth-order human-impacted tropical river. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 9864–9876, 2015.
- AGUIAR, A. C. F. et al. Benthic invertebrate density, biomass, and instantaneous secondary production along a fifth-order human-impacted tropical river. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 9864–9876, jul. 2015.
- AMARAL, P. H. et al. Influence of Habitat and Land Use on the Assemblages of Ephemeroptera, Plecoptera, and Trichoptera in Neotropical Streams. **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, p. 60–60, 2015.
- BAGATINI, Y. M.; DELARIVA, R. L.; HIGUTI, J. Benthic macroinvertebrate community structure in a stream of the north-west region of Parana State, Brazil. **Biota Neo-**



- tropica**, v. 12, n. 1, p. 307–317, 2012.
- BAILEY, R. C.; LINKE, S.; YATES, A. G. Bioassessment of freshwater ecosystems using the Reference Condition Approach: comparing established and new methods with common data sets. **Freshwater Science**, v. 33, n. 4, p. 1204–1211, 2014.
- BAPTISTA, D. F. et al. Multimetric index for assessing ecological condition of running waters in the upper reaches of the Piabanha-Paquequer-Preto Basin, Rio de Janeiro, Brazil. **Zoologia**, v. 28, n. 5, p. 619–628, 2011.
- BAPTISTA, D. F. et al. Development of a benthic multimetric index for the Serra da Bocaina bioregion in Southeast Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 3, p. 573–583, 2013.
- BRAUKO, K. M. et al. Assessing the suitability of five benthic indices for environmental health assessment in a large subtropical South American estuary. **Ecological Indicators**, v. 64, p. 258–265, 2016.
- BUSS, D. F. et al. Stream biomonitoring using macroinvertebrates around the globe: a comparison of large-scale programs. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 1, p. 2–21, jan. 2015.
- COPATTI, C. E. et al. Bioassessment using benthic macroinvertebrates of the water quality in the Tigreiro river, Jacuí Basin. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 35, n. 4, p. 521–529, 2013.
- COUCEIRO, S. R. M. et al. Effects of anthropogenic silt on aquatic macroinvertebrates and abiotic variables in streams in the Brazilian Amazon. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, n. 1, p. 89–103, 2010.
- COUCEIRO, S. R. M. et al. A macroinvertebrate multimetric index to evaluate the biological condition of streams in the Central Amazon region of Brazil. **Ecological Indicators**, v. 18, p. 118–125, 2012.
- DOCILE, T. N. et al. Macroinvertebrate diversity loss in urban streams from tropical forests. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 4, p. 2–13, 2016.
- FEIO, M. J. et al. Defining and testing targets for the recovery of tropical streams based on macroinvertebrate communities and abiotic conditions. **River research and applications**, v. 22, p. 1085–1095, 2016.
- FERREIRA, W. R. et al. Is the diet of a typical shredder related to the physical habitat of headwater streams in the Brazilian Cerrado? **Annales de Limnologie-International Journal of Limnology**, v. 51, n. 2, p. 115–124, 2015.
- FOGAÇA, F. N. O. et al. Percentage of Impervious Surface Soil as Indicator of Urbanization Impacts in Neotropical Aquatic Insects. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 483–491, 2013.
- GIMENEZ, B. C. G.; LANSAC-TOHA, F. A.; HIGUTI, J. Effect of land use on the composition, diversity and abundance of insects drifting in neotropical streams. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 4, S, p. S52–S59, nov. 2015.
- GODOY, B. S. et al. Functional Process Zones Characterizing Aquatic Insect Communities in Streams of the Brazilian Cerrado. **Neotropical Entomology**, v. 45, n. 2, p. 159–169, 2016.
- GRABOWSKI, R.C.; GURNELL, A. M. Hydrogeomorphology- Ecology Interactions in River Systems. **River research and applications**, v. 22, p. 1085–1095, 2016.
- LIGEIRO, R. et al. Defining quantitative stream disturbance gradients and the additive

- role of habitat variation to explain macroinvertebrate taxa richness. **Ecological Indicators**, v. 25, p. 45–57, 2013.
- MELO, S. et al. Development of a multimetric index based on aquatic macroinvertebrate communities to assess water quality of rice fields in southern Brazil. **Hydrobiologia**, v. 742, n. 1, p. 1–14, jan. 2015.
- MOLOZZI, J. et al. Development and test of a statistical model for the ecological assessment of tropical reservoirs based on benthic macroinvertebrates. **Ecological Indicators**, v. 23, p. 155–165, 2012.
- NOGUEIRA, D. S. et al. Little effects of reduced-impact logging on insect communities in eastern Amazonia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, n. 7, p. 2–20, jul. 2016.
- OLIVEIRA, R. B. S. et al. Determining subsampling effort for the development of a rapid bioassessment protocol using benthic macroinvertebrates in streams of Southeastern Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 175, n. 1–4, p. 75–85, 2011a.
- OLIVEIRA, R. B. S. et al. Towards rapid bioassessment of Wadeable streams in Brazil: Development of the Guapiau-Macau Multimetric Index (GMMI) based on benthic macroinvertebrates. **Ecological Indicators**, v. 11, n. 6, p. 1584–1593, nov. 2011b.
- PARDO, I. et al. The European reference condition concept: A scientific and technical approach to identify minimally-impacted river ecosystems. **Science of the Total Environment**, v. 420, p. 33–42, 2012.
- ROQUE, F. D. O. et al. Concordance between macroinvertebrate communities and the typological classification of white and clear-water streams in Western Brazilian Amazonia. **Biota Neotropica**, v. 12, n. 2, p. 83–92, 2012.
- RUARO, R. et al. Comparison of fish and macroinvertebrates as bioindicators of Neotropical streams. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 188, p. 2–13, jan. 2016.
- SAITO, V. S.; SIQUEIRA, T.; FONSECA-GESSNER, A. A. Should phylogenetic and functional diversity metrics compose macroinvertebrate multimetric indices for stream biomonitoring? **Hydrobiologia**, v. 745, n. 1, p. 167–179, 2015.
- SIQUEIRA, T. ; LACERDA, C. G.-L. T. ; SAITO, V. S. . How Does Landscape Modification Induce Biological Homogenization in Tropical Stream Metacommunities? **Biotropica**, v. 47, n. 4, p. 509–516, 2015.
- SUGA, C. M.; TANAKA, M. O. Influence of a forest remnant on macroinvertebrate communities in a degraded tropical stream. **Hydrobiologia**, v. 703, n. 1, p. 203–213, 2013.
- TANAKA, M. O. et al. Influence of watershed land use and riparian characteristics on biological indicators of stream water quality in southeastern Brazil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 216, p. 333–339, jan. 2016.
- VALENTE-NETO, F. et al. The effect of riparian deforestation on macroinvertebrates associated with submerged woody debris. **Aquatic Ecology**, v. 49, n. 1, p. 115–125, mar. 2015.
- VIEIRA, T. B.; DIAS-SILVA, K.; PACIFICO, E. S. Effects of Riparian Vegetation Integrity on Fish and Heteroptera Communities. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 13, n. 1, p. 53–65, 2015.

- VISINSKIENE, G.; BERNOTIENE, R. The use of benthic macroinvertebrate families for river quality assessment in Lithuania. **Central European Journal of Biology**, v. 7, n. 4, p. 741–758, 2012.
- YOSHIDA, C. E.; ROLLA, A. P. R. Ecological attributes of the benthic community and indices of water quality in urban, rural and preserved environments . **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 3, p. 235–243, 2012.

# 3

## DOENÇAS FOLIARES DO EUCALIPTO NO BAIXO ACRE:

as ameaças fitossanitárias na implantação

Charlys Roweder

Amauri Siviero

Nei Sebastião Braga Gomes

Williane Bianca da Silva Souza

O crescente consumo de madeira e seus derivados, no Brasil, gerou a necessidade de introduzir, nos programas de reflorestamento, espécies florestais de alta produtividade, que permitam um ciclo de corte relativamente curto, associado às boas características silviculturais.

O gênero *Eucalyptus* tem merecido destaque em programas de reflorestamento, por se tratar de uma espécie de rápido crescimento, grande incremento de matéria seca, facilidade de manejo, diversidade de espécies, atendimento a uma ampla gama de propósitos industriais, além da elevada produção de sementes e facilidades de propagação vegetativa.

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae, ordem Myrtales das Angiospermas, que possui um grande número de espécies. É nativo da

Austrália e amplamente difundido nos trópicos. A introdução de espécies oriundas de outras regiões é sempre um processo que requer estudos direcionados à avaliação da sua capacidade de adaptação e sobrevivência, bem como seus reflexos sobre a produtividade econômica, tendo em vista as condições edafo-climáticas, específicas da região onde a espécie será inserida.

Quanto ao crescimento da área plantada, os estados que apresentaram maior crescimento foram Mato Grosso do Sul (18,4%) e Tocantins (39,6%) (ABRAF, 2013). Os plantios florestais, via de regra, são impulsionados por empresas consumidoras da madeira (IBA, 2014), tendo a eucaliptocultura um importante papel na economia do país.

Em 2008, o Brasil apresenta segundo lugar entre os produtores mundiais de celulose e de interesses de investimentos no setor florestal. A produtividade florestal em 2015 do Brasil foi de 39 m<sup>3</sup> de eucalipto com casca/ha, gerando aproximadamente 50.000 empregos diretos (IBA, 2015).

A região Amazônica ainda não apresenta significância no cenário nacional quando se trata de área cultivada, muito menos sobre o conhecimento de espécies ou clones mais indicados para cada cenário amazônico, principalmente se tratando de doenças fitopatológicas.

## **O ESTADO DO ACRE**

O estado do Acre constitui uma das unidades da federação com maior proporção de área ocupada com florestas equatoriais, cerca de 80% de seu território (IBGE, 2015).

Ainda se destaca o crescimento da agricultura entre 1975 e 2015, constatado pelo aumento dos cultivos permanentes, que passaram de 2% para mais de 15%. Apesar de ainda pouco significativo no total, esses cultivos já ultrapassaram o valor do extrativismo e podem refletir um caminho importante no sentido de se implantar uma agricultura de maior valor agregado e menor impacto ambiental, considerando-se que o aumento na composição do valor dos cultivos permanentes se deu a partir de um aumento relativamente pequeno de área plantada, passando de uma porcentagem quase insignificante para apenas 2% da área antrópica total.

## O EUCALIPTO NO ACRE

O Acre é um estado com grande potencial para o cultivo do eucalipto (*Eucalyptus* spp.) devido às condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento de espécies de rápido crescimento. Os primeiros relatos de plantio comercial no estado datam o ano de 2012, primeiramente destinados a bancos de testes e observação do desenvolvimento da espécie. Os principais usos locais para o eucalipto seriam voltados à produção de energia, madeira e carvão vegetal. No decorrer dos plantios, empresários e fazendeiros da região de Rio Branco, vendo a dificuldade de aquisição de madeira nativa para estacas e a sua grande demanda, em 2014 iniciaram plantios com a finalidade de produção para estaca, que foram realizados em sistemas de integração pecuária/floresta (SIVIERO et al., 2016).

Tal Estado, por se localizar em uma região com clima quente úmido, apresenta excelentes condições ambientais ao desenvolvimento de doenças, das quais tem ocorrido ataques de fitopatógenos no campo principalmente durante os estágios iniciais da cultura. Neste cenário, conhecer as principais doenças que afetam os plantios de eucalipto é fundamental para o sucesso dos que empregam esta espécie nova no Estado.

### DOENÇAS FLORESTAIS FOLIARES - mancha bacteriana por *Xanthomonas*

Alfenas et al. (2004) alegam que a mancha foliar bacteriana incide em mudas em viveiros e plantas jovens no campo, sendo causada principalmente por *Xanthomonas axonopodis*, que induzem lesões internervurais, encharcadas, que avançam para lesões necróticas ressecadas e podem acarretar desfolha intensa sob condições favoráveis da doença.

Na cultura do eucalipto, o controle da bactéria em sido executado por práticas de manejo que reduzam as fontes de inóculo e as condições favoráveis para a infecção. A prática inclui a eliminação de folhas e plantas doentes, utilização de irrigação por gotejamento ou subirrigação, a propagação de clones suscetíveis em períodos desfavoráveis à infecção, o uso de cobertura em viveiros, o uso de material propagativo e ferramentas livres do patógeno (ALFENAS et al., 2009).

Silva (2007) afirma que não se tem conhecimento necessário sobre o processo de infecção e colonização das bactérias, apesar da importância no cenário atual, sendo de fundamental importância o estudo da relação patógeno-hospedeiro para embasar as estratégias de controle.

De acordo com Romeiro (1995), a mancha foliar no eucalipto inicia-se com manchas cloróticas que avançam sucessivamente para anasarca, necrose e desfolha. A partir de pontos de infecção de 1 mm de diâmetro, do tipo anasarca, é possível notar a mancha bacteriana em folhas de *Eucalyptus* spp. evoluindo para pontos mais escuros, sendo visíveis contra a luz, a olho nu (GONÇALVES, 2003).

Há algumas diferenças sintomatológicas que podem ser observadas dependendo da espécie de *Eucalyptus* spp., da idade da folha e do estágio de desenvolvimento da lesão (GONÇALVES, 2003).

Segundo Gonçalves (2003), manchas foliares causadas por bactérias no *Eucalyptus* caracterizam-se por anasarca, halos cloróticos, lesões angulares, lesões longilíneas nas bordas das folhas, perfurações no limbo foliar, necrose na porção superior do limbo e lesões no formato de espinhas de peixe ao longo da nervura principal.

Gonçalves (2003) ainda afirma que, numa abordagem complementar, o uso de técnicas moleculares e bioquímicas é o método mais adequado para a identificação de microrganismos.

De acordo com Swings e Civerolo (1993), no gênero *Xanthomonas* há isolados avaliados como patógenos oportunistas, os quais se associam com *Pseudomonas siringae* ou com outros patógenos causadores de mancha foliar.

### **DOENÇAS FLORESTAIS FOLIARES - ferrugem (*Puccinia psidii*)**

A ferrugem do eucalipto causado pelo fungo *Puccinia psidii* é uma enfermidade relativamente nova em nosso estado. A ocorrência desta doença se dá no início da década de 1970, no litoral do Espírito Santo, avançando gradativamente por todo sudeste do país, chegando ao estado do Acre a partir do ano de 2012, juntamente com os primeiros plantios comerciais de eucalipto no estado.

Em 2013, na região de Rio Branco, capital do estado do Acre, surgiram os primeiros relatos de ferrugem em plantios jovens de *Eucalyptus* spp. Em 2014, surgiu novo surto de maiores proporções, atacando a mesma espécie, começando assim os estudos iniciais do desenvolvimento da doença e suas proporções epidemiológicas. As localidades produtoras de eucalipto no Acre estão próximas das coordenadas 9º 52' Latitude S e 67º 47' Longitude W e, segundo Köppen (1948), contidas na mesma Região Bioclimática, com altitude variando de 150 a 200m, temperatura média anual de 26 a 29°C.

A precipitação anual é de até 2000 mm, apresentando déficit hídrico de 350 mm no período de verão amazônico. O tipo de clima destas regiões é o equatorial. Assim, observando as características climáticas, observa-se a importância da ferrugem, visto que a mesma apresenta desenvolvimento ideal em ambientes assim descritos.

### DESCRIÇÃO DA DOENÇA

Desde a introdução do eucalipto (*Eucalyptus* spp.), para fins comerciais, o gênero manteve-se livre de doenças até início de 1970, contudo, com a ampliação das áreas reflorestadas para regiões quentes e úmidas, favoreceu o caso de várias doenças em plantios com procedências de clones suscetíveis e também nos ciclos sucessivos da cultura. Dentre estas doenças nota-se a ferrugem causada por *Puccinia psidii* (TEIXEIRA et al., 2005).

Florestas industriais de eucalipto, geralmente estabelecidas de grandes plantios clonais, estão distribuídas largamente em regiões tropicais e subtropicais do mundo, como Brasil, Austrália e África do Sul. Essas regiões são favoráveis à doença da ferrugem causada por *Puccinia psidii* Winter (ALVES, 2008).

Teixeira et al. (2005) afirmam que a ferrugem tem ocorrido em mini-jardins clonais, que são destinados a produção de brotos para miniestaquia e tem afetado a multiplicação clonal do eucalipto.

Segundo Santos et al. (2011) a ferrugem do eucalipto é a principal doença do gênero *Eucalyptus*, o que vem aumentando a preocupação no setor florestal, quanto à questão sanitária dessa cultura.



De acordo com Masson et al. (2007) e Brito (2013), esta doença vem sendo considerada como um dos principais problemas limitantes da cultura, trazendo aos plantios danos bruscos, causando a redução da produção de celulose.

Furtado et al. (2009) e Brito (2013) apontam que os prejuízos em produtividade causados pela doença podem chegar até a 30% do incremento anual das árvores.

Os sintomas primários da doença ocorrem nos tecidos jovens de folhas e caule ainda em desenvolvimento. Iniciam-se por pontuações cloróticas que se transformam em pústulas ou soros, onde se expõem, com o rompimento de epiderme, massas pulverulentas de uredosporos de coloração amarelo vivo. Estas pústulas podem se coalescer, recobrando a superfície das brotações do eucalipto quando o ataque é intenso. Em consequência, os tecidos afetados morrem e secam adquirindo coloração negra, como se fossem queimados. Dependendo das condições ambientais, a planta pode reagir emitindo novas brotações.

Com o desenvolvimento das folhas e do caule, a massa amarela de esporos desaparece dando lugar a lesões salientes, rugosas, de coloração marrom. Nas folhas, estas lesões aparecem dispersas em ambas as faces do limbo e, às vezes, sobre a nervura principal. São comumente delimitadas por um halo escuro, arroxeadado. Nos ramos, a característica verrugosa das lesões se torna bastante típica. Com o ataque, que se dá antes das folhas completarem o seu desenvolvimento, estas frequentemente acabam ficando deformadas.

Plantas altamente susceptíveis podem ter o seu crescimento comprometido pela doença, sofrendo um enfezamento quando severamente atacadas. Estas plantas podem ser dominadas pelas adjacentes que, menos afetadas ou sãs, continuam crescendo normalmente.

## ETIOLOGIA

*Puccinia psidii* produz dois tipos de esporos: uredosporos e teliosporos. Os uredosporos, que se formam durante a fase favorável ao desenvolvimento do fungo, apresentam forma variável predominando os globosos, elípticos, piriformes e angulosos, medindo 14-20 x 1827 micra. São equinulados

e apresentam epispório hialino. Os teliosporos são de ocorrência mais rara, formando-se sob condições desfavoráveis ao patógeno, frequentemente nos mesmos soros onde se formam os uredosporos. Os teliosporos são bicelulares, de forma variável, predominando os elípticos e oblongo-ovais. Desconhece-se a existência de hospedeiros alternados do patógeno. Os ataques mais severos ocorrem em plantações jovens, com 3 a 12 meses de idade, sob condições ambientais favoráveis.

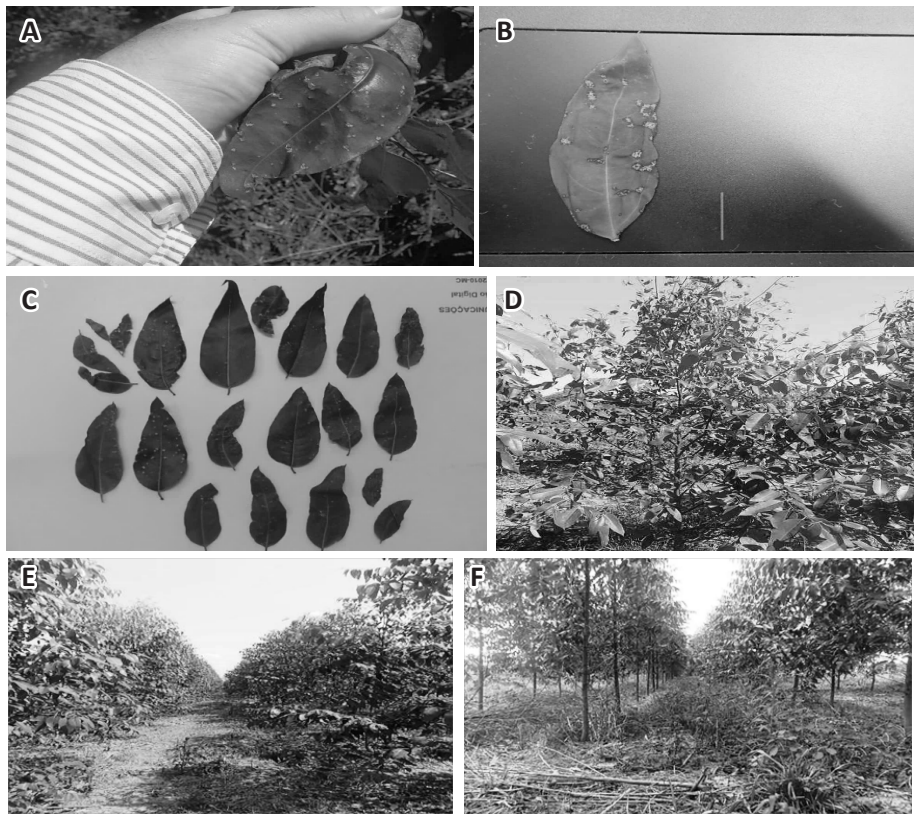
Embora não existam estudos específicos a respeito dos efeitos do ambiente sobre a doença no eucalipto no estado do Acre, com base nas observações feitas, a ocorrência de temperaturas moderadas e elevados índices de umidade relativa do ar são os fatores críticos que condicionam ataques mais severos.

#### **RELATOS EM PLANTIOS JOVENS NO ESTADO DO ACRE**

Nas observações de campo, realizadas a partir de 2014 por Siviero et al. (2015) constatou-se que os sintomas apresentados pelas plantas de *Eucalyptus urophylla*, Clones H13, GG100 e I144 (Figura 1), afetadas pela ferrugem, caracterizavam-se por atrofiamento e enrugamento das folhas, surgindo nas extremidades dos ramos (tecidos jovens) “verrugas” características, acarretando seca nos ponteiros e perda da dominância apical.

Após o primeiro ataque, é comum ocorrer recuperação das plantas e a formação de novos ramos, que normalmente são reinfestados, dando margem ao aparecimento de outros, de maneira que a planta assume um aspecto de superbrotação (BRITO, 2013).

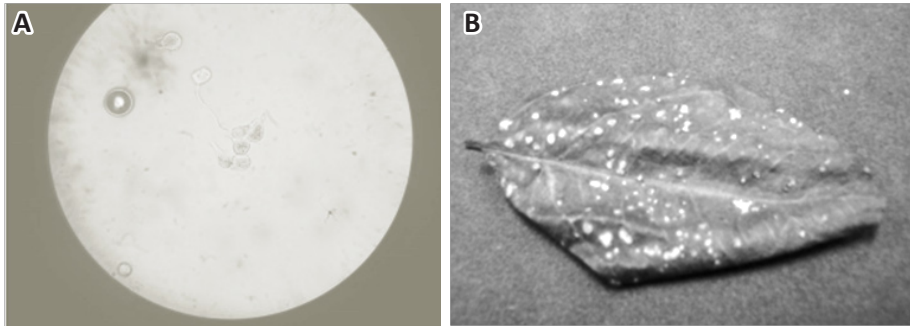
Além destes sintomas, a enfermidade caracteriza-se com o aparecimento de pústulas de ferrugem contendo massa de cor amarelo alaranjado de uredosporos de *Puccinia psidii*, sempre em tecidos jovens. A doença pode iniciar-se em viveiro, porém não foi observada nessa fase, devido a aquisição das mesmas serem feitas de empresas fora do estado do Acre, sendo o atestado fitossanitário desconhecido. No campo foram observados, em algumas espécies, os primeiros sinais a partir do segundo mês de plantio, chegando até aos 2 anos, período de avaliação, considerado um ataque prolongado para o estado do Acre (SIVIERO et al., 2015).

**Figura 1.** Plantas atacadas pela ferrugem no Acre

a) Folha com ferrugem (*Puccinia psidii*); b) Folha com pústulas de ferrugem (*Puccinia psidii*); c) Folhas com *Puccinia psidii*; d) Árvore atacada por ferrugem (*Puccinia psidii*); e) Plantio de *Eucalyptus uruphylla*; f) Plantio de *Eucalyptus uruphylla*.

### IDENTIFICAÇÃO DO PATÓGENO NO ACRE

Segundo Siviero et al. (2015) a presença do patógeno *Puccinia psidii* foi atestada em campo pelos relatos acima descritos e confirmada em laboratório após análise de materiais infectados, medindo os uredíniosporos e observando sua forma, já que, segundo Ferreira (1989), a doença na cultura do eucalipto ocorre no estágio uredinial sob condições naturais. Os urediniósporos (Figura 2) variam quanto à forma (piriformes, esféricos ou ovalados), com pequenas verrugosidades na parede externa, medindo 10-20  $\mu\text{m}$  x 15-25  $\mu\text{m}$ .

**Figura 2.** Identificação da ferrugem no Acre

a) urediniósporos; b) pústulas de ferrugem sob folha de eucalipto.

A relação entre as condições climáticas presentes nas áreas de cultura e a ocorrência de doenças é importante ferramenta decisória para os programas de reflorestamento e de controle (VALE et al., 2004). O zoneamento climático pode reunir informações de condições favoráveis à ferrugem e indicar as áreas de risco e classificá-las em baixo, médio ou alto (MASSON, 2007). Tal como o mapeamento geográfico, o zoneamento de áreas de risco facilita a indicação de espécies ou clones de eucalipto em função de seu grau de suscetibilidade à ferrugem. Dentro da busca do conhecimento do clima e sua relação com a ocorrência de doenças, também têm sido discutidos os efeitos das mudanças climáticas globais sobre as doenças de plantas (VALE et al., 2004; HAMADA; GHINI, 2008). Em especial sobre a ferrugem do eucalipto, Furtado et al. (2008) apresentaram algumas considerações sobre os possíveis impactos. Assim, será possível antever os impactos das mudanças climáticas sobre o eucalipto e ferrugem, em cenários futuros do clima na Terra.

O efeito das mudanças climáticas no meio ambiente pode influenciar o comportamento dos organismos que agem sobre as plantas, isto é, como os geradores de doenças e pragas de cada cultura (HAMADA et al., 2006; BRITO, 2013). É necessário analisar de que forma as variáveis ambientais afetam o desenvolvimento do patógeno, para estimar os impactos das alterações climáticas sobre as doenças de plantas. (TARDIVO; GHINI; HAMADA, 2010).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1 – Observou-se que, nas espécies e procedências de *Eucalyptus* ssp implantadas no Acre houve progressão da doença;
- 2 – É evidente o potencial de risco da enfermidade, nas condições citadas;
- 3 – Tornam-se necessários estudos de introdução de espécies e procedências resistentes ao patógeno;
- 4 – Constatou-se que a ferrugem afeta o desenvolvimento das plantas de *Eucalyptus* spp.

## REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2009.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Editora UFV, 2004.
- ALVES, A. A. **Herança e mapeamento genético da resistência a ferrugem (*Puccinia psidii*) em cruzamentos interespecíficos de *Eucalyptus***. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS -ABRAF. **Anuário estatístico**. 2013. Informativo 224.
- AUER, C. G.; SANTOS, A. D. Doenças em eucaliptos destinados à produção de energia na região Sul do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo**, v. 31, p. 373-379, 2011.
- BRITO, G. S. **Cenários climáticos futuros para a ocorrência da ferrugem do eucalipto na região sul do Brasil**. 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil**. Viçosa: Editora Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.
- FURTADO, E. L.; DIAS, D. C.; OHTO, C. T.; ROSA, D. D. **Doenças do eucalipto no Brasil**. Botucatu, 2009. 74 p.
- IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Rio de Janeiro, 2015.
- HAMADA, E.; GHINI, R.; GONÇALVES, R. R. V. Efeito da mudança climática sobre problemas fitossanitários de plantas: metodologia de elaboração de mapas. **Revista Engenharia Ambiental**, v.3, p. 73-85, 2006.
- HAMADA, E.; GHINI, R. Cenários climáticos futuros para o Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E. (Org.). **Mudanças climáticas: impactos sobre doenças de plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008, v.1, p. 25.
- GONÇALVES, R. C. **Etiologia da mancha bacteriana do eucalipto no Brasil**. 2003. 79 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

- IBA - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORE. **Anuário estatístico BRACELPA 2014 ano base 2013**, Brasília, DF: 2013. Disponível em: <<http://www.iba.org/pt/dados-e-estatisticas/cenarios-iba/>>. Acesso em: 22 mar. 2015.
- IBA - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORE. **Anuário estatístico BRACELPA 2015 ano base 2014**, Brasília, DF: 2014. Disponível em: <<http://www.iba.org/pt/dados-e-estatisticas/cenarios-iba/>>. Acesso em: 04 ago. 2015.
- MASSON, M. V.; OHTO, C. T.; FURTADO, E. L.; SILVA, S. A. Zoneamento climático do eucalipto no Estado de São Paulo visando o controle da ferrugem. **Summa Phytopathologica**, v. 33, suplemento, p. 67, 2007.
- ROMEIRO, S. R. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa: Editora UFV, 1995. 367 p.
- SANTOS, A. F. dos.; AUER, C. G.; WREGE, M. S.; LUZ, E. D. M. N. Impacto potencial das mudanças climáticas sobre a gomose da acácia-negra no Brasil. In: GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. (Eds.). **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2011, p. 119-128.
- SILVA, A. G. **Histopatologia e influência de nutrientes na intensidade da bacteriose foliar do eucalipto causada por *Xanthomonas axonopodis***. 2007. 58 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- SIVIERO, A.; ROWEDER, R.; GOMES, N. S. B.; FURTADO, E. L.; MACEDO, P. E. F. Manchas foliares em plantios de eucalipto no Acre, Amazônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2015, Piracicaba. **Anais...** Botucatu: Grupo Paulista de Fitopatologia, 2015. v. 41. p. 233-233.
- SIVIERO, A.; ROWEDER, R.; MACEDO, P. E. F.; GOMES, N. S. B.; OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, T. K. Doenças em Plantios Jovens de Eucalipto em Sistemas Agroflorestais no Acre. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 2016, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Sociedade Brasileira de Sistemas Agro-Florestais, 2016, v. 1, p. 56-64.
- SWINGS, J. G.; VAUTERIN, L.; KERSTERS, K. The bacterium *Xanthomonas*. In: SWINGS, J.G.; CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 121-146.
- TARDIVO, L.; GHINI, R.; HAMADA, E. Impacto das mudanças climáticas globais sobre a distribuição espacial de doenças de plantas. Memória Técnica, **Embrapa Meio Ambiente**. Jaguariúna, SP. 2010.
- TEIXEIRA, D. A. ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; MAFFIA, L. A.; FERREIRA, E. M. Evidências de indução de resistência sistêmica à ferrugem do eucalipto mediada por rizobactérias promotoras do crescimento de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 350-356, 2005.
- TEIXEIRA, J. E. C.; GUEDES, F. T. P.; DIAS, D. C.; BONINE, C. A. V.; CAMARGO, L. E. A. Análise da herança da resistência a *Puccinia psidii* em progênies de híbridos interestracíficos de eucalipto avaliadas sob condições naturais de infecção. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. 203-210, 2009.
- VALE, F. X. R. do ZAMBOLIM, L.; COSTA, L. C.; LIBERATO, J. R.; DIAS, A. P. S. Influência do clima no desenvolvimento de doenças de plantas. In: VALE, F. X. R. do; JESUS JUNIOR, W. C. de; ZAMBOLIM, L. (Eds.) **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Ed. Perffil, 2004, p. 47-87.



# 4

## ECOTOXICOLOGIA:

o uso de peixes em pesquisas no Brasil

Paula de Lacerda Santos Ribeiro

Isabela Cristina Picolo

Williane Silva do Nascimento

Matheus Calixto Moura

Junio Roney Lima Dantas

Francisco Glauco de Araújo Santos

Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti

Lisandro Juno Soares Vieira

O termo ecotoxicologia foi proposto pelo toxicologista francês René Truhaut em 1969 como sendo o ramo da toxicologia envolvido no estudo dos efeitos tóxicos, causados por poluentes naturais ou sintéticos, aos constituintes dos ecossistemas, animais (incluindo humanos), vegetais e microbianos, em seu contexto integral (TRUHAUT, 1977).

A toxicidade, por sua vez, refere-se à capacidade inerente e potencial do agente tóxico sobre os organismos vivos, avaliando a resposta do indivíduo a doses da substância-teste, por um período de exposição, levando em consideração o estresse a que o organismo é submetido e sua capacidade de compensação (CARR; CURRAN, 1986).

A escolha do organismo-teste para pesquisas em toxicidade deve le-



var em consideração a sua disponibilidade, sensibilidade ao agente químico, tolerância ao manuseio e a fatores bióticos, ciclo de vida, relevância ecológica e/ou econômica, distribuição geográfica, existência de metodologia padronizada, requisitos legais e validação de campo (PEREIRA et al.,1987). O fato dos peixes, ao se exporem aos poluentes, direta ou indiretamente, acumularem substâncias químicas, indica que estes organismos são um modelo biológico ideal para avaliação de tóxicos dispersos no meio ou administrados diretamente em seus órgãos (ATEEQ et al., 2002).

Zorita et al. (2008) expõem a necessidade de utilização de diferentes biomarcadores para se obter uma conclusão sobre o efeito ecotoxicológico de determinado contaminante, uma vez que uma única resposta biológica não reflete de forma ampla os danos causados no organismo-teste. Os biomarcadores são classificados, conforme a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1993) em: a) biomarcadores de exposição – análises que mensuram as alterações biológicas (ex.: enzimas do tecido hepático); b) biomarcadores de efeito – análises que consideram o mecanismo de defesa celular (ex.: enzimas hepato aminoácidos transaminase); c) biomarcadores de susceptibilidade – análises que consideram as variações de resposta ao longo do tempo de exposição e efeito (ex.: respostas fisiológicas, alterações morfológicas, perturbação das funções e morte).

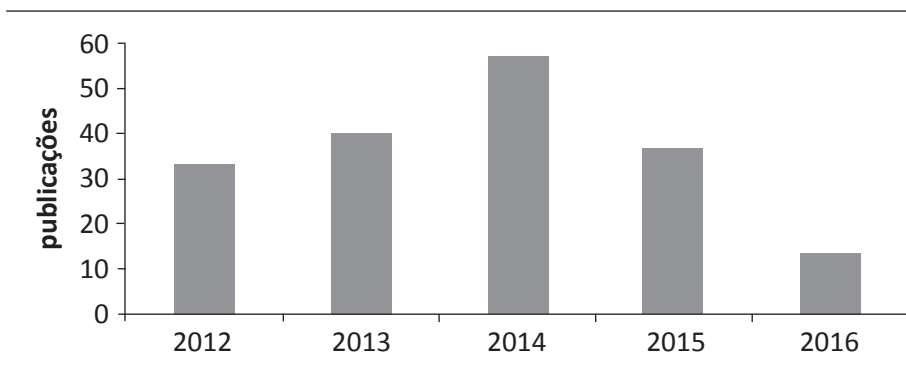
Este trabalho consiste em um breve resumo sobre o uso de peixes como modelo biológico em pesquisas de toxicidade no Brasil, bem como busca identificar as espécies utilizadas nos testes e as substâncias e compostos analisados. A busca de dados foi conduzida na plataforma PubMed com os estudos publicados entre 2012 e outubro 2016, utilizando a associação das palavras-chave “peixe”, “toxicidade” e “Brasil”. A definição desse período específico ocorreu, em função do mesmo ter sido responsável por 51,4% de todas as publicações sobre o assunto desde a primeira indexação de artigos na plataforma PubMed no ano de 1970. Artigos adicionais publicados foram acrescentados em comentários relacionados com os testes de toxicidade.

Na análise adotou-se como critério de exclusão: a) resumos com menos de duas páginas; b) documentos sem identificação de autoria e instituição e, c) pesquisas realizadas fora do Brasil.

## PESQUISA COM TOXICIDADE NO BRASIL

No Brasil, entre janeiro de 2012 e outubro de 2016, as instituições de ensino e pesquisa no país publicaram 181 artigos em 51 periódicos mundiais, indexados na plataforma PubMed que utilizaram o peixe como modelo biológico em pesquisas de toxicidade. Analisando o panorama de distribuição desses trabalhos no tempo estudado (Figura 1), verificamos que o ano de 2014 foi responsável por 31,7% do volume de trabalhos.

**Figura 1.** Distribuição das publicações de janeiro 2012 a outubro 2016



A produção científica no Brasil apresentou um incremento progressivo nos números de publicações a partir do ano de 2012 até o ápice em 2014, e decréscimo progressivo em seguida, apresentando até o mês de outubro de 2016 a menor quantidade de publicações.

O periódico *Ecotoxicology Environmental Safety* é a revista científica que mais publicou artigos no período analisado, sendo responsável por 26 publicações (14,4%) dos 181 trabalhos, seguido pela *Aquatic Toxicology* (9,9%) e *Comparative Biochemistry Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* (7,7%).

No Brasil, no período em questão, a distribuição por regiões geográficas das instituições de ensino e/ou pesquisa que utilizaram o peixe como modelo biológico é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição das instituições de pesquisa com produção científica, na área estudada, entre janeiro 2012 e outubro 2016

Região do país	Nº instituições	Nº publicações (%)
Centro-oeste	3	11 (6,1%)
Nordeste	3	5 (2,8%)
Norte	4	9 (5,0%)
Sudeste	16	56 (30,9%)
Sul	14	100 (55,2%)

A região sul foi responsável por 55,2% das publicações indexadas na plataforma PubMed, seguida da região sudeste (30,9%), onde juntas possuem 30 instituições de pesquisa e/ou ensino com 86,18% do volume de produção no país (Tabela 2).

**Tabela 2.** Número de publicações das instituições de pesquisa e/ou ensino entre janeiro 2012 e outubro de 2016

Instituições de pesquisa e/ou ensino	Nº publicações
<b>Centro-oeste</b>	
Universidade de Brasília (UnB) – DF	8
Universidade Federal de Goiás (UFG) – GO	1
Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) – MT	2
<b>Nordeste</b>	
Universidade Federal da Bahia (UFBA) – BA	2
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – PE	2
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) – PE	1
<b>Norte</b>	
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – Inpa	4
Universidade Federal do Pará (UFPA) – PA	3
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa/RO	1
Instituto Federal do Pará (IFPA) – PA	1
<b>Sudeste</b>	
Universidade de São Paulo (USP) – SP	15
Universidade Estadual Paulista (Unesp) – SP	14
Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) – SP	9
Universidade de Vila Velha (UVV) – ES	3
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)	3

*continua...*

**Tabela 2.** Continuação...

<b>Instituições de pesquisa e/ou ensino</b>	<b>Nº publicações</b>
Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz) – RJ	2
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa/SP	1
Instituto de Pesca – SP	1
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio)	1
Universidade Estadual da Zona Oeste (UEZO) – RJ	1
Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) – RJ	1
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – MG	1
<b>Instituições de pesquisa e/ou ensino</b>	<b>Nº publicações</b>
Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – MG	1
Universidade Federal de Viçosa (UFV) – MG	1
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) – RJ	1
Universidade Paulista (Unip) – SP	1
<b>Sul</b>	
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) – RS	26
Universidade Federal do Rio Grande (FURG) – RS	21
Universidade Federal do Paraná (UFPR) – PR	13
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS)	12
Universidade Estadual de Londrina (UEL) – PR	8
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)	8
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – SC	4
Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHA-PECÓ)-SC	2
Universidade de Passo Fundo – RS	1
Universidade do Vale do Itajaí (Univale) – SC	1
Universidade do Vale do Rio dos Sinos (Unisinos) – RS	1
Universidade Estadual de Maringá (UEM) – PR	1
Universidade Federal do Pampa (Unipampa) – RS	1
Universidade Feevale – RS	1

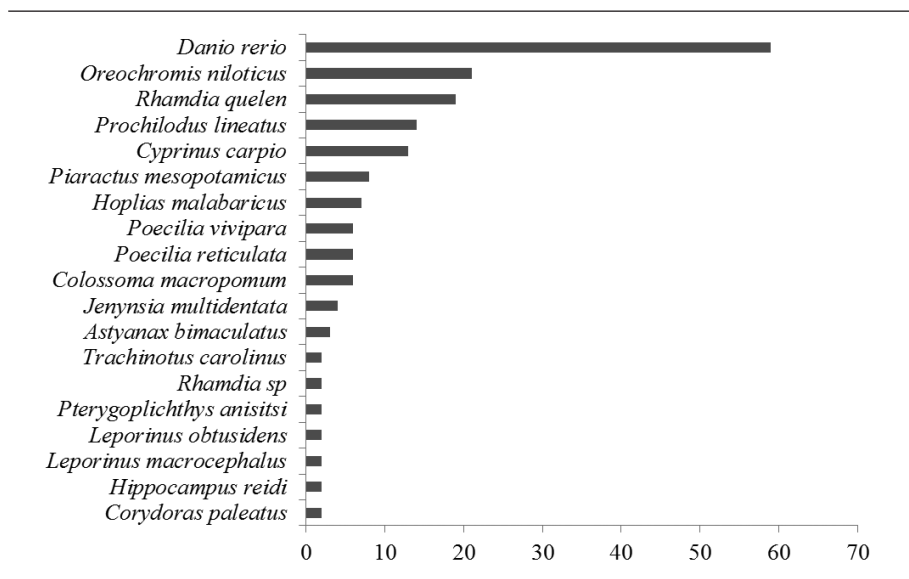
A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e a Universidade Federal do Rio Grande (Furg) foram as instituições que mais publicaram com 14,4% e 11,6% de todas as pesquisas realizadas no Brasil.

## PEIXE COMO MODELO BIOLÓGICO EM ENSAIOS DE TOXICIDADE

O uso de peixes como bioindicadores em pesquisas de toxicidade tem sido amplamente utilizado pelo fato de existir considerável sensibilidade à contaminação por diferentes poluentes que interferem nos seus processos bioquímicos (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2013), fato que possibilita a determinação do potencial toxicológico de várias substâncias presentes no ambiente aquático (SERIANI et al., 2015). Os peixes, considerados um modelo biológico de custo relativamente baixo, podem acumular poluentes químicos disponíveis no ambiente aquático, diretamente por absorção nas superfícies do corpo ou através da ingestão de organismos que acumularam esses contaminantes (AL-SABTI, 1995).

Constatou-se que grande parte das pesquisas analisadas utilizou mais de uma espécie de peixe, de modo que foram estudados, nos últimos cinco anos, 200 exemplares biológicos compreendidos em 39 diferentes espécies, sendo o *Danio rerio* o modelo biológico mais utilizado aparecendo em 29,5% das ocorrências, seguido da *Oreochromis niloticus* em 10,5% e *Rhamdia quelen* em 9,5% (Figura 2).

**Figura 2.** Distribuição absoluta dos modelos biológicos com mais de uma citação nos artigos analisados



O peixe-zebra ou paulistinha (*Danio rerio*) tem sido amplamente utilizado em pesquisas de genética, medicina, toxicologia, estudo de câncer, neurobiologia e modelo pré-clínico em teste com medicamentos (PARICHY, 2006; HILL et al., 2005; LEITE et al., 2013). A semelhança do genoma do *D. rerio* com os mamíferos, incluindo o ser humano (HOWE et al., 2013) faz dessa espécie um modelo valioso para pesquisas comportamentais e neuroquímicas com diferentes contaminantes (SCHMIDEL et al., 2014).

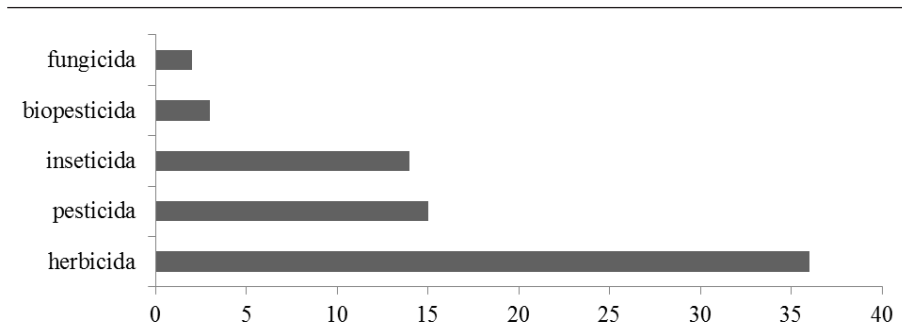
Organismo aquático ocupante de nível trófico alto da cadeia alimentar, o peixe-zebra tem sido utilizado como marcador biológico por ser sensível à poluição ambiental, metabolizando e acumulando xenobióticos (BOLOGNESI et al., 2004; DAUTREMEPUITS et al., 2004).

### **SUBSTÂNCIAS E COMPOSTOS UTILIZADOS EM ENSAIOS DE TOXICIDADE**

Os 181 artigos consultados utilizaram 222 substâncias, que foram categorizadas para facilitar a análise das informações apresentadas nos ensaios de toxicidade em 8 classes: combustível, composto químico, composto químico-nanopartículas, efluentes, elemento químico, medicamento, defensivos agrícolas, outros (não categorizados anteriormente, p. ex. hormônios e aminoácidos).

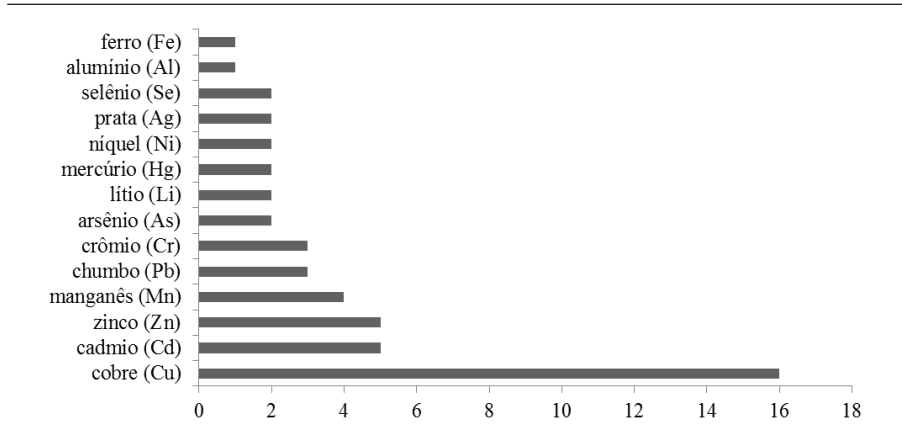
O Brasil possui vastos campos agrícolas e ao serem lançados contaminantes no meio ambiente, podem vir a intoxicar a biota aquática, terrestre e o ser humano. As pesquisas sobre efeitos toxicológicos dos defensivos agrícolas são as mais estudadas no país, com o registro de 70 trabalhos publicados, representando 31,5% de todas as publicações entre 2012 e outubro de 2016. Os defensivos agrícolas distribuídos em subclasses de ocorrência, apresenta os herbicidas como substâncias mais estudadas, representando 51,4% de todos os defensivos analisados (Figura 3).

**Figura 3.** Número absoluto de artigos publicados na subclasse dos defensivos agrícolas



Os elementos químicos foram o segundo grupo de substâncias mais estudadas, representando 22,5% do volume de trabalhos analisados, sendo o cobre o elemento utilizado em 32% dos trabalhos, seguido pelo cádmio e zinco que totalizaram 10% das pesquisas cada. A Figura 4 apresenta todos os elementos estudados com os respectivos quantitativos de trabalhos publicados.

**Figura 4.** Frequência absoluta dos elementos químicos estudados nos artigos analisados



Os compostos químicos foram divididos em duas classes, os compostos químicos e os compostos químicos – nanopartículas (incluindo nanopartículas de substâncias químicas e nanomateriais), pois esta última, devido ao tamanho de suas partículas, apresenta comportamento diferenciado dos

demais compostos químicos. Observamos que é significativa a preocupação da comunidade científica com as nanointerações, sendo publicados 14 (6,3%) trabalhos abordando essa questão e 28 (12,6%) com os demais compostos químicos.

As pesquisas com medicamentos correspondem a 9% dos artigos indexados, seguidos pela categoria combustível que compreendem as pesquisas com fração solúvel de gasolina (WSFG), fração solúvel de biodiesel (WSF-B100), biodiesel comercial (B5), etanol, petróleo (*crude oil*), fração solúvel de petróleo (PWSF) e diesel mineral, que juntas compreendem 7,7% das pesquisas analisadas.

Trabalhos que avaliam a toxicidade de efluentes industriais, água de curso natural e resíduos líquidos somam 11 trabalhos publicados (5,0%). Os demais estudos não categorizados anteriormente correspondem a 5,4%, somando 12 estudos (ex.: hormônio, aminoácidos, toxinas naturais).

## BIOMARCADORES DE TOXICIDADE

Os biomarcadores são considerados como qualquer resposta biológica a um químico no meio ambiente, em nível de sub-indivíduo, medido dentro de um organismo ou em seus produtos (urina, fezes, pelos, penas, entre outros), indicando um desvio do estado normal que não pode ser detectado em organismos intactos (VAN DER OOST et al., 2003).

O peixe é um modelo biológico que pode analisar o impacto dos xenobióticos tóxicos em diferentes tipos de exposição, com a utilização de biomarcadores de efeitos. Van der Oost et al. (2003) categorizaram os biomarcadores biológicos ou bioquímicos.

As pesquisas com toxicologia no Brasil, no período analisado (Tabela 3), utilizaram 359 biomarcadores (biológicos e bioquímicos), distribuídos conforme classificação de Van der Oost et al. (2003) acrescida dos bioensaios, definido pelos autores como ensaios que avaliam sobrevivência, crescimento e reprodução.



**Tabela 3.** Biomarcadores utilizados nas pesquisas ecotoxicológicas no Brasil

Biomarcador	% ocorrência
Parâmetros de estresse oxidativo	17,3
Parâmetros de estresse oxidativo (enzimas antioxidantes)	14,8
Parâmetros genotóxicos	13,1
Bioensaios do organismo	12,5
Enzimas de biotransformação	12,8
Parâmetros neuromusculares (biomarcador de neurotoxicidade)	10,3
Parâmetros fisiológicos, histológicos e morfológicos	7,8
Parâmetros hematológicos	4,5
Proteínas de estresse	2,5
Biomarcadores de embriotoxicidade	2,2
Parâmetros reprodutivos e endócrinos	1,1
Biomarcador de efeitos metabólico	0,6
Parâmetros imunológicos	0,6

Observa-se que os biomarcadores de estresse oxidativo são a categoria mais utilizada nos últimos anos para explicar o efeito das substâncias testadas. Van der Oost et al. (2003) afirmam que a escolha do biomarcador está relacionada com o tipo de contaminante que se está estudando. É necessário o estudo prévio do comportamento do químico teste de forma a se utilizar o melhor teste e obter a resposta que represente o efeito observado nos organismos teste.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise resultante dos 181 trabalhos publicados, podemos concluir que é vasto o campo de pesquisa na área de toxicidade com o uso de peixes como modelos biológicos. No entanto, é urgente a necessidade de capacitação técnico-científica das instituições de pesquisa e/ou ensino localizadas nas regiões Norte e Nordeste do país, de forma a descentralizar, assim como disseminar as excelentes práticas metodológicas e científicas executadas pelas grandes universidades da região Sul e Sudeste do Brasil. Os dados sugerem, também, a necessidade de estudos de outras espécies de peixes de forma a localizar novos organismos que possam atuar como bioindicadores.

## REFERÊNCIAS

- AL-SABTI, K. An in vitro binucleated blocked hepatic cell technique for genotoxicity test in gin fish. **Mutation Research**, v. 335, p. 109–120, 1995.
- ATEEQ, B.; ABUL FARAH, M.; ALI, N. M.; AHMAD, W. Induction of micronuclei & erythrocyte alterations in the catfish *Clarias batrachus* by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and butachlor. **Mutation Research**, v. 518, p. 135-144, 2002.
- BOLOGNESI, C.; BUSCHINI, A.; BRANCHI, E.; CARBONI, P.; FURLINI, M.; MARTINO, A.; ROSSI, C. Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants. **Science Total Environment**, v. 333, p. 127–136, 2004.
- CARR, R. S.; CURRAN, M. D. Evaluation of the archiannelid *Dinophilus gyrociliatus* for use in short-term life-cycle toxicity tests. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 5, p. 703-712, 1986.
- DAUTREMEPUITS, C.; BETOULLE, S.; PARIS-PALACIOS, S.; VERNET, G. Humoral immune factors modulated by copper and chitosan in healthy or parasitised carp (*Cyprinus carpio* L.) by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda). **Aquatic Toxicology**, v. 68, p. 325–338, 2004.
- HILL, A. J.; TERAOKA, H.; HEIDEMAN, W.; PETERSON, R. E. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. **Toxicological Science**, v. 86, p. 6-19, 2005.
- HOWE, K.; CLARK M. D.; TORROJA, C. F.; TORRANCE, J.; BERTHELOT, C.; MUFFATO, M.; et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, p. 498–503, 2013.
- LEITE, C. E.; MABONI, L. de O.; CRUZ, F. F.; ROSEMBERG, D. B.; ZIMMERMANN, F. F.; PEREIRA, T. C. B.; BOGO, M. R.; BONAN, C. D.; CAMPOS, M. M.; MORRONE, F. B.; BATTASTINI, A. M. O. Involvement of purinergic system in inflammation and toxicity induced by copper in zebrafish larvae. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 272, p. 681–689, 2013.
- OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A.; KATSUMITI, A.; FRANÇA, P.; MASCHIO, J.; ZANDONÁ, E.; CE-STARI, M. M.; VICARI, T.; ROCHE, H.; ASSIS, H. C. S.; FILIPAK NETO, F. Biomarkers responses in fish (*Atherinella brasiliensis*) of Paranaguá Bay, southern Brazil, for assessment of pollutant effects. **Brazilian Journal Oceanography**, v. 61, p. 1-11, 2013.
- PARICHY, D. M. Evolution of danio pigment pattern development. **Heredity**, v. 97, p. 200-10, 2006.
- PEREIRA, D. N.; GOLDSTEIN, E. G.; ZAGATTO, P. A.; SASSI, R. Bioensaios: um programa a serviço do controle da poluição resultados iniciais. **Revista Ambiente**, v. 1, p. 32-36, 1987.
- SCHMIDEL, A. J.; ASSMANN, K. L.; WERLANG, C. C.; BERTONCELLO, K. T.; FRANCESCONE, F.; RAMBO, C. L.; BELTRAME, G. M.; CALEGARI, D.; BATISTA, C. B.; BLASER, R. E.; ROMAN JÚNIOR, W. A.; CONTERATO, M. M.; PIATO, A. L.; ZANATTA, L.; DAL MAGRO, J.; ROSEMBERG, D. B. Subchronic atrazine exposure changes defensive behaviour profile and disrupts brain acetylcholinesterase activity of zebrafish. **Neurotoxicology and Teratology**, v. 44, p. 62-69, 2014.
- SERIANI, R.; FRANÇA, J. G.; LOMBARDI, J. V.; BRITO, J. M.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.

- Hematological changes and cytogenotoxicity in the tilapia *Oreochromis niloticus* caused by sub-chronic exposures to mercury and selenium. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 41, p. 311-22, 2015.
- TRUHAUT, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 1, p. 151-173, 1977.
- VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 13, p. 57-149, 2003.
- ZORITA, I.; ORTIZ-ZARRAGOITIA, M.; APRAIZ, I.; CANCIO, I.; ORBEA, A.; SOTO, M.; MARIGÓMEZ, I.; CAJARAVILLE, M. P. Assessment of biological effects of environmental pollution along the NW Mediterranean Sea using red mullets as sentinel organisms. **Environmental Pollution**, v. 153, p. 157-168, 2008.
- WHO, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1993. **Biomarkers and risk assessment: concepts and principles**. Environmental Health Criteria 155, World Health Organization, Geneva.

# 5

## IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BIOLÓGICO UTILIZADO PARA ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXES:

técnicas utilizadas

Esperanza Lucila Hernández Angulo

Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Fernando Sergio Escócio Drummond Viana Faria

Marcelo de Melo Silva

**D**iversas pesquisas científicas mostram que o óleo de peixe traz benefícios para nossa saúde. O óleo de peixe está constituído por ácidos graxos que podem ser divididos em saturados e insaturados. Os ácidos linoleico (18:2n-6, AL) e alfa-linolênico (18:3n-3, AAL) são denominados de essenciais por não serem sintetizados pelo organismo humano (MARTIN et al., 2006). O ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaexaenoico (DHA) atualmente são considerados uma fonte comercial tendo recebido muita atenção nas comunidades científicas e industriais por causa de sua importância para a saúde humana (YING et al., 2006).

O EPA e o DHA estão relacionados à diminuição do nível de colesterol total e de triglicerídeos no sangue, bem como ao aumento do colesterol bom

(HDL), atuando na diminuição dos índices de doenças cardiovasculares (DENARDI; SALGADO; MOREIRA, 2009).

Os ácidos graxos poli-insaturados são suscetíveis à oxidação durante o processamento e armazenamento resultando na diminuição do seu valor nutricional (UYEDA, 2015). A alta estabilidade cinética das nanoemulsões e o encapsulamento desempenham um papel crítico na manutenção do teor de óleo representando um benefício real para o produto (EZHILARASI et al., 2012).

As nanoemulsões podem ser definidas como sistemas heterogêneos nos quais um líquido (fase interna) é disperso em outro líquido (fase externa) na forma de gotículas, na presença de um agente emulsionante (BRUXEL et al., 2012). São dispersões finas de óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) (HOLKEM et al., 2015), formadas por gotas de tamanho nanométrico na faixa compreendida entre 10 e 100 nanômetros ( $1\text{nm}=10^{-9}\text{m}$ ) (KOURNIATIS et al., 2010). Os riscos potenciais dos nanomateriais para a saúde humana são desconhecidos e precisam ser explorados e estudados (MORA-HUERTAS; FESSI; EILAISSARI, 2010).

Este estudo tem os objetivos de identificar e analisar as pesquisas desenvolvidas com encapsulação de óleo de peixe, determinando o material biológico utilizado para a extração do óleo e as técnicas utilizadas para a encapsulação.

As buscas foram realizadas em três bases de dados bibliográficas, PubMed, Web of Science e LILACS, com artigos escritos em inglês, português e espanhol, adotando-se como critério de exclusão as referências duplicadas e critério de inclusão todos os artigos originais indexados no período de junho de 2006 a outubro de 2016, com acesso ao texto completo e os dados do autor.

Para definição das palavras-chaves a serem utilizadas na busca, estabeleceu-se nove termos (Tabela 1) visando definir quais seriam os descritores com maior eficiência de resultados nas bases estudadas e consequentemente seriam os utilizados na elaboração deste trabalho.

**Tabela 1.** Descritores utilizados e número de artigos identificados

Descritores utilizados	No. Artigos
Nanoencapsulation – Fish oil- Brazil	0
Nanoencapsulação – Óleo de peixe – Brasil.	0
Nanoencapsulación–Aceite de pescado – Brasil	0
Nanoencapsulation- Fish oil	4
Encapsulación - Aceite de pescado	0
Encapsulação – Óleo de peixe	0
Encapsulation – Fish oil	59
Encapsulação – Óleo de peixe	0
Encapsulación – Aceite de pescado	0

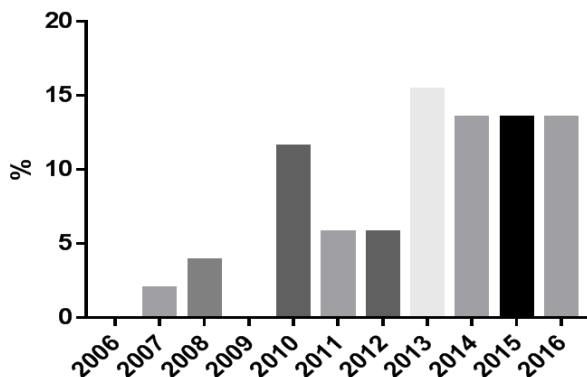
Não foram localizados trabalhos na plataforma LILACS e Web of Science, bem como não houve resultado encontrado com os termos descritores em português e espanhol.

Dessa forma ficaram estabelecidos dois tipos de busca com associação dos termos: a) “Nanoencapsulation” e “fish oil” e, b) “Encapsulation” e “fish oil”.

## 10 ANOS DE ESTUDOS E PESQUISAS COM ENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE

Entre junho de 2006 a outubro de 2016 foram realizadas 52 pesquisas com o tema encapsulação - óleo de peixe que foram indexados na plataforma do PubMed, tendo como distribuição temporal a apresentada na Figura 1.

**Figura 1.** Frequência das publicações entre junho 2006 e outubro 2016, plataforma PubMed



Dos artigos com encapsulação de óleo de peixe, foram descartados cinco: três deles porque estavam repetidos e dois porque não foi possível a leitura do texto completo. De acordo com os artigos analisados as pesquisas nessa área tiveram seu início no ano de 2008, sendo intensificadas nos últimos quatro anos com 48,07% dos artigos publicados.

Em meio aos periódicos, destaca-se que o *Journal Food Chemistry* teve a maior quantidade de artigos publicados, seguido do *Journal of Food Science*. Em terceiro lugar, empatam os periódicos *Fish & Shellfish Immunology* e *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Revistas e jornais com maior número de publicações na área estudada

Revistas e Jornais	Publicações (%)
Food Chemistry	15,84
Journal of Food Science	11,53
Colloids and Surfaces B: Biointerfaces	5,76
Fish & Shellfish Immunology	5,76

Os periódicos *Chem. Phys. Chem.*, *Food Science and Technology*, *Journal of Lipids*, *Carbohydrate Polymers* e *Food Science Technology International* contribuíram, cada um, com 3,84% dos trabalhos publicados, e os demais, *Mol. Cell. Biochem.*, *Journal of Pharmacy Research*, *Lab. Chip.*, *Food & Function*, *Biochemistry and Biophysics*, *Chemico-Biological Interactions*, *Journal of Colloid and Interface Science*, *International Journal of Nanomedicine*, *Nutrition & Food Science*, *Bentham Science*, *Neurochemistry International*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* e *International Immunopharmacology*, com 1,92 % de artigos publicados por periódico.

## MODELO BIOLÓGICO ESTUDADO E TÉCNICAS DE ENCAPSULAMENTO

Analisando-se os artigos publicados, é possível identificar três trabalhos que definem o nome dos peixes utilizados para a extração do óleo. Huang et al. (2014) estudaram as vísceras de tilápia e Li et al. (2015) pesquisaram o óleo obtido a partir das vísceras da carpa capim. O estudo do óleo do peixe atum foi realizado por Wang et al. (2014).

A análise a seguir será feita a partir desses três trabalhos, pois os demais, correspondentes a 91,4 % dos artigos encontrados, utilizam o óleo de peixe cedido por empresas credenciadas, não identificando os peixes usados para a extração do óleo.

Os modelos biológicos de estudo na revisão são a tilápia (*Oreochromis sp*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) e o atum (*Thunus albacares*), correspondendo a 5,76% dos trabalhos localizados nas pesquisas. A ausência de informações quanto à espécie de peixe usada para a obtenção do óleo nos artigos publicados faz com que a análise de nossa pesquisa. Huang et al. (2014) e Wang et al. (2014) não identificaram os peixes com seus nomes científicos.

**Tabela 3.** Técnicas de encapsulamento utilizadas nos artigos revisados

<b>Técnicas</b>	<b>Quantidade</b>	<b>%</b>
Microencapsulamento	11	21,15
Encapsulamento	11	21,15
Lipossomas	4	7,62
Emulsão	3	5,76
Microemulsão	2	3,84
Nanocapsulas	2	3,84
Nanoemulsoes	2	3,84
Cápsulas	2	3,84
Microesferas	2	3,84
Nanolipossomas	1	1,92
Nanoparticulas	1	1,92
Veiculo lipídico nanoestrucurado	1	1,92
Microfluidicas	1	1,92

Em meio às centenas de técnicas patenteadas de microencapsulação que existem atualmente (HOLKEM et al., 2015), as utilizadas nas pesquisas aparecem na Tabela 3.

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está no tamanho da cápsula. A encapsulação é um processo muito utilizado na indústria de alimentos e trata-se de uma tecnologia que permite recobrir partículas ou pequenas gotas de material líquido ou gasoso, formando cápsulas em miniatura, as quais podem liberar seu conteúdo em taxas



controladas e/ou sob condições específicas (MENEZES et al., 2013).

A microencapsulação é a técnica de encapsulação mais utilizadas nos artigos revisados, sendo empregada a microencapsulação de secagem por pulverização (*spray drying*) e coacervação. A microencapsulação abrange partículas de materiais sensíveis com uma crosta de material de parede. A secagem por pulverização é a desidratação e atomização das emulsões a alta temperatura, tendo como resultado a evaporação de água mais rapidamente e a formação de uma crosta de pó sobre o núcleo (GHARSALLAOUI et al., 2007; SAGAR; KUMAR, 2010).

O *spray drying* consiste em uma operação unitária através da qual um produto (solução, emulsão ou suspensão) é transformado do estado fluido para o estado sólido em forma de pó dentro de uma câmara, onde é feita a dispersão de gotículas do material, que entram em contato com um gás aquecido, em geral, o ar (GHARSALLAOUI et al., 2007; MASTERS, 1979; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A aplicação da técnica do *spray drying* para a microencapsulação envolve quatro etapas: a preparação, homogeneização e aspersão de uma solução, seguida da desidratação da solução atomizada (secagem) (KASHAPPA; DESAI; PARK, 2005). A qualidade dos produtos obtidos dependente das condições de operação do *spray dryer* (FAZAELI et al., 2012).

Nas pesquisas desenvolvidas com óleo de tilápia e carpa capim o método de encapsulação utilizado foi de secagem por pulverização como citado anteriormente.

## TILÁPIA

Huang et al. (2014) ao estudarem a encapsulação de óleo de tilápia, analisaram a temperatura do ar de entrada, teor de sólidos, a pressão do caudal de ar secagem e atomização através de um planejamento composto central, o que ajudou a entender e aperfeiçoar melhor as condições para a microencapsulação. Foram avaliadas como variáveis independentes a temperatura do ar admitido, o teor de sólidos e vazão de ar de secagem.

Os autores concluíram que a trealose aumentou a temperatura de transição vítrea do óleo microencapsulado. A eficiência da encapsulação foi

afetada pela temperatura de entrada e velocidade de secagem do fluxo de ar. O menor teor de sólido foi atribuído à baixa eficiência de encapsulamento, o que provocou um maior índice de peróxidos, sendo este afetado pela temperatura do ar na admissão. No entanto, as partículas apresentaram uma superfície externa arredondada com uma parede contínua e nenhuma fissura aparente ou rachaduras.

## **CARPA**

Li et al. (2015) obtiveram o óleo bruto a partir de vísceras de carpa capim usando o processo de hidrólise sob a condição ideal de pH 7,5. Os fatores estudados por eles durante o processo de encapsulação foram a concentração de sólidos, a temperatura de emulsão, a temperatura de entrada de ar e as proporções de óleo para materiais de barreira. A maior eficiência alcançada para a emulsão com uma proporção de óleo e de material de barreira foi de 3:7 a uma temperatura de 55°C e temperatura de entrada de ar de 220°C. O resultado foi uma partícula esférica com uma superfície lisa e um intervalo de tamanho de gota de 1 a 10 micrômetros.

Nos artigos consultados, a encapsulação foi utilizada para retardar o processo de oxidação dos ácidos graxos (ômega 3), assim como para mascarar seu odor e sabor, sendo enfatizada a necessidade de continuar estudando a estabilidade e a oxidação das partículas com a finalidade de sua utilização para a alimentação.

Nos estudos realizados com óleo de atum foi aplicada a técnica de encapsulação por coacervação.

## **ATUM**

Wang et al (2014) utilizaram o óleo de atum fornecido pela empresa *Numega Ingredients Ltd.* (situada em Victoria, na Austrália). Em primeiro lugar, estudaram a estabilidade do óleo, que foi aprimorada através da comparação da estabilidade acelerada do óleo na presença de vários antioxidantes comerciais, utilizando um Rancimat™.

Ainda a partir da encapsulação por coacervação, os autores conseguiram a formação de microcápsulas com vários núcleos quando o sistema

foi arrefecido para 5°C a uma velocidade de 12°C h<sup>-1</sup>. As microcápsulas foram formadas por meio de coacervação complexa entre gelatina e camarão, utilizando transglutaminase para manter uma estrutura estável. A reticulação induzida com transglutaminase, seguida por secagem por congelação, resultou num pó seco com uma eficiência de encapsulação de 99,82%, carga útil de 52,56% e o índice de estabilidade oxidativa (OSI) de 40.16h.

### **PERSPECTIVAS DE PESQUISAS COM ENCAPSULAMENTO DE ÓLEO DE PEIXE**

Atualmente são vendidas pelas redes de farmácias do país cápsulas com óleo de peixe contendo ômega 3 para serem usadas como complemento nutricional. O óleo utilizado para a elaboração das cápsulas não possuem identificação do tipo de peixe utilizado, sendo denotado somente à quantidade de EPA e DHA que elas contêm.

Segundo Crossa e Oviedo (2011), os subprodutos do pirarucu (*Arapaima gigas*) podem agregar valor à produção, tais como escamas, língua, fígado e cabeça. Na literatura não aparece à utilização da gordura visceral e, embora existam estudos sobre óleo de peixes de água doce e salgada, eles não envolvem o óleo obtido a partir da gordura visceral do *Arapaima gigas*.

Um olhar sobre o peixe pirarucu merece atenção. A espécie ocorre em ambientes naturais. Para sua proteção e recuperação, vem se estabelecendo no Brasil planos de gestão e estratégias regionais através do manejo e, além disso, em virtude do crescimento constante do consumo de peixe na Europa e nos EUA, o interesse de compradores e investidores locais em *Arapaima gigas* está aumentando rapidamente (MUELLER, , 2006).

As pesquisas e estudos sobre a aplicação da nanobiotecnologia nos processos de encapsulação de produtos utilizando a gordura visceral do pirarucu na região amazônica pode incrementar o valor econômico do peixe assim como abre o leque para uma nova linha de desenvolvimento regional.

## REFERÊNCIAS

- BRUXEL, F.; LAUX, M.; WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. S.; TEIXEIRA, H. F. Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v. 35, p. 1827–1840, 2012.
- CROSSA, M.; OVIEDO, A. **Conservação Manejo do Pirarucu Sustentabilidade em lagos do Acre**. WWF-Brasil, 2011.
- DENARDI, D. C.; SALGADO, J. N.; MOREIRA, R. H. D. L. Efeito da dieta, estatina e ácidos graxos ômega 3 sobre a pressão arterial e a lipidemia em humanos. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 863-867, 2009.
- EZHILARASI, P. N.; KARTHIK, P.; CHHANWAL, N.; C. ANANDHARAMAKRISHNAN, N. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p. 628–647, 2012.
- FAZAEI, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A. K.; OMID, M. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioprocess Technology**, v. 90, p. 667–675, 2012.
- GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.
- HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; SILVA, C. B.; MENEZES, C. R. Técnicas de preparação de sistemas nanotecnológicos aplicados a alimentos. **Ciência e Natura**, v. 37, Edição Especial, p. 87–96, 2015.
- HUANG, H.; HAO, S.; LI, L.; YANG, X.; CEN, J.; LIN, W.; WEI, Y. Influence of emulsion composition and spray-drying conditions on microencapsulation of tilapia oil. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2148–2154, 2014.
- KASHAPPA, G.; DESAI, H.; PARK, H. J. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. **Drying Technology**, v. 23, p. 1361–1394, 2005.
- KOURNIATIS, L. R.; SPINELLI, L. S.; MANSUR, C. R. E.; GONZÁLEZ, G. Nanoemulsões óleo de laranja/água preparadas em homogeneizador de alta pressão. **Química Nova**, v. 33, p. 295–300, 2010.
- LI, J.; XIONG, S.; WANG, F.; REGENSTEIN, J. M.; LIU, R. Optimization of Microencapsulation of Fish Oil with Gum Arabic/Casein/Beta-Cyclodextrin Mixtures by Spray Drying. **Journal of Food Science**, v. 80, p. C1445-C1452, 2015.
- MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M.R.; VISENTAINER, J.E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 761-770, 2006.
- MASTERS, K. Spray Drying **Handbook**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons Inc. 1979.
- MENEZES, C. R.; BARINI, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.
- MORA-HUERTAS, C.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 385, p. 113-142, 2010.

- MUELLER, O. *Arapaima gigas*. Market Study. Current status of *Arapaima* global trade and perspectives on the Swiss, French and UK markets. **United Nations Conference on Trade Development UNCTAD/Bio Trade Facilitation Programme**. 2006, 52 p.
- OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 641-650, 2010.
- SAGAR, V. R.; KUMAR, S. P. Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 15–26, 2010.
- UYEDA, M. Composição química e perfil de ácidos graxos de chia encapsulados e não encapsulados. **Saúde em Foco**. 7. ed. p. 58–64, 2015.
- WANG, B.; ADHIKARI, B.; BARROW, C. J. Optimization of the microencapsulation of tuna oil in gelatin – sodium hexametaphosphate using complex coacervation. **Food Chemistry**, v. 158, p. 358–365, 2014.
- YING, Z.; MADHUJITH, T.; MAHFOUZ, N.; SHAHIDI, F. Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. **Food Chemistry**, v. 104, p. 602–608, 2006.

# 6

## LAPACHOL:

métodos de extração. Uma avaliação dos processos e do rendimento através da revisão bibliográfica

Marcelo Hubner Moreira

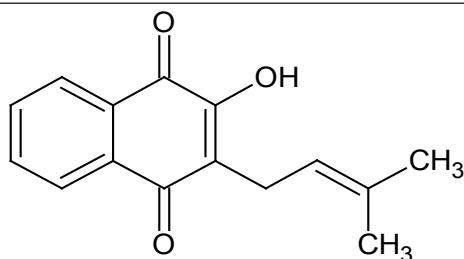
Alcides Loureiro Santos

**A** química é a ciência que melhor representa a questão da composição da matéria. Sabe-se que a matéria é formada de substâncias, e estas não estão presentes na natureza de forma isolada, exceto em alguns casos, como ocorrem com os gases nobres. Elas estão associadas umas às outras, formando misturas complexas que vão originar os mais diferentes compostos e organismos, sejam eles de origem animal ou vegetal. Ressalta-se que as substâncias podem apresentar características químicas, físicas e biológicas diferentes, quando estão em extratos naturais (mistura que contém muitas substâncias). O isolamento e o entendimento do sinergismo entre os compostos químicos desses extratos são essenciais para o desenvolvimento de fármacos para os mais variados tipos de enfermidades (FERREIRA, 1996).

Assim, desde o princípio, com o conhecimento desses padrões de complexidade que a matéria apresenta, os químicos colocam-se à disposição da ciência para desenvolver processos de extração e isolamento de substâncias a partir de materiais espalhados pelo mundo. Criar e experimentar através de ensaios bioquímicos representam atividades importantes nesse contexto, permitindo elaborar métodos cada vez mais eficientes, baratos e rentáveis de adquirir substâncias para serem usadas nos mais variados fins. A terapêutica é uma das razões mais visadas para isso.

O Lapachol (Figura 1), de nome lupac (União Internacional de Química Pura e Aplicada) 2-hidroxi-3-(3-metil-butenil)-nafto-1,4-diona, é uma substância amarela da classe das naftoquinonas, descoberta por Paterno (1882), quando o isolou do lenho da árvore argentina “Lapacho”, *Tabebuia avellanae* Lor, uma Bignoniaceae bastante conhecida como ipê roxo, ipê rosa, pau d’arco, entre outras nomenclaturas. Toda a base química conhecida até os dias de hoje foi desenvolvida em 1892 e 1896 por Hooker. É conhecida também, segundo Fonseca et al. (2003), a existência do Lapachol nos demais tipos de ipês, dentre outras espécies, variando apenas em quantidade.

**Figura 1.** Estrutura do Lapachol



No ano de 1956, Gonçalves de Lima e colaboradores encontraram no cerne do ipê roxo (*Tabebuia Avellanae* ou *Handroanthus impetiginosus*) um composto de coloração amarela, de atividade antimicrobiana eficaz, que mais tarde veio a ser confirmada como sendo o Lapachol. Os mesmos pesquisadores vieram, mais tarde, a demonstrar sua existência em várias espécies e famílias. Hoje em dia, sabemos que essa substância amarela é da classe das naftoquinonas (metabólitos secundários produzidos por algas, fungos, plan-

tas e animais, caracterizadas por apresentarem múltiplas atividades biológicas), e é encontrada de forma tão abundante no cerne da madeira dos ipês, que um simples corte já permite observar sua presença na superfície serrada.

Sua atividade biológica é extremamente ampla devido seu alto grau de toxicidade. Possui ação antimicrobiana, principalmente em bactérias do gênero *Brucella* e protozoários do gênero *Plasmodium* sp. Ferreira (1996) também relata a ação terapêutica anti-inflamatória e cicatrizante, ação antiulcerogênica importante quando induzida por estresse e ação antiviral contra vírus RNA, atuando tanto em exemplares envelopados quanto não envelopados. Em estudos realizados *in vitro*, foi observado uma atividade tripanossomicida do Lapachol e seus derivados, sendo esses últimos de ação mais eficaz. Esses derivados apresentaram efeito bloqueador da penetração de cercárias através da pele da cauda de ratos, determinando um efeito quimioprolático esquistossomal. Além disso, ensaios *in vitro* demonstraram que as naftoquinonas apresentaram ação antimalárica importante, impedindo o crescimento do parasita, bem como uma ação antileishmania, já caracterizada em alguns estudos, como em Valderrama et al. (2003), Lima et al. (2004), Rath et al. (2003), Câmara et al. (2006) e Rocha (2006). Popularmente falando, o ipê é conhecido por sua madeira resistente à ação de cupim, além de extratos de sua madeira serem amplamente utilizados no tratamento de rinites, sinusites, amigdalites, faringites etc.

Um destaque porém, podemos dar aos estudos anticancerígenos do Lapachol. Um dos primeiros relatos de sua capacidade antineoplásica foi feito por Santana e Silva (1981), quando demonstraram 86% de inibição do Sarcoma de Yoshida. Gonçalves de Lima é mencionado em Fonseca (2003) como confidente pessoal dos primeiros estudos antineoplásicos para o Lapachol, desenvolvidos por Hartwell em 1967. Ele, juntamente com Aboutt, descreveu que existem 68 análogos sintéticos do Lapachol e apenas a 2-(3,7-dimetil-2,6-octadieno)-3-hidroxi-1,4-naftoquinona foi ativo contra o carcinossarcoma de Walker 256 63. O Lapachol, ativo em tumores sólidos, passou sob a forma de um derivado acetoglicosídeo em tumor líquido, a leucemia P388 em camundongos.



Uma boa atividade antitumoral do Lapachol foi confirmada por Rao et al. (1968), sobre o carcinossarcoma de Walker 256. As vias de administração subcutânea e intravenosa não foram consideradas por eles como eficazes devido à toxicidade da forma física. Isso justifica a grande quantidade de estudos realizados até os dias de hoje a respeito da farmacocinética e farmacodinâmica do Lapachol. Esses autores ainda mencionam testes de administração intramuscular, subcutânea e oral, e mostram que seu uso por via oral demonstrou baixa toxicidade. O Lapachol mostrou-se ativo e eficaz contra o Linfossarcoma de Murphy Sturm, porém ineficaz contra o Sarcoma 180, contra neoplasias de ratos para o Adenossarcoma 755, Carcinoma Pulmonar de Lewis, Leucemia Linfocítica P388 e Leucemia L-1210, na associação Lapachol + Lawsona, segundo os relatos de Lima et al. (1971). Mais tarde, em 1973, Sieber relatou boa atividade do sal sódico do Lapachol contra a Leucemia L1210, devido ao aumento do nível sanguíneo do sal em comparação com a forma pura.

Em 1997, Dinnen et al. (1997) realizaram ensaios que se tornaram fundamentais na compreensão das diferenças entre ações efetivas e não efetivas dessas substâncias. Eles usaram substâncias conhecidamente antioncogênicas com substâncias não oncogênicas e agentes indutores. Esses agentes indutores precisam de uma concentração elevada para produzirem diferenciação, enquanto que as antioncogênicas atuam em concentrações mais baixas. Portanto, a atividade do Lapachol, ou de precursores dele estão diretamente associados a potenciais de efetividade e diferenciação, bem como de produção de citotoxicidade.

## **MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO LAPACHOL**

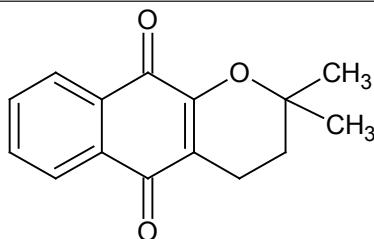
Vários métodos de extração podem ser usados para a obtenção do Lapachol. Estes são sempre baseados na sua solubilidade em solventes orgânicos, bem como do seu sal em meio aquoso alcalino, gerando algumas soluções, cujas colorações são, respectivamente, amarela e vermelha.

Paterno (1882) definiu a forma mais usada de extração do Lapachol. O método promove a obtenção de 80g da substância pura cristalizada para cada 1kg de serragem especificamente do cerne do Ipê Roxo. Nessa espécie,

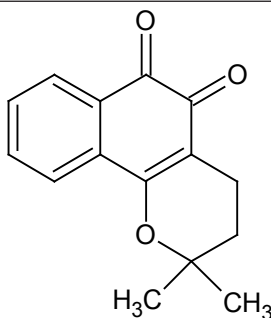
o teor de Lapachol foi de 3 a 4%, podendo chegar a 7% de rendimento, conforme relatou Burnett et al. (1967).

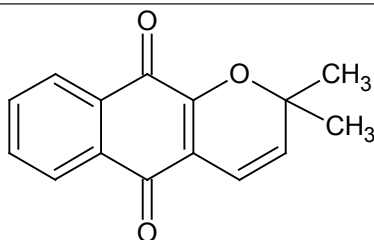
Fonseca (2003) e Lima et al. (1956), relatam que, dependendo do método utilizado, o Lapachol pode ser obtido nas formas de  $\alpha$ -lapachona (Figura 2) e  $\beta$ -lapachona (Figura 3). Pelo método químico de refluxar o Lapachol, pode-se obter a xiloidona (Figura 4), que também poderia ser obtido pelo método que consiste em refluxar o Lapachol em anidrido acético e piridina, seguindo-se de uma hidrólise e oxidação lenta. Esse método foi desenvolvido por Ivan L. D'Albuquerque e colaboradores, e que tem por base os trabalhos de Hooker (1892). O próprio D'Albuquerque, em 1968 demonstrou também a transformação do Lapachol em  $\alpha$ -lapachona,  $\beta$ -lapachona e xiloidona através da aplicação de calor. Pelo mesmo processo a xiloidona, quando aquecida, era transformada em  $\alpha$ -lapachona e  $\beta$ -lapachona.

**Figura 2.** Estrutura da  $\alpha$ -lapachona

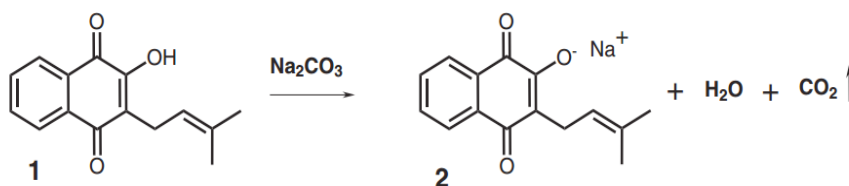


**Figura 3.** Estrutura da  $\beta$ -lapachona



**Figura 4.** Estrutura da xiloidona

O Lapachol, devido ao seu caráter ácido, com pKa de aproximadamente 6,0, determinados por titulações pH-métricas e espectrofotométricas, pode ser extraído de sua fonte natural quando entrar em contato com soluções alcalinas. Ele apresenta-se com coloração amarelada quando na forma ácida, sólido e insolúvel em água, porém o seu sal é bastante solúvel em água e com coloração vermelha. Dessa maneira, uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NaHCO}_3$  pode ser usada para esta extração (Figura 5), conforme relata Barbosa e Neto (2013a), resultando na formação de uma base conjugada. Ferreira (1996), divulgou um estudo que permitia a regeneração do Lapachol a partir do seu sal de sódio, pela reação com ácido clorídrico (HCl) em solução aquosa e concentração de 6 mol/L, ocorrendo assim uma precipitação do sólido de coloração amarelada e insolúvel em água.

**Figura 5.** Ionização do Lapachol (1) em Carbonato de Sódio e formação de Base Conjugada (2)

Fonte: Adaptado de Barbosa e Neto (2003).

Em 2013, Tavares e colaboradores mostraram a influência da polaridade do solvente na extração de Lapachol bruto, usando o mesmo método ácido-base, porém com amostras de casca de ipê-roxo. Os pesquisadores uti-

lizaram três diferentes soluções extrativas - água destilada, éter e acetona a 50%. Em todas foram acrescentadas 0,15 g/mL de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) como agente precipitador, a partir de 5g do pó da casca de ipê em 40 mL de solução, em agitação orbital por 20 minutos a temperatura ambiente. Por filtração a vácuo, os resíduos foram removidos e os cristais de Lapachol foram precipitados com HCl concentrado, em seguida secado em estufa a 40°C e levantado o resultado. O rendimento foi maior com éter, em seguida com a acetona e por último com água destilada. Com valores respectivamente de 0,89, 0,34 e 0,22 de extrato bruto. Isto mostrou que os cristais de Lapachol são bastante solúveis em solvente pouco polares e ligeiramente solúveis em água.

Recentemente, Barbosa e Neto (2013) propuseram um modelo de preparação de derivados do Lapachol em meio ácido e meio básico. Para isso, todo procedimento de extração foi realizado de acordo com a proposta de Ferreira (1996), em que 200 g de serragem de ipê, colocados em um béquer de 2 L, com adição de 1 L de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 1%, misturado e deixado em repouso por 45 minutos, sendo agitado ocasionalmente com bastão de vidro. Esta solução, ora avermelhada, foi filtrada sobre gaze e ao filtrado foi adicionado solução de HCl 6M até tornar-se amarelada. O precipitado formado, Lapachol, pôde ser coletado através de filtração simples ou pela filtração a vácuo, sendo em seguida seco em estufa a 80°C por 1 hora, obtendo-se um rendimento de 2,3 g.

Esse método, embora tenha obtido bom rendimento, foi inferior ao resultado de Silva et al. (2009), que usaram a serragem adicionada a  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2,5% em água por 2 horas, filtraram e adicionaram ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) até alcançar a coloração amarela. Neste processo, o rendimento é variável a partir da filtração, de acordo com o solvente orgânico usado. Com Acetato de Etila + Etanol, obtiveram 216,9 g de Lapachol a partir de 10Kg de serragem, um rendimento de aproximadamente 2,17%. Porém, o mesmo processo, agora com Etanol quente acrescentado à fase orgânica e recristalizado várias vezes, rendeu 88,9 g a partir de 415 g de pó de serra, ou seja, um rendimento de 21,42%.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fica claro aqui que esta última metodologia mostra a influência de fatores importantes a serem considerados dentro dos processos de extração do Lapachol. Sem dúvidas, a escolha do solvente orgânico, a temperatura e a polaridade influenciam fortemente no rendimento. Vale ressaltar que os rendimentos são diferentes para cada espécie, além disso, os custos com reagentes e o tempo de obtenção de Lapachol, precisam ser considerados na escolha do melhor método em cada caso.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA, T. P.; NETO, H. D. Preparação de derivados do lapachol em meio ácido e em meio básico: uma proposta de experimentos para a disciplina de química orgânica. **Química Nova**, v. 36, p. 331-334, 2013a.
- BARBOSA, T. P.; NETO, H. D. Preparação de derivados do Lapachol em meio ácido e em meio básico: Uma proposta de experimentos para a disciplina de química orgânica experimental. **Química Nova**, v. 36, p. 331-334, 2013b.
- BURNETT, A. R.; THOMSON, R. H. Naturally occurring quinones. Part. X. The quinonoid constituents of *Tabebuia avellanedae* (Bignoniaceae). **Journal of Chemical Society**, v. 449; p. 2100-2104, 1967.
- CÂMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; BARBOSA, T. P.; COSTA, R. A.; VARGAS, M. D.; PINTO, A. C.; MACEDO, R. O.; ROCHA, L. G. **Processo de Preparação de Naftoquinonas Naturais Modificadas Análogas da Beta-Lapachona Através de Reações de Condensação em meio ácido com propriedades Leishmanicidas**. INPI/PB, Pat. 000035/PB, 17 fev. 2006.
- D'ALBUQUERQUE, I. L. Termorreação da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona. **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 8, p. 73-88, 1968.
- DINNEN, R. D.; EBISUZAKI, K. The search for novel anticancer agentes: a differentiation-based assay and analysis of a folklore product. **Anticancer Research**, v. 17, p. 1027-1034, 1997.
- FERREIRA, V. F. Aprendendo sobre os conceitos de ácido e base. **Química Nova na Escola**, nº 4, p. 35-36, 1996.
- FONSECA, S. G. C.; BRAGA, R. M. C.; SANTANA, D. P. Lapachol – Química, Farmacologia e Métodos de Dosagem. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, p. 9-16, 2003.
- HOOKE, S. C. The constitution of lapachic acid (Lapachol) and derivatives. **Journal of the Chemical Society**, v. 61, p. 611-650, 1892.
- HOOKE, S. C. The Constitution of Lapachol and its Derivatives. The Structure of the Amylene Chain. **Journal of the Chemical Society**, v. 69, p. 1355-1381, 1896.
- LIMA, N. M. F.; CORREIA, C. S.; LEON, L. L. Antileishmanial activity of lapachol analogues. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 757-61, 2004.
- LIMA, O. G. de; D'ALBUQUERQUE, I. L.; LIMA, C. G. de; MAIA, M. H. D. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XX. Atividade antimicro-

- biana de alguns derivados do Lapachol em comparação com a Xiloidona, nova ortonaftoquinona natural isolada de extratos do cerne do “Pau d’arco” roxo, *Tabeuia avellanadae* Lor. Ex Griseb. **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 4, p. 3-17, 1962.
- LIMA, O. G.; COELHO, J. S. de B.; D’ALBUQUERQUE, I. L.; MELLO, J. F. de; MARTINS, D. G.; LACERDA, A. L.; SUZA, M. A. de M. E. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXXV. Atividade antimicrobiana e antitumoral de Lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) em comparação com o Lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona). **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 11, p. 21-26, 1971.
- LIMA, O. G.; D’ALBUQUERQUE, I. L.; GONÇALVES DE LIMA, C.; MACHADO, M. P. Primeiras observações sobre a ação antimicrobiana do Lapachol. **Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco**, v. 14, p. 129-135, 1956.
- PATERNO, E. Ricerche Sull Ácido Lapacico. **Gazzeta Chimica Italiana**, v. 12, p. 337-392, 1882.
- RAO, K. V.; MCBRIDE, T. J.; OLESON, J. J. Recognition and evaluation of Lapachol as an antitumor agent. **Cancer Research**, v. 28, p. 1952-1954, 1968.
- RATH, S.; TRIVELIN, L. A. IMBRUNITO, T. R. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, p. 550-555, 2003.
- ROCHA, L. G. **Avaliação da atividade leishmanicida de naftoquinonas naturais modificadas e desenvolvimento de ensaio biológico para avaliar a potência relativa de 1-aza-antraquinonas leishmanicidas**. 2006. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.
- SANTANA, C. F.; SILVA, A. A. F. Primeiras observações com o emprego de Lapachol em pacientes humanos portadores de neoplasias malignas. **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 8, p. 89-94, 1981.
- SIEBER, S. M.; MEAD, J. A. R.; ADAMSON, R. H. Pharmacology of antitumor agentes from higher plants. **Cancer Treatment Reports**, v. 60, p. 1127-1139, 1976.
- SILVA, A. R.; SILVA, ARI MIRANDA D. A.; BERNARDES, B. de O.; FERREIRA, A. B. B.; SANTOS DOS, A. V. A.; SOARES, M. B. P. Derivados da  $\beta$ -lapachona com atividade em *Plasmodium falciparum*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32, 2009, Fortaleza. Resumos Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009.
- TAVARES, S. R. de C.; PEREIRA, V. V.; PENAFORT, F. O. L.; LACERDA, G. A. Influência da polaridade do solvente na extração de lapachol bruto. **Biochemistry and Biotechnology Reportes**, v.2, p. 79-81, 2013.
- VALDERRAMA, J. A.; BENITES, J.; CORTES, M. Studies on Quinones. Part. 38: Synthesis and leishmanicidal activity of sequiterpene 1,4-quinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 4713-4718, 2003.



## 7

**NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS:**

técnicas de preparo, agentes surfactantes, equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL), bases lipídicas e fármacos encapsulados

Marta Adelino da Silva Faria

Miguel Adelino da Silva Filho

Gabriel Silva Marques Borges

Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria

Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito

**E**ste capítulo é uma revisão da literatura de artigos publicados no período de 2006 a 2016 sobre nanopartículas lipídicas sólidas (NLSs) ou *Solid Lipid Nanoparticles (SLN)*. Para o estudo foram utilizadas as bases de dados *Web of Science* e *PubMed*, utilizando as seguintes palavras-chaves: “Solid lipid nanoparticles” e “Surfactants”, “Solid lipid nanoparticles” e “natural wax”, “Solid lipid nanoparticles” e “HLB”.

Foram revisados 33 artigos, abrangendo as técnicas de preparo de NLS, agentes surfactantes, equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL), lipídios utilizados na matriz lipídica e fármacos encapsulados. Foram acrescentados artigos fora do período delimitado para a revisão, além de artigos de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) com a finalidade de fundamentar e discutir



dados relacionados ao assunto estudado. Foram excluídos artigos não disponíveis, nas bases de dados, na forma de texto completo e fora do período de estudo.

Os carreadores de fármacos têm sido alvo de muitos estudos dentre os quais merecem destaque os lipossomas, nanoemulsões, nanopartículas poliméricas e nanopartículas lipídicas (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação dos carreadores de fármacos

<b>Tipo de carreador de fármaco</b>	<b>Características</b>
Lipossomas	Boa biocompatibilidade, baixa toxicidade. Desvantagem: alto custo de produção. Muller et al. (2000); Almeida e Souto (2007).
Nanoemulsões	Permite produção em escala industrial além de boa eficácia na encapsulação de fármacos. Pode ocasionar a liberação imediata do fármaco. Desvantagem: utilização de altas concentrações de agentes emulsificantes. Silva et al. (2013).
Nanopartícula polimérica	Permitem liberação controlada do fármaco, mas não são facilmente produzidas em escala industrial. Desvantagem: apresenta citotoxicidade por utilizar solventes orgânicos. Patidar, (2010).
Nanopartícula lipídica	Uma das vantagens é ter uma constituição lipídica semelhante a das membranas plasmáticas, o que lhe confere biocompatibilidade. Patidar, (2010).
a) Nanopartícula lipídica sólida (NLS)	Formadas por lipídios sólidos à temperatura ambiente e corporal e estabilizadas por agentes tensoativos. Souto et al. (2011).
b) Carreador lipídico nanoestruturado (NLC)	Possui matriz lipídica contendo lipídio líquido e sólido, uma de suas vantagens é a alta capacidade de encapsulamento e baixa probabilidade de expulsão do fármaco. Muller et al. (2007).

As nanopartículas lipídicas apresentam tamanho de partículas que variam de 1 a 1000nm e surgiram como alternativa de superação dos sistemas coloidais tradicionais, tais como, lipossomas, nanopartículas poliméricas, micro e nanoemulsões (MULLER et al., 2000).

NLS são um grupo de nanopartículas lipídicas, formada por lipídios sólidos, que começaram a ser estudadas em 1991, como sistema de liberação controlada de fármacos, e por promover boa estabilidade físico-química para fármacos termolábeis (SOUTO et al., 2011).

As NLS apresentam várias aplicações farmacêuticas que favorecem desde a melhor entrega específica de fármacos no local de ação até às modificações da estabilidade e farmacocinética. Em produtos dermatológicos, as NLS favorecem a melhor penetração na camada córnea, promovendo, assim, uma hidratação mais profunda e uniforme, fatores importantes para manter a saúde da pele. Com relação aos medicamentos de uso tópico, as NLS favorecem a liberação prolongada, o que aumenta a eficácia terapêutica dos tratamentos dermatológicos (URBÁN-MORLÁN et al., 2010).

Apesar das vantagens da NLS, alguns problemas podem ser observados, tais como: a) a estrutura cristalina dos lipídios que pode comprometer a capacidade de carga do fármaco pela matriz lipídica; b) expulsão do fármaco da matriz lipídica durante o armazenamento em função das transições polimórficas em configurações mais estáveis; e c) perfil de liberação do fármaco (MULLER et al., 2002). Os aspectos de instabilidade das NLS podem ser controlados ou minimizados através da escolha adequada do método de preparo desses carreadores.

## **MÉTODOS DE PREPARO DE NLS**

As técnicas de preparo de NLS estão classificadas em a) emulsificação de alta energia, b) microemulsão à quente, c) emulsificação com evaporação do solvente, d) difusão de solvente (MARCATO, 2009).

### **Emulsificação de alta energia**

Neste método, a fase oleosa é aquecida até uma temperatura de 5 a 10 °C acima do ponto de fusão dos lipídios sólidos e acrescentado, sob agitação, a uma solução de surfactante e cossurfactante na mesma temperatura, formando-se uma emulsão. A fim de reduzir o tamanho das partículas para o tamanho nanométrico, aplica-se grande quantidade de energia na formulação. Essa alta energia pode ser aplicada via a homogeneização a alta pressão

(aplicação para a produção de lotes maiores) ou por meio de sondas de ultrassom de alta potência (produção laboratorial de pequena escala) (MULLER et al., 2000).

### **Microemulsão a quente**

O método foi desenvolvido por Gasco (1990) e modificado por diversos grupos. As microemulsões são preparadas por agitação, contendo, aproximadamente, 10% de lipídio fundido, 15% de surfactante, acima de 10% de cos-surfactante e água. O processo proporciona a formação das microemulsões. Por fim, a microemulsão quente é adicionada a uma solução de surfactante fria resultando na solidificação das nanopartículas lipídicas sólidas (HOU et al., 2003; CORTESI et al., 2002). Uma desvantagem é utilizar altos volumes de surfactante e cossurfactante. Outra desvantagem desse método é o alto custo de produção em grande escala devido a utilização de grandes volumes de agentes emulsionantes.

### **Emulsificação e evaporação do solvente**

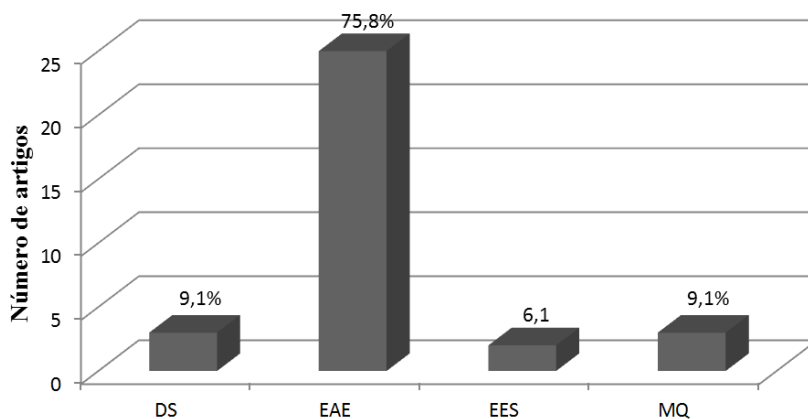
Esta técnica foi desenvolvida por Sjostrom et al. (1993) e utiliza uma fase orgânica, constituída pelo lipídio dissolvido em solvente orgânico imiscível com água, como por exemplo, diclorometano e clorofórmio. O princípio ativo é incorporado por dissolução ou dispersão. Por não utilizar aquecimento neste método, princípios ativos termolábeis podem ser utilizados. Fármacos hidrossolúveis podem ser dissolvidos na fase aquosa que, posteriormente, vai constituir a fase interna de uma emulsão múltipla do tipo água/óleo/água (A/O/A). Uma desvantagem é o tamanho das partículas em escala micrométrica, que pode ser corrigido por homogeneização à alta pressão ou por ultrassom (MARCATO, 2009).

### **Difusão de solvente**

Este método foi desenvolvido primeiramente com polímeros sintéticos. O lipídio é dissolvido em um solvente orgânico miscível em água, como por exemplo, acetona. A mistura inicial é adicionada a uma solução de tensoativos sob agitação e na mistura final é realizada a evaporação do solvente

orgânico a baixa pressão. A utilização de solvente orgânico e a dificuldade de produzir partículas em larga escala é a desvantagem desse método (HU et al., 2006). A distribuição dos artigos analisados com relação aos métodos de preparo das NLSs está demonstrada na Figura 1.

**Figura 1.** Métodos de preparo das NLS dos artigos revisados



DS = difusão do solvente; EAE = Emulsificação de alta energia; EES = emulsificação-evaporação do solvente; MQ = microemulsão a quente.

De acordo com os resultados, a técnica de emulsificação de alta energia (EAE) foi a mais utilizada nos artigos analisados, totalizando 25 trabalhos (75,8%). Dois métodos ocuparam o segundo lugar daqueles mais utilizados para a produção de NLS, que foram a difusão de solvente (DS) com 3 artigos (9,1%) e o método de microemulsão à quente (MQ) também com 3 artigos (9,1%). O método menos utilizado nos artigos revisados foi o de emulsificação evaporação do solvente (EES) com 2 artigos (6,1%).

Além das NLS os carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) são mais uma opção de carreadores de fármacos. CLN utilizam a associação de lipídios sólidos com líquidos como triglicerídios de cadeia média, vitamina E e seus derivados, esqualeno, dentre outros (FANG et al., 2013; BELOQUI et al., 2016).

## SURFACTANTES UTILIZADOS E EQUILÍBRIO HIDRÓFILO-LIPÓFILO

Os agentes tensoativos ou surfactantes são muito utilizados para estabilizar as NLS durante o processo de emulsificação da fase orgânica com a aquosa. Polissorbatos (Tween®), monooleatos (Spam®), fosfolipídios (Fosfatidilcolina) e poloxâmeros (Poloxâmero 188) são amplamente utilizados.

As proporções de agentes surfactantes de um sistema coloidal podem ser determinadas através do cálculo do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL). Em função das concentrações de tensoativos e cotensoativos e seus respectivos valores de EHL, é possível encontrar as proporções ideais para se obter um sistema cineticamente estável.

A classificação numérica dos valores de EHL foi determinada por Griffin, a partir das características polares ou apolares das moléculas dos agentes tensoativos (GRIFFIN, 1949). De acordo com a escala de Griffin, os valores de EHL variam de 1 a 50, sendo os valores numéricos mais elevados característicos de substâncias polares e os menores, atribuídos a substâncias apolares. No preparo de sistemas emulsionados do tipo O/A, são indicados tensoativos com EHL de valor intermediário a alto (8 a 14) e, para sistemas do tipo A/O são adequados surfactantes de baixo valor de EHL (abaixo de 8).

Dos 33 artigos analisados, 8 deles (24,2%) ressaltaram os valores de EHL de agentes surfactantes utilizados em suas metodologias. Os artigos que utilizaram valores de EHL e seus respectivos tensoativos estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Valores de EHL e tensoativos utilizados no preparo das NLS

Valor de EHL	Tensoativos utilizados	Referência
8,0 -16,0	Tween® 80; Spam 80	Akbari et al. (2016)
15,0	Tween® 80	Choi et al. (2014)
13,0	Gelucire® 50/13	Jeon et al. (2013)
15,0 e 8,0	Tween® 80; lecitina de ovo	Kheradmandnia et al. (2010)
14,90	Tween® 60	Mojaredian et al. (2013)
15,70 - 15,50 - 15,30	PEG 20 cetil éter; PEG 20 isocetil éter; PEG 20 oleil éter	Sarpietro et al. (2014)
13,80	Spam® 85; Tween® 80	Severino et al. (2011)
11,0	Tween® 60; Spam® 60	Yang et al. (2012)

EHL == Equilíbrio hidrófilo-lipófilo.

Um recente e inovador estudo realizado por Akbari et al. (2016) analisou o efeito da variação do EHL nas características físico-químicas das NLS obtidas. Os autores utilizaram uma mistura binária dos tensoativos Tween® 80 e Spam 80 para obter valores de EHL que variou entre 8 a 16. Os resultados mostraram que maiores valores de EHL proporcionam menor tamanho das partículas e maior eficiência de encapsulação do naproxeno. Assim, os autores concluíram que o valor do EHL utilizado pode interferir nas propriedades físico-químicas das NLSs.

Choi et al. (2014) utilizaram em seus estudos um polissorbato não iônico (Tween® 80) com valor de EHL = 15. O estudo apenas citou o valor do EHL utilizado, mas avaliou o efeito do pH e de eletrólitos sobre a estrutura, características de superfície, estabilidade, dispersibilidade e comportamento do fluxo de suspensões de NLS sem material encapsulado. A conclusão dos autores é que NLS estabilizadas por tensoativo iônico e grau alimentar, como Tween® 80, podem ser usadas em várias formulações alimentares, tais como vitaminas e antioxidantes.

Um estudo realizado por Jeon et al. (2013), utilizou palmitato de retinol veiculado em NLS estabilizada pelo surfactante Gelucire® com valor de EHL = 13. A análise das concentrações do tensoativo Gelucire® mostrou que o tamanho das partículas de NLS foram mantidos abaixo de 100 nm em uma proporção máxima de Gelucire® 50/13 e Precirol® ATO5 40:60. Acima destas concentrações, houve elevação do tamanho das partículas e do PDI das formulações.

Kalhpure e Akamanchi (2013) utilizaram um tensoativo derivado do ácido oleico e calcularam o valor de EHL através dos softwares Riedal, que obteve EHL = 36,20 Chem SW, que determinou EHL = 34,68. O estudo concluiu que o tensoativo obtido apresentou um valor menor que metade da concentração micelar crítica (CMC) quando comparado ao oleato de sódio de EHL = 18. Além disso, o tensoativo testado apresentou aumento no número de grupamentos polares, conferindo ao tensoativo uma alternativa ao tensoativo aniônico comparado.

Kheradmandnia et al. (2010) realizaram um estudo com cetoprofeno veiculado em NLS com base lipídica formada por cera de abelha e cera de car-

naúba, utilizando como tensoativos Tween® 80 e lecitina de ovo. De acordo com os resultados, o aumento da concentração da mistura de surfactantes entre 0,5 e 1,5%, utilizando uma mistura com 0,5% do fármaco e 3% do teor de lipídios (mistura de cera de abelha e cera de carnaúba) foi possível uma redução do tamanho médio de partículas das NLS. Entretanto, o índice de polidispersidade (PDI), o potencial zeta, e a eficiência de encapsulação não foram afetados pelo aumento concentração de surfactantes. Contudo, em concentrações de 1,5%, houve diminuição do potencial de carga do fármaco nas NLS.

Mojaredian et al. (2013) utilizaram o Tween® 60 como surfactante, sendo 12,5% o valor mínimo necessário para preparar a microemulsão. Para as formulações testadas a quantidade ótima de Tween® 60 foi de 15%. Quando foi utilizado um alto valor do tensoativo (22,5%), não houve a formação de microemulsões.

Estudos realizados por Sarpietro et al. (2014) concluíram que a maior taxa de encapsulamento do fármaco idebenona foi obtida quando se utilizou o tensoativo do mais elevado valor de EHL (maior hidroflicidade) que foi o PEG-20 cetil éter, com valor de EHL = 15,70. Contudo, o menor encapsulamento do fármaco testado foi obtido quando se utilizou o tensoativo com intermediária lipoflicidade que foi o PEG-20 isocetil éter com valor de EHL = 15,50. Portanto, não foi concluída a existência de relações entre o EHL e a taxa de encapsulação.

Um estudo de Severino et al. (2011) analisou o polimorfismo de cristalinidade e o equilíbrio hidrofílico-lipofílico para obtenção de CLN com matriz lipídica formado por ácido esteárico e triglicerídios de ácido cáprico e caprílico. Com base nos resultados o melhor valor de EHL foi de 13,8, alcançado pela combinação dos tensoativos trioleato de sorbitano e polissorbato 80 na proporção de 10:90, promovendo ideal interação entre o surfactante hidrofílico e lipofílico.

Yang et al. (2012) realizaram um estudo experimental de modelagem correlacionando os lipídios sólidos utilizados e a formação de agregação de nanopartículas. O estudo concluiu que emulsões do tipo O/A foram obtidas com 5% de lipídios e 1% em peso de surfactante. Formulações estáveis foram

obtidas com a mistura de Tween® 60 e Span® 60 com uma razão molar de 1,61 e valor de EHL = 11,0.

## MATRIZES LIPÍDICAS UTILIZADAS

As matrizes lipídicas das NLS, como também de CLN, podem ser formadas por diversas composições lipídicas sólidas, podendo ser os lipídios de origem natural ou sintética e, utilizados de forma isolada ou em associação. Será dado um enfoque para as bases lipídicas de origem natural usadas nos artigos desta revisão de literatura, as quais estão apresentadas no Quadro 2.

**Quadro 2.** Composição da matriz lipídica de origem natural das NLS e CLN

BASE LIPÍDICA	REFERÊNCIA
Cera de abelha	Amekeyeh et al. (2015)
Cera de abelha e Óleo de theobroma	Tan e Billa (2014)
Cera de carnaúba	Villalobos-Hernandez; Muller-Goymann (2006), Pyo et al., (2016)
Cera de carnaúba e óleo de semente de romã	Niculae et al. (2013)
Cera de carnaúba e oleato de decila	Lacerda et al. (2011)
Manteiga de cacau e óleo de palma hidrogenado	Qian et al. (2013)
Cera de abelha, diestearina, ácido esteárico e trioleína	Mojahedian et al. (2013)
Óleo de soja	Choi et al. (2014)
Cera de abelha e cera de carnaúba	Kheradmandnia et al. (2010)
Própolis	Rassu et al. (2015)
Óleo de ucuúba e triastearina	Silva et al. (2013)

NLS carregadas com cetoprofeno e com mais conteúdo de cera de abelha em seu núcleo exibiram a liberação do fármaco mais rapidamente quando comparadas às que continham mais de cera de carnaúba em sua estrutura (KHERADMANDNIA et al., 2010).

Não houve diferenças para a entalpia de fusão de NLS com matriz lipídica formada por cera de abelha e óleo de theobroma, quando estas estavam encapsulando paracetamol, anfotericina B (AmB) e sulfassalazina (AMEKYEYH et al., 2015). A eficiência de encapsulação (% EE) de AmB foi de 59% quando se utilizou somente o óleo de theobroma, reduzindo para 42% quando se utilizou a cera de abelha, e de apenas 39% quando os dois



lipídios estavam associados na formulação (TAN; BILLA, 2014).

No preparo de NLS com óleo de soja totalmente hidrogenado estabilizadas com Tween<sup>®</sup> 80, há formação de grandes cristais lipídicos de boa cristalinidade, praticamente, não alterados por variação de pH (2 a 12), parâmetros que promovem bom encapsulamento da molécula e grau de liberação (CHOI et al., 2014).

A própolis é uma resina com propriedades terapêuticas devido aos flavonóides, ácidos fenólicos e ésteres presentes em sua composição. Quando utilizada como material de composição de NLS para liberação prolongada de diclofenaco, é considerado um medicamento bioativo em que o transportador pode exercer um efeito sinérgico ao da molécula ativa encapsulada (RASSU et al., 2015).

NLS preparadas com triestearina e cera de *Virola surimanensis* foram comparadas quanto a toxicidade *in vivo* e não houve evidência de efeito tóxico, apesar de ter ocorrido efeitos de deposição de gordura visceral e subcutâneo e inflamação do tecido adiposo para ambas as formulações (SILVA et al., 2013).

Carreadores do tipo CLN são mais uma opção para o encapsulamento de fármacos, sendo bastante comum a cera de carnaúba na composição da base lipídica para encapsular fotoprotetores contra raios ultravioleta (UV). Filtros solares UV encapsulados em CLN com matriz lipídica a base de óleo de romã e cera de carnaúba promoveram estabilidade física melhorada e eficácia de encapsulação superiores a 90%, com taxa de liberação lenta assegurada (NICULAE et al., 2013).

CLN formados com cera de carnaúba promoveram sinergismo da atividade fotoprotetora quando combinado com dióxido de titânio encapsulado (VILLALOBOS-HERNÁNDEZ; MULLER-GOYMANN, 2006). O filtro solar benzofenona encapsulado em CLN com mistura de cera de carnaúba e oleato de decila formou partículas na faixa de 200-300 nm e estabilidade por um período de 30 dias (LACERDA et al., 2011).

O encapsulamento, em CLN, de princípios ativos utilizados em pós-laser para tratar couperose dentre eles vitamina A1 e K1, mostraram uma recuperação de 3 a 6 vezes mais rápida em áreas cicatrizadas e eritemas (PYO et al., 2016).

## FÁRMACOS ENCAPSULADOS NOS ARTIGOS REVISADOS

Carreadores de fármacos do tipo NLS são úteis para a entrega direcionada de princípios ativos de diversas classes farmacológicas e propriedades físico-químicas. Os fármacos encapsulados nas NLS dos artigos estudados estão apresentados no Quadro 3.

**Quadro 3.** Fármacos encapsulados nas NLS e nos CLN

<b>Fármaco Encapsulado</b>	<b>Referência</b>
Aceclofenaco	Chawla e Saraf (2012)
Amsacrina	Fang et al. (2016)
Anfotericina B, paracetamol, sulfassalazina	Amekyeh et al. (2015),
Anfotericina B	Tan e Billa (2014)
Aspirina e curcumina	Thakkar et al. (2016)
$\beta$ -caroteno	Qian et al. (2013)
Benzofenona-3	Lacerda et al. (2011)
Cetoconazol	Kalhapure e Akamanchi (2013)
Cetoprofeno	Kheradmandnia et al. (2010)
Ciclosporina A	Kim et al. (2009)
<b>Fármaco Encapsulado</b>	<b>Referência</b>
Coenzima Q-10	Korkmaz et al. (2013)
Deltametrina	Nguyen et al. (2012)
Diclofenaco sódico	Rassu et al. (2015)
Dióxido de titânio	Villalobos-Hernandez e Muller-Goymann (2006)
Docetaxel	Naguib et al. (2014)
Doxorrubicina	Oliveira et al. (2016)
Flurbiprofeno	Din et al. (2015)
Gencitabina	Wonganan et al. (2013)
Glutamina, Penicilina G ...	Karn-Orachai et al. (2016)
Luteolina	Jeong et al. (2016)
Naproxeno	Akbari et al. (2016)
Norfloxacinol	Wang et al. (2012)
Octocrilene, avobenzona e bemotrizinol	Niculae et al. (2013)
Palmitato de retinol	Jeon et al. (2013)
Peptidio LRp	Sachetti et al. (2015)
Shikonin	Eskandani e Nazemiyeh (2014)
Sildenafil	Paranjpe et al. (2014)
Vitamina A1, K1 e rutina	Pyo et al. (2016)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo as técnicas de preparo utilizadas na obtenção das NLS o método de produção mais utilizado, nos artigos analisados foi o de emulsificação de alta energia. Uma variedade de surfactantes foi utilizada como agentes estabilizantes das formulações, sendo os polissorbatos os mais empregados nos artigos estudados. Ao se analisar o equilíbrio hidrófilo-lipófilo, ficou evidenciado que a variação do EHL provoca alterações nas propriedades físico-químicas das NLS. Diversos lipídios podem ser empregados na composição da base lipídica de NLS, podendo ser lipídios de origem natural, sintética, ou uma associação dos mesmos. Os lipídios, além de comporem a estrutura lipídica das NLS podem promover sinergismo terapêutico, ao apresentarem alguma atividade farmacológica intrínseca. No tocante aos fármacos encapsulados, os carreadores do tipo NLS se apresentam como uma alternativa viável para entrega direcionada de grande variedade de princípios ativos, incluindo, anti-neoplásicos, antifúngicos, antiinflamatórios, filtros solares e vitaminas.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. J.; SOUTO, E. Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 478-490, 2007.
- BELOQUI, A.; SOLINÍS, M. A.; RODRÍGUEZ-GASCON, A.; ALMEIDA, A. J.; PRÉAR, V. Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics, **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 12, p. 143-161, 2016.
- AKBARI, J.; SAEEDI, M.; MORTEZA-SEMNANI, K.; ROSTAMKALAEI, S. S.; MASADI, M.; ASARE-ADDOE, K.; NOKHODCHIF, A. The design of naproxen solid lipid nanoparticles to target skin layers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 145, p. 626-633, 2016.
- AMEKYEYEH, H.; BILLA, N.; YUEN, K.; CHIN, S. L. Gastrointestinal transit study on amphotericin B-loaded solid lipid nanoparticles in rats. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 16, p. 871-7, 2015.
- CHAWLA, V.; SARAF, S. A. Rheological studies on solid lipid nanoparticle based carbopol gels of aceclofenac. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 92, p. 293-298, 2012.
- CHOI, K.; ADITYA, N. P.; KO, S. Effect of aqueous pH and electrolyte concentration on structure, stability and flow behavior of non-ionic surfactant based solid lipid nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 147, p. 239-244, 2014.
- CORTESI, R.; ESPOSITO, E.; LUCA, G.; NASTRUZZI, C. Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds. **Biomaterials**, v. 23, n. 11, p. 2283-2294, 2002.

- DIN, F. U.; MUSTAPHA, O.; KIM, D. W.; RASHID, R.; PARK, J. H.; CHOI, J. Y.; KU, S. K.; YONG, C. S.; KIM, J. O.; CHOI, H-G. Novel dual-reverse hermesensitive solid lipid nanoparticle-loaded hydrogel for rectal administration of flurbiprofen with improved bioavailability and reduced initial burst effect. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 94, p. 64-72, 2015.
- ELDEM, T.; SPEISER, P.; HINCAL, A. Optimization of spray-dried and congealed lipid micropellets and characterization of their surface morphology by scanning electron microscopy. **Pharmaceutical Research**, v. 8, p. 47-54, 1991.
- ESKANDANI, M.; NAZEMIYEH, H. Self-reporter shikonin-Act-loaded solid lipid nanoparticle: Formulation, physicochemical characterization and geno/cytotoxicity evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, p. 49-57, 2014.
- FANG, Y-P.; CHUANG, C-H.; ; WU, P-C.; HUANG, Y-B.; TZENG, C-C.; CHEN, Y-L.; LIU, Y-T.; TSAI, Y-H.; TSAI, M-J. Amsacrine analog-loaded solid lipid nanoparticle to resolve insolubility for injection delivery: characterization and pharmacokinetics. **Drug Design, Development and Therapy**, 10, p. 1019-1028, 2016.
- GASCO, M. Lipospheres from microemulsions. **Farmaco**, v. 45, p. 1127-1128, 1990.
- GRIFFIN, W. C. Classification of Surface-Active Agents by "HLB". **Journal of The Society of Cosmetic Chemists**, v. 1, p. 311-326, 1949.
- HOU, D.; XIE, C.; HUANG, K.; ZHU, C. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). **Biomaterials**, v. 24, n. 10, p. 1781-1785, 2003.
- HU, F. Q.; JIANG, S. P.; DU, Y. Z.; YUAN, H.; YE, Y. Q.; ZENG, S. Preparation and characteristics of monostearin nanostructured lipid carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 314, p. 83-89, 2006.
- JEON, H. S.; SEO, J. E.; KIM, M. S.; KANG, M. H.; OH, D. H.; JEON, S. O.; JEONG, S. H.; CHOI, Y. W.; LEE, S. A retinyl palmitate-loaded solid lipid nanoparticle system: Effect of surface modification with dicetyl phosphate on skin permeation in vitro and anti-wrinkle effect in vivo. **International Journal of Pharmaceutics**, 452, p. 311-320, 2013.
- JEONG, Y. M.; HA, J. H.; PARK, S. N.. Cytoprotective effects against UVA and physical properties of luteolin-loaded cationic solid lipid nanoparticle. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 35, p. 54-62, 2016.
- KALHAPURE, R. S.; AKAMANCHI, K. G. A novel biocompatible bicephalous dianionic surfactant from oleic acid for solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 105, p. 215-222, 2013.
- KARN-ORACHAI, K.; SMITHB, S. M.; SAESOO, S.; TREETHONG, A.; PUTTIPIATKHA-CHORN, S.; PRATONTEP, S.; RUKTANONCHAI, U. R. Surfactant effect on the physicochemical characteristics of  $\gamma$ -oryanol-containing solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 488, p. 118-128, 2016.
- KIM, S. T.; Dong-Jin JANG, D.; KIM, J. H.; PARK, J. Y.; LIM, J. S.; LEE, S. Y.; LEE, K.; LIM, S.; KIM, C. Topical administration of cyclosporin A in a solid lipid nanoparticle formulation. **Pharmazie**, v. 64, p. 510-514, 2009.
- KHERADMANDNIA, S.; VASHEGHANI-FARAHANI, E.; NOSRATI, M.; ATYABI, F. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made

- from beeswax and carnauba wax. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, p. 753-759, 2010.
- KORKMAZ, E.; GOKCE, E. H.; OZER, O. Development and evaluation of coenzyme Q10 loaded solid lipid nanoparticle hydrogel for enhanced dermal delivery. **Acta Pharmaceutica**, v. 63, p. 517-529, 2013.
- LACERDA, S. P.; CERIZE, N. N. P.; RE, M. I. Preparation and characterization of carnauba wax nanostructured lipid carriers containing benzophenone-3. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 33, p. 312-321, 2011.
- MARCATO, P. D. Preparation, characterization and application in drugs and cosmetics of solid lipid Nanoparticles. **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 6, p. 01-37, 2009. Disponível em: <[http://C:/Users/Cce/Downloads/6545-24428-1-PB%20\(7\)](http://C:/Users/Cce/Downloads/6545-24428-1-PB%20(7)>)>. Acesso em: 22 set. 2016.
- MOJAHEDIAN, M. M.; DANESHAMOUZB, S.; SAMANIB, S. M.; ZARGARAN, A. A novel method to produce solid lipid nanoparticles using n-butanol as an additional co-surfactant according to the o/w microemulsion quenching technique. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 174, p. 32-38, 2013.
- MULLER, R. H.; LUCKS, J. S. Arzneistoffträger aus festen Lipidteilchen, Feste Lipidnanosphaeren (SLN). European Pat. 0605497, 1996.
- MULLER, R. H.; MADER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161-177, 2000.
- MULLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S.A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 121-128, 2002.
- MULLER, R. H.; PETERSEN, R. D.; HOMMOSS, A.; PARDEIKE, J. N Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 522-530, 2007.
- NAGUIB, Y. W.; RODRIGUEZ, B. L.; LI, X.; HURSTING, S. D.; WILLIAMS, R. O.; CUI, Z. Solid Lipid Nanoparticle Formulations of Docetaxel Prepared with High Melting Point Triglycerides: In Vitro and in Vivo Evaluation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, p. 1239-1249, 2014.
- NGUYEN, H. M.; HWANG, I.; PARK, J.; PARK, H. Photoprotection for deltamethrin using chitosan-coated beeswax solid lipid nanoparticles. **Society of Chemical Industry**, v. 68, p. 1062-8, 2012.
- NICULAE, G.; LACATUSU, I.; BADEA, N.; MEGHEA, A.; STAN, R. Influence of vegetable oil on the synthesis of bioactive nanocarriers with broad spectrum photoprotection. **Central European Journal of Chemistry**, v. 12, p. 837-850, 2013.
- OLIVEIRA, M. S.; MUSSI, S. V.; GOMES, D. A.; YOSHIDA, M. I.; FREZARD, F.; CARREGAL, V. M.; FERREIRA, L. A. M.  $\alpha$ -Tocopherol succinate improves encapsulation and anticanceractivity of doxorubicin loaded in solid lipid nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 140, p. 246-253, 2016.
- PADILLA, Fernanda. **Desenvolvimento de carreadores lipídicos nanoestruturados para administração cutânea de fluconazol**. 62 f. TCC (Graduação em Farmácia-Bioquímica) –Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Araraquara, 2014.

- PARANJPE, M.; FINKE, J. H.; RICHTER, C.; GOTHSCHE, T.; KWADU, A.; BÜTTGENBACH, S.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Physicochemical characterization of sildenafil-loaded solid lipid nanoparticle dispersions (SLN) for pulmonary application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 476, p. 41-49, 2014.
- PARDEIKE, J.; WEBER, S.; HABER, T.; WAGNER, J.; ZARFL, H.P.; PLANK, H.; ZIMMER, A. Development of an itraconazole-loaded nanostructured lipid carrier formulation for pulmonary application. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, p. 329-338, 2011.
- PATIDAR, A. A review on novel lipid based nanocarriers. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, p. 30-35, 2010.
- PYO, A. S. M.; MEINKEB, M.; KLEINC, A. F.; FISCHERD, T. C.; MULLER, R. H. A novel concept for the treatment of couperosis based on nanocrystals in combination with solid lipid nanoparticles (SLN). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 510, p. 9-16, 2016.
- QIAN, C.; DECKER, E. A.; XIAO, H.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of lipid nanoparticle physical state on particle aggregation and  $\beta$ -carotene degradation: Potential limitations of solid lipid nanoparticles. **Food Research International**, v. 52, p. 342-349, 2013.
- RASSU, G.; COSSU, M.; LANGASCO, R.; CARTA, A.; CAVALLI, R.; GIUNCHEDI, P.; GAVINI, E. Propolis as lipid bioactive nano-carrier for topical nasal drug delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 908-917, 2015.
- SACHETTI, F.; MARRACCINIA, C.; D'ARCAB, D.; PELÀC, M.; PINETTID, D.; MARETTIA, E.; HANUSKOVAE, M.; IANNUCELLIA, V.; COSTIA, M. P.; LEO, E. Enhanced anti-hyperproliferative activity of human thymidylatesynthase inhibitor peptide by solid lipid nanoparticle delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 136, p. 346-354, 2015.
- SARPIETRO, M. G.; ACCOLLA, M. L.; PUGLISI, G.; CASTELLI, F.; MONTENEGRO, L. Idenbenone loaded solid lipid nanoparticles: calorimetric studies on surfactant and drug loading effects. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, p. 69-74, 2014.
- SEVERINO, P.; PINHO, S. C.; SOUTO, E. B.; SANTANA, M. H. A. Polymorphism, crystallinity and hydrophilic-lipophilic balance of stearic acid and stearic acid-capric/caprylic triglyceride matrices for production of stable nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 86, p. 125-130, 2011.
- SILVA, A. H.; LOCATELLI, C.; FILIPPIN-MONTEIRO, F. B.; ZANETTI-RAMOS, B. G.; CONTE, A.; CRECZYNSKI-PASA, T. B. Solid lipid nanoparticles induced hematological changes and inflammatory response in mice. **Nanotoxicology**, v. 8, p. 209-8, 2013.
- SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A.; PINHO, S. C. Nanopartículas de lípidos sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial. **Química Nova**, v. 34, p. 1762-1769, 2011.
- SJOSTROM, K.; CARLFORS, A. Method for the Preparation of Submicron Particles of Sparingly Water-Soluble Drugs by Precipitation in Oil-in-Water Emulsions. I: Influence of Emulsification and Surfactant Concentration. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 82, n. 6, 1993.
- TAN, S. W.; BILLA, N. Lipid effects on expulsion rate of amphotericin B from solid lipid

- nanoparticles. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 15, p. 287-295, 2014.
- THAKKAR, A.; CHENREDDY, S.; THIO, A.; KHAMAS, W.; WANG, J.; PRABHU, S. Preclinical systemic toxicity evaluation of chitosan-solid lipid nanoparticle-encapsulated aspirin and curcumin in combination with free sulfuraphane in BALB/c mice. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 3265-3276, 2016.
- UNER, M. Preparation, characterization and physico-chemical proprieties of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructure lipid carriers (NCL): Their benefits as colloidal drug carrier system. **Pharmazie**, v. 61, p. 375-386, 2006.
- URBÁN-MORLÁN, Z.; GANEM-RONDERO, A.; MELGOZA-CONTRERAS, L. M.; ESCOBAR-CHÁVEZ, J. J.; NAVA-ARZALUZ, M. G.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing cyclosporine by the emulsification-diffusion method. **International Journal of Nanomedicine**, v. 5, p. 611-620, 2010.
- VILLALOBOS-HERNÁNDEZ, J. R.; MULLER-GOYMANN, C. C. Sun protection enhancement of titanium dioxide crystals by the use of carnauba wax nanoparticles: The synergistic interaction between organic and inorganic sunscreens at nanoscale. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322, p. 161-170, 2006.
- WANG, Y.; ZHU, L.; DONG, Z.; XIE, S.; CHEN, X.; LU, M.; WANG, X.; LI, X.; ZHOU, W. Preparation and stability study of norfloxacin-loaded solid lipid nanoparticle suspensions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 98, p. 105-111, 2012.
- WANG, L.; ANDO, S.; ISHIDA, Y.; OHTANI, H.; TSUGE, S.; NAKAYAMA, T. Quantitative and discriminative analysis of carnauba waxes by reactive pyrolysis-GC in the presence of organic alkali using vertical microfurnance pyrolyzer. **Journal Of Analytical And Applied Pyrolysis**, v. 58-59, p. 525-537, 2001.
- WONGANAN, P.; LANSAKARA-P, D. S. P.; ZHU, S.; HOLZER, M.; SANDOVAL, M. A.; WARTHAKA, M.; CUI, Z. Just getting into cells is not enough: Mechanisms underlying 4-(N)-stearoyl gemcitabine solid lipid nanoparticle's ability to overcome gemcitabine resistance caused by RRM1 overexpression. **Journal of Controlled Release**, v. 169, p. 17-27, 2013.
- YANG, Y.; CORONA III, A.; HENSON, M. A. Experimental investigation and population balance equation modeling of solid lipid nanoparticle aggregation dynamics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 374, p. 297-307, 2012.

## 8

## NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS E SUAS APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

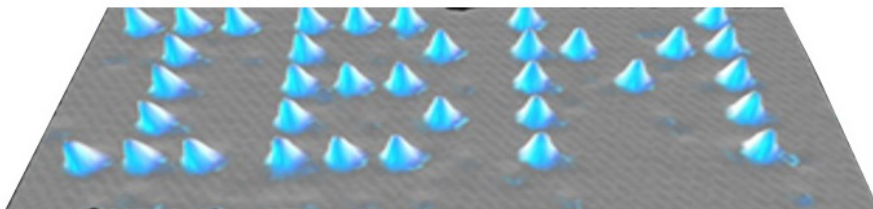
Jones Willian Soares de Queiroz  
Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

A história reporta como marco inicial da nanociência ou nanotecnologia a palestra proferida pelo físico americano Richard Feynman em 1959, intitulada “There’s plenty of room at the bottom” (algo como “há muito espaço lá embaixo»), no Encontro Anual da Sociedade Americana de Física, em Pasadena, nos EUA (DREXLER, 2004). Feynman provocou a comunidade científica a explorar o universo desconhecido das profundezas da escala nanométrica, defendendo uma visão tecnológica na miniaturização, sugerindo a manipulação de materiais em níveis de átomos e moléculas, como se fosse um bloco em construção; chegou a sugerir que seria possível gravar os 24 volumes da *Enciclopédia Britânica* na cabeça de um alfinete, algo surpreendentemente improvável para época (ROUKES, 2001).



O suporte experimental para ideias de Feynman só foi possível duas décadas mais tarde, com a invenção do microscópio de corrente de tunelamento (STM), capaz de sondar a superfície de materiais com resolução nanométrica, desenvolvido pelos cientistas Gerd Binnig e Heinrich Rohrer. Ambos trabalhavam no laboratório da IBM em Zurique (BINNIG; ROHRER, 1983). Em 1989, outros dois cientistas da IBM, Don Eigler e Erhard Schweizer, concretizam as ideias de Feynman ao desenharem o logotipo da corporação, posicionando 35 átomos de xenônio sobre uma superfície plana de níquel (Figura 1), com uso de novos equipamentos microscópicos capazes não só de visualizar e sim, manipular e reposicionar átomos e moléculas (TOUMEY, 2010).

**Figura 5.** Logotipo da IBM desenhado com átomos de xenônio, desenhado por microscopia de varredura de sonda

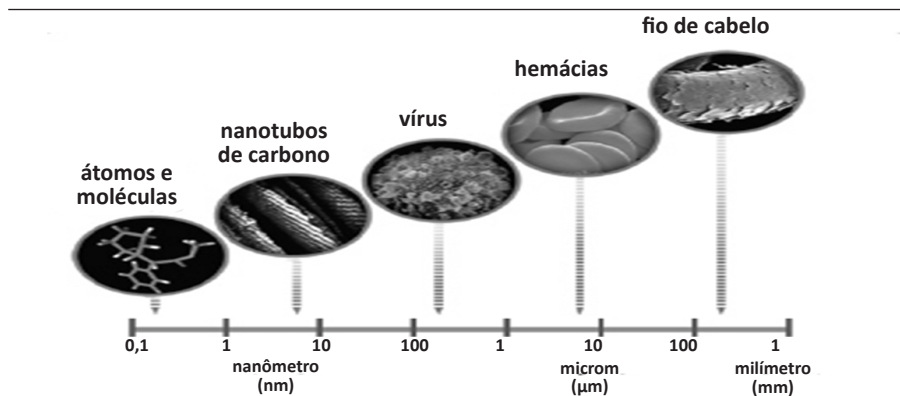


Fonte: Adaptado de Martins e Trindade (2012).

A partir desse evento, o domínio científico e tecnológico em escala nanométrica tem sido marcado por expressivo surto de crescimento, principalmente com desenvolvimento de novas ferramentas de pesquisas que possibilitaram o desenvolvimento de novos produtos e processos industriais em ritmos acelerados. O termo *nano* é um prefixo usado nas ciências para designar uma parte em um bilhão e, assim, um nanômetro (1nm) corresponde a um bilionésimo de metro; para se ter uma noção desse tamanho, a espessura de um fio de cabelo, por exemplo, mede (em diâmetro) cerca de 100 mil nanômetros (JOAQUIN; PLÉVERT, 2009). Um nanotubo de carbono tem diâmetro de 10 nm. A dimensão de uma molécula de DNA encontra-se na escala de 100 nm e as hemácias que são as células vermelhas do sangue, são da ordem de 10 mil nanômetros. A Figura 2 ilustra a comparação de escala

do fio de cabelo, hemácias, vírus, nanotubo de carbono, átomos e moléculas. Um nanotubo de carbono é dez mil vezes mais fino do que um fio de cabelo, porém pode abrigar várias moléculas em seu interior.

**Figura 6.** Dimensões representativas de algumas espécies típicas, em suas escalas



Fonte: Joaquim e Plévert (2009).

Um aspecto relevante nesta escala é o desaparecimento de fronteiras clássicas entre áreas como a física, química, biologia, informática, engenharia e outras. Do ponto de vista científico, materiais nesta escala apresentam características incomuns aos materiais macroscópicos (denominado na literatura como escala macro ou *bulk*), podendo apresentar tolerância à temperatura, cores, reatividade química e condutividade elétrica. Uma das vantagens oferecidas é a possibilidade de alterar propriedades do material preservando sua composição química, proporcionando com isso novas aplicações (RODUNER, 2006).

## NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

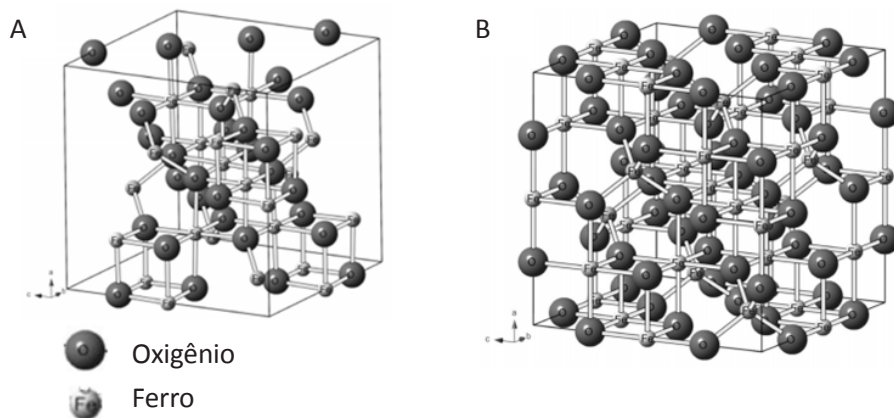
As Nanopartículas Magnéticas (NPMs) são porções submicrônicas formadas por partículas com diâmetro inferior a 100 nm e podem ser formadas por diferentes tipos de ferritas que apresentam a expressão geral  $M^{2+}Fe_2O_4$ , na qual  $M^{2+}$  é um metal que pode ser Mg, Co, Zn, Fe ( $Fe_3O_4$  – magnetita), ou então maghemita ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) (FRANCISQUINE; SCHOENMAKER; SOUZA, 2014). Possuem propriedades magnéticas únicas, como superparamagnetismo, alta

coercitividade, baixa temperatura Curie, alta susceptibilidade magnética etc.

As NPMs têm apresentado grande interesse a pesquisadores de diversas áreas do conhecimento, principalmente por apresentarem diversas aplicações como catálise, armazenamento de dados, recuperação ambiental, fluidos magnéticos e uma crescente utilização no setor da ciências da vida, principalmente em bioaplicações importantes, como biosseparação magnética, detecção de entidades biológicas (células, proteínas, ácidos nucleicos, enzima, bactérias, vírus, e etc) (AKBARZADEH; SAMIEI; DAVARAN, 2012), bem como diagnóstico e terapia clínica, como agente de contraste em imagem de ressonância magnética nuclear (ITO et al., 2005), tratamentos de hipertermia (JORDAN et al., 1999) e como guia magnético em aplicações de liberação controlada de fármacos (DOBSON, 2006). Embora há diversos métodos que foram desenvolvidos para a síntese de nanopartículas magnéticas, o sucesso de sua aplicação nas áreas indicadas acima está intimamente relacionado com parâmetros como tamanho, cristalinidade e morfologia, que são fatores importantes no comportamento físico e químico das nanopartículas (BEDANTA et al., 2013). Para utilizações biomédicas *in vivo*, é essencial que sejam produzidas de material não tóxico e não imunogênico, com partículas de dimensões suficientemente pequenas para permanecerem na circulação após a injeção e que possam atravessar sistemas capilares de órgãos e tecidos, evitando embolia (LÓPEZ-QUINTELA et al., 2004). Também é de fundamental importância que as nanopartículas mantenham estabilidade coloidal em ambientes fisiológicos, tendo em vista que sua introdução nesse ambiente pode provocar desestabilização do sistema, seja por variação de pH ou aumento de força iônica; por fim, que tenham comportamento *superparamagnético* e sejam biocompatíveis (PREDOI et al., 2010).

Nesse quesito, as nanopartículas de óxido de ferro, como a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) ou a sua forma oxidada maghemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) tem sido largamente utilizadas para aplicações biomédicas devido à baixa toxicidade comprovada (PETCHAROEN; SIRIVAT, 2012). A magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) é um óxido de ferro magnético comum que tem uma estrutura cúbica de espinélio inverso e contém átomos de ferro em dois estados de oxidação  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$  ocupando espaços entre os íons oxigênio tetraédricos e octaédricos, conforme Figura 3.

**Figura 3.** Estrutura cristalina da magnetita; b) Estrutura cristalina da maghemita



Fonte: Oliveira, Fabris e Pereira, 2013.

Como os íons  $\text{Fe}^{3+}$  são divididos igualmente entre as posições tetraédricas e octaédricas, não existe momento magnético resultante de presença destes íons (OLIVEIRA; FABRIS; PEREIRA, 2013). Entretanto, todos os íons  $\text{Fe}^{2+}$  residem nos interstícios octaédricos, sendo esses íons responsáveis pela magnetização de saturação ou, ainda, pelo comportamento magnético do material. A Figura 3b apresenta a estrutura cúbica da maghemita, cujo diferencial é a presença de  $\text{Fe}^{+3}$  como único cátion da estrutura. Cada célula unitária da maghemita contém 32 íons  $\text{O}^{2-}$ ,  $21\frac{1}{3}$  íons de  $\text{Fe}^{3+}$  e  $2\frac{1}{3}$  vacâncias, sendo que os cátions estão distribuídos em 8 sítios tetraédricos e 16 octaédricos (WU et al., 2016). As vacâncias estão localizadas apenas nos sítios octaédricos, justificativa da maghemita ser considerada como a magnetita totalmente oxidada (WU et al., 2016).

### SÍNTESES DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE FERRO

As sínteses são classificadas basicamente em dois tipos: (i) *top-down* (“de cima para baixo”), que corresponde em geral em processo litográfico (corrosão química) e (ii) *bottom-up* (“de baixo para cima”), nas quais há uma deposição controlada e organizada de átomos e moléculas para a formação

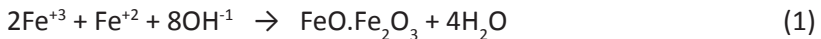
de estruturas definidas em nanoescala. Outras questões importantes como distribuição de tamanho de partículas monodispersas, controle do tamanho das partículas de uma forma reprodutível, obtenção de materiais com elevada cristalinidade, estrutura de cristal desejada, forma das nanopartículas e sua estabilidade ao longo do tempo são fatores essenciais na produção das nanopartículas. Uma variedade de métodos têm sido utilizados para sínteses, como decomposição térmica (ZHANG et al., 2009), sol-gel (LU et al., 2002), microemulsão (SANTRA et al., 2001), síntese sonoquímica, pirólise e coprecipitação (LEE et al., 2004). O Quadro I apresenta algumas características dos métodos utilizados para sintetizar nanopartículas magnéticas de óxido de ferro.

**Quadro 4.** Comparação e características das nanopartículas magnéticas de óxido de ferro sintetizados em diferentes métodos

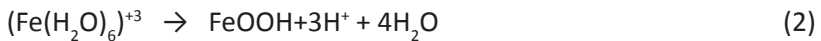
Características	Métodos de sínteses de nanopartículas de óxido de ferro			
	Aerosol/ vapor (pirólise)	Sol-gel	Microemulsão	Deposição de gás
<b>Tamanho e distribuição de tamanho</b>	5-60 nm com larga Distribuição	20-200 nm com larga distribuição	4-15 nm com estreita distribuição	5-50 nm com estreito tamanho de distribuição
<b>Magnetização</b>	10–50 emu/g com magnetização apropriada	10–40 emu/g com comportamento paramagnético	>30emu/g com comportamento superparamagnético	>20 meu/g
<b>Morfologia</b>	Esféricas	esférica com alta porosidade	esférica ou cúbica (sem agregação)	Esférica
<b>Vantagens</b>	elevada produção	partículas de formas e comprimentos desejados podem ser sintetizadas, útil para fazer nanopartículas híbridas	Propriedades uniformes e também o tamanho das nanopartículas podem ser manipuladas	Útil para proteção e revestimento
<b>Desvantagens</b>	Formação de agregados	os produtos usualmente contém componentes da matriz sol-gel em suas superfícies	os tensoativos são difícil de remover; pequena quantidade de óxido pode ser sintetizada	Sínteses em altas temperaturas

Fonte: Gupta e Gupta (2005).

No entanto, o método de coprecipitação tem sido o mais utilizado devido à simplicidade de manipulação, boa reprodutibilidade, baixo custo de produção e apresenta inúmeras vantagens, como homogeneidade química, temperaturas de reação e sinterização baixas, uniformes com fraca ou nenhuma aglomeração e controle de tamanho (KIM; KIM; LEE, 2003). Publicações recentes têm enfatizado o controle do tamanho das nanopartículas da magnetita, apresentando comportamento *superparamagnético*, isto significa que não há nenhuma histerese nas curvas de magnetização, o que implica que a capacidade de retenção e coercitividade é próximo de zero (CASILLAS; PÉREZ; GONZALEZ, 2012). Nanopartículas obtidas pelo método de coprecipitação química são produzidas pela precipitação sais de ferro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) e ( $\text{Fe}^{+3}$ ) em meio alcalino, numa razão molar de 1:2, utilizando-se hidróxido de amônio, amônia ou outra solução alcalina para aumentar o pH da reação, fator necessário para a formação da magnetita. A reação química pode ser representada pela equação química abaixo:



Geralmente, a solubilidade do óxido de ferro trivalente ( $\text{Fe}^{+3}$ ) é menor do que a observada em óxidos de ferro divalente ( $\text{Fe}^{+2}$ ), assim o ferro trivalente hidrolisa e forma espécies hidroxiladas. A hidrólise pode ser induzida por aquecimento da solução. A hidrólise completa corresponde à formação de um óxido-hidróxido de ferro trivalente e é representada de acordo com a reação química seguinte:

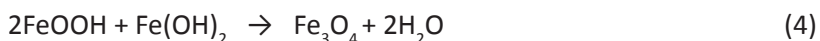


O cátion divalente na solução de ferro ( $\text{Fe}^{+2}$ ) reage para formar o óxido de ferro divalente em condições básicas (presença da hidroxila  $\text{OH}^-$ ), que é apresentado na equação 3:



Sob as condições de reação, o hidróxido de ferro bivalente e o óxido-hidróxido de ferro trivalente formam espécies susceptíveis a serem forma-

das. O mecanismo de reação sugere que o cátion do ferro trivalente hidrolisa com o aumento do pH formando (FeOOH), sob condições alcalinas o cátion do ferro bivalente forma Fe(OH)<sub>2</sub>. As espécies químicas reagem entre si em solução alcalina (pH entre 9 a 11) formando a magnetita (CASILLAS; PÉREZ; GONZALEZ, 2012), de acordo com a equação (4):



### **FUNCIONALIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS**

As nanopartículas magnéticas são muito sensíveis à oxidação e à aglomeração, devido à grande área superficial relativa, alta reatividade química e interação magnética dipolo-dipolo. Sua oxidação, que pode ocorrer em ambientes naturais, altera drasticamente as propriedades magnéticas desses materiais. Um dos aspectos importante para sua utilização em aplicações biomédicas consiste na proteção superficial, a fim de melhorar sua biocompatibilidade com entidades biológicas e proporcionar estabilidade química, preservando propriedades magnéticas desejáveis.

Várias estratégias de proteção têm sido desenvolvidas para estabilizar quimicamente as NPMs contra oxidação e degradação durante e após a síntese, seja com espécies orgânicas como polímeros (polietilenoglicol- PEG, dextrano e quitosano) ou agentes tensoativos (ácidos graxos de cadeia longa como oleico, láurico, e etc) (LU et al., 2002) ou espécies inorgânicas como a sílica (SiO<sub>2</sub>) (SANTRA et al., 2001), entre outras. O quadro 2 apresenta algumas modificações das superfícies das nanopartículas magnéticas para aplicações biomédicas e seus efeitos sobre a estabilidade e magnetização.

**Quadro 2.** Diferentes polímeros / moléculas que podem ser utilizadas para o revestimento de nanopartículas para estabilizar os ferrofluidos

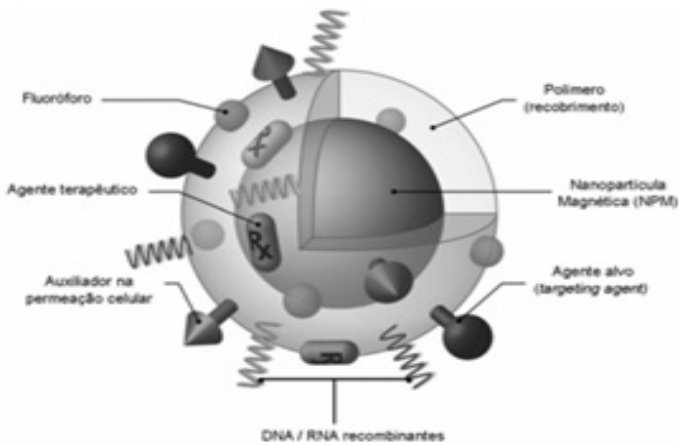
Polímeros / moléculas	Vantagens
<b>Poli(etileno)glicol (PEG)</b>	A imobilização não-covalente do PEG sobre a superfície, melhora a biocompatibilidade e o tempo de circulação no sangue
<b>Dextrano</b>	Melhora o tempo de circulação sanguínea, estabiliza a solução coloidal
<b>Polivinilpirrolidona (PVP)</b>	Melhora o tempo de circulação sanguínea, estabiliza a solução coloidal
<b>Ácidos graxos</b>	Estabilidade coloidal, grupos funcionais terminados em carboxilas
<b>Álcool polivinílico (PVA)</b>	Impede coagulação das partículas, dando origem a partículas monodispersas
<b>Ácido poli(acrílico)</b>	Aumenta a estabilidade e biocompatibilidade das partículas e também ajuda na bioadesão
<b>Polipeptídeos</b>	Excelente para a biologia celular, por exemplo, atua no direcionamento para a célula
<b>Quitosana</b>	Sistema de entrega de genes não virais, biocompatível, hidrófilo, utilizado na agricultura, Alimentos, medicamentos, biotecnologia, dos têxteis, polímeros e tratamento de água
<b>Gelatina</b>	Empregado como agente gelificante, biocompatível, polímero natural hidrofílico
<b>Poli(N-isopropilacrilamida)</b>	Termossensível (utilizado para entrega de drogas e separação celular)
<b>Poli(D, L- lactido)</b>	Biocompatível, baixa citotoxicidade

Fonte: Gupta e Gupta, 2005.

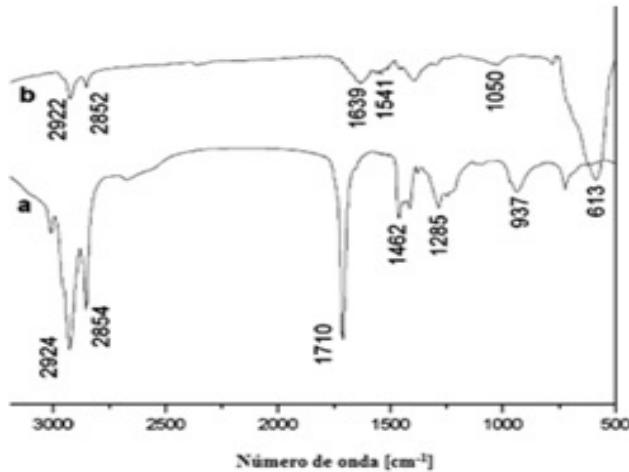
A Figura 4 é uma representação esquemática de uma nanopartícula magnética com diversas funcionalizações e a Figura 5 do espectro de infravermelho com respectivas bandas de ligação da magnetita funcionalizadas com ácido oleico.



**Figura 5.** Espectros FTIR de (a) ácido oleico puro; (b) nanopartículas Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> revestido com ácido oleico, com respectivas ligações.



**Figura 4.** NPM com diversos ligantes funcionais: modelo de multifuncionalidade.



Fonte: GUPTA e GUPTA, 2005.

Ao analisar os espectros de infravermelho (Figura 5), observa-se o desaparecimento do dímico do ácido oleico (a), caracterizado pelo estiramento C=O em 1710 cm<sup>-1</sup> e a formação de duas novas bandas em 1639 e

1541  $\text{cm}^{-1}$  (b) indicando presença de carboxilato ligados aos íons ferro da superfície das nanopartículas.

## APLICAÇÕES DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS IRM

A imagem por ressonância magnética é uma das ferramentas mais eficazes na medicina, sendo uma técnica não-invasiva utilizada em diagnóstico para obtenção de imagens anatômicas e metabólica de tecidos em alta resolução espacial e temporal (HARISINGHANI et al., 2003). A técnica é baseada na alteração da magnetização dos tecidos a partir da relaxação do comportamento ressonante dos prótons presentes na molécula de água (núcleos de hidrogênio) sob a ação de um forte campo estático (1 T) após a retirada de outro campo magnético transversal na faixa de radiofrequência ( $f = 42.57$  MHz) (FRANCISQUINE; SCHOENMAKER; SOUZA, 2014).

Os óxidos de ferro superparamagnéticos conhecida como *SPIONs* tem demonstrado potencialidade em aplicações *in vitro* e *in vivo* de imagiologia molecular e celular, quando comparados com as usuais partículas paramagnéticas, pois são capazes de alterar substancialmente o (T2) tempo de relaxamento transversal (*spin-spin*) das moléculas de água próximo das nanopartículas, melhorando o contraste negativo da imagem; com isso utiliza-se menos quantidade de agente de *SPIONs* na aplicação. As propriedades de contraste também podem ser influenciadas pelo tamanho e hidrofiliabilidade das nanopartículas ou pela espessura da cobertura superficial. Para melhorar as distinções de diferentes tecidos, uma vez que cada tecido absorve quantidades de nanopartículas diferentes, foram desenvolvidos agentes que aumentam o contraste entre eles e são facilmente excretadas pelo fígado após o tratamento. São utilizados comercialmente como o Feridex, Rosevist, Sinerem, Supravist, que são óxidos de ferro superparamagnéticos revestidos com dextran ou carboxidextran.

## SEPARAÇÃO CELULAR

A identificação/separação de células com nanopartículas magnéticas é um método cada vez mais comum. A técnica basicamente passa por duas etapas: (i) anexar as partículas magnéticas no componente biológico desejava-

do e (ii) internalização de partículas magnéticas biocompatíveis pela fase do fluido endocitose, endocitose mediada pelo receptor ou fagocitose. Uma das estratégias de marcação seletiva celular consiste na modificação da superfície das nanopartículas magnéticas com surfactantes específicos para que se liguem em elementos biológicos de interesse, por exemplo, DNA, proteínas e células.

Bruce e colaboradores (2004) utilizaram magnetita revestida com sílica e funcionalizada com celulose na imobilização de duas enzimas:  $\alpha$ -quimotripsina e  $\beta$ -galactosina para aplicações em biorreatores. Posteriormente sintetizaram nanocompósito magnético à base de sílica mesoporosa e magnetita para aplicação em biosseparação, avaliando a habilidade destes nanocompósitos na ligação e eluição de DNA e na extração de RNA de células bacterianas. As nanopartículas obtidas foram usadas como núcleo para a fabricação do nanocompósito magnético mesoporoso. Foi utilizado como surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e tetraetilortossilicato (TEOS) como fonte de sílica, em uma síntese típica de obtenção de sílica mesoporosa ordenada. Tanto a magnetita quanto o nanocompósito sílica-magnetita demonstraram alta capacidade de ligação ao DNA (DE SOUZA; MOHALLEM; DE SOUZA, 2011).

## ENTREGA DE DROGAS

Nanopartículas magnéticas em suspensão (fluido magnético) tem assumido um papel importante em sistema de entrega de drogas, conhecido como *drug delivery*. Isso porque os métodos convencionais (droga injetada) atuam sobre todo organismo, sem especificidade, provocando efeitos colaterais tão agressivos quanto a enfermidade. Numa situação ideal, uma droga específica pode ser funcionalizada as NPMs e direcionada, através de um gradiente de campo magnético externo, ao órgão específico e ao retirar o campo a droga se espalha proporcionando uma maior concentração no local desejado.

Para tais aplicações, o tamanho, carga e composição química da superfície das partículas magnéticas são particularmente importantes e afetam fortemente tanto o tempo de circulação no sangue, como a biodisponibili-

dade das partículas dentro do corpo (CHOULY et al., 1996). Além disso, as propriedades magnéticas e a internalização das partículas dependem de seu tamanho, por exemplo, administração sistêmica de partículas com diâmetros maiores de 200nm podem ser capturadas pelo sistema endotelial-SER (presente no baço, fígado e medula óssea). Por outro lado, partículas com diâmetros inferiores a 10nm são rapidamente removidas através do extravasamento e depuração renal. As partículas que vão desde cerca de 10 a 100nm, são ideais para a injeção intravenosa e demonstram maior tempo de circulação de sangue. As partículas nesta gama de tamanho são suficientemente pequenas, tanto para evadir o SER do corpo, como penetrar nos capilares, nos tecidos do corpo e, portanto, podendo oferecer uma distribuição mais eficaz em determinados tecidos. Revestimento dos núcleos das NPMs são utilizados para estabilização química, proteção e posterior funcionalização com moléculas ou fármaco desejados.

Chen e colaboradores (2012) prepararam uma plataforma nanométrica para entrega de drogas guiada por conjugação de pontos quânticos com nanotubos de carbono cheios de magnetita. A plataforma foi capaz de transportar DOX em células HeLa por meio de um campo magnético externo (CHEN et al., 2012). Um dos primeiros estudos de entrega de quimioterápicos com aplicação de campo magnético envolveu microesfera de albumina (vários diâmetros) aprisionado em magnetita e DOX. Este sistema aumentou em 100 vezes a concentração da droga no local desejado em comparação ao sistema de droga livre (WIDDER; SENYEI; SCARPELLI, 1978).

## **HIPERTERMIA MAGNÉTICA**

A terapia de hipertermia constitui um tratamento médico com base na exposição de tecido corporal a temperaturas ligeiramente mais elevadas do que fisiológico (entre 41- 46°C) para danificar e matar as células cancerosas ou para torná-las mais sensíveis aos efeitos de radiação e drogas anticâncer. Apesar de ainda ser uma técnica experimental, hipertermia local demonstrou nos ensaios clínicos ser eficaz quando combinada com quimioterapia bem desenvolvida ou radioterapia para câncer, tais como câncer da mama, cervical, próstata, cabeça e pescoço, melanoma, sarcoma de tecidos moles, e cancro

retal limitada a pequenas áreas, entre outros (ALGAN et al., 2000).

A hipertermia magnética baseia-se na introdução de partículas magnéticas no tecido tumoral, seguindo da aplicação de um campo magnético externo alternado transformando a energia do campo magnético em energia térmica (calor). Para maximizar os efeitos da energia térmica, NPMs (em geral de magnetita, devido à baixa toxicidade, entre outras) são funcionalizadas com agentes específicos capazes de ligarem somente as células tumorais, minimizando efeito de aquecimento das células normais.

Dez pacientes com recorrência de câncer de próstata foram inseridos em um teste de viabilidade do Departamento de Urologia da Charite - Faculdade de Medicina de Berlim. O fluido magnético foi injetado através do períneo sob ultrassonografia transretal e orientação fluoroscópica. Os pacientes receberam seis tratamentos térmicos de duração de 60 minutos, com temperaturas que variaram de 39°C a 50°C e intensidade de campo de 4 a 5kA/m. Os resultados das tomografias mostraram a retenção das nanopartículas na próstata em até 6 semanas em apenas uma aplicação e sem observância de toxicidade sistêmica num período de 17 meses, tornando as NPMs uma importante aliada a nanomedicina (THIESEN; JORDAN, 2008).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma eficiente utilização das nanopartículas magnéticas na medicina ainda requer estudos específicos em diferentes áreas de pesquisa, permitindo a compreensão de fenômenos associados a caracterização e validação de dados experimentais. Esse caminho já tem sido percorrido por vários grupos de pesquisas, e espera-se que a utilização segura desses nanomateriais possam trazer mais qualidade de vida aos pacientes com câncer, principalmente aqueles que não reagem aos tratamentos tradicionais.

### REFERÊNCIAS

AKBARZADEH, A.; SAMIEI, M.; DAVARAN, S. Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. **Nanoscale research letters**, v. 7, p. 1, 2012.

- ALGAN, Ö.; FOSMIRE, H.; HYNYNEN, K.; DALKIN, B.; CUI, H.; DRACH, G.; STEA, B.; CASADY, J. R. External beam radiotherapy and hyperthermia in the treatment of patients with locally advanced prostate carcinoma. **Cancer**, v. 89, p. 399-403, 2000.
- BEDANTA, S.; BARMAN, A.; KLEEMANN, W.; PETRACIC, O.; SEKI, T. Magnetic nanoparticles: a subject for both fundamental research and applications. **Journal of nanomaterials**, v. 2013, p. 169, 2013.
- BINNIG, G.; ROHRER, H. Scanning tunneling microscopy. **Surface science**, v. 126, p. 236-244, 1983.
- BRUCE, I. J.; TAYLOR, J.; TODD, M.; DAVIES, M. J.; BORIONI, E.; SANGREGORIO, C.; SEN, T. Synthesis, characterisation and application of silica-magnetite nanocomposites. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 284, p. 145-160, 2004.
- CASILLAS, P. E. G.; PÉREZ, C. A. M.; GONZALEZ, C. A. R. **Infrared spectroscopy of functionalized magnetic nanoparticles**. INTECH Open Access Publisher, 2012.
- CHEN, M.-L. et al. Quantum dots conjugated with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-filled carbon nanotubes for cancer-targeted imaging and magnetically guided drug delivery. **Langmuir**, v. 28, p. 16469-16476, 2012.
- CHOULY, C. et al. Development of superparamagnetic nanoparticles for MRI: effect of particle size, charge and surface nature on biodistribution. **Journal of microencapsulation**, v. 13, p. 245-255, 1996.
- DE SOUZA, K. C.; MOHALLEM, N. D. S.; DE SOUZA, E. Nanocompósitos magnéticos: potencialidades de aplicações em biomedicina. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1692-1703, 2011.
- DOBSON, J. Magnetic nanoparticles for drug delivery. **Drug development research**, v. 67, p. 55-60, 2006.
- DREXLER, K. E. Nanotechnology: from Feynman to funding. **Bulletin of Science, Technology & Society**, v. 24, p. 21-27, 2004.
- FRANCISQUINE, E.; SCHOENMAKER, J.; SOUZA, J. A. Nanopartículas Magnéticas e suas Aplicações. In: Wendel Andrade Alves. (Org.). **Química Supramolecular e Nanotecnologia**, ed. 1. São Paulo: Atheneu, 2014, v. 10, p. 269-288.
- GUPTA, A. K.; GUPTA, M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Biomaterials**, v. 26, p. 3995-4021, 2005.
- HARISINGHANI, M. G. et al. Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 2491-2499, 2003.
- ITO, A.; SHINKAI, M.; HONDA, H.; KOBAYASHI, T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 100, p. 1-11, 2005.
- JOAQUIN, C.; PLÉVERT, L. **Nanociências: a revolução do invisível**. Rio de Janeiro: Zahar, 2009.
- JORDAN, A.; SCHOLZ, R.; WUST, P.; FÄHLING, H.; FELIX, R. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 201, p. 413-419, 1999.

- KIM, Y. I.; KIM, D.; LEE, C. S. Synthesis and characterization of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles prepared by temperature-controlled coprecipitation method. **Physica B: Condensed Matter**, v. 337, p. 42-51, 2003.
- LEE, S.; JEONG, J.; SHIN, S.; KIM, J.; KIM, J. Synthesis and characterization of superparamagnetic maghemite nanoparticles prepared by coprecipitation technique. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 282, p. 147-150, 2004.
- LÓPEZ-QUINTELA, M. A.; TOJO, C.; BLANCO, M. C.; RIO, L. G.; LEIS, J. R. Microemulsion dynamics and reactions in microemulsions. **Current opinion in colloid & interface science**, v. 9, p. 264-278, 2004.
- LU, Y.; YIN, Y.; MAYERS, B. T.; XIA, Y. Modifying the surface properties of superparamagnetic iron oxide nanoparticles through a sol-gel approach. **Nano letters**, v. 2, p. 183-186, 2002.
- MARTINS, M. A.; TRINDADE, T. Os nanomateriais e a descoberta de novos mundos na bancada do químico. **Química Nova**, v. 35, p. 1434-1446, 2012.
- OLIVEIRA, L. C.; FABRIS, J. D.; PEREIRA, M. C. Óxidos de ferro e suas aplicações em processos catalíticos: uma revisão. **Química Nova**, v. 36, p. 123-130, 2013.
- PETCHAROEN, K.; SIRIVAT, A. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. **Materials Science and Engineering: B**, v. 177, p. 421-427, 2012.
- PREDOI, D.; ANDRONESCU, E.; RADU, M.; MUNTEANU, M. C.; DINISCHIOTU, A. Synthesis and characterization of biocompatible maghemite nanoparticles. **Digest J Nanom Biostr**, v. 5, p. 779-786, 2010.
- RODUNER, E. Size matters: why nanomaterials are different. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 583-592, 2006.
- ROUKES, M. Plenty of room, indeed. **Scientific American**, v. 285, p. 42-9, 2001.
- SANTRA, S.; TAPEC, R.; THEODOROPOULOU, N.; DOBSON, J.; HEBARD, A.; TAN, W. Synthesis and characterization of silica-coated iron oxide nanoparticles in microemulsion: the effect of nonionic surfactants. **Langmuir**, v. 17, p. 2900-2906, 2001.
- THIESEN, B.; JORDAN, A. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia. **International journal of hyperthermia**, v. 24, p. 467-474, 2008.
- TOUMEY, C. 35 atoms that changed the nanoworld. **Nature nanotechnology**, v. 5, p. 239-241, 2010.
- WIDDER, K. J.; SENYEI, A. E.; SCARPELLI, D. G. Magnetic microspheres: a model system for site specific drug delivery in vivo. **Experimental Biology and Medicine**, v. 158, p. 141-146, 1978.
- WU, W.; WU, Z.; YU, T.; JIANG, C.; KIM, W. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 16, p. 43, 2016.
- ZHANG, J.; KONG, Q.; LU, W.; LIU, H. Synthesis, characterization and magnetic properties of near monodisperse Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> sub-microspheres. **Chinese Science Bulletin**, v. 54, p. 2434-2439, 2009.

## 9

## **PLANTIO DIRETO DE PASTO: alternativa para renovação de pastagens na Amazônia Ocidental**

Mauro Jorge Ribeiro

Carlos Maurício Soares de Andrade

**O** Brasil vive um paradoxo em relação ao mercado mundial de carne bovina. Se por um lado esbanja a força do segmento produtivo, por outro, convive com índices de degradação de pastagens que podem comprometer os cenários de avanços projetados pelo setor.

Demonstrando potencial e vigor, o Brasil liderou o ranking mundial dos exportadores de carne bovina de 2008 a 2014. Em 2015, passou a ocupar a terceira posição em decorrência de retração no abate da espécie em relação ao ano anterior, com a queda nas exportações (IBGE, 2015). Com o aumento do efetivo de bovinos para 215,20 milhões de cabeças, registrado em 2015, o país prepara-se para superar os Estados Unidos quanto ao volume de produção, nos próximos 5 anos, assumindo a liderança mundial (PORTAL BEEFPOINT, 2015).



Estes dados são ainda mais significativos quando é feita análise da produtividade da pecuária brasileira: cerca de 93% do rebanho é criado no sistema extensivo, tendo a pastagem como a principal ou única fonte alimentar (NOGUEIRA, 2013). O sistema de produção de carne no Brasil, por essa característica extensiva, tem um dos menores custos de produção no mundo, equivalente quase a metade do custo nos Estados Unidos, por exemplo (ANDRADE et al, 2015).

Trata-se claramente de um sistema de produção não intensivo quanto ao uso de tecnologias. Por isso, a cada ano, milhares de hectares de pastos são transformados em áreas degradadas ou iniciam algum processo de degradação. Estima-se que, atualmente, em torno de 70% dos 172 milhões de hectares de pastagens existentes no país sejam pastagens degradadas ou em degradação, de modo que a maior concentração dessas áreas estaria nas regiões de fronteira agrícola (Norte, Centro-Oeste e Nordeste) (DIAS FILHO, 2011; 2014). A degradação das pastagens é, por isso, o fator que mais compromete a sustentabilidade da produção animal, com reflexos na diminuição da capacidade de suporte em cada propriedade, aumento dos custos de produção e queda na renda dos produtores rurais, na medida em que o conjunto destes indicadores leva à ocorrência natural de prejuízos econômicos acentuados.

A esse processo, Macedo e Zimmer (1993) denominaram ciclo de produção naturalmente decadente, apresentando produções de matéria seca (MS) substancialmente maiores nos primeiros anos, sendo caracterizada pela produção estacional e cíclica no período das águas.

Diversos fatores explicam a intensidade do processo de degradação de pastagens. Segundo Dias Filho (2007), para pastagens plantadas, as principais causas são: 1. Práticas inadequadas de pastejo, como o uso de taxas de lotação ou períodos de descanso que não levam em conta o ritmo de crescimento do capim; 2. Práticas inadequadas de manejo da pastagem, como a ausência de adubação de reposição, o uso excessivo do fogo para eliminar pasto não consumido (provocar rebrote), ou para controlar plantas daninhas; 3. Falhas no estabelecimento da pastagem, provocadas pelo preparo inadequado da área, uso de sementes de baixo valor cultural, ou pelo plantio em

época inadequada; 4. Fatores bióticos, como ataques de insetos-praga e patógenos; e 5. Fatores abióticos, como o excesso ou a falta de chuvas, a baixa fertilidade e a drenagem deficiente dos solos.

Os números deveriam servir de alerta. A região Centro Oeste, que responde por mais de 60% da produção de carne no país, apresenta quadro preocupante em relação ao percentual de pastagens degradadas. Mais de 80% das cerca de 50 milhões de hectares encontram-se comprometidos, o que explica a baixa capacidade de suporte observada atualmente (cerca de 0,8 U.A/ha). Dados indicam que é possível obter mais de 16 arrobas/ha/ano em áreas de pastagens bem formadas e manejadas com eficiência, enquanto que a produtividade de carne nas regiões Norte e Centro Oeste não ultrapassa, em média, 2,0 arrobas/ha/ano. (PERON; EVANGELISTA, 2004; MACEDO et al., 2013; ANDRADE et al, 2015).

Na Amazônia Legal, que concentra 40% das pastagens e mais de 35% do rebanho bovino nacional, há cerca de 30 milhões de hectares degradados ou em processo de degradação, implicando em forte pressão anual para incorporação de novas áreas via aumento do desmatamento, na contramão do que indicam os principais mercados consumidores, exigentes por pecuária mais sustentável (DIAS FILHO; ANDRADE, 2006; NOGUEIRA, 2013). Para Dias Filho (2016), a pecuária na Amazônia deve se modernizar para tornar-se competitiva e atingir mercados mais exigentes. Melhorar as pastagens via reutilização das áreas já abertas, que atualmente se encontram improdutivas (abandonadas) ou com baixa produtividade (subutilizadas), reduzindo desmatamentos e tornando a atividade mais produtiva e sustentável, é a base desta modernização. Via recuperação de pastagens degradadas, o processo de modernização da pecuária na Amazônia promoverá o aumento da produção, sem a expansão das áreas de pastagem. Isto é, o aumento da produtividade e a preservação ambiental deverão ser o foco central, conciliando o aumento na segurança alimentar nacional e mundial com a redução dos desmatamentos.

## SITUAÇÃO DAS PASTAGENS NO ACRE

O estado do Acre, situado no extremo oeste do Brasil, ocupa 4% da Amazônia brasileira. É citado como o portão de entrada no Brasil pela Amazônia Ocidental, e possui área territorial de aproximadamente 164.221 km<sup>2</sup>, com 13,9 % (22.800 km<sup>2</sup>) de sua área total desflorestada. Do total desmatado até 2012, em torno de 84,30 % (19.220 km<sup>2</sup>, equivalente a 1,92 milhões de hectares) eram utilizados com pastagens (VALENTIM et al., 2015). A gramínea forrageira com maior área plantada é o capim-brizantão (*Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*) (DIAS FILHO; ANDRADE, 2006).

No estado, a pecuária bovina reproduz os prejuízos decorrentes da degradação das pastagens cultivadas, sendo a principal causa da degradação a síndrome da morte do capim-brizantão (VALENTIM et al., 2000; VALENTIM et al., 2002; ANDRADE; VALENTIM, 2006; 2007). Por isso, a prioridade central da pecuária acreana é a necessidade de reformar pastagens, em especial as acometidas pela síndrome da morte do capim-brizantão, para recuperar condições originais de produtividade.

De maneira geral, isso já vem ocorrendo entre os pecuaristas mais capitalizados e informados. Há um grande esforço nos últimos 15 anos para reformar pastagens degradadas no estado, reflexo da gravidade da síndrome da morte do brizantão. O crescimento do uso de tratores na pecuária do Acre, neste mesmo período, é decorrente dessa situação (VALENTIM et al., 2015).

Paralelamente, o processo de degradação de pastagens causado pela doença tem levado à falência muitos pecuaristas, notadamente aqueles com baixa capacidade gerencial, principalmente os de pequeno porte, provocando vendas de propriedades e abandono da atividade.

A partir do crescimento do processo de sucessão familiar, em que os novos gestores têm maior grau de instrução e maior disposição de investimento na modernização da pecuária, têm sido experimentadas algumas iniciativas de intensificação da atividade.

A questão principal é que o investimento em reforma de pastagens tem que ser feito com menor risco de insucesso e sem comprometer a produtividade futura das pastagens. Daí a necessidade de fornecer alternativas para o método tradicional de reforma, baseado no preparo do solo com grades.

Esta é a técnica mais utilizada pelos produtores locais para recuperar pastagens degradadas e que exigem a substituição das forrageiras, mediante o preparo convencional de solo, com sucessivas operações de aração e gradagem, seguidas do semeio a lanço da nova forrageira, muitas vezes sem correção do solo e/ou adubação. Entretanto, o uso indiscriminado desta técnica pode acarretar elevadas perdas de solo por erosão e redução dos níveis de matéria orgânica do solo, podendo prejudicar a produtividade futura da pastagem, especialmente em áreas com solos arenosos ou em terrenos declivosos.

Além disso, estudos anteriores em outras regiões do país demonstraram que, apesar da gradagem ser uma prática utilizada pelos produtores visando aumentar vigor da rebrota e produção em pastagens degradadas, já foram observados aspectos negativos da gradagem como método de recuperação de pastagem em relação à produtividade (SILVA et al., 2004), situação que se reproduz em diversas áreas rurais do estado.

Dependendo do estágio de degradação e da necessidade de substituição das espécies forrageiras, as pastagens em degradação ou degradadas necessitam ser submetidas a técnicas de recuperação ou de renovação para restauração da sua capacidade produtiva, pressupondo uma diversidade de soluções aplicáveis caso a caso.

Na recuperação de pastagens, são utilizadas práticas mecânicas e químicas para revigoramento do pasto e correção dos fatores causais da degradação, sem substituição da espécie forrageira existente. Já na renovação ou reforma, são utilizadas práticas agrônômicas para substituir a espécie presente e tornar a pastagem novamente produtiva.

## **PLANTIO DIRETO**

O aumento da concentração de gases na atmosfera, especialmente o dióxido de carbono, tem condicionado o debate sobre a influência das atividades produtivas nas alterações climáticas. Para Baker (2016a, 2016b), a moderna agricultura deve ser praticada em quatro passos, com objetivo de mitigar os efeitos das práticas agrícolas: favorecer o cultivo de culturas agrícolas, de tal maneira que recapturem mais CO<sub>2</sub> da atmosfera do que é emitido para a preparação do solo e ciclo de crescimento da planta; manter a

cobertura orgânica sobre o solo onde as sementes foram semeadas; promover a atividade microbiana na decomposição de resíduos vegetais; e garantir que os resíduos pós-colheita das culturas sejam distribuídos uniformemente sobre a superfície do solo. Para isso, o autor aponta uma solução simples: a adoção do *plantio direto*.

A técnica de plantio direto na palha tem sido utilizada na moderna agricultura empresarial com o objetivo de viabilizar a sustentabilidade da capacidade produtiva do solo, mantendo a cobertura vegetal no solo (palhada), reduzindo o assoreamento e a eutrofização de represas e cursos d'água, com melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, elevando sua capacidade de infiltração e retenção de água e, também, seu teor de matéria orgânica (FERREIRA et al., 2006; VILELA et al., 2006).

Essa técnica foi introduzida no território nacional há mais de 40 anos, consolidando-se como uma tecnologia conservacionista largamente aceita entre os agricultores. Por seus efeitos benéficos sobre os atributos físicos, químicos e biológicos do solo, pode-se afirmar que o plantio direto é uma ferramenta essencial para alcançar a sustentabilidade dos sistemas agropecuários (CRUZ et al., 2001).

Atualmente, há sistemas adaptados a diferentes regiões e níveis tecnológicos, praticamente não havendo restrições quanto ao emprego do plantio direto, podendo ser usado em áreas ao nível do mar, ou a 3000m de altitude; também pode ser praticado a partir de condições extremamente secas, com 250 mm de precipitação ao ano, e em áreas extremamente chuvosas, com 2.000 ou 3.000 mm por ano. É implementado em todos os tipos e dimensões de propriedades, seja em áreas de grandes produtores, com máquinas e equipamentos sofisticados, a áreas de agricultura familiar, com uso de tração animal. Também pode ser explorado em solos com textura variando de 90% de areia, a 80% de argila (DERPSCH et al., 2010).

O crescimento da área cultivada sob plantio direto é expressivo. Hoje em dia, em quase todos os países são implementadas algumas atividades em plantio direto, uma ferramenta da Agricultura Conservacionista (Tabela 1) (FAO, 2016).

**Tabela 1.** Área cultivada sob plantio direto no mundo (FAO, 2016)

Países	Área sob Plantio Direto (ha)	Países	Área sob Plantio Direto (ha)
<b>ÁFRICA</b>		<b>ÁSIA</b>	
Africa do Sul	368 000	Azerbaijão	1300
Gana	30 000	China	6 670 000
Lesotho	2 000	Coreia do Sul	23 000
Madagascar	6 000	Índia	1 500 000
Malawi	65 000	Iraque	15 000
Marrocos	4 000	Kazaquistão	2 000 000
Moçambique	152 000	Líbano	1 200
Namíbia	340	Quirguistão	700
Tunísia	8 000	Síria	30 000
Quênia	33 100	Turquia	45 000
Zâmbia	200 000	Uzbequistão	2 450
Zimbábue	332 000	<b>EUROPA</b>	
<b>AMÉRICAS</b>		Alemanha	200 000
Argentina	29 181 000	Bélgica	268
Bolívia	706 000	Eslováquia	35 000
Brasil	31 811 000	Espanha	792 000
Canadá	18 313	Finlândia	200 000
Chile	180 000	França	200 000
Colômbia	127 000	Grécia	24 000
Estados Unidos	35 613 000	Holanda	500
México	41 000	Hungria	5 000
Paraguai	3 000 000	Irlanda	200
Uruguai	1 072 000	Itália	380 000
Venezuela	300 000	Moldávia	40 000
<b>OCEANIA</b>		Portugal	32 000
Austrália	17 695 000	Reino Unido	150 000
Nova Zelândia	162 000	Rússia	4 500 000
		Suíça	17 000
		Ucrânia	700 000
<b>Total no mundo (ha)</b>		<b>156.957.968</b>	

Fonte: FAO, 2016.

O destaque fica para os países da América do Sul, que têm as mais rápidas taxas de adoção do plantio direto. Em alguns deles, o plantio direto está sendo usado entre 50 a 70% da área cultivada (Brasil, Argentina, Bolívia,

Paraguai e Uruguai). No Brasil, este sistema ocupa quase 32 milhões de hectares, cerca de 50% da área com culturas anuais no país (CRUZ et al., 2011; FAO, 2016).

O rápido crescimento do sistema de plantio direto na palha é explicado por apresentar inúmeras vantagens em relação ao método de preparo convencional, contribuindo fortemente para a maior sustentabilidade da produção agropecuária. É importante observar que as mesmas motivações que impulsionaram a introdução, adaptação, desenvolvimento e implementação do plantio direto em muitos outros países, prevaleceram no Brasil, a exemplo do controle de erosão hídrica e eólica; maior aproveitamento do uso da terra; economia de tempo, de mão-de-obra, de combustível, de corretivos e de fertilizantes; menor desgaste, manutenção e diversidade de equipamentos agrícolas; e menor impacto negativo sobre o ambiente (DENARDIN et al., 2011).

Inicialmente, o plantio direto era visto apenas como uma técnica alternativa de redução dos problemas de erosão hídrica nas lavouras anuais produtoras de grãos.

O desenvolvimento da técnica de plantio ocorreu de forma praticamente simultânea entre órgãos de pesquisas e as demandas ou gargalos identificados diretamente nas propriedades, ao ponto de assumir papel cada vez mais relevante para a agricultura conservacionista (DENARDIN et al., 2008).

Atualmente, o plantio direto passou a ser focado como *sistema plantio direto* (SPD). É o reconhecimento que o sistema é mais que o simples abandono do preparo de solo: é um sistema de exploração agropecuário, composto por um complexo de tecnologias inter-relacionadas, complementares e independentes, que envolve diversificação de espécies plantadas (rotação de culturas), cultivadas via mobilização de solo exclusivamente na linha de semeadura, com manutenção constante de resíduos vegetais da cultura anterior, garantindo permanente cobertura do solo, capaz de viabilizar o ato de semear, sem prévio preparo de solo, de modo contínuo ao longo do tempo (DENARDIN et al., 2001).

## PLANTIO DIRETO DE PASTO (PDP)

O emprego do plantio direto na renovação de pastagens, sem rotação com culturas agrícolas, é uma tecnologia de uso recente em muitos países.

A Nova Zelândia foi um dos primeiros países a adotar o sistema de plantio direto. Desde o início, os agricultores tentavam renovar suas pastagens, sem preparo de solo. Hoje, o sistema abrange cerca de 25% da área plantada, incluindo pastagens cultivadas e culturas forrageiras, ocupando 162.000 hectares (FAO, 2016).

Para Andrade et al. (2016), o plantio direto de pasto poderá ser uma solução importante para regiões como a Amazônia, por exemplo. Devido ao clima chuvoso, o uso indiscriminado do preparo convencional do solo na reforma de pastagens pode acarretar elevadas perdas de solo por erosão hídrica e redução dos níveis de matéria orgânica do solo, podendo prejudicar a produtividade futura da pastagem, especialmente em áreas com solos frágeis ou em terrenos declivosos.

Nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, já existem recomendações para uso do plantio direto na reforma de pastagens, com uso de plantadeiras tratorizadas, de tração animal e manual (matraca) (FERREIRA et al., 2006; VILELA et al., 2006). No caso do plantio direto tratorizado, a plantabilidade da área é a principal exigência para realizar com sucesso essa prática na reforma de pastagens degradadas.

Os principais componentes de natureza física que restringem a plantabilidade da área são: ocorrência de pedras, troncos e tocos; presença de erosões e variações de micro relevo; excessivas trilhas geradas pelo deslocamento do gado e a compactação do solo. Ou seja, a superfície do terreno deve permitir o tráfego de máquinas e implementos, possibilitando a distribuição e a cobertura homogênea das sementes das espécies forrageiras (VILELA et al., 2006).

A renovação de pastagens degradadas, através do plantio direto, envolve a eliminação de ervas daninhas e da gramínea que se deseja substituir, com emprego de herbicidas não seletivos, seguido do plantio das novas forrageiras (gramíneas e/ou leguminosas). É possível utilizar sementes ou mudas como material propagativo.



Entretanto, o uso do plantio direto ainda é raro na reforma de pastagens degradadas no Brasil, se comparado ao nível de adoção na agricultura empresarial ou familiar. A causa principal é a carência de pesquisas publicadas sobre plantio direto na pecuária brasileira.

A partir de 2011, a Embrapa Acre iniciou diversos estudos em fazendas privadas no estado, visando recomendar modalidades de plantio direto de pasto. Os resultados dessas pesquisas estão começando a serem convertidos em recomendações técnicas para os pecuaristas da região. A primeira modalidade recomendada foi o plantio direto a lanço das duas únicas cultivares de *Brachiaria brizantha* recomendadas pela pesquisa para a formação de pastagens no Acre, os capins xaraés e piatã (ABREU et al., 2013, 2014; ANDRADE et al., 2015, a, b;).

De acordo com Andrade et al. (2015b), o plantio direto a lanço é indicado para os solos arenosos e muito arenosos, que predominam na regional do Juruá, muitas vezes associados a relevo ondulado. Esses solos têm baixo teor de argila e forte dependência da matéria orgânica para manter os nutrientes necessários ao crescimento das plantas. Ao contrário do preparo de solo com arados e grade, que contribui para decompor a matéria orgânica do solo, o plantio direto de pasto ajuda a conservá-la ou aumentá-la. Os autores também indicam essa técnica para pequenos produtores sem acesso a tratores e implementos agrícolas, pois com o plantio direto a lanço, a reforma de pequenas áreas de pastagem degradada depende da disponibilidade apenas de um pulverizador costal, uma vez que a semeadura e a adubação a lanço podem ser feitas manualmente.

Entretanto, diversos aspectos do plantio direto a lanço ainda carecem de pesquisa no Brasil, visando reduzir as perdas de sementes e aumentar a eficiência de emergência de plântulas, diminuindo os custos e os riscos do estabelecimento do pasto, especialmente para espécies forrageiras mais sensíveis, como a *Brachiaria humidicola* e as cultivares de *Panicum maximum* (ANDRADE et al., 2016a).

Uma segunda modalidade de plantio direto já recomendada é a sbrressemeadura da *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés em pastagem com predominância do amendoim forrageiro (*Arachis pintoi*), uma das leguminosas

fornageiras mais plantadas no Acre. A ocorrência de problemas fitossanitários nas gramíneas consorciadas com o amendoim forrageiro, aliada à prática sistemática do superpastejo, tem afetado a persistência das gramíneas em alguns pastos consorciados. A predominância do amendoim forrageiro nas pastagens não é desejável pelo fato de reduzir a capacidade de suporte da pastagem durante o período seco, uma vez que o amendoim forrageiro apresenta menor tolerância ao déficit hídrico em pastagens puras. O método recomendado associa a aplicação de uma subdose do herbicida glifosato com a semeadura em linha da gramínea, visando restabelecer o equilíbrio ideal da composição botânica de pastos consorciados com amendoim forrageiro, com um terço de leguminosa e dois terços de gramíneas (VALENTIM; ANDRADE, 2015).

De modo geral, as pesquisas já realizadas no Brasil e em outros países apontam para a existência de vantagens e desvantagens do plantio direto de pasto, quando comparado ao plantio convencional (Tabela 2).

**Tabela 2.** Principais aspectos positivos e negativos do plantio direto de pasto e do plantio convencional na reforma de pastagens degradadas.

Aspectos	PDP	Plantio Convencional
Economia de tempo, trabalho e combustível com operações mecanizadas	+	-
Menor investimento em herbicidas, inseticidas e adubos nitrogenados	-	+
Maior flexibilidade quanto à época de plantio	+	-
Mantém o solo estruturado e firme, protegido pela palhada, diminuindo a formação de lama durante o pastejo de formação	+	-
Aumenta a uniformidade do terreno para colheita mecanizada de forragens	-	+
Permite utilizar o pasto a ser reformado durante toda a estação seca antes da reforma	+	-
Menor complexidade nas diferentes etapas da reforma	-	+
Reduz problemas com insetos, moluscos e fungos	-	+
Enterra as sementes de plantas daninhas que se encontram na superfície do solo	-	+
Maior controle de erosão	+	-
Manutenção da matéria orgânica do solo	+	-
Melhora a disponibilidade de água no solo para germinação e emergência de plântulas	+	-
Adequado para áreas declivosas ou pedregosas	+	-
Adequado para áreas encapoeiradas	-	+
Reduz emissões de CO <sub>2</sub> para a atmosfera	+	-

Fonte: Hampton et al. (1999); Leep et al. (2003); Ferreira et al. (2006); Hall ; Vough (2007); Baker ; Ritchie (2007); Andrade et al. (2015b); Andrade et al. (2016a).

Também têm sido obtidos avanços no plantio direto de forrageiras propagadas exclusivamente por mudas, como é o caso do capim-tangola (híbrido natural de *Brachiaria arrecta* e *Brachiaria mutica*), da grama-estrela-roxa (*Cynodon nlemfuensis*) e do amendoim forrageiro cv. Belmonte, permitindo economia de mudas, redução de custos com preparo de solo e controle efetivo da erosão do solo, quando comparado com o protocolo convencional de formação de pastagens por mudas (ANDRADE et al., 2016b; SANTOS et al., 2016).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Espera-se um forte crescimento no emprego do sistema de plantio direto de pasto nos próximos anos, assim como ocorreu em relação ao plantio de culturas agrícolas anuais. Tal crescimento ocorrerá devido aos benefícios de curto, médio e longo prazo que a tecnologia entrega.

No Brasil, o SPDP poderá ocupar significativa participação percentual na pecuária, uma vez haja melhor compreensão do conceito, sejam disponibilizadas políticas oficiais de fomento e incentivo à pesquisa, com apoio dos governos locais e instituições de campo, para que os pecuaristas tornem-se conscientes das vantagens:

- a) Grande impacto na redução da erosão do solo;
- b) Menor emprego de máquinas e mão de obra;
- c) Significativa redução de custos na renovação de pastagens;
- d) Menor necessidade de irrigação pela melhoria das condições de umidade;
- e) Aumento da produtividade dos pastos, na medida em que a cobertura constante do solo aumenta a infiltração e o armazenamento de água;
- f) Melhoramento da eficiência do uso da água pelas gramíneas;
- g) Favorecimento do crescimento das raízes em maior profundidade.

É natural que diversos desafios ainda devam ser superados para o crescimento esperado de adoção desta técnica na pecuária, sendo alguns passos essenciais:

- a) A adoção de quaisquer avanços tecnológicos pressupõe a busca de evoluções constantes no processo de pesquisa básica e aplicada. É dizer: o sistema de plantio direto, que há mais de 4 décadas vem sendo trabalhado quase que exclusivamente para culturas agrícolas, tem muito o que ser investigado até sua adoção como técnica de recuperação de pastagens, em especial na região amazônica, cujas limitações edáficas tornam ainda mais necessárias o cultivo mínimo.
- b) A incorporação de avanços tecnológicos, já ofertados para a agricultura, na atividade pecuária dependerá do esforço de integração dos três setores envolvidos na cadeia: produtores, pesquisa e indústria.
- c) Há barreiras técnicas sobre como fazer (avanços tecnológicos).
- d) É necessário superar a tradição (mentalidade, preconceito) do pecuarista sempre em busca de resultados imediatos.
- e) Há carência de testes em relação aos herbicidas que favoreçam a renovação de pastagens.
- f) É importante incentivar a busca por identificar a melhor cobertura de solo que favoreça a adoção do sistema, quando da recuperação de áreas degradadas.
- g) É importante incentivar a avaliação do desempenho de sementeiras que assegurem melhor desempenho na distribuição de insumos e mais qualidade nas operações.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, A. de Q.; ANDRADE, C. M. S. de; FARINATTI, L. H. E. Semeadura direta a lanço na reforma de pastagens degradadas no Estado do Acre. In: seminário de iniciação científica da embrapa acre, 1., 2013, Rio Branco. Anais... Rio Branco: Embrapa Acre, 2013.
- ABREU, A. de Q.; ANDRADE, C. M. S. de; ZANINETTI, R. A. Taxa de sementeira, herbicidas e tratamento de sementes para plantio direto a lanço de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés. In: Congresso Brasileiro De Zootecnia, 24., 2014, Vitória. A Zootecnia fazendo o Brasil crescer: anais. Vitória: Ufes, 2014.
- ANDRADE, C. M. S. de; ABREU, A. de Q.; ZANINETTI, R. A.; FARINATTI, L. H. E.; FERREIRA, A. S.; VALENTIM, J. F. Plantio direto a lanço dos capins Xaraés e Piatã no Acre. **Comunicado Técnico**, Rio Branco, n. 188, 2015b.

- ABREU, A. de Q.; ZANINETTI, R. A.; VERZIGNASSI, J. R. Métodos de semeadura dos capins Xaraés e Llanero em plantio direto de pasto. In: Congresso Brasileiro De Zootecnia, 25, 2015a, Fortaleza. Dimensões tecnológicas e sociais da Zootecnia: anais. Fortaleza: ABZ, 2015. 3 p.
- ANDRADE, C. M. S. de; FERREIRA, A. S.; ABREU, A. de Q.; SANTOS, D. M. dos Técnicas de plantio direto de Pasto. In: Simpósio de Pecuária Integrada, 2., 2016, Sinop. Recuperação de pastagens: **anais...** Cuiabá: Fundação Uniselva, 2016. p. 54-92. Editores técnicos: Dalton Henrique Pereira; Bruno Carneiro e Pedreira.
- ANDRADE, C. M. S.; SANTOS, D. M.; FERREIRA, A. S.; VALENTIM, J. F. Técnicas de plantio mecanizado de forrageiras estoloníferas por mudas. Rio Branco: Embrapa Acre, 2016a. No prelo.
- ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F. Síndrome da morte do capim-brizantão no Acre: características, causas e soluções tecnológicas. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2007. 40 p. (Embrapa Acre. documentos, 105).
- ANDRADE, C. M. S.; VALENTIM, J. F. Soluções tecnológicas para a síndrome da morte do capim-marandu. In: BARBOSA, R. A. (Ed.). Morte de pastos de braquiárias. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2006. p. 175-197.
- ANDRADE, R. G.; TEIXEIRA, A. H. de C.; LEIVAS, J. F.; SILVA, G. B. S. da; NOGUEIRA, S. F.; VICTORIA, D. de C.; VICENTE, L. E.; BOLFE, E. L. Indicativo de pastagens plantadas em processo de degradação no bioma Cerrado. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 17, 2015, João Pessoa. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2015. p. 1585-1592.
- BAKER, C. J.; RITCHIE, R. No-tillage for forage production. In: BAKER, C. J.; SAXTON, K. E. (Ed.) **No-tillage seeding in conservation agriculture**. 2. ed. Wallingford: CABI; Rome: FAO, 2007. p. 168-184.
- BAKER, J. Regenerate the soil and save the world. **Pure Advantage: Agritech**, Sept., 2016a. Disponível em: <http://pureadvantage.org/news/2016/10/04/regenerate-soil-save-world/>. Acesso em: 31 out. 2016.
- BAKER, J. Z. T. **Pure Advantage: Agritech**, sept., 2016b. Disponível em: <http://pureadvantage.org/news/2016/09/06/5345/> >. Acesso em: 31 out. 2016.
- CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; SANTANA, D. P. Plantio direto e sustentabilidade do sistema agrícola. **Informe Agropecuário**, v. 22, p. 13-24, 2001.
- DENARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; FAGANELLO, A.; SATTLER, A. **Evolução da área cultivada sob sistema plantio direto no Rio Grande do Sul**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 32 p. (Embrapa Trigo. Documentos, 29).
- DENARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; SILVA JUNIOR, J. P. da; WIETHOLTER, S.; FAGANELLO, A.; SATTLER, A.; SANTI, A. Sistema plantio direto: evolução e implementação. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da (Ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. cap. 7, p. 185-216.
- DENARDIN, J. E.; KOCHHANN, R. A.; BACALTCHUK, B.; SATTLER, A.; DENARDIN, N. D'A.; FAGANELLO, A.; WIETHÖLTER, S. Sistema plantio direto: fator de potencialidade da agricultura tropical brasileira. In: ALBUQUERQUE, A.C.S. & SILVA, A.G., ed. **Agricultura tropical: quatro décadas de inovações tecnológicas, institucio-**

- nais e políticas.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. v. 1. p. 1251-1273.
- DERPSCH R., FRIEDRICH T., KASSAM A.; LI H. Current status of adoption of no-till farming in the world and some of its main benefits. **International Journal of Agricultural and Biological.** v. 3, p. 1-25, 2010.
- DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação.** ed. 4. Belém, PA, 2011. 215 p. il.
- DIAS-FILHO, M. B. **Degradação de pastagens: processos, causas e estratégias de recuperação.** 3. ed. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2007. 190 p. il
- DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das pastagens no Brasil.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 36 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 402).
- DIAS-FILHO, M. B. O caminho para uma pecuária responsável e eficiente na Amazônia. **Revista CREA PA,** v. 5, p. 14, 2016.
- DIAS-FILHO, M. B.; ANDRADE, C. M. S. de **Pastagens no Trópico Úmido.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 31 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 241). Versão eletrônica, 2009.
- FAO AQUASTAT, 2016. Disponível em:  
<[http://www.fao.org/nr/water/aquastat/data/query/results.html?lang=es&showSymbols=true&showValueYears=true&yearRange.fromYear=1960&regIds=9805%2C9806%2C9807%2C9808%2C9809&hideEmptyRowsColoumns=true&includeRegions=true&XAxis=YEAR&showUnits=true&yearRange.toYear=2015&yearGrouping=SURVEY&categoryIds=1&hideEmptyRowsColoumns=on&query\\_type=glossary&regionQuery=true&varGrpIds=4454](http://www.fao.org/nr/water/aquastat/data/query/results.html?lang=es&showSymbols=true&showValueYears=true&yearRange.fromYear=1960&regIds=9805%2C9806%2C9807%2C9808%2C9809&hideEmptyRowsColoumns=true&includeRegions=true&XAxis=YEAR&showUnits=true&yearRange.toYear=2015&yearGrouping=SURVEY&categoryIds=1&hideEmptyRowsColoumns=on&query_type=glossary&regionQuery=true&varGrpIds=4454)> Acesso em: 31 out. 2016
- FERREIRA, L. R.; AGNES, E. L.; FREITAS, F. C. L. **Formação de pastagens com plantio direto.** Viçosa: CPT, 2006. 152 p.
- HALL, M. H.; VOUGH, L. R. Forage establishment and renovation. In: BARNES, R.F.; NELSON, C.J.; MOORE, K.J.; COLLINS, M. (Ed.) Forages: the science of grassland agriculture. 6. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2007. p. 343-354.
- HAMPTON, J. G.; KEMP, P. D.; WHITE, J. G. H. Pasture establishment. In: WHITE, J.; HODGSON, J. (Ed.) **New Zealand Pasture and Crop Science.** Auckland: Oxford University Press, 1999. p. 101-115.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal,** v.43, p.1-49,2015. Disponível em: <[http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2015\\_v\\_43\\_br.pdf](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v_43_br.pdf)>. Acesso em: 02 nov. 2016.
- LEEP, R.; UNDERSANDER, D.; PETERSON, P.; MIN, DOO-HONG; HARRIGAN, T.; GRIGAR, J. **Steps to successful no-till establishment of forages.** East Lansing: Michigan State University Extension, 2003. 16 p. (Extension Bulletin E-2880).
- MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H.; KICHEL, A. N.; ALMEIDA, R. G. de; ARAUJO, A. R. de Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. In: Encontro De Adubação De Pastagens Da Scot Consultoria - Tec - Fértil, 1., 2013, Ribeirão Preto, SP. **Anais...** Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 158-181.
- MACEDO, M. C. M., ZIMMER, A. H. Sistema de Pasto-Lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. In: Simpósio Sobre Ecossistema De Pastagens. 1993. Jabo-

- ticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal, 1993. p. 217-245.
- NOGUEIRA, S. F.A pecuária extensiva e o panorama da degradação de pastagens no Brasil. **Portal Dia de Campo: informação que produz**, 2013. 3 p. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=28010&secao=Artigos%20Especiais>>. Acesso em: 31 out. 2016.
- PERON, A. J.; EVANGELISTA, A. R. Degradação de pastagens em regiões do cerrado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 655- 661, 2004.
- PORTAL BEEFPOINT. Brasil será o maior produtor de carne bovina em cinco anos, prevê ABIEC. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/giro-do-boi/brasil-sera-o-maior-produtor-mundial-de-carne-bovina-em-cinco-anos-preve-abiec/>>. 2015. Acesso em: 02 nov. 2016.
- SANTOS, D. M.; ANDRADE, C. M. S.; LOURES, D. R. S.; FERREIRA, A. S. Métodos de manejo do solo e densidade de plantio no estabelecimento do consórcio de grama-estrela-roxa e amendoim forrageiro por mudas. In: Simpósio De Pecuária Integrada, 2, 2016, Sinop, MT. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa.
- SILVA, M. C.; SANTOS, M. V. F.; DUBEUX Jr., J. C. B.; LIRA, M. A.; SANTANA, D. F. Y.; SANTOS, V. F. Avaliação de métodos para recuperação de pastagens de braquiária no agreste de Pernambuco. 1. Aspectos quantitativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 2007-2016, 2004.
- VALENTIM, J. F.; AMARAL, E. F.; LANI, J. L. Definição de zonas de risco de morte de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, utilizando levantamentos pedológicos do zoneamento ecológico-econômico no Estado do Acre. In: Reunião Brasileira De Manejo E Conservação De Solo, 14., 2002, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002.
- VALENTIM, J. F.; ANDRADE, C. M. S. de Métodos de plantio de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés em pastagem dominada por *Arachis pintoi* cv. Belmonte na Amazônia. In: Congresso Brasileiro De Zootecnia, 25., 2015, Fortaleza. Dimensões tecnológicas e sociais da Zootecnia: **Anais...** Fortaleza: ABZ, 2015. 3 p.
- VALENTIM, J. F.; AMARAL, E. F.; MELO, A. W. F. **Zoneamento de risco edáfico atual e potencial de morte de pastagens de *Brachiaria brizantha* no Acre**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000. 28 p. (Embrapa Acre. Boletim de Pesquisa, 29).
- VALENTIM, J. F.; SÁ, C. P. de; BAYMA, M. M. A.; SILVA, F. de A. C. A revolução da agricultura no Acre. **Jornal A Gazeta do Acre**, 2015. Disponível em: <<http://agazeta-doacre.com/a-revolucao-da-agricultura-do-acre/>>. Acesso em: 2 nov. 2016.
- VILELA, L.; BARCELLOS, A. O.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Plantio direto de pastagens. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 23., 2006, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2006. p. 165-185.

# 10

## PROCESSOS ELETROQUÍMICOS:

alternativas para o tratamento de efluentes industriais  
na Amazônia Sul Ocidental

Julio Cesar Pinho Mattos

Lisandro Juno Soares Vieira

Camilo Lélis de Gouveia

**A**lém dos avanços do setor agroindustrial nos estados do Acre e Rondônia, a incorporação da indústria de transformação, nos setores alimentícios, de cosméticos, madeireiro, que constituem a formação econômica e social da Amazônia Sul Ocidental, frequentemente registra o aproveitamento, em múltiplas escalas extrativistas, de seus recursos naturais. Segundo a literatura, isso tem ocorrido com diversas matérias-primas: salsaparrilha, madeira, borracha, gomas não elásticas, castanha (*Bertholetia excelsa*), óleos de copaíba (*Copaifera* ssp), de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) e de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl), além de especiarias, pimentas, banha de tartaruga, peixes, peles de animais silvestres, plantas medicinais, piaçava (*Attalea funifera* Martius), cipó titica (*Heteropsis* spp), puxuri



(*Licaria puchury-major* Mart, Kosterm), pupunha (*Bactris gasipaes* Kunt), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), açai (*Euterpe oleracea/precatoria* Mart); cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willd.) e guaraná (*Paulinia cupana* Kunth) (CODEAMA, 1976; CLAY; SAMPAIO; CLEMENT, 2000; MACIEL et al., 2002; LEÃO et al., 2009).

O fortalecimento de uma economia baseada no potencial da biodiversidade pode ser um caminho alternativo e/ou complementar aos modelos tradicionais adotados para Amazônia Sul Ocidental, que poderá trazer uma maior fixação de recursos no próprio bioma. O desenvolvimento de um modelo econômico baseado na utilização de recursos endógenos poderá provocar uma reorganização de cadeias produtivas agregadoras de valores, com autonomia decisória em termos de uso de insumos e governança estatal, além de estimular o protagonismo tecnológico observando as questões ambientais.

Nas últimas décadas, o crescimento da indústria de transformação, em seus diversos segmentos, incrementaram o produto interno bruto (PIB) no bioma amazônico, porém tem provocado inúmeros impactos aos recursos naturais com a geração dos efluentes e resíduos sólidos industriais. Estudos realizados por Da Costa et al. (2007), indicam que o mercado de produtos que utiliza recursos da biodiversidade Amazônica mostrou invejável vitalidade por meio de um crescimento a taxas diferenciadas nas duas últimas décadas do século XX. Segundo a autora, as estimativas sugerem uma riqueza natural sem paralelo no planeta.

As indústrias de transformações contribuem para a geração de emprego e renda e trazem os desafios de Ciência, Tecnologia e Inovação (C, T & I) para os pesquisadores (setor público) e empreendedores, em função das elevadas quantidades de efluentes e resíduos sólidos e da grande utilização de água em seus processos produtivos, que, quando não corretamente tratada, deteriora a qualidade do curso hídrico receptor.

Diante das formas tradicionais de tratamento de efluentes, a eletrofloculação surge como uma técnica inovadora. Tal processo inicia-se na passagem de corrente elétrica através de uma célula eletrolítica, originando dois processos distintos: eletrocoagulação (EC) e eletroflotação (EF). Neste

capítulo apresentamos uma revisão bibliográfica acerca das oportunidades de pesquisa e implantação de sistemas de tratamento de efluentes, associando as técnicas eletroquímicas, EC e EF, para o tratamento de efluentes industriais, com enfoque aos efluentes industriais gerados na indústria de transformação.

### **EVOLUÇÃO DA INDÚSTRIA DE TRANSFORMAÇÃO E OS DESAFIOS PARA O TRATAMENTO DOS EFLUENTES INDUSTRIAIS NA AMAZÔNIA OCIDENTAL**

De acordo com o IBGE (2011), o PIB da Amazônia Sul Ocidental (que abrange os estados do Acre e de Rondônia) registrou para tais estados, respectivamente, o terceiro e quinto maiores crescimentos entre as 27 unidades federativas. O setor industrial na Amazônia Sul Ocidental apresentou uma variação anual de 12,7%. No ano de 2013, o estado do Acre registrou 743 indústrias de transformação (ACRE, 2013).

A economia regional na Amazônia Sul Ocidental Brasileira, nas duas últimas décadas, tornou-se mais complexa e diversificada, resultando um ciclo hidrossocial de grande dimensão e impactos ecológicos e econômicos que demandam planejamento e uma agenda de ações positivas para conservação e uso da biodiversidade. As indústrias de transformações, no contexto dos desafios socioambientais da economia verde, ainda encontram sérias dificuldades na gestão ambiental dos efluentes gerados.

Entre 2009 e 2010, as indústrias de transformação cresceram 22,81% no estado do Acre (IBGE, 2011) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Evolução de setores da indústria de transformação no Estado do Acre no período 2009 a 2010

Atividades econômicas	2009	2010	Incremento (%) 2009-2010
Produtores têxteis	148	180	21,62
Preparação de couros e artefatos	9	15	66,67
Produtos de Madeira	94	104	0,00
Produtos químicos	10	14	40,00
Móveis	73	87	19,18
Água, esgoto e descontaminação de resíduos	13	16	23,08

Fonte: Autoria própria. Nota: Dados extraídos da publicação Acre em números 2013

O setor industrial é fundamental para a economia regional, gerador de emprego e renda, mas também gera impactos ambientais negativos como os gases de efeito estufa (GEE) e a geração de resíduos sólidos e efluentes industriais. Nas últimas décadas, as soluções adotadas para o tratamento de efluentes nas indústrias instaladas na Amazônia Ocidental foram em sua grande maioria com concepções anaeróbias (filtros anaeróbios e lagoas anaeróbias), lagoas de estabilização ou sistemas de tratamentos combinando os processos físicos (decantação e flotação), com filtros anaeróbios ou lagoas de estabilização. Atualmente, a legislação ambiental em vigor, através das resoluções Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama) n.º 357/05 430/2011, estabelecem parâmetros e padrões de lançamento dos efluentes nos mananciais hídricos (CONAMA, 2005; 2011).

Os desafios no tratamento dos efluentes e resíduos gerados diariamente nas atividades das indústrias de transformação, após as exigências dessas resoluções e da Política Nacional dos Resíduos Sólidos (PNRS), com os padrões de lançamento dos efluentes, a redução, reutilização, reciclagem, contaminação de solos são oportunidades de pesquisas científicas e adoção de novas tecnologias, a fim de atender às legislações governamentais e evitar (em alguns casos prevenir) impactos ambientais irreversíveis em ecossistemas de solos ou aquáticos.

## **A ELETROFLOTAÇÃO E A ELETROCOAGULAÇÃO NO TRATAMENTO DOS EFLUENTES INDUSTRIAIS**

### **Tratamento dos efluentes industriais**

Considerando os vários tipos de tratamento, podem-se destacar (i) os tratamentos físicos, que são caracterizados por métodos de separação de fases: sedimentação, decantação, filtração, centrifugação, flotação de resíduos; (ii) os processos biológicos e adsortivos, como a troca iônica e a oxidação química; e (iii) as novas tecnologias, entre elas os processos oxidativos avançados e as unidades de osmose reversa (DI BERNARDO, 1993).

De acordo com Crespilho e Rezende (2004), diversos processos usados em estações de tratamento de efluentes envolvem a adição de agentes

coagulantes e floculantes, como, por exemplo, polímeros e sais de ferro e de alumínio. Tratamentos com polímeros podem causar impactos ambientais em decorrência da toxicidade de algumas substâncias usadas, podendo, mesmo em baixas concentrações, desequilibrar o meio-ambiente em relação aos organismos aquáticos do corpo receptor. Os coagulantes usados no tratamento químico também podem causar impacto ambiental, provocando alterações nas concentrações de ânions e, conseqüentemente, na condutividade elétrica do efluente, quando comparada à qualidade da água de entrada na indústria. Os coagulantes à base de sulfatos elevam a concentração desse íon no efluente final, podendo alterar a qualidade da água do corpo receptor. Um excesso de sulfato no leito poderá precipitar os íons cálcio presentes no sedimento e na água ou participar de processos de oxirredução gerando sulfetos em condições anaeróbias (CRESPILHO; REZENDE, 2004).

Os métodos baseados no princípio da coagulação são os mais comumente utilizados, por sua ampla escala de atuação e, geralmente, menores custos operacionais. Geralmente aplicados para remover sólidos em suspensão e podem ser divididos em duas classes, quanto ao tipo de lodo gerado: coagulação com sedimentação e coagulação com flotação (DI BERNARDO, 1993).

### **Eletroflotação e eletrocoagulação**

De acordo com Mattos et al. (2016), a EF e EC são técnicas eletroquímicas que, nos últimos anos, estão se destacando entre as novas oportunidades associativas através de estudos em biotecnologias, propondo técnicas não convencionais para tratamento de efluentes industriais em diversos segmentos.

De acordo com Cerqueira (2006), estações de tratamento de efluentes industriais, a adição de agentes coagulantes e floculantes, como polímeros e sais de ferro e de alumínio, é uma técnica utilizada nas alternativas físico-químicas.

O tratamento eletroquímico mostra-se como uma técnica inovadora, por ser bastante eficiente e limpa, podendo ser aplicada como uma alternativa atrativa para o tratamento de efluentes contendo compostos orgânicos

via eletroxidação na superfície do ânodo (PELEGRINO et al., 2002; CERQUEIRA, 2006; MARTÍNEZ-HUITLE; FERRO, 2006; MARTÍNEZ-HUITLE; BRILLAS, 2009;2009; CERQUEIRA et al., 2011). Algumas das suas vantagens são: relativa disponibilidade de energia elétrica, condições energéticas reacionais reduzidas (processo a frio), sistemas altamente reprodutíveis e facilmente controláveis permitindo a automação, e facilidade de montagem de plantas relativamente compactas. Esses métodos correspondem à transferência das águas residuárias para uma nova fase tecnológica. Crespilho e Rezende (2004), também informam que a EC é um processo eletroquímico diferenciado de tratamento de efluentes em que um reator eletroquímico é o centro das reações de coagulação.

Para alguns pesquisadores, a técnica EC em soluções aquosas utilizando um eletrodo de alumínio constitui uma variação de um processo eletrolítico investigado por diversos autores (HOSNY, 1996; CIARDELLI; RANIERI, 2001; JIANG et al., 2002; CHEN, 2003; SHEN et al., 2003; RODRIGUEZ et al., 2007; BELKACEM et al., 2008; MERZOUK et al., 2009).

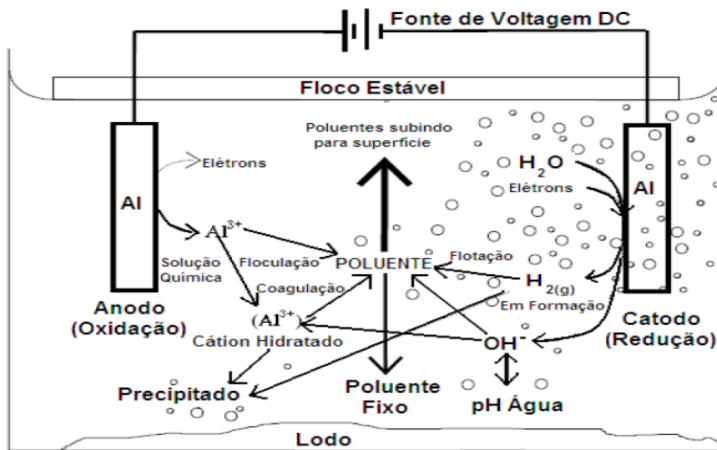
No processo de EC, muitos dos poluentes são separados dos efluentes e flotados para a superfície na forma de lodo. O lodo produzido é proporcional às características do efluente bruto, dos sólidos sedimentáveis, da matéria desestabilizada por coagulação; é proporcional à densidade de corrente e ao tempo de tratamento (MENESES et al., 2011).

As aplicações das técnicas EC, EF e EC/EF nos tratamentos de efluentes industriais das agroindústrias e indústrias de transformações contaminados com poluentes orgânicos e inorgânicos, oriundos de agroindústrias (UN et al., 2006), processamento de metal (YANG, 2007), solução de metais em efluentes sintéticos (CASQUEIRA et al., 2006), eletroquímica e eletrodos de ferro (GHERNAOUT et al., 2008) e lixiviados (ILHAN et al., 2008) foram bem sucedidas. No entanto, poucos são os estudos que descrevem com sucesso a aplicação do tratamento eletroquímico em águas residuais das indústrias de alimentos, empregando sistemas em fluxo contínuo (KHOUFI et al., 2008).

Os mecanismos do tratamento de efluentes por eletrocoagulação são muito complexos (Figura 1). Acredita-se que existam, além da EC, outros três possíveis mecanismos envolvidos: a EF, a oxidação eletroquímica e ad-

sorção (MCCLUNG; LEMLEY, 1994). A proporcionalidade, ou predomínio, de um desses mecanismos é definida pelas condições eletrolíticas, especialmente o pH (RAGHU; AHMED BASHA, 2008).

**Figura 1.** Interações no processo de eletrocoagulação



Fonte: Santos (2015).

De acordo com Mattos et al. (2016), o processo de EC/EF, em que um reator eletroquímico é o centro das reações de coagulação, vem recebendo atenção de pesquisadores de diversos países; percebe-se uma evolução no registro de patentes no Canadá, China e Estados Unidos para atender ao tratamento dos efluentes no setor industrial.

De acordo com Ferreira (2015), Cerqueira (2006) e Chen (2003), as vantagens das técnicas EC e EF superam suas desvantagens do ponto de vista operacional, econômico e ambiental, uma vez que, o sistema de tratamento pode ser alimentado através de energias renováveis (Quadro 1).

A associação das técnicas EC/EF podem ser utilizadas, como um eficiente método para remoção de poluentes químicos contidos em efluentes aquosos, sob diferentes ambientes físico-químicos (YUNOSOV, 2011) (Quadro 1).

**Quadro 1.** Vantagens e desvantagens das técnicas EC/EF no tratamento dos efluentes industriais

Vantagens	Desvantagens
Necessidade de área reduzida para instalação e operação	Os efluentes devem possuir elevada condutividade elétrica
Controle e operação simplificada	Geração de lodos
Baixo custo de instalação de unidade piloto	Necessidade frequente de substituir eletrodos
Não é necessária adição de produtos químicos, pois o sistema o gera, garantindo uma tecnologia limpa	Consumo energético.
Possibilidade de operação do sistema através de energias renováveis	
Garantia de menor área superficial com bolhas de menor diâmetro por unidade de volume de gás e maior tempo de detenção no reator	
Eficiência de remoção para as variáveis cor aparente e turbidez	
Realização simultânea da coagulação e flotação, gerando menos lodo, quando comparado aos processos de tratamento convencional	
Remoção de partículas coloidais menores	
O efluente tratado não apresenta odor ofensivo e apresenta uma redução ao longo da operação dos sólidos totais dissolvidos	
Perspectivas de reutilização de compostos recuperados durante o tratamento das águas residuárias	

**OPORTUNIDADES DE ASSOCIAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EC/EF COM OUTROS SISTEMAS DE TRATAMENTO NA INDÚSTRIA DE TRANSFORMAÇÃO NA AMAZÔNIA SUL OCIDENTAL**

Considerando visitas e vistorias técnicas realizadas entre os anos de 2004 a 2015, em indústrias de transformações nos estados do Acre e Rondônia (em especial, na cidade de Ariquemes) e entrevistas com técnicos do Instituto de Meio Ambiente do Acre (Imac) e da Secretaria de Desenvolvimento Ambiental (Sedam), a maior parte dos sistemas adotados possuem concepções biológicas (filtros anaeróbios e lagoas de estabilização), portanto, no campo da biotecnologia ambiental.

A biotecnologia ambiental no tratamento dos efluentes consiste na aplicação de técnicas biológicas para resolver e/ou prevenir problemas de contaminação ambiental. É uma área de conhecimento e de investigação multidisciplinar por excelência. Dela participam aspectos normativos e legislativos, aspectos científicos e tecnológicos e influenciam nos impactos econômicos e sociais importantes (CAMMAROTA, 2013).

De acordo com Cammarota (2013), a concepção de estações de tratamento de efluentes com os conhecimentos da biotecnologia ambiental necessita observar: o composto tóxico (ou a mistura) a ser eliminado ou ter sua concentração reduzida, o meio em que o composto se encontra (ar, líquido, sólido), as características do local ou corrente que o contém, o agente biológico que conduzirá a biodegradação (microrganismos, enzimas, plantas, consórcios microbianos) e as condições do processo (temperatura, pH, umidade, condições aeróbias ou anaeróbias).

### **LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO**

Essa solução da biotecnologia ambiental apresenta-se como opção viável quanto à remoção da matéria orgânica. Constatou-se nos últimos anos que as lagoas de estabilização (facultativas) apresentam pequena eficiência na remoção de nutrientes e sólidos em suspensão, representados pelas biomassas bacterianas e algas, o que pode ser crítico caso o corpo receptor seja sensível à eutrofização, como lagos e estuários. Embora o polimento do efluente possa ser realizado por diversas vias, a única que promove a remoção efetiva do fósforo, nutriente limitante do processo de eutrofização, é a via físico-química (OLIVEIRA; GONÇALVES, 1999).

Estudos realizados por Bukhari (2008), avaliando o pós-tratamento dos efluentes domésticos, tratados em lagoas de estabilização, registraram elevação de 99% da eficiência de remoção da variável microbiológica coliformes termotolerantes. Rodrigues (2007), pesquisando o pós-tratamento de efluentes de aterros sanitários, verificou elevação da eficiência da demanda química de oxigênio em 86% após utilização das técnicas eletroquímicas (EF, EC) nesse efluente, com tratamento secundário em lagoas de estabilização.



## **FILTROS ANAERÓBIOS**

De acordo com Tonetti et al. (2011), apesar da boa eficiência desses sistemas, entre 10 a 30% da matéria orgânica não é degradada, necessitando de pós-tratamento para o atendimento da legislação ambiental brasileira.

Estudos realizados por Rodrigues (2007), adotando a técnica EF, como pós-tratamento de efluentes da lixiviação dos resíduos sólidos, observaram elevação da eficiência de remoção da demanda química de oxigênio em 23 % para sistemas anaeróbios.

## **PROPOSTA DE AÇÕES PARA FORTALECER PESQUISAS VOLTADAS PARA A GESTÃO AMBIENTAL NAS INDÚSTRIAS DE TRANSFORMAÇÃO DO ESTADO DO ACRE**

Após a edição do Plano Estadual de Gestão Integrada dos Resíduos Sólidos (Pegirs/Acre), pouco avançou-se nos programas e nas buscas de soluções para redução, reciclagem e reutilização dos resíduos sólidos e líquidos gerados nas indústrias (ACRE, 2012). Nas últimas duas décadas raros experimentos científicos foram voltados para o tratamento dos efluentes industriais na Amazônia Sul Ocidental.

Por ser a gestão ambiental das empresas, no Bioma Amazônico, estratégica no desenvolvimento regional, com a criação da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado Acre em 2012, surgindo como resposta do governo estadual aos anseios de pesquisadores e instituições de pesquisa acreanas para apoiar a Ciência, Tecnologia, Inovação e Formação, novas expectativas foram geradas para diversas áreas do conhecimento.

A Fapac, além da implementação do Programa Primeiros Projetos (PPP), do Programa de Desenvolvimento Científico Regional (DCR) e do Programa de Iniciação Científica Júnior (ICJ), todos com o apoio do CNPq, por meio de seus diversos editais, tem proporcionado apoio financeiro às várias iniciativas de formação e utilização de pessoal qualificado, destacando-se:

- a) Concessão de 500 bolsas de iniciação científica;
- b) Apoio na formação de 30 mestres e doutores;
- c) Financiamento de 150 projetos de pesquisa.

## Proposta de ações

Diversas ações consideradas importantes, para incrementar a gestão ambiental das empresas, podem ser atendidas, para o fortalecimento do desenvolvimento regional, incluindo incentivos para pesquisa, desenvolvimento e inovação tais como:

- a) Aperfeiçoar instrumentos de cooperação técnica e parceria entre a Ufac, Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (Funtac) e empresa, ampliando o número de editais com linhas de financiamentos, por exemplo, para a formação e indução de recursos humanos qualificados; na criação de empresas no segmento de saneamento ambiental, sobretudo com ênfase em biotecnologias, enfatizando os conhecimentos técnicos que possam solucionar os problemas da gestão de efluentes e resíduos industriais;
- b) Apoiar a segunda edição do Inventário Estadual de Resíduos Sólidos Industriais, incorporando informações sobre os efluentes industriais;
- c) Ampliar o apoio financeiro às empresas e instituições de C, T & I para desenvolvimento de pesquisas envolvendo a construção de estações piloto de tratamento dos efluentes da indústria de transformação.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo do capítulo, podemos notar, que as técnicas eletroquímicas EC, EF e EC/EF estão sendo utilizadas há algumas décadas como alternativa interessante para o tratamento de diversos tipos de efluentes. Alguns desafios ainda necessitam ser superados para as técnicas eletroquímicas tornarem-se uma realidade técnica em fluxo contínuo.

Com a criação da Rede Bionorte pelo governo federal, a continuidade do Programa de Pós-Graduação Bionorte e o cenário recente pelo qual passa o Brasil, com novas formas de incentivos a pesquisas, projetos e tecnologias inovadoras, possibilitam uma maior interação e aproximação entre universidades e empresas na Amazônia Sul Ocidental para amadurecimento da pesquisa, inovação e tecnologias no ramo de tratamento dos resíduos e

efluentes da indústria de transformação, como uma oportunidade de promoção das associações das técnicas eletroquímicas (EC/EF) e as biotecnologias para garantir o cumprimento das exigências das resoluções Conama N.º 357/05 e 430/11 na gestão ambiental dessas indústrias, bem como, ampliar o sistema de proteção da propriedade intelectual na forma de patentes e conseqüentemente de transferência de tecnologia ambientais, fortalecendo o desenvolvimento regional.

O apoio da Fapac torna-se primordial para a continuação das pesquisas iniciadas com apoio do Programa de Pós-Graduação Rede Bionorte, Ufac e Funtac, especificamente, em efluentes da indústria do ramo do látex, para que todas as expectativas acerca deste tema possam se concretizar de modo que finalmente possamos vivenciar alternativas para o tratamento dos efluentes das indústrias de transformação na Amazônia Sul Ocidental.

## PERSPECTIVAS

Deve-se valorizar e incentivar novas pesquisas e investigações tecnológicas para o tema proposto, elevando as possibilidades de inéditos depósitos de patentes relacionados aos processos de EF e EC associados à produção de equipamentos que realizem o tratamento dos efluentes e resíduos sólidos industriais.

## REFERÊNCIAS

- ACRE, Governo do Estado. **Acre em números**. Rio Branco-AC: Seplan, 2013.
- ACRE, Governo do Estado. **Plano de Gestão Integrada de Resíduos Sólidos**. Rio Branco-AC: Sema, 2012.
- BELKACEM M.; KHODIR, M.; ABDELKRIM, S. Treatment characteristics of textile wastewater and removal of heavy metals using the electroflotation technique. **Desalination**, v. 228, p. 245–254, 2008.
- BUKHARI, A.A. Investigation of the electro-coagulation treatment process for the removal of total suspended solids and turbidity from municipal wastewater. **Biore-source Technology**. v. 99, p. 914–921, 2008.
- CAMMAROTA, M. C. **EQB-65 Biotecnologia Ambiental**. 2013. Disponível em: <[http://www.eq.ufrj.br/docentes/magalicammarota/2013/apostila\\_eqbB365.pdf](http://www.eq.ufrj.br/docentes/magalicammarota/2013/apostila_eqbB365.pdf)>. Acesso em: 10 jul. 2016.
- CASQUEIRA, R. G.; TOREM, M. L.; KOHLER, H. M. The removal of zinc from liquid streams by electroflotation. **Minerals engineering**, v. 19, p. 1388-1392, 2006.
- CERQUEIRA, A. A. **Aplicação da técnica de eletrofloculação no tratamento de**

- efluentes têxteis.** 2006. 110 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.
- CERQUEIRA, A. A.; MARQUES, M. R. da C.; RUSSO, C. Avaliação do processo eletrolítico em corrente alternada no tratamento de água de produção. **Química nova**, v. 34, p. 59-63, 2011.
- CHEN, G. Electrochemical Technologies in Wastewater Treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 28, p. 1-31, 2003.
- CIARDELLI, G.; RANIERI, N. The treatment and reuse of wastewater in the textile industry by means of ozonation and electroflocculation. **Water Research**, v. 35, p. 567-572, 2001.
- CLAY, J. W.; SAMPAIO P. T. B.; CLEMENT, C. R. **Biodiversidade amazônica: exemplos e estratégias de utilização.** Brasília: MCTI. 2000.
- CODEAMA. Conselho de Defesa Ambiental de Aldeia. **Relatório de Gestão.** Manaus, 1976. 161 p.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n. 357. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. Brasília, MMA, 2005.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 430. Dispõe sobre classificação de corpos d'água e estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília, MMA, 2011.
- CRESPILHO, F. N., REZENDE, M. O. O. **Eletroflotação - Princípios e Aplicações.** São Carlos: Ed. Rima, 2004. p. 96.
- CRESPILHO, F. N.; SANTANA, C. G.; REZENDE, M. O.; Tratamento de Efluente da Indústria de Processamento de Coco Utilizando Eletroflotação. **Química Nova**, v. 27, p. 387-392, 2004.
- DA COSTA, W. M.; BECKER, B. K.; ALVES, D. S. **Dimensões humanas da biosfera-atmosfera na Amazônia.** EDUSP, 2007.
- DI BERNARDO, L. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água.** v. 1. ABES, Rio de Janeiro, Brasil, 1993, 481 p.
- FERREIRA, P. C. **Remoção de corantes de efluente têxtil por zeólita de cinzas de carvão modificada por surfactante e avaliação dos efeitos tóxicos.** 2015. 124 f. Tese (Doutorado em Ciências – Área Tecnologia Nuclear) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.
- GHARNAOUT, D.; GHARNAOUT, B.; BOUCHERIT, A. Effect of pH on electrocoagulation of bentonite suspensions in batch using iron electrodes. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 29, p. 1272-1275, 2008.
- HOSNY, A. Y. Separating Oil from Oil-Water Emulsions by Electroflotation Technique. **Separation Technology**, v. 6, p. 9-17, 1996.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sinopse do censo demográfico 2010. 2011.
- ILHAN, F.; KURT, U.; APAYDIN, O.; GONULLU, M. Treatment of leachate by electrocoagulation using aluminum and iron electrodes. **Journal of hazardous materials**, v. 154, p. 381-389, 2008.
- JIANG, J. Q.; GRAHAM, N.; ANDRÉ, C. A.; KELSALL, G. H. Laboratory Study of Electro-Coagulation-Flotation for Water Treatment. **Water Research**, v. 36, p. 4064-

- 4078, 2002.
- KHOUI, S.; ALOUI, F.; SAYADI, S. Extraction of antioxidants from olive mill wastewater and electro-coagulation of exhausted fraction to reduce its toxicity on anaerobic digestion. **Journal of hazardous materials**, v. 151, p. 531-539, 2008.
- LEÃO, N.; FREITAS, A.; SHIMIZU, E.; BENCHIMOL, R. Tecnologia de sementes de espécies florestais nativas da Amazônia. 2009.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, J. V.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A.; Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.
- MARTINEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. A general review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 87, 105-145, 2009.
- MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; FERRO, S. Electrochemical oxidation of organic pollutants for the wastewater treatment: direct and indirect processes. **Chemical Society Reviews**, v. 35, 1324-1340, 2006.
- MATTOS, J. C. P.; ALMEIDA, V. M.; GRANJA, D. S.; NUNES, G. S.; VIEIRA, L. J. S. Prospecção tecnológica sobre técnicas de eletroflotação e eletrocoagulação e tecnologias correlatas aplicadas no tratamento das águas residuárias das indústrias do ramo do látex. **Cadernos de Prospecção**, v. 9, p. 263, 2016.
- MCCLUNG, S. M.; LEMLEY, A. T. Electrochemical treatment and HPLC analysis of wastewater containing acid dyes. **Textile Chemist & Colorist**, v. 26, p. 17, 1994.
- MENESES, J.D.; VASCONCELOS, R. D. F.; FERNANDES, T. D. F.; ARAÚJO, G. D. Tratamento do efluente do biodiesel utilizando a eletrocoagulação/flotação: investigação dos parâmetros operacionais. **Química Nova**, v. 35, p. 235-240, 2011.
- MERZOUK, B.; GOURICH, B.; SEKKI, A.; MADANI, K.; CHIBANE, M. Removal turbidity and separation of heavy metals using eletrocoagulation-eletroflotation technique. **Journal of Hazardous Materials**, v. 164, p. 215-222, 2009.
- OLIVEIRA, F. F. de; GONÇALVES, R. Principais tecnologias empregadas no polimento do efluente de lagoas de estabilização. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999, Rio de Janeiro. Resumos...Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES). 1999. p. 1-11.
- PELEGRINO, R. L. DI IGLIA, R. A., SANCHES, C. G., AVACA, L. A.; BERTAZZOLI, R. Comparative study of commercial oxide electrodes performance in electrochemical degradation of organics in aqueous solutions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, p. 60-65, 2002.
- RAGHU, S.; AHMED BASHA, C. Dye destruction and simultaneous generation of sodium hydroxide using a divided electrochemical reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47, p. 5277-5283, 2008.
- RODRIGUES, M. C. **Tratamento eletrolítico de lixiviado de aterro sanitário**. 2007. 109 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade de Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- RODRIGUEZ, J., STOPIĆ, S.; KRAUSE, G.; FRIEDRICH, B. al. Feasibility assessment of electrocoagulation towards a new sustainable wastewater treatment. **Environmental Science and Pollution Research**. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1065/espr2007.05.424>>. Acesso em: 20 set. 2016.

- SANTOS, E. V. Aplicação de tratamentos eletroquímicos integrados para remediação de solos e águas contaminadas com petróleo e pesticidas. 2015.
- SHEN, F., CHEN, X.; GAO, P.; CHEN, G. Electrochemical removal of fluoride ions from industrial wastewater. **Chemical Engineering Science**, v. 58, p. 987-993, 2003.
- TONETTI, A. L. et al. Avaliação da partida e operação de filtros anaeróbios tendo bambu como material de recheio. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16, p. 11-16, 2011.
- UN, Ü. T.; UĞUR, S.; KOPARAL, A. S.; ÖĞÜTVEREN, Ü. B. Electrocoagulation of olive mill wastewaters. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p. 136-141, 2006.
- YANG, Chen-Lu. Electrochemical coagulation for oily water demulsification. **Separation and Purification Technology**, v. 54, p. 388-395, 2007.
- YUNUSOV, K. B. Improving ecological parameters of wastewater by integrating various cleaning methods. **Chemical and Petroleum Engineering**, v. 47, n. 1-2, p. 133-139, 2011.



# 11

## REVISÃO SOBRE OS COMPONENTES DA SECREÇÃO DA PELE DA FAMÍLIA *HYLIDAE* (AMPHIBIA, ANURA) E SEUS EFEITOS BIOLÓGICOS

Elvira Maria Farias de Bayá  
Moisés Barbosa de Souza

Os anfíbios atuais pertencem à subclasse Lissamphibia, constituída por três ordens: Anura, representada pelos sapos, rãs e pererecas, Urodela representada pelas salamandras e tritões, e Gymnophiona, que são as cobras-cegas ou cecílias (POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

A Família Hylidae Rafinesque, 1815 (Amphibia; Anura) é constituída por 946 espécies, agrupadas em três subfamílias e com distribuição nas Américas, Austrália (Papua-Nova Guiné), Europa e Ásia (FROST, 2014).

Os hílídeos variam muito na aparência externa e no tamanho, que podem ter de 1, 7 a 14 cm de comprimento, além dos discos adesivos arredondados nas pontas dos dedos presentes na maioria das espécies, que os diferenciam facilmente das outras famílias. Muitos são arborícolas, alguns



semiaquáticos e outros são fossoriais; geralmente seus os ovos e girinos são aquáticos. Em algumas espécies os ovos são depositados sobre a vegetação acima das poças ou riachos. Os girinos depois de eclodirem, caem na água, onde completam o seu desenvolvimento. Há espécies que depositam seus ovos nas axilas de bromélias ou buracos de árvores cheios de água, enquanto em outras os ovos se desenvolvem sobre o dorso ou dentro de bolsas dorsais das fêmeas (LIMA et al., 2006).

Os representantes a família Hylidae possuem cintura peitoral do tipo arcífero, com um esterno desenvolvido, oito vértebras pré-sacrais procélicas, diapófises sacrais pouco dilatadas, articulação da vértebra sacral com o uróstilo bicondilar, pré-maxilares e maxilares providos de odontóides, uma cartilagem intercalar entre a última e a penúltima falange dos dígitos e amplexo axilar (CARAMASCHI; CRUZ, 2002).

Dos grupos de vertebrados viventes, foram os anfíbios os primeiros a conquistarem o ambiente terrestre há cerca de 390 milhões de anos. Essa mudança, do ambiente aquático para o terrestre, não foi completa, já que muitos dependem da água para reprodução. Seus ovos gelatinosos não amnióticos são sensíveis à dessecação (POUGH; JANIS; HEISER, 2008; RETALLAK, 2011).

A pele dos anfíbios não possui escamas, é intensamente permeável à água e encoberta por glândulas mucosas, que se apresentam em toda a superfície da pele dos anuros. Estas glândulas produzem uma secreção rica em compostos mucopolissacarídicos biologicamente ativos, que se espalha por todo o corpo mantendo a pele úmida, permeável à água e aos gases (oxigênio) e que regula a temperatura corpórea dentro de limites estáveis. Nos sistemas biológicos, a permeabilidade à água é inseparável da permeabilidade aos gases, e os anfíbios são animais dependentes da respiração cutânea, sendo esta responsável por uma parcela significativa de suas trocas gasosas (DUELLMAN, 1986). A permeabilidade da pele associada a altas temperaturas e taxas de umidade dos ambientes em que vivem tornaram os anfíbios vulneráveis a agressões por micro-organismos (bactérias, fungos e vírus) e expostos à dessecação. Em resposta a essa pressão, sua evolução causou o desenvolvimento de um mecanismo de defesa pelas glândulas de veneno

(granulosas ou serosas), responsáveis pela síntese e armazenamento de uma diversidade de compostos e moléculas bioativas (SCHWARTZ et al., 2007; HONORATO, 2009; FONTANA, 2012).

A fim de fornecer elementos para a realização da pesquisa sobre o tema, realizou-se uma revisão integrativa da literatura para identificar estudos produzidos acerca da secreção da pele dos anfíbios da Família Hylidae.

O tipo de estudo selecionado foi uma revisão integrativa da literatura. De acordo com Mendes et al. (2008), foram utilizadas seis etapas da revisão integrativa da literatura: 1) escolha e definição do tema; 2) estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão da pesquisa; 3) formação do banco de dados com as informações extraídas; 4) avaliação dos estudos incluídos na revisão integrativa; 5) interpretação dos resultados; 6) apresentação da revisão.

A pergunta norteadora para a realização da revisão integrativa foi: Qual é a produção científica acerca da secreção da pele da família Hylidae?

A base de dados utilizada foi a *Web of Science*. Para realizar a busca por produções científicas foram utilizados os seguintes descritores em inglês: *Hylidae* e *skin secretion*.

Foram utilizados três critérios de inclusão: artigos publicados em inglês, artigos na íntegra que retratassem a temática referente à revisão integrativa e artigos publicados e indexados no referido banco de dados nos últimos dez anos. As publicações que não estavam alinhadas aos critérios de inclusão e artigos de revisão de literatura foram excluídos.

## **PESQUISAS FEITAS COM A SECREÇÃO DA PELE DA FAMÍLIA *HYLIDAE* NA ÚLTIMA DÉCADA**

A busca de artigos na base de dados resultou em 32 produções científicas, que após a aplicação dos critérios de exclusão foram selecionados 8 artigos objetos de análise desse capítulo.

Dos artigos selecionados 100% identificaram o componente peptídico nas secreções da pele das espécies estudadas; no entanto, 37,5% (três) não apresentaram a avaliação das propriedades dos mesmos. Dos cinco estudos que avaliaram as propriedades biológicas, todos demonstraram atividade antimicrobiana dos peptídeos isolados.

No Quadro 1 podem ser observadas as informações extraídas dos artigos selecionados para o estudo, apresentados por ordem cronológica crescente de publicação.

**Quadro 1.** Artigos levantados na base de dados *Web of Science* sobre a composição da secreção da pele da família Hylidae

Título do artigo	Autores/Periódico	Temática
Peptides with differential cytolytic activity from skin secretions of the lemur leaf frog <i>Hylomantis lemur</i> (Hylidae: Phyllomedusinae).	Conlon JM, Woodhams DC, Raza H, Coquet JL, Jouenne T, Vaudry H, Rollins-Smith LA.  Toxicon 50: 498–506, maio 2007.	Estudo experimental que isola dois peptídeos da secreção da pele de <i>Hylomantis lemur</i> e verifica suas atividades.
Post-secretory events alter the peptide content of the skin secretion of <i>Hypsiboas raniceps</i>	Magalhães BS, Melo JAT, Leite JRSA, Silva LP, Prates MV, Mehta A, Nicoli JR, Bemquerer MP, Andrade AC, Bloch Jr. C.  Biochemical and Biophysical Research Communications 377:1057–1061, out 2008.	Estudo experimental que analisa uma nova família de peptídeos e 15 fragmentos, a partir da secreção cutânea dorsal bruta de <i>Hypsiboas raniceps</i> .
Novel natural peptides from <i>Hyla arborea schelkownikowi</i> skin secretion	Samgima TY, Gorshkov VA, Artemenko KA, Kovalev SV, Ogourtsov SV, Zubarev RA, Lebedev AT.  Rapid Commun. Mass Spectrom. 24: 1749–1754, abr 2010.	Estudo experimental que identifica 10 peptídeos da secreção cutânea de <i>Hyla arborea schelkownikowi</i> .
Peptidomic dissection of the skin secretion of <i>Phasmahyla jandaia</i> (Bokermann and Sazima, 1978) (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae)	Rates B, Silva LP, Ireno IC, Leite FSF, Borges MH, Bloch Jr. C, Lima ME, Pimenta MC.  Toxicon 57: 35–52, out 2010.	Estudo experimental que sequencia e identifica 57 peptídeos da secreção cutânea de <i>Phasmahyla jandaia</i> .
Isolation and Amino Acid Sequencing by MALDI-TOF-MS/MS of a Novel Anti-microbial Anionic Peptide from the Skin Secretion of <i>Osteocephalus taurinus</i> (Anura, Hylidae)	Costa TOG, Almeida RA, Melo JT, Koolen HHF, Silva FMA, Leite JRSA, Prates MV, Bloch Jr. C, Pinto AC.  <i>J. Braz. Chem. Soc.</i> , 23(12): 2133-2136, jan 2012.	Estudo experimental que isola um peptídeo aniônico da secreção da pele de <i>Osteocephalus taurinus</i> .

*Continua...*

**Quadro 1.** Continuação

Título do artigo	Autores/Periódico	Temática
Molecular cloning of skin peptide precursor-encoding cDNAs from tibial gland secretion of the Giant Monkey Frog, <i>Phyllomedusa bicolor</i> (Hylidae, Anura)	König E, Clarck VC, Shaw C, Bininda-Emonds ORP. Peptides 38: 371–376, set 2012.	Estudo experimental de identificação e clonagem molecular de 4 peptídeos da secreção das glândulas tibiais de <i>Phyllomedusa bicolor</i> .
A family of antimicrobial and immunomodulatory peptides related to the frenatins from skin secretions of the Orinoco lime frog <i>Sphaenorhynchus lacteus</i> (Hylidae)	Conlon JM, Mechkarska M, Radosavljevic G, Attoub S, King JD, Lukic ML, McClean S. Peptides 56: 132–140, abr 2014.	Estudo experimental que isola e analisa 3 peptídeos da secreção da pele de <i>Sphaenorhynchus lacteus</i> .
Antimicrobial Peptides from Skin Secretions of <i>Hypsiboas pulchellus</i> (Anura: Hylidae)	Siano A, Húmpula MV, Oliveira E, Albericio F, Simonetta AC, Lajmanovich r, Tonarelli G. J. Nat. Prod. 77: 831–841, abr 2014.	Estudo experimental que identifica e testa as propriedades de 3 peptídeos da secreção da pele de <i>Hypsiboas pulchellus</i> .

Os oito artigos selecionados na revisão da literatura caracterizaram um total de 79 compostos peptídicos, sendo que somente 9 (11,3%) peptídeos tiveram as propriedades estudadas (Tabela 1).

**Tabela 1 .** Peptídeos categorizados conforme suas propriedades biológicas

Peptídeo	Antimicrobiana	Anticâncer	Pró-inflamatório	Antifúngica	Hemolítica	Autores
Dermaseptina-L1	X	X		X		Conlon et al. (2007)
Filoseptina-L1	X			X		Magalhães et al. (2008)
RSP-1	X				X	Costa et al. (2012)
Otacidina	X					Conlon et al. (2014)
Frenatina 2.1S	X	X	X			
Frenatina 2.2S	X	X	X			
P1-Hp-1971	X					Siano et al. (2014)
P2-Hp-1935	X					
P3-Hp-1891	X					

Observa-se que todos os peptídeos estudados apresentaram propriedade antimicrobiana. E o peptídeo Otacidina demonstrou nos testes realizados, somente a propriedade hemolítica.

A secreção cutânea dos anfíbios tem papel diversificado sobre as funções fisiológicas da pele (respiração) e é rica em diferentes substâncias (alcaloides, aminas biogênicas, peptídeos e proteínas), as quais são capazes de munir os animais de gosto, de odor repelente e de propriedades adesivas que interferem nos processos de ingestão pelo predador, além de causarem náuseas, perda de coordenação e de consciência ou eventual morte (NEUWIRTH et al., 1979; PRATES, 2003).

Durante a análise dos estudos pode-se concluir que em relação aos tipos de estudos existentes, estão todos relacionados com o isolamento e identificação de peptídeos e que este componente apresenta diversas propriedades farmacológicas como antimicrobiana, antifúngica, anticâncer, hemolítica e pró-inflamatória. E isto vem a fortalecer a importância do desenvolvimento de mais pesquisas com este componente e seus efeitos farmacológicos.

A segunda ressalva foi o número reduzido de publicações indexadas que abordaram o estudo de peptídeos da família Hylidae. Também se observa a escassez de publicações referentes aos demais componentes da secreção, verificando-se necessidade de pesquisas para tais substâncias.

A terceira verificação foi que três dos oito estudos selecionados não apresentaram os resultados de testes biológicos com os componentes peptídicos encontrados, a fim de identificarem suas funções. Indicando a pertinência de novas investigações para analisar a aplicabilidade de tais componentes.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os estudos selecionados para essa revisão mostraram que a secreção da pele da família Hylidae apresenta uma vasta composição de substâncias bioativas relacionadas com estratégia de defesa induzida dos anfíbios.

Em concordância com as conclusões de alguns dos artigos abordados, notou-se que mesmo com o avanço da pesquisa científica sobre a composição química da secreção cutânea dos hílídeos, a busca por moléculas

usadas no mecanismo de resistência ainda é escassa em outros gêneros da família Hylidae.

O gênero *Trachycephalus* ocorre no estado do Acre com três espécies: *T. coriaceus*, *T. resinifictrix* e *T. typhoni*. A espécie *T. typhoni*, ao ser manuseada ou atacada por predador, produz grande quantidade de secreção branca e leitosa, que causa irritações na pele e mucosas. Na medicina popular, a secreção da pele é utilizada topicamente, fazendo-se várias aplicações para curar verrugas que, em conformidade com os relatos, desaparecem e não voltam a crescer no corpo. Sendo os componentes da secreção desta espécie pouco conhecidos, destaca-se a importância do desenvolvimento de pesquisas inovadoras sobre a identificação e a caracterização de moléculas presentes nas secreções dos anfíbios amazônicos, investigando-se novas funções capazes de fornecer dados que auxiliem os estudos sobre a biologia destas moléculas, na busca de componentes que venham contribuir com as atuais alternativas curativas.

Certamente os resultados apresentados apontam para o aperfeiçoamento de conhecimentos e tecnologias existentes que examinem as potencialidades e aplicabilidades dos componentes da secreção dos hílideos, na prospecção de princípios ativos alternativos aos fármacos atuais, que vem perdendo seus efeitos e provocando aumento da resistência de micro-organismos nocivos a saúde humana.

## REFERÊNCIAS

- CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G. *Phyllomedusa*: posição taxonômica, hábitos e biologia (Amphibia, Anura, Hylidae). **Phyllomedusa**, v. 1, p. 5-10, 2002.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibian**. Baltimore and London: Johns Hopkins Paperbacks edition, 1986, 670 p.
- FONTANA, P. L. M. **Estudo morfológico comparativo do sistema de defesa química cutânea em duas espécies de sapos amazônicos (*Rhinella marina* e *Rhaebo guttatus*)**. 2012. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-graduação em Toxinologia, Instituto Butantan, São Paulo, 2012.
- FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. 2014. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>>. Acesso em: 10 jul. 2016.
- HONORATO, M. **Análise peptidômica da secreção cutânea do anuro *Eupemphix***

- nattereri* com ênfase na prospecção de peptídeos antimicrobianos. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Animal) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2009.
- LIMA, A. P.; MAGNUSSORI, W. E.; MENIN, M.; ERDTMANN, L. K.; RODRIGUES, D. J.; KELLER, C.; HÖDL, W. **Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke: Amazônia Central**. Manaus: Attema Design Editorial, 2006. p. 168.
- MENDES, K. D. S.; SILVEIRA, R. C. C. P.; GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 17, p. 758-764, 2008.
- NEUWIRTH, M.; DALY, J. W.; MYERS, C. W.; TICE, L. W. Morphology of the granular secretory glands in skin of poison-dart frogs (Dendrobatidae). **Tissue Cell** [S.I.], v. 11, p. 755-771, 1979.
- POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.
- PRATES, M. V. **Peptídeos bioativos do anuro *Hyla punctata***. 2003. 97 f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, UnB, Brasília, 2003.
- RETALLAK, G. J. Woodland and hypothesis for devonian Tetrapod evolution. **The Journal of Geology**, v. 119, p. 235-258, 2011.
- SCHWARTZ, C. A.; CASTRO, M. S.; PIRES-JUNIOR, O. R.; MACIEL, N. M.; SCHWARTZ, E. N. F.; SEBBEN, A. Princípios bioativos da pele de anfíbios: panorama atual e perspectivas. In: NASCIMENTO, L. B.; OLIVEIRA, M. E. **Herpetologia do Brasil II**, Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte: PUC Minas, v. 2, p. 146-168, 2007.
- SEBBEN, A.; SCHWARTZ, C. B.; CRUZ, J. S. A defesa química dos anfíbios. **Ciência Hoje**, v. 15, p. 25-33, 1993.

# 12

## TERAPIA FOTODINÂMICA:

perspectiva de fotossensibilizante e carreadores para o tratamento de melanoma

Cydia de Menezes Furtado

Igor Anatolievich Degterev

Clarice Maia Carvalho

Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera o câncer como uma epidemia global, sendo a doença que mais cresce e uma das maiores causas de morte. Em 2030, a carga global será de 21,4 milhões de casos novos e 13,2 milhões de mortes por câncer. No Brasil, em 2014/ e 2015 estes números foram da ordem de 576 mil novos casos. Fatores como a mudanças no perfil demográfico, processo de urbanização populacional, da industrialização, unem-se aos novos estilos de vida e a exposição, ainda mais intensa, a fatores de risco próprios do mundo contemporâneo (INCA, 2014).

O câncer de pele é o mais frequente no Brasil, correspondendo a 25% de todos os tumores malignos registrados no país, e o melanoma representa apenas 4% das neoplasias malignas do órgão, porém, o mais grave devido à



sua alta possibilidade de metástase, por via linfática ou hematogênica (INCA, 2014).

Os graves efeitos adversos e a eficiência limitada das terapias convencionais antineoplásicas, como cirurgia, quimioterapia e radioterapia, aumentam a importância de estudo de compostos terapêuticos e/ou terapias alternativas, que estão sendo constantemente propostas na área da medicina (SIMPLICIO et al., 2002; PRASHAR et al., 2003). Nesse contexto, destacamos o melanoma metastático que apresenta resistência à quimioterapia e radio-terapia, e apenas 15% dos pacientes conseguem sobreviver por até 3 anos (CUMMINS et al., 2006). Os tratamentos atuais utilizam várias estratégias para aumentar a sobrevida do paciente, com o uso de terapias combinadas, como bioquimioterapia, imonoterapia e terapia gênica (MONGE-FUENTES et al., 2014).

A Terapia Fotodinâmica (TFD) vem se destacando na oncologia com o tratamento de neoplasias, e tem mostrado bons resultados (ISSA; MANE-LA-AZULAY, 2010). A TFD é uma modalidade de terapia em que três fatores atuam concomitantes: o fotossensibilizante (FS); uma fonte de luz (comprimento de onda vermelho) e oxigênio. Neste processo, nem a droga fotossensibilizadora, nem a luz têm efeito deletério ao sistema biológico, se isolados. Entretanto, moléculas fotossensíveis (fotossensibilizadores) são ativadas por luz visível e geram espécies reativas de oxigênio dentro do tecido tumoral. Tais espécies provocam uma cascata de eventos oxidativos que resultam na morte das células cancerígenas por apoptose e/ou necrose (BROWN et al., 2004).

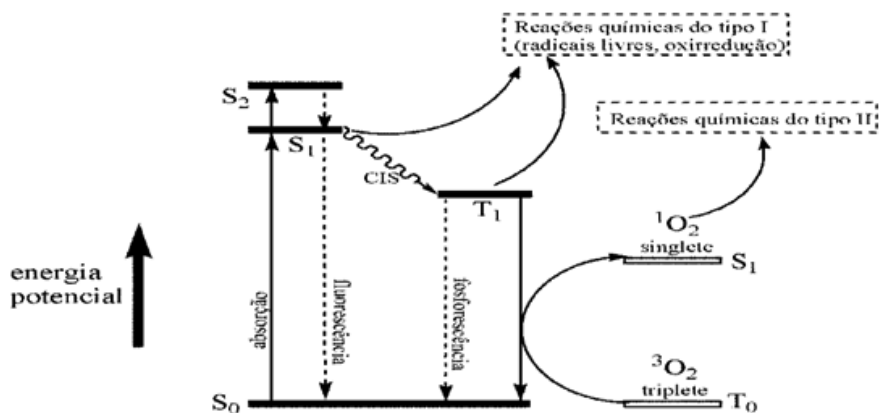
As primeiras patentes da Universidade Federal do Acre (Ufac), em cooperação com a Universidade de Brasília (UnB), estudaram a atividade farmacológica de extratos de plantas como novos fotossensibilizantes para terapia fotodinâmica (AZEVEDO et al., 2012; MUEHLMANN et al., 2012). Tal trabalho merece destaque e não acontece por acaso na Ufac. Já que se situa no meio da Amazônia Ocidental, cercada por floresta tropical, é bem plausível e esperado que essa nova Universidade se dedique ao estudo e ao desenvolvimento de novos remédios baseando-se nos extratos de plantas, cujos primeiros resultados experimentais, a partir de plantas tropicais, começam a ser publicados.

## TERAPIA FOTODINÂMICA

A TFD se destaca como uma modalidade relativamente nova no tratamento de câncer, sendo que boa parte do uso da TFD está centrada na cancerologia. No entanto, outras doenças como degeneração macular da retina, psoríase, artrite reumatoide sistêmica, micoses, infestações bacterianas, verrugas, arteriosclerose e outras, que têm como característica comum um crescimento anormal de tecidos igualmente ao câncer, também podem ser tratadas com essa terapia (RODRIGUEZ, 2015).

A combinação de luz, oxigênio e um composto fotossensibilizante (FS) formam a base da TFD (Figura 1) A absorção de fótons leva o FS de seu estado fundamental ( $S_0$ ) a um estado excitado ( $S_1$ ). A partir desta transformação inicial, o FS pode retornar ao seu estado fundamental liberando a energia de excitação em forma de fluorescência, ou passar a outro estado de excitação mais estável, denominado de estado triplete excitado ( $T_1$ ). Para a destruição celular, a forma triplete do FS gerada a partir da interação com a luz é mais interessante devido a algumas características deste estado, tais como maior estabilidade, maior tempo de vida no meio, entre outros com relação ao estado singlete. Assim, espécies de FS no estado triplete podem interagir com várias moléculas presentes em meio biológico. Essa interação pode acontecer diretamente, a partir dos estados  $T_1$  ou  $S_1$  (reação do tipo I) ou pela geração de oxigênio singlete (reação do tipo II) (CASTANO et al., 2004; 2006; ALLISON et al., 2008).

**Figura 1.** Diagrama de Jablonski representando excitação e relaxamento de um fotossensibilizante e os processos fotodinâmicos que levam às reações do tipo I e do tipo II



S<sub>0</sub> = estado fundamental singlete; S<sub>1</sub> = primeiro estado excitado singlete; S<sub>2</sub> = segundo estado excitado singlete; T<sub>0</sub> = estado fundamental triplete; T<sub>1</sub> = primeiro estado excitado triplete; CIS = cruzamento intersistemas.

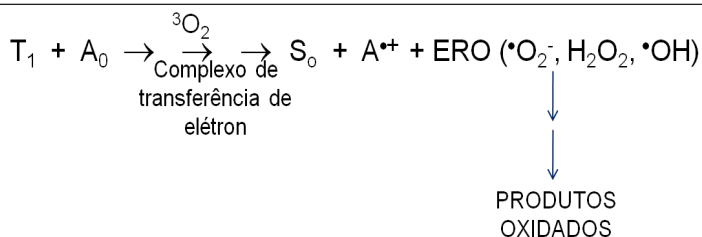
Fonte: Adaptado de Bonett (1995).

De uma forma geral, nas reações do Tipo I, o fotossensibilizante ativado (principalmente em seu estado T<sub>1</sub>) reage com moléculas da vizinhança por transferência de elétrons ou hidrogênio, levando à produção de radicais e espécies reativas oxidantes. Este sistema ativado pode reagir com o oxigênio do meio (estado fundamental, representado pela espécie triplete <sup>3</sup>O<sub>2</sub>), formando peróxidos (derivados de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), superóxidos (como o ânion-radical superóxido •O<sup>2-</sup>) e radical hidroxila (•OH), gerando uma série de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais são responsáveis pela oxidação de diversas moléculas. As EROs são espécies com alta energia e com baixa seletividade reacional, podendo reagir com praticamente qualquer molécula em suas vizinhanças, induzindo-lhes modificações químicas que podem impedir seu funcionamento normal (RIBEIRO et al., 2005).

As reações Tipo II são caracterizadas pela transferência de energia do FS excitado, em T<sub>1</sub>, diretamente para o oxigênio T<sub>0</sub>, que se encontra em seu estado fundamental (<sup>3</sup>O<sub>2</sub>), tornando-o assim excitado (oxigênio singlete, representado por <sup>1</sup>O<sub>2</sub>). O oxigênio singlete é considerado a principal ERO re-

lacionada à TFD (Figura 2). A geração de uma série de espécies reativas, em especial o oxigênio singlete, após a ativação do FS pela luz é o fator fundamental para a atividade citotóxica causada pela TFD, visto que estas espécies reagem prontamente com diferentes biomoléculas (CASTANO et al., 2004).

**Figura 2.** Produtos formados pelos mecanismos do tipo I e II



Diversas substâncias, naturais ou sintéticas, já foram estudadas como potenciais fármacos FS para TFD. Além do fato de serem excitados e gerarem espécies reativas de oxigênio, em especial o oxigênio singlete, quando expostas a fontes de luz em determinados comprimentos de onda, os FS devem apresentar outras características fundamentais para serem utilizados na TFD (ALLISON et al., 2004), exemplos de:

- a) apresentar baixa toxicidade às células eucarióticas;
- b) possuir pico de absorvância na faixa do vermelho (600 a 800 nm);
- c) ser eficiente na geração de espécies reativas de oxigênio;
- d) apresentar custo-efetividade favorável e;
- e) permanecer ativo em fluidos biológicos.

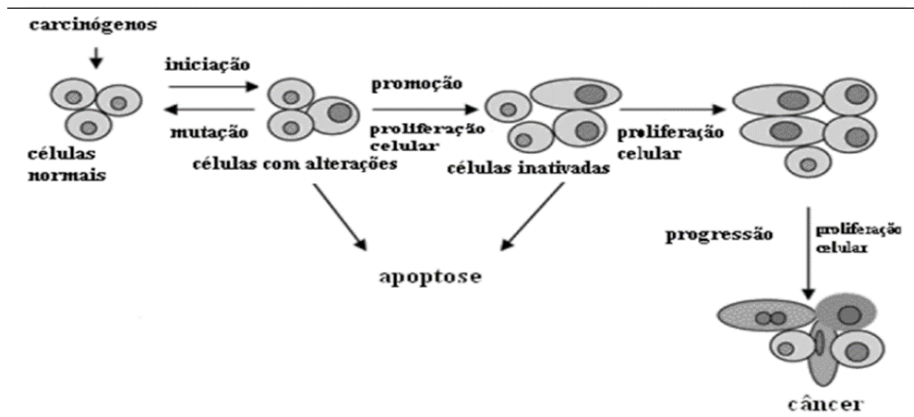
Por isso, são várias as vantagens da TFD, quando comparada com abordagem de oncoterapia tradicional: (i) citotoxicidade muito menor, quando comparado com os quimioterápicos. Os FS somente apresentam citotoxicidade sob iluminação vermelha; no escuro não são perigosos para os tecidos normais, diferentes dos quimioterápicos; (ii) luz vermelha não é destrutiva, como são as radiações gama e rx, usadas em radioterapia. Essas energias vão de kilo ou até mega eletronsvolts ( $1\text{ev} \approx 23 \text{ kcal/mol}$ ), mais que suficiente para destruir qualquer ligação entre átomos, que geralmente precisam apenas de 150 kcal/mol, dessa forma há uma grande destruição de quaisquer moléculas.

É claro que também há desvantagens ligadas ao paciente tratado com TFD, como, por exemplo, o fato de o paciente dever se proteger da luz até a completa eliminação do FS. Isso nos motiva a pesquisar novos FS que tenha tempo de meia vida menor e que sejam absorvidos pelas membranas plasmáticas, assim como nos motiva a entender os meios de transporte que vão dirigir os FS para o sítio alvo. Essa abordagem é conhecida na literatura mundial como *Targeted Drug Delivery* - TDD (Entrega Dirigida de Drogas – EDD, em português).

### CÂNCER DE PELE DO TIPO MELANOMA

Câncer, neoplasias malignas ou tumores malignos são nomes dados a um conjunto de mais de 100 doenças, que começam porque células anormais crescem desordenadamente, formação de tumores (Figura 3). As células cancerosas também podem invadir outros tecidos, algo que as células normais não podem fazer, crescendo fora de controle (GLOBOCAN WHO, 2012; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2013).

**Figura 3.** Estágios de desenvolvimento do câncer: iniciação; promoção e proliferação



Fonte: Instituto de Pesquisa e Tratamento Oncológico (Oncontek, 2016)

O melanoma é um tipo de câncer de pele que tem origem nos melanócitos, células produtoras de melanina, substância que determina a cor da pele, e tem predominância em adultos brancos. É um câncer agressivo, de

crescimento rápido e com grande potencial de gerar metástases, espalhando-se pelo corpo. Embora o câncer de pele seja o mais frequente no Brasil e corresponda a 25% de todos os tumores malignos registrados no país, o melanoma representa apenas 4% das neoplasias malignas do órgão, o que equivale a cerca de 5.890 casos (2.960 em homens e 2.930 em mulheres), sendo mais grave devido à sua alta possibilidade de metástase, por via linfática ou hematogênica (SLINGLUFF, 2011; INCA, 2014).

Os dados do *National Cancer Database* revelam que 91,2% dos melanomas têm origem na pele, 5,3% são melanomas oculares, 1,3% têm origem nas membranas mucosas e 2,2% são tumores de sítio primário indeterminado (SLINGLUFF, 2011).

São reconhecidos quatro tipos mais importantes de melanoma cutâneo, com características distintas do ponto de vista clínico e histopatológico (AJCC, 2002; VRIES, 2006; FORMAN et al., 2008; JAMES et al., 2011; SLINGLUFF, 2011), a saber, melanoma tipo:

- a) Disseminação Superficial (MDS) - é a forma mais comum de melanoma, representando 70% de todos os melanomas. É o mais frequentemente associado a lesões névicas prévias. Ocorre frequentemente em dorso nos homens e dorso e membros inferiores nas mulheres. Clinicamente, a lesão é assimétrica, de bordas irregulares, denteadas, possuindo várias cores (marrom claro, marrom escuro, preto, vermelho, cinza-azulado e branco), predominando o preto; apresentando crescimento rápido. A lesão nem sempre apresenta relevo, podendo ser somente uma mancha. Eventualmente pode ser uma lesão rosada, ou ter parte da lesão com coloração mais avermelhada;
- b) Nodular (MN) - é a segunda forma mais frequente, respondendo por 15% a 30% dos casos. É o melanoma de prognóstico pior, com alta possibilidade de metástases e alta mortalidade. Clinicamente é lesão nodular; de coloração escura, negra, acinzentada ou azulada; de crescimento rápido. Normalmente é uma lesão enegrecida, mas pode, raramente, ser uma lesão rosada, avermelhada;
- c) Acrolentiginoso (MAL) - melanoma que ocorre em regiões plan-

- tares, palmares e dedos, podendo inclusive acometer a unha. Diferente dos demais melanomas, não tem relação com exposição solar, sendo que atualmente acredita-se que o trauma crônico pode ter um papel no seu aparecimento. Também diferentemente dos demais melanomas acomete todos os grupos raciais com incidências semelhantes. Em negros e asiáticos representam proporcionalmente um percentual maior em relação à totalidade dos melanomas, pela baixa incidência dos outros melanomas;
- d) Lentigo Maligno (MLM) - é a forma menos comum de melanomas, ocorrendo em indivíduos idosos, provavelmente relacionados à exposição solar crônica. Tem o melhor comportamento, é o melanoma que menos dá metástases.

Melanoma também pode ser classificado quanto à espessura do tumor e do nível de invasão da pele, classificação de Breslow e de Clark respectivamente, essas classificações são importantes nos prognósticos. O índice de Breslow determina a espessura tumoral - dimensão vertical a partir do ponto mais profundo de invasão ao topo da camada granulosa ou à célula mais superficial em caso de ulceração, as espessuras são definidas nos limites de 1mm (T1), 2mm (T2) e 4mm (T3) e mais de 4 mm (T4) (INCA, 2012)

Quanto ao grau de invasão tumoral segundo Clark et al. (1969) divide-se em 5 níveis sendo: o nível I quando a lesão é intraepidérmica (*in situ*); o nível II quando há invasão da derme papilar; o nível III quando ocorrena transição entre a derme papilar e a reticular; o nível IV, quando atinge a derme reticular; até ao nível V, que corresponde à invasão tumoral do panículo adiposo.

Para o melanoma cutâneo, o principal prognóstico é o estadiamento, a Union International for Cancer Control (UICC) e o American Joint Committee on Cancer (AJCC), consideram para o estadiamento, o aspecto do tumor primário (T), do eventual comprometimento linfático regional (N) ou a presença de metástases (M).

## FATORES DE RISCO E PREVENÇÃO

Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de melanoma podem ser divididos em dois grupos:

- a) Constitucionais - que se relacionam às características fenotípicas do indivíduo como pele, olhos e cabelos claros; nevo congênito e displásicos; história familiar ou pessoal de melanoma;
- b) Ambiental - principalmente a exposição à irradiação ultravioleta - IUV, e à interação entre o indivíduo e a exposição à IUV (MOAN, 2012 et al.; INCA, 2015).

A interação entre os fatores intrínsecos e extrínsecos foi estudada por Veieroide et al (2010), sendo comprovado que em pessoas de cabelos loiros e ruivos exposto a radiação solar, combinados com a presença de nevos, aumentam o risco de melanoma cutâneo. A limitação à exposição à IUV é a principal medida preventiva, uma vez que outros fatores de risco não são evitáveis. Esta proteção é recomendada pela Organização Mundial da Saúde sempre que o índice ultravioleta atinge valores acima de três. É importante reconhecer que a exposição excessiva a IUV traz impacto negativo, pois mesmo com o benefício relacionado ao metabolismo da vitamina D e diminuição dos eventos esqueléticos, a superexposição a IUV implica em uma perda anual de 1,5 milhões de anos de vida ajustados pela morbidade (*Disably-Adjusted Life Years – DALY*) no mundo (NARAYANAN, 2010; WHO, 2015).

## OS PRINCIPAIS TRATAMENTOS DO MELANOMA

As opções de tratamento do melanoma dependem do estadiamento da doença, podendo incluir: cirurgia, quimioterapia, imunoterapia e radioterapia. Dos tratamentos convencionais, a cirurgia é a opção terapêutica mais indicada em fase inicial, sendo assim os melanomas geralmente curados. A cirurgia consiste na remoção do melanoma, ampliando as margens cirúrgicas da mancha para assegurar que não permaneceram células cancerosas na pele. O tamanho da margem dependerá do tamanho do tumor. Há casos em que o melanoma pode se disseminar para os gânglios linfáticos próximos ao tumor e, se o linfonodo sentinela contém câncer, provavelmente será realizada posteriormente a dissecação dos gânglios linfáticos (INCA, 2015).



Nos últimos anos, as novas formas de tratamento para melanomas disseminados, como imunoterapia e terapia alvo, têm se mostrado mais eficazes do que a quimioterapia, devido à resistência às drogas (GANGADHAR; SALAMA, 2015). Estágios mais avançados muitas vezes requerem uma combinação de tratamentos como radioterapia, quimioterapia, terapia alvo, imunoterapia ou bioquimioterapia (imunoterapia combinada com quimioterapia).

Em cerca da metade dos casos de melanoma, as células cancerosas têm alterações no gene BRAF. Se essa alteração genética é diagnosticada, o tratamento com novos medicamentos alvo, como vemurafenib, dabrafenib e trametinib, pode ser útil, assim como o ipilimumab (KIM et al., 2015). Os melanomas com alteração no gene C-KIT, pode ser tratado com o imatinib e nilotinib, estes medicamentos podem aumentar a sobrevida de alguns pacientes, embora ainda não saiba se curam esse tipo de melanoma (VILLARUZ et al., 2014).

Como o melanoma estágio IV é muito difícil de ser tratado com as terapias atuais, muitos estudos em andamento estão avaliando novos medicamentos alvo, imunoterapia, drogas quimioterápicas e combinações de diferentes tipos de tratamentos.

Os tratamentos que combatem as neoplasias, quimioterapia e radioterapia, são tóxicos ao paciente, causando graves efeitos adversos, além de uma eficiência limitada. Com isso novas terapias estão sendo constantemente propostas na área de oncologia (SIMPLICIO et al., 2002).

#### *Tectona grandis* Linn.f

*Tectona grandis* L.f. Linn. anteriormente pertencente à família Verbenaceae e atualmente, segundo a nova classificação APGIII (2009), reconhecida como espécie da família Lamiaceae, é conhecida popularmente como teca no Brasil, por *teak* na Ásia, *teck* na França, *ojati* em Java, *may sak* no Laos e *tiek* na Alemanha (Figura 4), nativa das florestas tropicais, com origem asiática, ocorrendo naturalmente na Índia, Mianmar Tailândia, Laos, Camboja, Vietnã e Java.

**Figura 4.** *Tectona grandis*, do plantio da Unidade de Tecnologia de alimentos da Ufac



Trata-se de uma das espécies mais procuradas e valorizadas no mercado internacional de madeiras por sua alta durabilidade, boa estabilidade dimensional, resistência, pouco peso e as qualidades estéticas de sua madeira. A teca é muito utilizada em setores como o de mobília de luxo, construções navais e esquadrias de alto padrão (BERMEJO et al., 2004; MACEDO et al., 2005).

A área mundial plantada excede os 3 milhões de hectares (MACEDO, 2005) sendo os asiáticos, os maiores produtores. Outros países tropicais, também realizam plantio como Togo, Camarões, Zaire, Nigéria, Trinidad, Honduras e Brasil, entre outros.

No Brasil, a superfície plantada, segundo a ABRAF (2014), é de 67 mil hectares, sendo que destes, 95% encontram-se no estado de Mato Grosso. No Acre, a área plantada é de 500 hectares, onde é cultivada para a extração da madeira, como uma alternativa para diminuir a pressão sobre outras espécies florestais de ocorrência natural de grande valor econômico (FIGUEIREDO, 2005).

*T. grandis* também é considerado como um dos principais constituintes em muitos medicamentos da comunidade asiática tradicional. Têm várias atividades farmacológicas como antibacteriana, antioxidante, antifúngica, anti-inflamatória, antipirética, analgésica, antidiurética e hipoglicêmica, suas propriedades medicinais são reconhecidas no sistema ayurvédico da medicina (NEHA; SANGEETA, 2013). É planta medicinal de natureza versátil, pois além de possuir um elevado valor de madeira, também é fonte de vários tipos de compostos possuindo diversas estruturas em seu extrato. Essas atividades terapêuticas se devem provavelmente a presença de carboidratos, taninos, alcalóides, saponinas, flavonóides e proteínas.

Bhangale et al. (2010) isolaram lapachol a partir de *T. grandis*, que apresentou uma atividade altamente significativa contra tumores cancerígenos (sarcoma-180) em ratos albinos Swiss fêmeas, sendo avaliados três tratamentos: lapachol isolado; radiação gama e lapachol associado com radiação gama. Todos os ensaios obtiveram bons resultados na razão terapêutica de cura T/C. No entanto, houve um aumento significativo na razão T/C no grupo de animais tratados com lapachol em combinação com radiação.

Como mencionado anteriormente, a metástase é o principal processo responsável pela morte em pacientes com câncer. Um estudo realizado por Balassiano et al. (2005) revelou que o lapachol isolado a partir de *T. grandis*, na concentração máxima não tóxica para as células HeLa de 400 µg/mL (correspondendo a 1012 moléculas do fármaco/célula), induzem alterações no perfil da proteína e inibindo a capacidade de invasão celular, representando, assim, um atividade anti-metastática importante.

## ENTREGA DIRIGIDA DE DROGAS – EDD

De acordo com resultados não publicados de Furtado (2016), o extrato de *Tectona grandis* é citotóxico tanto em células normais quanto cancerígenas, como também no escuro. Uma alternativa para atenuar esses efeitos, é o uso de EDD.

O uso de carreadores é uma estratégia de EDD, que pode entregar a droga do interesse para o tecido-alvo, conforme apresentado na Figura 5.

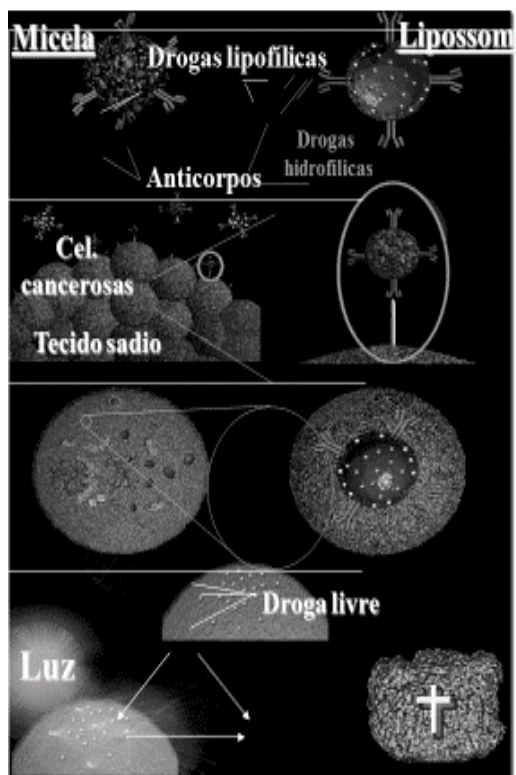
**Figura 5.** Ilustração esquemática de entrega dirigida de drogas

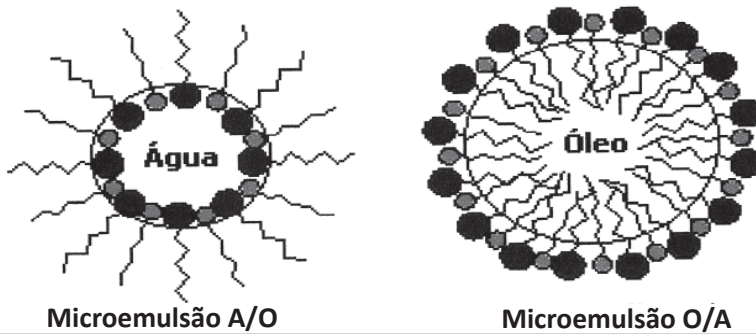
Foto cedida por: Dr. Igor Anatolievich Degterev, laboratório de terapia fotodinâmica da Universidade Federal do Acre.

No exemplo acima, dependendo da natureza da droga, ela pode ser incluída em micela se for hidrofóbica, em lipossoma seja hidrofóbica, localizada na membrana, se a droga for hidrofílica, se solubiliza em água no interior do lipossoma. No ideal podem ser localizados na superfície de lipossoma ou no interior de micela, anticorpos específicos para antígenos existentes na superfície de células cancerígenas, que são nosso alvo.

Emulsões são sistemas heterogêneos, termodinamicamente instáveis constituídos de dois ou mais líquidos imiscíveis, dispersos intimamente um no outro, formando-se então, a fase dispersa (interna) e a dispersante (externa). São compostas basicamente por água, óleo e um tensoativo, cujas propriedades físico-químicas podem afetar o comportamento do sistema.

Assim, podem ser do tipo óleo em água (O/W) que é quando as gotículas da fase oleosa estão dispersas em uma fase contínua aquosa, e água em óleo (W/O) quando as gotículas de água estão dispersas em fase contínua oleosa (MULLER; MADER, GOHLA, 2000) (Figura 6).

**Figura 6.** Esquema de nanoemulsão água/óleo (A/O) e óleo/água (O/A)



Fonte: Oliveira et al. (2004).

Na nanoemulsão, o tamanho do glóbulo está na escala nanométrica entre 20 a 500 nm. Podem apresentar aparência translúcida quando o tamanho do glóbulo for inferior a 200 nm, e leitosa quando o tamanho do glóbulo apresentar entre 200 a 500 nm (MASON et al., 2006).

Diferentemente das emulsões, as nanoemulsões são estáveis por longos períodos de tempo devido à estabilização por movimento Browniano, que diminui a atuação da força de gravidade, evitando a sedimentação e a cremação (FERNANDEZ et al., 2004).

Dentre os diferentes métodos de emulsificação existentes, destaca-se o método de temperatura de inversão de fase (PIT), em que são formadas emulsões com tamanho de partículas muito pequenas que apresentam ótima estabilidade (TADROS; KESSELL, 2004). Este método consiste pela sucessiva adição de água na fase oleosa, formam-se glóbulos de água na fase contínua (W/O), aumentando o volume de água ocorre uma mudança espontânea do raio de curvatura do tensoativo e causando a inversão da emulsão (W/O) em (O/W). Alcançam essa mudança com a alteração da temperatura do sistema (SALANGER et al., 2004; MARUNO, 2009).

Considerando-se as inúmeras vantagens da TFD frente aos tratamentos convencionais, o emprego de carreadores adequados a fim de potencializar a eficácia da TFD é de suma importância, pois desta forma, o FS pode ser liberado no tecido alvo na concentração desejada (MACHADO, 2000).

Esses carreadores podem ser magnéticos, poliméricos, lipossomais, micelares, ou serem apresentados em nanogotículas dispersas em nanoe-mulsão (PASZKO; WILD, 2011). Neste contexto, a nanobiotecnologia ampara e torna possível o alcance destes objetivos a fim de que seja obtida uma terapia mais eficiente e segura para aplicação clínica.

Há necessidade de maiores estudos utilizando diferentes fotossensibilizantes com diferentes fontes de luz e tempo de irradiação, para um melhor tratamento.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1- O sucesso da TFD depende da escolha correta do fotossensibilizante;
- 2- As principais características para um bom FS incluem: ser altamente tóxico para a célula-alvo sob iluminação e não tóxico ou minimamente tóxico no escuro; garantir a entrada do FS nas células em escala nanométrica; criar uma entrega dirigida que permita a entrada preferencial do FS nas células-alvo, criando anticorpos específicos; ser eliminado rapidamente pelo organismo e, ser de baixo custo;
- 3- As plantas são amplas fontes de FS, o que permite maior escolha, destacamos a teca como potencial FS para o tratamento fotodinâmico de melanoma.

## REFERÊNCIAS

- ABRAF - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS. **Anuário estatístico da ABRAF: ano base 2013**. Brasília, 2014. 140 p. Disponível em: <<http://www.abraflor.org.br/estatisticas.asp.html>>. Acesso em: 21 mai. 2015.
- AJCC. American Joint Committee Cancer Staging Manual. 6. ed. **New York: Springer-Verlag**, 2002.
- ALLISON, R. R.; DOWNIE, G. H.; CUENCA, R.; HU, X. ; CHILDS, C. J. H.; SIBATA, C. H. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, p. 27-42,

- 2004.
- ALLISON, R. R.; MOTA, H. C.; BAGNATO, V. S.; SIBATA, C. H. Bio-nanotechnology and photodynamic therapy-State of the art. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 5, p. 19-28, 2008.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. CANCER FACTS & FIGURES. **Atlanta: American Cancer Society**, 2013.
- APG III (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-121, 2009.
- AZEVEDO, R. B.; MUEHLMANN, L.A.; LONGO, J. P. F.; FARIA, F. S. E. D. V.; DEGTEREV, I. A. **Nanopartículas de óleo de açaí para tratamento de lesões neoplásicas e microbianas**. BR. Pat. PI1020120210436, 22 ago. 2012.
- BALASSIANO, I. T.; SA, de P.; SILVA, N. H.; CARVALHO, M. G. C. Demonstration of the lapachol as a potential drug for reducing cancer metastasis, *Oncology Reports*, v. 13, n. 2, p. 329-333, 2005.
- BERMEJO, I.; CAÑELLAS, I.; MIGUEL, A. S. Growth and yield models for teak plantations in Costa Rica. **Forest Ecology and Management**, v. 189, p. 97-110, 2004.
- BHANGALE, J. O.; CHAUDHARI, S. R.; SHETE, R. V.; KALE, B. N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tectona grandis* (L). **Bark. Pharmacology on line**, v. 2, p. 856-864, 2010.
- BROWN, S. B.; BROWN, E. A.; WALKER, L. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet oncology*, v. 5, n.8, p. 497-508, 2004.
- CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and Photodynamic therapy**, v. 1, p. 279-293, 2004.
- CASTANO, A. P.; MROZ, P.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. **Nature Reviews Cancer**, v. 6, p. 535-545, 2006.
- CLARK, W. H. J. R.; FROM, L.; BERNARDINO, E. A.; MIHM, M. C. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. **Cancer Research**, v. 29, p. 705-27, 1969.
- CUMMINS, D. L.; CUMMINS, J. M.; PANTLE, H.; SILVERMAN, M. A.; LEONARD, A. L.; CHANMUGAM, A. Cutaneous malignant melanoma. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 81, p. 500-507, 2006.
- FERNANDEZ, P.; ANDRÉ, V.; RIEGER, J.; KUHNLE, A. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physiochem. Eng. Aspects**, v. 251, p. 53-58, 2004.
- FIGUEIREDO, E. O. Avaliação de modelos pelo método da curva média para a construção de curvas de índice de sítio para *Tectona grandis* L. f. Rio Branco, AC, **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Embrapa Acre, 2005. 42-49 p.
- FORMAN S. B.; FERRINGER T. C.; PECKHAM S. J.; DALTON S. R.; SASAKI G.T. Is superficial spreading melanoma still the most common form of malignant melanoma? **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, p. 1013-20, 2008.
- GANGADHAR, T. C.; SALAMA, A. K. S. **Clinical applications of PD-1-based therapy: a focus on pembrolizumab (MK-3475) in the management of melanoma and other tumor types OncoTargets and Therapy**. v. 8, 2015.

- GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. **World Health Organization**. Disponível em: <[http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx.html](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.html)>. Acesso em: 17 mai. 2015.
- INCA. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2014: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2014.
- INCA. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer – INCA, **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer**. Rio de Janeiro: INCA. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br.html>>. Acesso em: abr. 2015.
- INSTITUTO DE PESQUISA E TRATAMENTO ONCOLÓGICO-ONCONTEK. Disponível em: <<http://www.oncontek.com.br>>. Acesso em: fev. 2016.
- ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. An Bras Dermatol. **Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation**, v. 85, n. 4, p. 501-511, 2010.
- JAMES W.D.; BERGER T.G; ELSTON D.M. Andrew's Diseases of the Skin, Clinical Dermatology. Chapter 30. **Melanocytic Nevi and Neoplasms**. 11 Ed. China: Elsevier, Inc 2011.
- KIM, J. S.; KIM, Y. G.; PYO, M.; LEE, H. K.; HONG, J. T. IMMUNE NETWORK. Cell Therapy of Melanoma with Cytokine-induced Killer Cells, **Chungbuk National University**, Cheongju, v. 15, n. 2, p. 58-65, 2015.
- MACEDO, R. L. G.; GOMES, J. E.; VENTURIN, N.; SALGADO, B. G. Desenvolvimento inicial de *Tectona Grandis* L. F. (Teca) em diferentes espaçamentos no município de Paracatu, MG. **Cerne**, p. 61-69, 2005.
- MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: Princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, Brasil, v. 23, p. 237-243, 2000.
- MARUNO, M. **Desenvolvimento da nanoemulsões à base de óleo de gergelim aditivadas de óleo de framboesa para queimaduras da pele**. 2009.158 p. Tese (Doutorado em ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2009.
- MASON, T. G.; Wilking, J. N.; Meleson, K.; Chang, C. B.; Graves, S. M.; J. Phys.: **Condensed Matter**, v. 18, p. 635, 2006.
- MOAN, J.; BATURAITÉ, Z.; POROJNICU, A. C.; DAHLBACK, A.; ASTA JUZENIENE, A. Show Affiliations. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 11, p. 191-198, 2012.
- MONGE-FUENTES, V.; MUEHLMANN, R. B.; AZEVEDO, R. B de. **Perspectives on the application of nanotechnology in photodynamic therapy for the treatment of melanoma**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3402/nano.v5.24381.html>>. Acesso em: 25 mai. 2015.
- MUEHLMANN, L.A.; AZEVEDO, R. B.; LONGO, J. P. F.; LUCCI, C. M.; DEGTEREV, I. A.; SILVA, R. C.; GRAEBNER, I. B. **Composição à base de óleo vegetal para aplicação em terapia fotodinâmica**. BR. Pat. PI10201202836, 6 nov.2012.
- MULLER, R. H.; MADER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161-177, 2000.
- NARAYANAN, M. P. H.; RAO N, C. P. H.; SALADI, M. D. Ultraviolet radiation and skin cancer Deevya L. **International Journal of Dermatology**, v. 49, p. 978-986, 2010.
- NEHA, K.; SANGEETA, B. Phytochemical and pharmacological evaluation of *Tectona grandis* Linn. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, , p. 923-927, 2013.



- NEHA, K.; SANGEETA, B. Phytochemical and pharmacological evaluation of *Tectona grandis* Linn. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, p. 923-927, 2013.
- OLIVEIRA, A. G. de; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A., CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P.; Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27, p. 131-138, 2004.
- PASZKO, E; WILD, A. D. S. Nanodrug applications in photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 8, p. 14 -29, 2011.
- PRASHAR, A.; HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, v. 63, p. 569-575, 2003.
- RIBEIRO, J.; FLORES, A.; MESQUITA, R.; NICOLA, J, N. Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer. **Physicæ**, v. 5, p. 05-14, 2005.
- RODRIGUES, M. C.; MUEHLMANN, L. A.; JOÃO PF LONGO, J. P. F.; SILVA, R. C.; GRAEBNER, I. B.; DEGTEREV, I. A.; LUCCI, C. M.; AZEVEDO, R. B.; GARCIA M. P. Photodynamic Therapy Based on *Arrabidaea chica* (Crajiuru) Extract Nanoemulsion: In vitro Activity against Monolayers and Spheroids of Human Mammary Adenocarcinoma MCF-7 Cells. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**; v. 6, p. 286–291, 2015.
- SALANGER, J. L; FORGIARINI, A.; MARQUEZ, L.; PEÑA, A.; PIZZINO, A.; RODRIGUEZ, M. P.; RONDÓN-GONZÁLEZ, M. Using emulsion inversion in industrial processes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 108-109, p. 259-72, 2004.
- SIMPLICIO, F. I.; MAIONCHI, F.; HIOKA, N. Terapia fotodinâmica: aspectos farmacológicos, aplicados e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. **Química Nova**, v. 25, p. 801-807, 2002.
- SLINGLUFF, J. C. L.; FLAHERTY, K.; ROSENBERG, S. A.; READ, P. W. Cutaneous Melanoma. In: DEVITA JUNIOR, V. T.; LAWRENCE, T.S.; ROSENBERG, S. A. **Cancer, principles and practice of oncology**. 9. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2011.
- TADROS, T.; KESSELL, L. Stabilizing nanodispersions in personal care and cosmetic applications, **Cosmetics and Toiletries**, p. 41-46, 2004.
- VEIERODE, M. B.; ADAMI, H. O.; LUND, E.; ARMSTRONG, B. K. Sun and Solarium Exposure and Melanoma Risk: Effects of Age, Pigmentary Characteristics and Nevi, **Cancer Epidemiol Biomarkers**, v. 19, p. 111-120, 2010.
- VILLARUZ, L. C.; KALYAN, A.; ZAROOUR, H.; MARK, A. Immunotherapy in lung cancer. **Socinski Transl Lung Cancer Res**, v. 3, p. 2-14, 2014.
- VRIES, E.; BRAY, F.; COEBERGH, J. W.; CERRONI, L.; RUITER, D. J. Malignant Melanoma: Introduction. In: LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. **Pathology and Genetics of Skin Tumours**, v. 06, p. 49-118, 2006.
- WHO-World Health Organization. **Ultra violet radiation and the INTERSUN Programme**. Disponível em: <<http://www.who.int/uv/health/en/.html>>. Acesso em: 4 mar. 2015.

## Autores

### **Adriana Pereira da Silva**

Bacharel em Engenharia Agrônoma pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestre em Biotecnologia (UEL). Doutora em Agronomia (UEL). Pós-doutora do Departamento de Agronomia (UEL). e-mail: drikapera@yahoo.com.br. lattes.cnpq.br/6044648047285095.

### **Alcides Loureiro Santos**

Graduado em Química (Ufac). Mestre em Ensino de Ciências e Matemática (MPecim/Ufac). Químico da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (Funtac). Professor da Faculdade Meta (Fameta). e-mail: alcidesloureiroquimico@gmail.com. lattes.cnpq.br/3382484825837911.

### **Amauri Siviero**

Bacharel em Agronomia (UFV). Mestre em Agronomia (Esalq/USP). Doutor em Agronomia (Proteção de Plantas) (FCA/Unesp). Pesquisador da Embrapa Acre. Professor do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac) e Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal (Ufac). e-mail: amauri.siviero@embrapa.br. lattes.cnpq.br/1545370331694007.

### **Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez**

Bacharel em Física pela Universidad Nacional Mayor de San Marcos-UNMS (Peru). Mestre em Física pela Universidade de Brasília (UnB). Doutor em Física (UnB). Pós-doutorado pelo Centro de Nanociências e Nanobiotecnologia (CNANO). Professor da Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: anselmorodriguez73@gmail.com. lattes.cnpq.br/1747170505344631.

### **Camilo Lelis de Gouveia**

Bacharel em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Especialista em Engenharia de Barragens pela Universidade Federal de Ouro Preto (Ufop). Mestre e doutor em Engenharia Agrícola (UFV). Professor Associado II na Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: camiloufac@gmail.com; camilolelis@ufac.br. lattes.cnpq.br/0146544361040530.

**Carlos Maurício Soares de Andrade**

Bacharel em Agronomia pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Mestre em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Doutor em Zootecnia (UFV). Pesquisador A da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa/Acre). Bolsista nível 1D em Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq. [lattes.cnpq.br/5185800981925331](http://lattes.cnpq.br/5185800981925331).

**Charlys Roweder**

Bacharel em Engenharia Florestal pela Universidade do Estado do Mato-grosso (Unemat) com residência Florestal em Manejo e Certificação Florestal (UFRRJ). Mestre em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Pólo Acre (Bionorte/Ufac). Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco Avançado Baixada do Sol. e-mail: [roweder@gmail.com](mailto:roweder@gmail.com). [lattes.cnpq.br/6967946875072552](http://lattes.cnpq.br/6967946875072552).

**Clarice Maia Carvalho**

Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal do Amazonas (Ufam). Mestre em Biotecnologia pela Universidade de São Paulo (USP). Doutora em Biotecnologia (Ufam). Atualmente é colaborador em projeto de pesquisa do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. [lattes.cnpq.br/4846948419739260](http://lattes.cnpq.br/4846948419739260).

**Cydia de Menezes Furtado**

Licenciada em Biologia pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Mestre em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais (Ufac). Técnica de laboratório da (Ufac). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). e-mail: [cydia10@gmail.com](mailto:cydia10@gmail.com). [lattes.cnpq.br/2662224847017528](http://lattes.cnpq.br/2662224847017528).

**Diego Viana Melo Lima**

Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Mestre em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais (Ufac). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. E-mail: [diego.lima@ifac.edu.br](mailto:diego.lima@ifac.edu.br). [lattes.cnpq.br/1901436610028023](http://lattes.cnpq.br/1901436610028023).

**Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti**

Graduado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná (Ceulji). Especialista em Didática e Metodologia do Ensino Superior pelas Escolas Unida de Ouro Preto do Oeste (Uniuouro). Mestre em Genética e Toxicologia Aplicada pela Universidade Luterana do Brasil (Ulbra). Doutor em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia (Unir). Atualmente é Professor Adjunto da Universidade Federal do Acre (Ufac), liderando o Laboratório de Medicina Tropical (Labmedt) e vinculado ao Laboratório de Fisiofarmacologia. e-mail: dionatas@icbusp.org. lattes.cnpq.br/9039045470818040.

**Elvira Maria Farias de Bayá**

Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Especialista em Anatomia, Organologia e Fisiologia Humana (Ufac). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). Técnica área de biologia (Ufac). e-mail: elvirabaya1@gmail.com. lattes.cnpq.br/5610620522139949.

**Eryvaldo Sócrates Tabosa do Egito**

Doutor pela Université de Paris XI com pós-doutorado pela The University of Georgia (2001) e pela The University of Flórida (2011). Bolsista de Produtividade do CNPQ, Nível 1D, desde 2008. Membro da Comissão de Avaliação de Pós-graduação da Capes, área de Medicina II. Consultor do Inep para avaliação de Cursos de Farmácia. Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Nível 5-Capes). Professor Titular da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e responsável pelo Laboratório de Sistemas Dispersos (LaSiD). e-mail: socratesegito@gmail.com. lattes.cnpq.br/6907806915889763.

**Esperanza Lucila Hernández Ângulo**

Licenciada em Física pelo Instituto Superior Pedagógico Juan Marinello (Cuba). Mestre em Ciências de la Educacion Superior na Universidade de Matanzas Camilo Cienfuegos (Cuba). Professora Assistente B2 da Universidade Federal do Acre (Ufac). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). e-mail: esluci2003@yahoo.com.br lattes.cnpq.br/3721345254231211.

**Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria**

Graduado em Engenharia Química pela Universidade Federal do Pará (UFPA). Mestre em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas (Ufam) e Pós-doutor em Nanobiotecnologia no Centro de Nanociência e Nanotecnologia (CNANO-UnB).. Professor Associado da Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: fernandoescocio@hotmail.com. lattes.cnpq.br/0037879883866027.

### **Francisco Glauco de Araújo Santos**

Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Ceará (Uece). Especialista em Piscicultura pela Universidade Federal de Lavras (Ufla). Mestre em Medicina Veterinária e Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Professor Associado IV da Universidade Federal do Acre (Ufac). Revisor da Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia (Uruguaiana-RS) e da Revista Bioscience Journal de Universidade Federal de Uberlândia (MG). Membro do Conselho Técnico Científico da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária. e-mail: fcoglaucoas@ufac.br. lattes.cnpq.br/0311212600269869.

### **Gabriel Silva Marques Borges**

Farmacêutico pela Universidade Federal de Ouro Preto (2014), com período sanduíche (2012/2013) na Universidade de East Anglia (Reino Unido). Atualmente, é mestrando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Minas Gerais

### **Igor Anatolievich Degterev**

Graduação em Química de Irradiação pelo Instituto de Indústria de Petróleo e de Gás de Moscou (Rússia). Mestre em Química de Irradiação pelo Instituto de Indústria de Petróleo e de Gás de Moscou (Rússia). Doutor em Química da Alta Energia pelo Instituto de Física Química da Academia de Ciências (URSS). Líder pesquisador do Instituto de Física Bioquímica da Academia de Ciências Russa. e-mail: idegterev015@gmail.com . lattes.cnpq.br/2169077750473763.

### **Isabela Cristina Picolo**

Acadêmica de licenciatura em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. e-mail: picolo\_isabela@hotmail.com. lattes.cnpq.br/6347633318741428.

### **Jones Willian Soares de Queiroz**

Licenciado pleno em Física pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Mestre em Física pela (UFMT). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso, Campus Juína. e-mail: jones.queiroz@jna.ifmt.edu.br. /lattes.cnpq.br/2812760763990208.

### **Julio Cesar Pinho Mattos**

Bacharel em Engenharia Sanitária - Ambiental pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). Mestre em Ecologia e Manejo dos Recursos Naturais pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). Servidor Público do Governo do Estado do Acre. Professor Universitário na Faculdade Meta (Fameta). email: eng.juliomattos@gmail.com. lattes.cnpq.br/8258186193823099.

### **Junio Roney Lima Dantas**

Técnico em Aquicultura pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. e-mail: junioroney.d@gmail.com. /lattes.cnpq.br/3462813101963368.

### **Lisandro Juno Soares Vieira**

Bacharel em Biologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre e Doutor em Ecologia e Recursos Naturais pela Universidade Federal de São Carlo (UFSCar). Professor Associado III na Universidade Federal do Acre (Ufac). Professor dos Programas de Pós-graduação Ecologia e Manejo de Recursos Naturais (mestrado) e Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (doutorado) (Ufac). Coordenador por oito anos do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais (Ufac). e-mail: lisandrojsv@gmail.com. lattes.cnpq.br/7161311377613700.

### **Lucielio Manoel da Silva**

Bacharel em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP). Analista de Pesquisa da Embrapa Acre. Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Pólo Acre (Bionorte/Ufac). e-mail: lucielio.silva@embrapa.br. lattes.cnpq.br/0136295118090188.

### **Luís Claudio de Oliveira**

Bacharel em Engenharia Florestal pela Escola Superior de Agricultura de Lavras (Esal/Lavras). Mestre em Ciências de Florestas Tropicais pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Inpa). Pesquisador da Embrapa. e-mail: luís.oliveira@embrapa.br. lattes.cnpq.br/8722800182708517.

### **Marcelo de Melo Silva**

Graduado em Física pela Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: marcelo-gattuso@hotmail.com. lattes.cnpq.br/4774009168059130.

**Marcelo Hubner Moreira**

Bacharel em Enfermagem e Obstetrícia pela Universidade Federal do Espírito Santos (Ufes). Mestre em Genética e Biotecnologia (Ufes). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Pólo Acre (Bionorte/Ufac). Professor do Centro de Ciências Biomédicas da Uninorte/ Acre. e-mail: professorhubner@gmail.com. lattes.cnpq.br/2580649114829555.

**Mariangela Hungria Cunha**

Bacharel em Engenharia Agrônômica pela Escola Superior de Agricultura de Lavras (Esal). Mestre em Solos e Nutrição de Plantas pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Esalq/USP). Doutora em Ciência do Solo pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Pós - Doutora pelas Universidades de Cornell, Califórnia e Servilla. Pesquisadora da Embrapa. Professora dos Programas de Pós-graduação em Microbiologia e em Biotecnologia da Universidade de Londrina e da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UFTPR). Bolsista de produtividade do CNPQ. e-mail: mariangela.hungria@embrapa.br. lattes.cnpq.br/7355162785040506.

**Marta Adelino da Silva Faria**

Graduada em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Pólo Acre (Bionorte/Ufac). Professora Assistente do Centro de Ciências da Saúde e Desporto da Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: marta.adelino@hotmail.com. lattes.cnpq.br/8807183859821642.

**Matheus Calixto Moura**

Licenciado em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. e-mail: matheuscalix13@gmail.com. lattes.cnpq.br/1263671874763205.

**Mauro Jorge Ribeiro**

Bacharel em Engenharia Agrônômica. Mestre em Fitossanidade pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Polo Acre (Bionorte/Ufac). Professor Adjunto da Universidade Federal do Acre (Ufac). Diretor Geral da Fundação de Amparo a Pesquisa do Governo do Acre (Fapac). e-mail: maurojrib@uol.com.br. lattes.cnpq.br/4728872284040273.

### **Miguel Adelino da Silva Filho**

Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre em Ciências da Saúde (UFRN). Doutorando no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (UFRN). e-mail: miguel\_adelino@hotmail.com. lattes.cnpq.br/8967783333788594.

### **Moisés Barbosa de Souza**

Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Mestre em Zoologia pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia) pela Universidade Estadual Paulista (Unesp). Professor Associado III (Ufac). Professor dos Programas de Pós-graduação Ecologia e Manejo de Recursos Naturais (mestrado) e Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (doutorado) (Ufac). e-mail: moisebs@terra.com.br. lattes.cnpq.br/5073922794762234.

### **Nei Sebastião Braga Gomes**

Bacharel em Engenharia Florestal pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Mestre em Engenharia Florestal e Doutor em Engenharia Florestal (UFPR). Professor Associado Nível 2 da Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: bragagomes@gmail.com. lattes.cnpq.br/4099970454558711.

### **Paula de Lacerda Santos Ribeiro**

Bacharel em Engenharia Ambiental pela Universidade Católica de Brasília (UCB). Especialista em Engenharia de Segurança do Trabalho pela Faculdade Barão do Rio Branco (Uninorte). Mestre em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais pela Universidade Federal do Acre (Ufac). Doutoranda no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia na Amazônia Legal, Pólo Acre (Bionorte/Ufac). Professora do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. e-mail: paula.ribeiro@ifac.edu.br. lattes.cnpq.br/7768136654656617.

### **Paulo Guilherme Salvador Wadt**

Bacharel em Engenharia Agronômica pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Mestre em Ciências do Solo e Doutor em Solos e Nutrição de Plantas pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Pós-doutor em Geomática pela Universidade da Flórida. Pesquisador da Embrapa. Bolsista Produtividade do CNPq. Professor dos Programas de Pós-graduação em Agronomia (mestrado) e Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal (Ufac). e-mail: paulo.wadt@embrapa.br. lattes.cnpq.br/6346720270200955.



**Tatiana de Campos**

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo (USP). Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Pesquisadora da Embrapa. e-mail: [tatiana.campos@embrapa.br](mailto:tatiana.campos@embrapa.br). [lattes.cnpq.br/8971766938853563](http://lattes.cnpq.br/8971766938853563).

**Williane Bianca da Silva Souza**

Acadêmica de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Acre (Ufac). e-mail: [willianeued@gmail.com](mailto:willianeued@gmail.com). [lattes.cnpq.br/9206347024871687](http://lattes.cnpq.br/9206347024871687).

**Williane Silva do Nascimento**

Acadêmica de Licenciatura em Ciências Biológicas pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre (Ifac), Campus Rio Branco. e-mail: [williane.silva.ifac@gmail.com](mailto:williane.silva.ifac@gmail.com). [lattes.cnpq.br/3455009052252952](http://lattes.cnpq.br/3455009052252952).

A Biodiversidade não existe para prover o homem de substratos, ativos químicos, biológicos, microbiológicos ou alimentícios, mas, sobretudo para oferecer à inteligência humana e ao planeta algo imprescindível para a existência e permanência da sua espécie: a informação, sem a qual não haveria Ciência.

“Tópicos em Biotecnologia e Biodiversidade: Pesquisas e Inovação na Amazônia Sul-Occidental” abrange múltiplas áreas do conhecimento representadas pela Biotecnologia e Biodiversidade, a partir de experiências e estudos acadêmicos realizados em uma das regiões de maior biodiversidade do planeta Terra.

