

Bacharelado em

BIOLOGIA

produções científicas

Edna Lobo Machado, Elissandra Ulbricht Winkaler
Márcia Luciana Cazetta, Patrícia Luz Ribeiro
(Orgs.)



Bacharelado em Biologia: produções científicas

REITOR

Fábio Josué Souza dos Santos

VICE-REITOR

José Pereira Mascarenhas Bisneto

SUPERINTENDENTE

Rosineide Pereira Mubarack Garcia

CONSELHO EDITORIAL

Ana Lúcia Moreno Amor

Josival Santos Souza

Luiz Carlos Soares de Carvalho Júnior

Maurício Ferreira da Silva

Paulo Romero Guimarães Serrano de Andrade

Robério Marcelo Rodrigues Ribeiro

Rosineide Pereira Mubarack Garcia (presidente)

Sirlara Donato Assunção Wandenolk Alves

Walter Emanuel de Carvalho Mariano

SUPLENTES

Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Marcílio Delan Baliza Fernandes

Wilson Rogério Penteado Júnior

COMITÊ CIENTÍFICO:

(Referente ao Edital nº. 001/2020 EDUFRB – Coleção Sucesso
Acadêmico na Graduação da UFRB)

Edna Lobo Machado

Elissandra Ulbricht Winkaler

Leila de Lourdes Longo

Márcia Luciana Cazetta

Patrícia Luz Ribeiro

Talita Lopes Honorato

EDITORA FILIADA À



Associação Brasileira
das Editoras Universitárias

Edna Lobo Machado
Elissandra Ulbricht Winkaler
Márcia Luciana Cazetta
Patrícia Luz Ribeiro
(Orgs.)

Bacharelado em Biologia: produções científicas



Editora UFRB
Cruz das Almas - Bahia /2021

Copyright©2021 by Edna Lobo Machado, Elissandra Ulbricht
Winkaler, Márcia Luciana Cazetta, Patrícia Luz Ribeiro

Direitos para esta edição cedidos à EDUFRB.

Projeto gráfico, capa e editoração eletrônica:

Antonio Vagno Santana Cardoso

Revisão e normatização técnica:

Sergio Schwarz da Rocha

A reprodução não-autorizada desta publicação, por qualquer meio,
seja total ou parcial, constitui violação da Lei nº 9.610/98.

B118

Bacharelado em biologia: produções científicas /
Organizadores: Marcia Luciana Cazetta... [et
al.]._ Cruz das Almas, Bahia: EDUFRB, 2021.
318p.; il.

Esta Obra é parte da Coleção Sucesso
Acadêmico na Graduação da UFRB Volume III.

ISBN: 978-65-87743-22-6.

1.Biologia – Biodiversidade – Meio ambiente.
2.Biodiversidade – Conservação – Proteção
ambiental. I.Universidade Federal do Recôncavo da
Bahia. II.Cazetta, Marcia Luciana. III.Winkaler,
Elissandra Ulbricht. IV.Machado, Edna Lobo.
V.Ribeiro, Patricia Luz. VI.Título.

CDD: 333.95

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

Livro publicado em 28 de maio de 2021



Editora UFRB

Rua Rui Barbosa, 710 – Centro
44380-000 Cruz das Almas – Bahia/Brasil

Tel.: (75) 3621-7672

editora@reitoria.ufrb.edu.br

www.ufrb.edu.br/editora

www.facebook.com/editoraufrb

Agradecimentos

Às agências de fomento à pesquisa, CAPES, CNPq e FAPESB, pelo financiamento e concessão de bolsas para o desenvolvimento das pesquisas. Ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) pela infraestrutura. À Editora da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (EDUFRB), pelo lançamento do edital, editoração e publicação. Ao Prof. Dr. Sérgio Schwarz da Rocha, pela colaboração na revisão desse trabalho.

Apresentação

Marcia Luciana Cazetta

Talita Lopes Honorato

A criação de processos que visem à recuperação dos diferentes ecossistemas e, sobretudo, ferramentas que avaliem e proponham novas estratégias de relacionamento do homem com a natureza, são urgentes e necessitam de profissionais capacitados que conciliem os conhecimentos científicos e a habilidade de interferir junto à população.

Nesse contexto, o curso de Bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), criado em 2006 e reconhecido pela Portaria nº 431 de 21 de outubro 2011, tem como meta formar profissionais que atuem investigando a diversidade biológica em que estão inseridos. Assim, a preocupação com o futuro e a defesa da vida tornou-se a premissa deste curso.

O Bacharel em Biologia da UFRB tem a oportunidade de se envolver, não só em múltiplas áreas de atuação das Ciências Biológicas, diversidade esta que os leitores poderão observar durante a leitura dos capítulos, mas também de relacionar o conhecimento de conceitos e fenômenos biológicos com sua atividade cotidiana frente aos problemas ambientais. Esse profissional poderá atuar na preservação e busca de novas tecnologias, produção de novos conhecimentos e difusão da consciência ecológica, enfatizando uma atuação ético-profissional coerente e responsável, estimulando a atitude crítica e reflexiva sobre os conhecimentos biológicos e suas implicações sociais.

Aliada aos objetivos do nosso curso, a proposta lançada pelo Edital 001/2020 de apoio à publicação de livros eletrônicos

“Coleção Sucesso Acadêmico na Graduação da UFRB” pela Editora da supracitada Universidade nos propiciou registrar e divulgar experiências vivenciadas por nossos discentes.

Os trabalhos compilados neste livro representam uma amostragem das diferentes áreas de atuação dos nossos estudantes, em sua grande maioria, oriundos do próprio Recôncavo da Bahia e pioneiros em suas famílias na trajetória acadêmica. Nossa comunidade universitária tem como principal foco a condução de pesquisas na área de Biotecnologia, Biodiversidade e Conservação do Meio Ambiente, desenvolvidas no Recôncavo da Bahia e direcionadas para a região.

Este livro, portanto, foi organizado de acordo com as grandes áreas da Biologia onde se inserem nossas pesquisas: Biotecnologia, Botânica, Zoologia, Ecologia e Anatomia Humana. Os leitores encontrarão aqui uma diversidade de abordagens nessas áreas, demonstrando um pouco do amadurecimento científico de nossa equipe e nossa habilidade em interferir na relação com a natureza de maneira científica, objetiva, respeitosa e sustentável.

Entre os autores, além dos graduandos, e graduados que já seguem os caminhos da pós-graduação, estão os orientadores e colaboradores da instituição que prezam pela importância da transferência, troca e aplicação do conhecimento gerado, sobretudo no contexto regional. Este livro foi pensado não só como instrumento de divulgação, mas também como forma de valorização da ciência produzida por nós e para todos.

Sumário

<i>Escherichia coli</i> frente a antimicrobianos comerciais e naturais <i>Joadson dos Santos Reis, Robson Bahia Cerqueira,</i> <i>Maria Gardenny Ribeiro Pimenta</i>	15
Extração e amplificação de DNA em <i>Alcantarea nahoumii</i> (Bromeliaceae) <i>Daniel Rocha de Santana, Amanda Oliveira Silva,</i> <i>Bruna Leite Vieira do Nascimento, Edna Lobo Machado,</i> <i>Everton Hilo de Souza.....</i>	27
Cianobactérias na foz do rio Paraguaçu, Bahia <i>Manoela Sousa de Jesus Moreira,</i> <i>Marta Maria Barros de Jesus Santos,</i> <i>Carla Fernandes Macedo</i>	39
Patogenicidade <i>in vitro</i> de <i>Beauveria bassiana</i> <i>Jéssica Mourato da Silva, Liza Nadine dos Santos Falcão,</i> <i>Breno de Jesus Brito, Olga Beatriz Alves de Sousa Ferreira,</i> <i>Wendell Marcelo de Souza Perinotto,</i> <i>Ana Karina da Silva Cavalcante</i>	51
Enzimas de leveduras isoladas de vegetação sobre rocha <i>Tiago Santos Freitas, Márcia Luciana Cazetta.....</i>	63
Resistência antimicrobiana e fatores de virulência em <i>Aeromonas</i> <i>Norma Suely Evangelista-Barreto, Iara Fonseca Souza,</i> <i>Mariza Alves Ferreira, Manuela Oliveira Pereira,</i> <i>Elaine Araújo de Carvalho, Moacyr Serafim Junior</i>	77

Avaliação do crescimento de mamoneira submetida ao alumínio em hidroponia

Keylla Souza dos Santos, Camila Nogueira Pestana Caldas, Edna Lobo Machado, Rogério Ferreira Ribas, Simone Alves Silva 91

Estruturas secretoras de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum minutiflorum*

Thayane Pereira Macedo, Larisse de Freitas-Silva, Fabiano Machado Martins 99

***Jatropha* L. (Euphorbiaceae Juss.) de Santa Terezinha/Bahia**

Cassiéle Gonçalves Santana, Márcio Lacerda Lopes Martins 111

Ontogenia e histoquímica dos tricomas de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae)

Jamile Lima Fernandes, Ramon Lima Soares Junior, Fabiano Machado Martins 119

Espécies de gafanhotos da RPPN Ouro Verde, Igrapiúna/Bahia

Marcos Gonçalves Lhano, Eduardo Nogueira Souza Santos, João Paulo Morselli, Daniela Santos Martins Silva 131

Interação alimentar entre girinos de Boana

Joanna Karine Gomes de Oliveira, Vivian Gama, Airan dos Santos Protázio, Carla Fernandes Macedo, Arielson dos Santos Protázio 147

Carcinofauna de Cruz das Almas e São Félix/Bahia

Sérgio Schwarz da Rocha, Diego Luis Guedes de Souza, Lília Ferreira Souza Queiroz 159

Variação morfológica de *Crotalus durissus cascavella*

Caio Eloi dos Santos, Arielson dos Santos Protázio 169

Camarão de água doce como espécie bioindicadora

*Marilene Bárbara dos Santos, Theila dos Santos Santana,
Thais Arrais Motta, Elissandra Ulbricht Winkaler*..... 183

Tilápias como bioindicadoras de contaminação aquática

*Caroline Muniz de Abreu Santos, Theila dos Santos Santana,
Marilene Bárbara dos Santos, Elissandra Ulbricht Winkaler* 197

Biomarcadores bioquímicos de tilápia

*Marilene Bárbara dos Santos, Theila dos Santos Santana,
Elissandra Ulbricht Winkaler*..... 211

Fisionomias de bosques de mangue

*Ivoneia de Sousa Oliveira, Pedro Rege Moura da Conceição,
Camila de Jesus Luz, Alessandra Nasser Caiafa,
Guilherme de Oliveira*..... 223

Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores ambientais

Adreani Araujo da Conceição, Sergio Schwarz da Rocha 235

O V.A.N.T. na restauração ecológica substitui o pesquisador em campo?

*Pedro Rege Moura da Conceição, Grazielle Silva da Cruz,
Ricardo Vieira Alexandrino, Alessandra Nasser Caiafa*..... 251

Índices de qualidade ambiental em açudes

*Deise Ferreira Cazumbá dos Santos,
Alisson Sousa Matos, Sérgio Schwarz da Rocha,
Elinsmar Vitória Adorno (in memoriam)*..... 263

Recursos poliníferos explorados por *Melipona* spp. (Meliponinae)

Daiane Rodrigues dos Santos, Andreia Santos do Nascimento,

*Suelen Oliveira França, Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva,
Rogério Marcos de Oliveira Alves, Geni da Silva Sodré,
Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.....* 275

Youtube no ensino da anatomia humana

Gabriel Ribeiro..... 287

Sobre os autores 301

***Escherichia coli* frente a antimicrobianos comerciais e naturais**

Joadson dos Santos Reis

Robson Bahia Cerqueira

Maria Gardenny Ribeiro Pimenta

O uso indiscriminado de antimicrobianos sintéticos potencializa a ocorrência de micro-organismos resistentes, pois estes fármacos causam pressão seletiva na microbiota dos organismos e, consequentemente, dificulta o tratamento de infecções (SANTOS, 2004). Isso contribui com o aumento de cepas multirresistentes, tratamentos ineficazes e infecções persistentes, apontando a resistência microbiana como um dos maiores problemas de saúde pública (O'NIELL, 2014).

O impacto econômico causado por infecções bacterianas chega a cerca de € 24 bilhões anuais gastos em hospitais na Europa e US\$ 33 bilhões ao ano nos Estados Unidos (IDSA, 2011; OECD, 2019). Esses valores se elevam ainda mais quando se leva em conta o tempo de internação prolongado, devido à dificuldade em eliminar micro-organismos resistentes (LARA et al., 2017). No Brasil, o tempo médio de internação de um paciente com infecção hospitalar é em torno de 18 dias, sendo os custos anuais com antimicrobianos de US\$ 33 bilhões (AGUIAR, 2002).

A resistência aos antimicrobianos sintéticos e naturais (antibióticos) é norteadada por genes, no entanto, as cepas resistentes não estão restritas a ambientes hospitalares (CAUMO et al., 2010; BLAIR et al., 2015). Tendo em vista outras aplicações dos antimicrobianos, os micro-organismos resistentes podem ganhar mobilidade pelo contato entre pessoas, fômites, alimentos, produtos

agropecuários, efluentes domésticos, industriais e agroindustriais. A produção animal vem contribuindo diretamente para o aparecimento de micro-organismos resistentes, tanto pela utilização dos antimicrobianos quanto pela liberação de resíduos no ambiente e nos produtos derivados (MARTIN, 2011).

Segundo o Ministério da Saúde (MS), no Brasil as doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) são causadas, em sua maioria, por bactérias. Dentre essas doenças se destacam os casos de Doenças Diarreicas Agudas (DDA), que chegaram a cerca de 5 mil casos no ano de 2018. Dentre os agentes etiológicos, a bactéria *Escherichia coli* é responsável por causar boa parte desses quadros de infecção e/ou intoxicação hídrica e alimentar (SANTIAGO et al., 2013).

Inúmeros estudos reportam a resistência de *E. coli* para os grupos de antimicrobianos mais utilizados em casos de infecções graves, como quinolonas, carbapenêmicos e β -lactâmicos, restringindo cada vez mais as opções de tratamentos nestes casos (ESTRADA et al., 2016; DINIZ; SANTOS, 2017; FERREIRA et al., 2017; GUERRA et al., 2018). E, ainda, fatos como a resistência de 60% das cepas de *Staphylococcus aureus* à meticilina (MRSA) e *Salmonella enterica* resistente a cinco antimicrobianos (ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, tetraciclina e metoxazol) (ALI; RAFIQ; RATCLIFFE, 2018) demonstram a necessidade de mudança na conduta de utilização desses fármacos. Desta forma, a prospecção de novas moléculas capazes de remediar micro-organismos resistentes faz-se urgente no contexto atual.

O presente capítulo se propõe avaliar a susceptibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de corvinas (*Micropogonias furnieri*) comercializadas em feiras livres de cidades do Recôncavo Baiano, frente a fármacos comerciais, utilizados na terapia antibacteriana, e extratos etanólico, aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e mastruz (*Dysphania ambrosioides*), a fim de determinar o potencial antibacteriano dos extratos preparados.

Material e métodos

As dezessete cepas de *Escherichia coli* foram isoladas de corvinas (*Micropogonias furnieri*) comercializadas em feiras livres dos municípios de Cruz das Almas, Muritiba, Maragogipe, Cachoeira e Santo Amaro da Purificação, Bahia. As cepas pertencem ao banco de micro-organismos do Laboratório de Doenças Infecciosas do Hospital Universitário de Medicina Veterinária da UFRB.

Os antimicrobianos naturais foram obtidos das folhas de mastruz (*Dysphania ambrosioides*) e cascas da aroeira (*Schinus terebinthifolius*), conforme metodologia proposta por Trentin et al. (2011) e Dutra et al. (2016). Os extratos etanólicos foram preparados nas concentrações de 37% (bebida alcoólica comercial), 54% (álcool etílico de uso doméstico) e 70% (álcool etílico utilizado em práticas microbiológicas).

Para o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos comerciais e naturais foi utilizada a técnica de difusão em disco, conforme *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019). O inóculo foi preparado em Solução Salina 0,85% a fim de obter uma turbidez correspondente ao nº 1 da escala de McFarland ($3,8 \times 10^8$ micro-organismos por mililitro). A turbidez do inóculo foi ajustada por espectrofotometria em comprimento de onda de 620 nm.

As placas de Petri foram confeccionadas com Ágar Mueller-Hinton (ACUMEDIA) e semeadas com o auxílio de um swab estéril umedecido com as culturas de *E. coli*. Os discos de antimicrobianos comerciais utilizados foram Ampicilina (10µg), Ceftriaxona (30µg), Cefotaxima (30µg), Amicacina (20µg) e Sulfametoxazol + Trimetoprima (30µg), Tetraciclina (30µg).

Para os antimicrobianos naturais seguiu-se o procedimento supracitado com modificações. Os discos foram confeccionados a partir de papel filtro, diâmetro de 6 mm, em seguida foram esterilizados.

Para solubilizar os extratos foram utilizados o Dimetilsulfóxido (DMSO) e a Solução Salina (0,85%). Após a solubilização, os discos foram impregnados com 15 µL dos extratos.

Os discos foram dispostos nas placas em pontos equidistantes e as placas incubadas a 35 ± 2 °C por 18-24 horas. Após o período de incubação, foram realizadas as medidas dos tamanhos dos halos de inibição quando presentes.

Concomitante ao teste dos antimicrobianos, foram utilizadas cepas padrões de *Escherichia coli* CDC EDL 933 e *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, além de controle positivo e negativo dos extratos e dos solubilizantes utilizados.

Resultados e discussão

As dezessete cepas testadas apresentaram taxas consideráveis de resistência aos β -lactâmicos Cefotaxima (64,7%) e Ampicilina (52,9%) e, ainda, resistência intermediária para Ceftriaxona (47%). Entre os demais fármacos testados o que mais se mostrou eficiente na ação antimicrobiana foi o Sulfametoxazol + Trimetoprima, para o qual 58,8% das cepas se mostraram sensíveis (Tabela 1).

Tabela 1 - Comportamento das cepas testadas frente aos antimicrobianos comerciais.

Antimicrobianos	Nº (%) Resistentes*	Nº (%) Intermediários*	Nº (%) Sensíveis*
CRO	2 (11,7%)	8 (47,0%)	7 (41,1%)
CTX	11 (64,7%)	5 (29,4%)	1 (5,88%)
AMP	9 (52,9%)	3 (17,6%)	5 (29,4%)
AKN	10 (58,8%)	3 (17,6%)	4 (23,5%)
SXT	5 (29,4%)	2 (11,7%)	10 (58,8%)
TET	7 (41,1%)	3 (17,6%)	7 (41,1%)

CRO=Ceftriaxona; CTX=Cefotaxima; AMP=Ampicilina; AKN=Amicacina; SXT=Sulfametoxazol + Trimetoprima; TET=Tetraciclina.

*Critérios baseados no tamanho do halo de inibição conforme CLSI (2019).

Fonte: Autores (2019).

Das cepas analisadas todas apresentaram resistência a, pelo menos, um antimicrobiano β -lactâmico. Isso demonstra que as cepas possuem mecanismo de resistência às drogas dessa classe. Almeida et al. (2017) analisaram enterobactérias isoladas de camarões (*Litopenaeus vannamei*) e peixes (*Oreochromis niloticus*) obtidas na feira livre da cidade de Sobral, Ceará, Brasil. Foi observado que os 103 isolados foram resistentes a Penicilina e mais de 50% destes foram resistentes à Ampicilina e Cefalotina. No presente trabalho também foi verificada resistência acima de 50% para Ampicilina e as Cefalosporinas, Ceftriaxona e Cefotaxima (terceira geração), corroborando com o estudo supracitado.

Elhadi e Alsamman (2015) ao analisarem o perfil de susceptibilidade de cepas de *E. coli* isoladas de pescado, encontraram altas porcentagens de resistência para os antimicrobianos β -lactâmicos como a Ceftriaxona (93,3%), Cefotaxima (93,3%), Ampicilina (100%), confirmando o resultado do presente estudo. Percebe-se que os micro-organismos que possuem essa característica estão amplamente disseminados nos alimentos e em iminente risco de contaminação dos indivíduos pelo consumo dos produtos.

A multirresistência dos isolados de *E. coli* para os grupos de antimicrobianos mais utilizados na terapêutica convencional é um fator preocupante, pois as opções de tratamento são restringidas. Vale ressaltar que alguns trabalhos expõem valores altos de resistência de micro-organismos isolados de pescados aos grupos de antimicrobianos que até então eram os mais eficazes (MACHADO et al., 2015; AMARANTE et al., 2018).

Os extratos etanólicos da aroeira não apresentaram atividade antibacteriana significativa frente aos isolados de *E. coli*, em nenhum dos tratamentos testados. Entretanto, no tratamento em que foi utilizado DMSO como solubilizante, observaram-se pequenos halos (<1 mm), cuja inibição para essas condições experimentais não foi

significativa. Comportamento que não foi evidenciado com a cepa padrão *E. coli* CDC EDL 933 utilizado neste estudo.

Porém, os extratos da aroeira apresentaram atividade frente à cepa padrão *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, com halos < 10 mm. As bactérias Gram-positivas são mais suscetíveis à ação de certos antimicrobianos que as bactérias Gram-negativas, pois as Gram-negativas possuem uma estrutura de parede celular mais complexa, o que dificulta a ação de alguns grupos de antimicrobianos (BURT, 2004). Fato que não desqualifica o potencial antimicrobiano ou bacteriostático do extrato etanólico da aroeira frente a outras espécies microbianas (SILVA et al., 2018).

Frações menos polares do extrato etanólico das cascas da aroeira inibiram o crescimento de cepas de *S. aureus*, mas não inibiu *E. coli* (LIMA et al., 2006). Soares et al. (2007) citam a eficiente atividade do extrato etanólico de aroeira a 20% frente à bactéria Gram-positiva *Streptococcus mutans*.

Para os extratos do mastruz obteve-se um resultado mais promissor para bactérias Gram-negativas quando solubilizados em DMSO. O extrato obtido com álcool a 39% sem agitação apresentou halos com 1,5 mm de diâmetro para mais de uma cepa e o tratamento com o álcool a 70% obteve halo de 2,2 mm para uma cepa. No tratamento em que foi utilizada a Solução Salina (0,85%) como solubilizante os halos formados foram <1 mm, neste caso, um veículo menos eficaz que o DMSO. Esse comportamento foi evidenciado com a cepa padrão Gram-negativa, porém não houve formação de halo na cepa padrão Gram-positiva. Apesar da visualização dos halos, os tamanhos não são significativos para as condições experimentais deste estudo.

Ronen e Galun (1984) citam que o DMSO consegue penetrar facilmente em membranas semipermeáveis e carrear junto com ele outras moléculas como, por exemplo, proteínas. Por ser uma

molécula anfipática solubiliza-se tanto em meio aquoso e orgânico, provavelmente, influenciou no desempenho do extrato nos tratamentos em que foi utilizado.

Segundo Pereira et al. (2015), no mastruz são encontradas moléculas como as flavonas e taninos que garantem à espécie atividade antimicrobiana. Azevedo et al. (2011) encontraram ação antibacteriana moderada no extrato etílico do mastruz. Esse resultado apresenta semelhanças com o presente estudo, porém a diferença do extrator explica a baixa afinidade com as moléculas da planta que possuem atividade bioativa, resultando em baixa concentração do princípio ativo no extrato etanólico de mastruz.

Os extratos da aroeira e do mastruz preparados por Souza et al. (2015) corroboram com o presente estudo, uma vez que a aroeira foi capaz de inibir a bactéria *S. aureus* e não inibiu *E. coli*. Enquanto, o mastruz inibiu o crescimento de *E. coli* e não apresentou efeito contra *S. aureus*. Nesse caso não foi utilizado nenhum composto químico como solvente, os extratos foram obtidos com maceração mecânica.

Portanto, a presença e concentração de compostos com possíveis efeitos farmacológicos presentes em um extrato, podem variar de acordo com: a origem geográfica da planta, a época da coleta, a parte do vegetal utilizada e os fatores genéticos (FDIL et al., 2017). Desta forma, a mesma espécie vegetal que passou por diferentes avaliações de seu potencial antibacteriano, pode apresentar resultados diferentes.

Conclusão

Os isolados de *Escherichia coli* apresentaram significativa resistência aos antimicrobianos comerciais. Os extratos etanólicos da aroeira e mastruz nas concentrações utilizadas não foram eficazes em inibir o crescimento das cepas de *E. coli*.

Referências

AGUIAR, L. et al. Infecções hospitalares e seus impactos financeiros. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 32, n. 1, p. 51, 2002.

ALI, J.; RAFIQ, Q. A.; RATCLIFFE, E. Antimicrobial resistance mechanisms and potential synthetic treatments. **Future Science OA**, v. 4, n. 4, p. 1-10, 2018.

ALMEIDA, M. V. A. et al. Drug resistance, AmpC- β -lactamase and extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from fish and shrimp. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, n. 70, p. 1-7, 2017.

AMARANTE, J. F. et al. Resistência aos antimicrobianos de bactérias obtidas de carpas (*Cyprinus carpio*) cultivadas em sistema semi-intensivo. **Ciência Animal Brasileira**, v.19, p. 1-7, 2018.

AZEVEDO, R. R. S. et al. Potencial antioxidante e antibacteriano do extrato etanólico de plantas usadas como chás. **Revista Semente**, Maceió, v. 6, n. 6, p. 240-249, 2011.

BLAIR, J. M. A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, p. 42-51, 2015.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

CAUMO, K. et al. Resistência bacteriana no meio ambiente e implicações na clínica hospitalar. **Revista Liberato**, v. 11, n. 16, p. 183-190, 2010.

CLSI - **Clinical and Laboratory Standards**. Performace standards for antimicrobial susceptibility testing. 30 ed. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020. 293 p.

DINIZ, A. M. M.; SANTOS, R. M. C. *Escherichia coli* resistente a ciprofloxacina em pacientes internados em hospital universitário de

Manaus. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 7, n. 1, p. 20-24, 2017.

DUTRA, F.S.G. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente às bactérias de importância médica. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 20, n. 6, p. 1-13, 2016.

ELHADI, N.; ALSAMMAN, K. Incidence and antimicrobial susceptibility pattern of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from retail imported mackerel fish. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1954-1960, 2015.

ESTRADA, L. I. M. et al. Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de *Escherichia coli* uropatógena en dos localidades de México. **Infermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 35, p. 426-433, 2016.

FDIL, R. et al. Comparative analysis, antibacterial and antiradical activities of essential oils in leaves and fruits of *Chenopodium ambrosioides* of Morocco. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.8, n. 4, p. 1038-1045, 2017.

FERREIRA, V. M. et al. Infecções comunitárias do trato urinário em Divinópolis, MG: Avaliação do perfil de resistência bacteriana e do manejo clínico. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 12, n. 39, p. 1-13, 2017.

GUERRA, G. J. et al. *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en infecciones de vías urinarias: evolución de la resistencia antibiótica y opciones terapéuticas. **Medicina Clínica**, v. 150, p. 262-265, 2018.

IDS-AN INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. Combating antimicrobial resistance: Policy recommendations to save lives. **Clinical Infectious Diseases**, v. 52, n. 5, p. 397-428, 2011.

LARA, F. L. O. et al. Custos da antibioticoterapia em pacientes adultos com infecção hospitalar em uma unidade de terapia intensiva. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v. 3, n. 4, p. 8-14, 2017.

LIMA, M. R. F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, p. 137–147, 2006.

MACHADO, A. L. et al. Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de pescado marinho comercializado na feira livre do Mucuripe, Fortaleza-CE, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 4, p. 931-943, 2015.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de antimicrobianos em leite: Uma revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 8, n. 2, p. 80-87, 2011.

O'NIELL, J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. **Review on Antimicrobial Resistance**, v. 1, p. 1-2, 2014.

OECD - ORGANIZAÇÃO PARA A COOPERAÇÃO E DESENVOLVIMENTO ECONÓMICO. Antimicrobial Resistance. Tackling the Burden in the European Union. Paris: 2019. Disponível em: <<https://www.oecd.org/health/health-systems/AMR-Tackling-the-Burden-in-the-EU-OECD-ECDC-Briefing-Note-2019.pdf>>

OLIVEIRA, C.F. et al. Prevalence of the TEM, SHV and CTX-M families of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. at the University Hospital of Santa Maria, State of Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n. 5, p. 556-560, 2009.

PEREIRA, N. L. F. et al. Efeito antibacteriano e anti-inflamatório tópico do extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, p. 73-159, 2015.

RONEN, R.; GALUN, M. Pigment extraction from lichens with Dimethylsulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. **Environmental and Experimental Botany**, v. 24, n. 3, p. 23-245, 1984.

SANTIAGO, J.A.S. et al. Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados - Revisão. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 46, n. 2, p. 92-103, 2013.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SILVA, D. R. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Chenopodium ambrosioides* e *Ruta graveolens* sobre *Streptococcus mutans*. **Archives of Health Investigation**, v.7, n. 4, p. 120-122, 2018.

SOARES, D. G. S. et al. Atividade antibacteriana in vitro da tintura de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.7, n. 3, p. 253-257, 2007.

SOUZA, A. P. O. et al. Atividade antimicrobiana dos sumos de alecrim, aroeira, guiné e mastruz sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Scientia Plena**, v. 11, n. 7, p. 1-9, 2015.

TRENTIN, D. S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 327-335, 2011.

Extração e amplificação de DNA em *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae)

Daniel Rocha de Santana

Amanda Oliveira Silva

Bruna Leite Vieira do Nascimento

Edna Lobo Machado

Everton Hilo de Souza

A Mata Atlântica é uma das mais importantes florestas tropicais do mundo, sendo esta, um dos 35 hotspots mundiais de biodiversidade (MITTERMEIER et al., 2011). Bastante heterogênea no que diz respeito a sua composição, a Mata Atlântica abrange um grande rol de zonas climáticas e formações vegetacionais, que vão de tropicais a subtropicais (TABARELLI et al., 2005; VITÓRIA et al., 2019).

A fragmentação de habitats, põe em risco a megadiversidade, pois fazem com que populações de determinadas espécies fiquem restritas em áreas menores, promovendo então, o isolamento parcial ou total delas para com outras populações, de tal maneira que o fluxo gênico entre as populações seja comprometido, e assim, as tornam mais vulneráveis à deriva genética e endogamia. Dessa forma, a fragmentação é uma das principais ameaças a conservação da biodiversidade desse bioma (GALETTI JUNIOR et al., 2008; RIBEIRO et al., 2011).

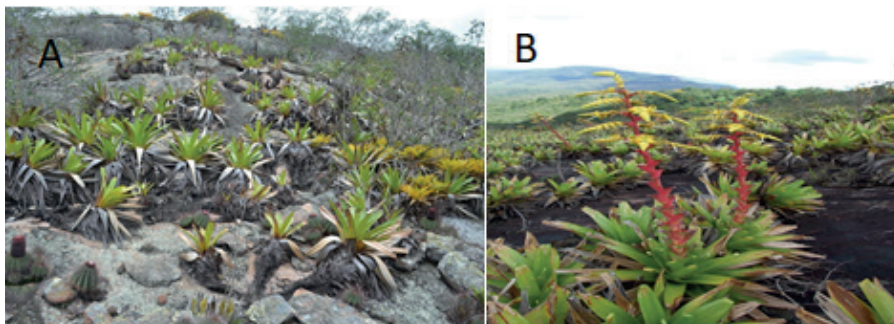
A família Bromeliaceae Juss. compreende aproximadamente 77 gêneros e 3630 espécies (GOUDA et al., 2020). A família destaca-se por ser um dos principais componentes da flora brasileira e são bastante representativas na Bahia com 32 gêneros e 364 espécies (BRF, 2018), com ocorrência nos diferentes biomas e alto grau de endemismo (VERSIEUX; WANDERLEY, 2010).

O gênero *Alcantarea* (E. Morren ex Mez) Harms, possui 39 espécies endêmicas do Brasil, apresentando ocorrência em inselbergs, nos domínios da Mata Atlântica dos Estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo.

Diversas espécies de *Alcantarea* são frequentemente empregadas na jardinagem, como é o caso da *Alcantarea nahoumii* (Leme) R.J.Grant. (Figura 1a; VERSIEUX; WANDERLEY, 2015).

Alcantarea nahoumii cresce em afloramentos rochosos em populações bastante fragmentadas (Figura 1b), além disso, é uma espécie endêmica da Bahia e é classificada como vulnerável em relação ao risco de extinção (FORZZA et al., 2013; VERSIEUX; WANDERLEY, 2015). Assim, é de grande importância estratégias de identificação e estudos sobre a variabilidade genética da espécie.

Figura 1 - População natural de *Alcantarea nahoumii* (Leme) R. J. Grant; A, crescimento sobre afloramentos rochosos; B, detalhe da planta com inflorescência.



Fonte: Autores (2020).

De acordo com Primarck et al. (2001), estudos de variabilidade genética possibilitam averiguar a diversidade genética de uma população. A diversidade genética é importante para a adaptação das populações às oscilações ambientais, em um meio que sofre constante modificação. O potencial evolutivo das espécies pode

ser prejudicado pela perda a diversidade genética, isso pode vir a interferir no sucesso reprodutivo (FRANKHAM et al., 2004).

Cada vez mais, as técnicas moleculares têm sido empregadas nos estudos de diversidade genética. Para tanto, é necessária a obtenção de DNA de qualidade. A maioria dos protocolos de extração de DNA vegetal existentes é derivada do protocolo CTAB (Brometo de Cetil Trimetil Amônio) descrito por Doyle e Doyle (1987), porém dependendo da espécie, torna-se necessária uma adequada padronização dos protocolos a serem utilizados, para a obtenção de DNA de qualidade que permita a amplificação de regiões genômica via PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) apresentando padrões nítidos e reprodutíveis de bandas de DNA (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; OLIVEIRA et al., 2007).

Para espécies, cujo genoma ainda não foi sequenciado, os marcadores RAPD (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) e ISSR (Repetições de Sequência Inter-Simples) ganham destaque, pois não é necessário o conhecimento prévio do seu genoma e baseiam-se na técnica da PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase). Os marcadores RAPD possuem certas vantagens em comparação a outros marcadores, como por exemplo, o baixo custo, estrutura laboratorial simples e de fácil implementação (LIMA et al., 2010). Já os marcadores ISSR baseiam-se na amplificação de regiões entre sequências microssatélites adjacentes do DNA via PCR. Além disso, este marcador apresenta elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo relativo.

Assim, devido ao fato da *A. nahoumii* ser uma espécie classificada como Endêmica e Vulnerável em relação ao risco de extinção, fazem-se necessários estudos da variabilidade genética da espécie. Para tanto, é necessário a obtenção de DNA de qualidade e seleção de primers RAPD e ISSR com bom padrão de amplificação.

Material e métodos

Para a otimização da maceração das folhas e obtenção de DNA, foram utilizadas folhas jovens e saudáveis de plantas coletadas aleatoriamente em uma população de *A. nahoumii* na Serra do Jatobá, no município de Milagres, Bahia.

Inicialmente, a extração do DNA foi realizada segundo o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações.

De cada folha coletada foram separadas as partes aclorofiladas, que foram acondicionadas em pacotes de papel toalha para armazenamento. Foram realizados dois testes quanto ao armazenamento e desidratação das folhas: A) folhas armazenadas a fresco a -80 °C; B) folhas frescas armazenadas em sílica gel por uma semana para desidratação. Também foram testadas quatro formas de maceração das folhas: A) folhas congeladas e maceradas diretamente no tampão de extração com areia lavada; B) folhas congeladas e maceradas sem tampão de extração e com areia lavada; C) folhas desidratadas em sílica, maceradas na presença de tampão de extração e com areia lavada; e D) folhas desidratadas em sílica, maceradas sem de tampão de extração e com areia lavada.

As amostras foram transferidas para microtubos tipo eppendorf de 2 mL. Adicionaram-se 1000 µL da solução tampão de extração (CTAB 1%, NaCl 1,7M; Tris HCl 1M pH 8,0, 0,1M; EDTA, 20mM; 2-Mercaptoetanol, 0,4%; PVP 0,1%; H₂O ultrapura q.s.p.) e 200 µL SDS (dodecil sulfato de sódio) 10%. As amostras foram homogeneizadas em vortex por 5 segundos e incubadas em banho-maria a 65 °C por 60 minutos. A cada 10 minutos, as amostras foram homogeneizadas por inversão.

Seguido o tempo, as amostras foram retiradas do banho-maria, esfriadas em gelo e adicionados 600 µL de uma mistura de clorofórmio: álcool Isoamílico (24:1). A solução foi homogeneizada em vortex durante 5 segundos e centrifugada por 10 minutos a 10.000 rpm. Foram coletados aproximadamente 700 µL do sobrenadante e transferido para novos tubos de 1,5 mL.

As amostras foram precipitadas em 490 µL de álcool isopropílico gelado, incubadas a -20 °C durante 1 h, no mínimo, e centrifugadas por 10 minutos à 10.000 rpm. Após, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado em 500 µL de etanol 70% (o precipitado foi deixado com o álcool 70% em repouso, durante cinco minutos a 4 °C). Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 10.000 rpm. O processo foi repetido por mais uma vez. O precipitado foi seco a temperatura ambiente e ressuspenso em 100 µL de TE, contendo 1 µL de ribonuclease (RNase 10 mg/ mL) e incubo em estufa a 37 °C, por 1 hora. As amostras foram armazenadas à -20 °C.

As amostras foram avaliadas quanto à qualidade e quantidade de DNA através de eletroforese em gel de agarose a 0,8%, em tampão TBE 1x (0,045 M Tris-Borato e 0,001 M EDTA). O gel foi corado com brometo de etídeo. As amostras foram visualizadas por meio de transluminador e fotodocumentadas. Para tanto, foram aplicados 10 µL da amostra de DNA e mais 5 µL de tampão de amostra (30% de Glicerol e 0,25% de Azul de Bromofenol). A corrida eletroforética foi realizada por 60 minutos a 80 V. A quantificação foi feita por comparação do DNA isolado com um DNA de concentração conhecida (DNA Lambda, Invitrogen). O DNA teve sua concentração ajustada para 5 ng/µL. Foram testadas duas composições de reações da PCR (Tabela 1) e dois programas de amplificação (Tabela 2) do DNA de *A. nahoumii*.

Tabela 1 - Composições para reação para marcadores RAPD.

Reagentes	Composição A	Composição B
Água ultrapura	9,2 µL	12,55 µL
Tampão PCR 10X	2,5 µL	2,5 µL
MgCl 2, 50mM	2,5 µL	1,25 µL
dNTP 2,5mM	2,0 µL	1,0 µL
Taq DNA polimerase 0.3	0,3 µL	0,2 µL
Primer 2mM	3,5 µL	2,5 µL
DNA genômico total 5.0	5,0 µL	5,0 µL
Volume final	25 µL	24 µL

Fonte: Autores (2019).

Tabela 2 - Ciclos de temperatura utilizados na amplificação via PCR para marcadores RAPD.

	Programa A		Programa B	
Desnaturação inicial	94 °C / 3 min	1X	94 °C / 1 min 35 °C / 30 seg 72 °C / 1 min	2x
Desnaturação	94 °C / 40 seg	45X	94 °C / 1 min	40x
Anelamento	37 °C / 40 seg	45X	35 °C / 30 seg	40x
Amplificação	72 °C / 1 min	45X	72 °C / 1 min	40x
Extensão Final	72 °C / 5 min	1X	72 °C / 7 min	1x

Fonte: Autores (2019).

Inicialmente, as reações de PCR foram realizadas num volume final de 20 µL. Cada uma delas foi composta por 3,0 µL de DNA genômico (5 ng/µL); 2,0 µL de tampão da enzima (10 x), 0,80 µL de dNTP mix (2,5 mM de cada), 0,60 µL de MgCl₂ (50 mM), 3,20 µL de primer (2mM), 0,2 µL de Taq DNA polimerase (1 U/2 µL - Invitrogen) e 10,2 µL água ultrapura autoclavada. A reação foi realizada em termociclador SimpliAmp (Life Technologies), cujo programa constou de: desnaturação inicial de 3 minutos a 94 °C, seguida por 39 ciclos de 40 segundos a 94° C, 40 segundos a 50° C e 1 minuto a 72 °C. O ciclo final foi seguido por uma extensão de 5 minutos a 72 °C.

Os primers RAPD e ISSR testados na amplificação do DNA genômico da espécie estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Primers RAPD e ISSR utilizados na amplificação do DNA de *Alcantarea nahoumii*.

Primer RAPD	Sequência (5'-3')	Primer ISSR	Sequência (5'-3')
OPG 17	ACG ACC GAC A	TRITTG 3 RC	TTG TTG TTG TTG TTG RC
OPAH 19	GGC AGT TCT C	TRICGG 3 RC	CGG CGG CGG CGG CGG RC
OPH 18	GAA TCG GCC A	UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC
OPZ 14	TCG GAG GTT C	UBC812	GAG AGA GAG AGA GAG AA
OPAL 06	AAG CGT CCT C	UBC815	CTC TCT CTC TCT CTC TG
OPAI 08	AAG CCC CCC A	UBC817	CAC ACA CAC ACA CAC AA
OPAL 08	GTC GCC CTC A	UBC818	CAC ACA CAC ACA CAC AG
OPC 05	GAT GAC CGC C	UBC825	ACA CAC ACA CAC ACA CT
OPAT 14	GTG CCG CAC T	UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
OPAL 17	CCG CAA GTG T	UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG

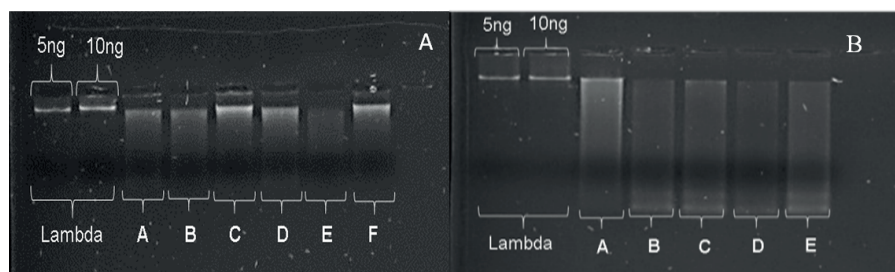
Fonte: Autores (2019).

Para a visualização dos produtos amplificados foram adicionados 5 μ L do tampão da amostra (30 % de Glicerol e 0,25% de Azul de Bromofenol) nos tubos contendo as reações. As amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose a 1,5 %, corado com brometo de etídeo, em tampão TBE 1x (0,045 M Tris-Borato e 0,001 M EDTA). A corrida eletroforética foi realizada por 3 horas a 80 V. A amplitude dos fragmentos foi estimada usando o DNA Ladder com 1000 pb. As amostras foram visualizadas por meio de transluminador e fotodocumentadas.

Resultados e discussão

A desidratação e armazenamento das folhas de *A. nahoumii* em sílica foi o que melhor preservou o DNA (Figura 3a), quando comparado com o armazenamento das folhas frescas a -80°C , em que o DNA foi degradado (Figura 1b). Quanto à maceração, foi possível obter DNA de qualidade quando as folhas foram maceradas na presença de areia lavada.

Figura 3 - DNA genômico de *Alcantarea nahoumii*. A, A-F: DNA obtido de folhas desidratadas e armazenadas em sílica gel; B, A-F: DNA obtido de folhas armazenadas à -80°C .



Fonte: Autores (2019).

A areia lavada possibilitou resultados satisfatórios na obtenção de DNA genômico de *A. nahoumii*. A utilização de nitrogênio líquido é também uma alternativa para maceração de folhas fibrosas e difíceis

de macerar, tendo em vista o rompimento das células com uma maior facilidade (COSTA; OLIVEIRA, 2002), porém o custo é elevado. Devido a isso, a busca por meios alternativos para maceração, como é caso da maceração no almofariz e pistilo na presença de tampão de extração e areia lavada autoclavada é utilizada.

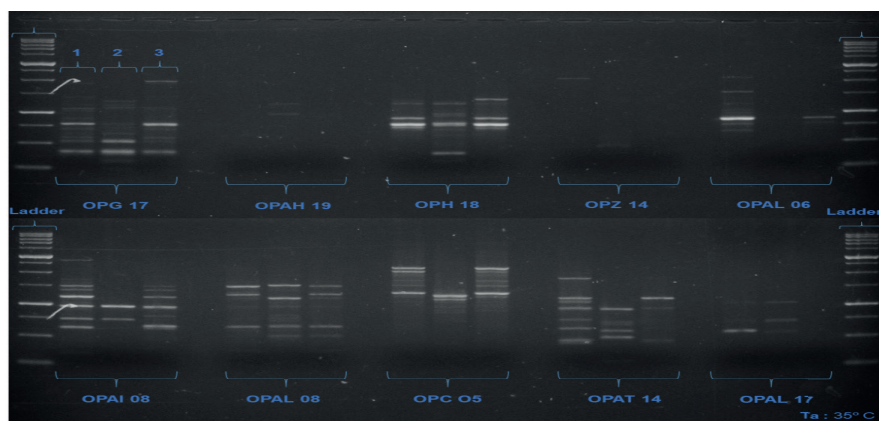
A utilização de areia lavada fez-se necessária para essa espécie, pois ela apresenta folhas bastante fibrosas e de difícil maceração, sendo assim, a areia lavada ajuda a gerar um atrito maior no momento da maceração. Para evitar que as amostras esquentassem muito por conta do atrito no momento da maceração, neste trabalho o almofariz e pistilo foram previamente congelados. Esse mesmo protocolo foi realizado por Costa e Oliveira (2002) para maceração de folhas de açazeiro com resultados positivos.

A reação B e ciclos de temperatura B foram os tratamentos que possibilitaram a amplificação do DNA da espécie para os primers RAPD. A composição da reação B utiliza uma menor concentração de $MgCl_2$ (1,25 μL). A concentração de $MgCl_2$ interfere diretamente na amplificação do DNA, visto que é necessário que haja $MgCl_2$ disponível para que os dinucleotídeos possam ser acrescidos pela Taq polimerase à nova fita que estará sendo formada (FREITAS, 2005). O excesso de $MgCl_2$ pode proporcionar a acumulação de produtos de amplificação não específicos enquanto poucas concentrações podem inviabilizar a amplificação de DNA (FREITAS, 2005). Também, vale destacar que o ciclo de temperatura B apresenta a temperaturas de anelamento de 35 °C. Assim, para a espécie em estudo, a temperatura de 35 °C é ideal para os primers avaliados. Este resultado está de acordo com o relatado por Freitas (2005), que afirma que para iniciadores menores, como os de RAPD, é indicado, de uma forma geral, o uso de temperaturas menores, variando em torno de 35 °C.

Dos 10 iniciadores RAPD testados, seis apresentaram um bom padrão de amplificação, a saber: OPG 17, OPH 18, OPAI 08, OPAL

08, OPC 05, OPAT 14 (Figura 4). Estes primers são promissores para estudos de variabilidade genética em *A. nahoumii*. Estes mesmos primers apresentaram um bom padrão de amplificação e alto grau de polimorfismo em *Aechmea ramosa* (FAVORETO et al.,2010).

Figura 4 - Amplificação dos marcadores RAPD de *Alcantarea nahoumii* amplificados por meio da reação da PCR (Composição B) e ciclos de temperatura (Programa B).

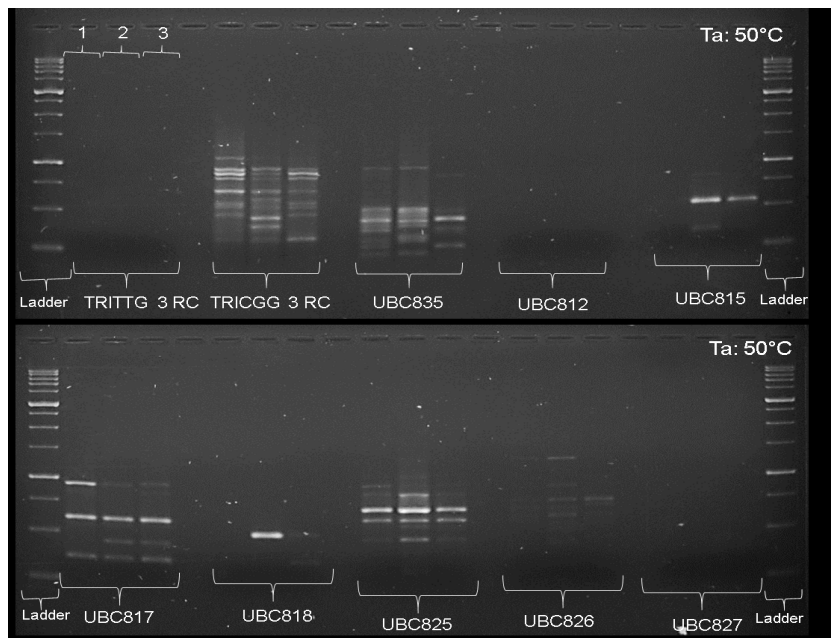


Fonte: Autores (2019).

Dos 10 primers ISSR testados, quatro apresentaram um bom padrão de amplificação (TRICGG 3 RC, UBC835, UBC817, UBC825) podendo ser utilizados para estudo da diversidade genética de *A. nahoumii* (Figura 5).

A extração de DNA em boa qualidade e quantidade é uma etapa primordial para o desenvolvimento de estudos mais aprofundados na área da genômica de uma espécie, a exemplo da identificação de marcadores moleculares baseados em DNA (MELLO et al., 2015). Assim, os primers ISSR identificados neste estudo são indicados para estudos de diversidade genética e populacional em *A. nahoumii*.

Figura 5 - Amplificação dos marcadores ISSR em *Alcantarea nahoumii*.



Fonte: Autores (2019).

Conclusão

De forma geral, os protocolos de armazenamento, maceração, extração e amplificação de DNA foram eficientes para *A. nahoumii*. Esses resultados contribuem de forma efetiva para montagem de um banco de DNA e estudos de diversidade genética e populacional da espécie.

Referências

BRAZILIAN FLORA. Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 1513-1527, 2018.

COSTA, M. R.; OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Extração de DNA de açazeiro a partir de folhas**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 2002. 22 p.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n.1, p. 11-15, 1987.

GOUDA, E.J., BUTCHER, D. e GOUDA, C.S. (cont. updated) *Encyclopaedia of Bromeliads, Version 4*. 2018. <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> University Botanic Gardens, Utrecht. <http://bromeliad.nl/encyclopedia/>, accessed: 23 de julho de 2020.

FAVORETO, F. C. et al. Seleção de primers RAPD para caracterização molecular de *Aechmea ramosa* (BROMELIACEAE) ocorrentes no Distrito de Burarama, município de Cachoeiro de Itapemirim-ES. In: XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, X Encontro Latino Americano de Pós Graduação, IV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior. **Anais**. São José dos Campos, Universidade Vale do Paraíba, 2010.p.1-6.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3. Edição. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. p. 220.

FORZZA F. C. et al. Bromeliaceae. In: Martinelli G. e Moraes M.A. (eds.). **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Centro Nacional da Conservação da Flora; Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. p. 396.

FRANKHAM, R. et al. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto, SP: Editora da Sociedade Brasileira de Genética, 2004. 280 p.

FREITAS, P. D. **Estudos de diversidade genética em camarões utilizando marcadores moleculares**. Manual Prático Marcadores de RAPD. Vol. 2. São Carlos, SP: Editora da UFSCar, 2005. p. 1-37.

GALETTI, J. R. P. M. et al. Genética da conservação na biodiversidade brasileira. In: Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D. A. (Orgs.). **Fundamentos de Genética da Conservação**, Ribeirão Preto, SP, Editora SBG, 2008. p. 290.

LIMA, P. D. C. et al. Otimização de reação e seleção de primers RAPD para uso na caracterização molecular de castanha-de-sapucaia

(*Lecythis pisonis* Cambess). In: Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 21, 2010, Natal. Frutas: saúde, inovação e responsabilidade. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2010. p. 8-10.

LUTHER, H. E. **An alphabetical list of bromeliad binomials**. 14. ed. USA, Marie Selby Botanical Gardens & Bromeliad Society International, 2014. 44 p.

MELLO, L. M. et al. Isolamento de DNA genômico a partir de folhas secas de *Erythrina crista-galli* L., FABACEAE (Corticeira-do-banhado). **Revista Thema**, v. 12, n.1, p. 49-60, 2015.

MITTERMEIER, R. A. et al. Global Biodiversity Conservation: The Critical Role of Hotspots. **Biodiversity Hotspots**, p. 3-22, 2011.

OLIVEIRA, M. D. S. **Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de DNA por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase**. São Carlos, SP: Editora Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. 43 p.

PRIMARCK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia a Conservação**. Primeira edição. Londrina: Editora Planta, 2001. 328 p.

RIBEIRO M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: A Shrinking Biodiversity Hotspot. In: Zachos F., Habel J. (Ed.). **Biodiversity Hotspots: Distribution and protection of conservation priority areas**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011. p 405-434.

TABARELLI, M. et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n.1, p. 132-138, 2005.

VERSIEUX, L. M.; WANDERLEY, M. G. L. **Bromélias-gigantes do Brasil**. 1. ed. Natal: Capim Macio & Offset, 2015. 200 p.

VERSIEUX, L. D. M.; WANDERLEY, M. D. G. L. Flora da Bahia: Bromeliaceae-Alcantarea. **Sitientibus**, v. 10, p. 147-151, 2010.

VITÓRIA, A. P., ALVES, L. F. E SANTIAGO, L. S. Atlantic forest and leaf traits: an overview. **Trees**, v. 33, p. 1535-1547, 2019.

Cianobactérias na foz do rio Paraguaçu, Bahia

*Manoela Sousa de Jesus Moreira
Marta Maria Barros de Jesus Santos
Carla Fernandes Macedo*

A frequência e intensidade da ocorrência de cianobactérias estão diretamente relacionadas às ações humanas, que promovem a acumulação de nutrientes em corpos hídricos levando-os a eutrofização (SÁ et al., 2010; LOPES et al., 2017). Diversos trabalhos demonstram que ambos processos têm sido cada vez mais comuns, além de causar profundos impactos sociais, econômicos e ambientais (HUSZAR; CARACO, 1998; PANOSSO et al., 2007; SIQUEIRA; OLIVEIRA-FILHO, 2008; SÁ et al., 2010; LIMA, 2017). As cianobactérias apresentam crescimento acelerado e possuem importância para a saúde pública, pois há registro de vários casos de intoxicação e óbitos no mundo causados pelas cianotoxinas (TEIXEIRA et al., 1993; FALCONER, 1994; CARMICHAEL et al., 1994; AZEVEDO et al., 2002; ARAGÃO et al., 2007; FREITAS; SANT'ANNA; GUEDES, 2012).

O processo de eutrofização artificial ocasiona alteração na qualidade da água (FUNASA, 2003) e a ocorrência das cianobactérias com potencial de toxicidade representa riscos à biota aquática e à população humana que utiliza essas águas (FRANCO et al., 2019). O elevado crescimento da população desses organismos pode causar drástica redução das concentrações de oxigênio, levando à morte muitos organismos aquáticos, e alterações na coloração e odor das águas (PANOSSO et al., 2007).

A presença de mais de uma espécie de cianobactéria potencialmente tóxica pode ocasionar florações mais constantes,

tornando o controle mais difícil e causando a contínua toxicidade no ambiente (MACHADO et al., 2016). Algumas das espécies produtoras de toxinas, como *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*, são comumente encontradas em diversos ambientes aquáticos, como reservatórios, lagoas e rios, em Mato Grosso, Pernambuco, Ceará, São Paulo, Rio Grande do Norte (PANOSSO et al., 2007; COSTA et al., 2009; SÁ et al., 2010; GÓIS; OLIVEIRA, 2014; LIMA, 2016; MACHADO et al., 2016; COSTA et al., 2017; LIMA, 2017).

A bacia do rio Paraguaçu, na região centro-leste da Bahia, desde a época do descobrimento do Brasil tem sido influenciada pelas atividades extrativista e agropecuária (MESTRINHO, 1998). Com o desenvolvimento urbano e industrial da região, o rio Paraguaçu tem sido deteriorado devido a diversas atividades humanas, que causam o enriquecimento artificial de ecossistemas aquáticos e a eutrofização, intimamente ligados à ocorrência de florações de cianobactérias (SIQUEIRA; OLIVEIRA-FILHO, 2008).

Dentro deste contexto, o presente capítulo objetivou verificar a ocorrência de cianobactérias no baixo curso do rio Paraguaçu com ênfase na investigação de espécies potencialmente tóxicas.

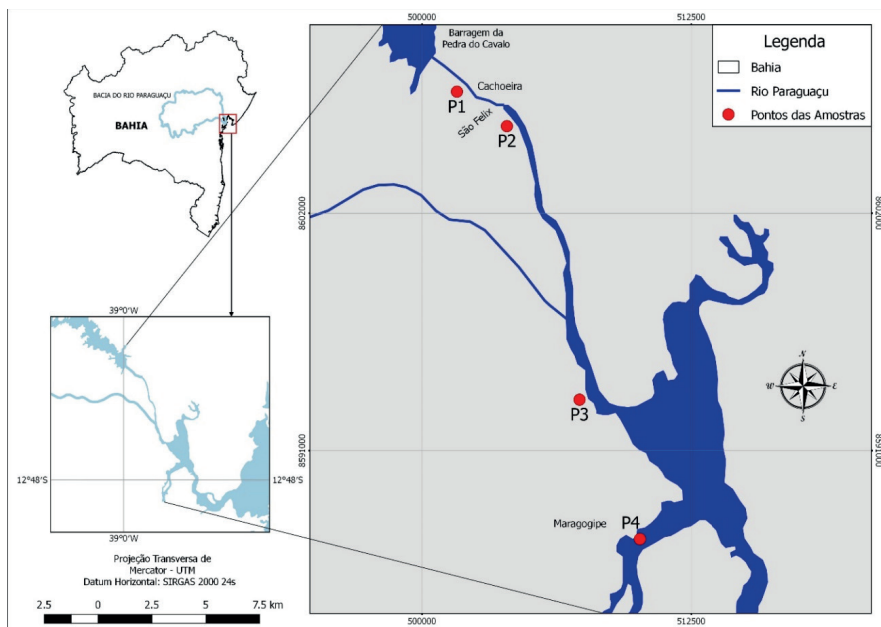
Material e métodos

A área de estudos englobou o baixo curso do rio Paraguaçu à Baía do Iguape. O clima da região do estuário do rio Paraguaçu é do tipo quente e úmido, com chuvas de outono-inverno, apresentando esse trecho do rio extensão de 16 km, iniciando logo à jusante da Barragem Pedra do Cavalo em São Félix até a desembocadura na Baía do Iguape (GENZ, 2006).

As amostras foram coletadas nos meses maio, junho e julho de 2019 na região da foz do rio Paraguaçu, sendo selecionados

quatro pontos distribuídos nos municípios de São Félix, Cachoeira e Maragogipe (Figura 1).

Figura 1 - Localização dos pontos de amostragem. (P1) São Félix; (P2) Cachoeira; (P3) Nagé; (P4) Maragogipe.



Fonte: Autores (2019).

O ponto 1 foi à jusante da barragem de Pedra do Cavalo; o ponto 2 na zona urbana de Cachoeira, na proximidade de locais onde desembocam efluentes domésticos; o ponto 3 em Nagé, região de estuário do rio Paraguaçu, caracterizado pela presença de pequenas embarcações pesqueiras e; o ponto 4 no cais de Maragogipe, na Baía do Iguape. As amostras qualitativas do fitoplâncton foram coletadas com rede de plâncton de 20µm de abertura de malha, com arrastos horizontais e a baixa velocidade na superfície e as amostras quantitativas diretamente com frascos de 500 ml, sendo todas fixadas com formol a 4% (BICUDO; MENEZES, 2006). As variáveis temperatura, pH,

oxigênio dissolvido, condutividade e salinidade da água foram medidas in situ com sonda multiparâmetros Hanna HI 991300.

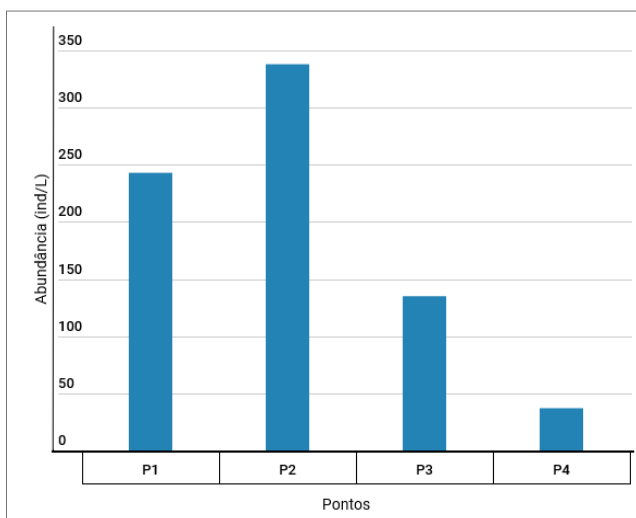
A identificação das amostras foi realizada no Laboratório de Plâncton e Algas do Setor de Engenharia de Pesca, do Núcleo de Estudo em Pesca e Aquicultura da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB – Campus Cruz das Almas). Para análise qualitativa foi utilizada metodologia adaptada de Fernandes (2008) e para análise quantitativa câmara de Sedgwich-Rafter de 1 mL e microscópio óptico Olympus CX31 trinocular. As cianobactérias foram identificadas de acordo com literatura especializada.

Resultados e discussão

Quanto às variáveis físico-químicas da água, as maiores variações ocorreram nos primeiros pontos. Durante o período do estudo a temperatura da água variou de 24.9 a 29.4°C nos pontos 1 e 2 e o pH se manteve neutro-alcálico com variação de 7.7 a 8.2 nos mesmos pontos. Resultados com variação semelhante foram encontrados em reservatórios do Rio Grande do Norte e no estuário do rio Una (COSTA et al., 2009; BASTOS; FEITOSA; MUNIZ, 2005). O oxigênio dissolvido variou de 2.71 a 7.71 mg L⁻¹, estando abaixo do limite recomendado pela Resolução Conama 357/05 (5 mg/L⁻¹) nos pontos 1 e 2. Já a condutividade elétrica variou de 488.7 μScm⁻¹ a 814 μS cm⁻¹ nos pontos 3 e 4. Quanto à salinidade, houve variação de 0.40 a 29.54 nos pontos 3 e 4. Os valores mais elevados de condutividade coincidem com o aumento da salinidade.

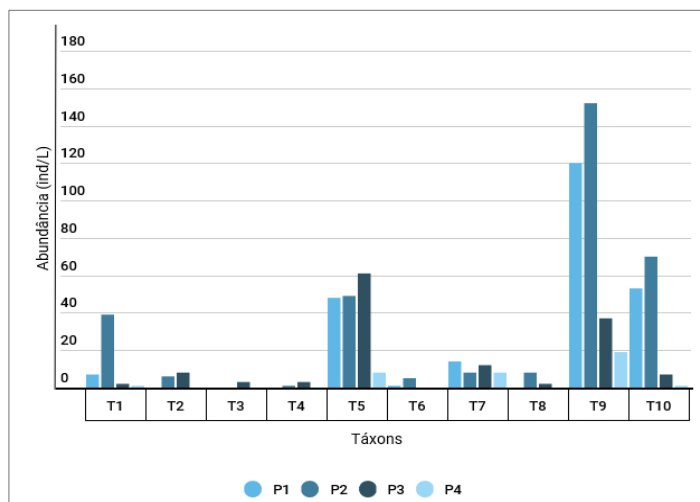
As cianobactérias foram encontradas em todos os pontos amostrados, sendo mais abundantes nos pontos mais próximos da Barragem de Pedra do Cavalo (Gráfico 1). Foram predominantes os táxons: *Aphanocapsa* sp., *Chroococcus* sp., *Cuspidothrix* sp., *Dolichospermum* sp., *Geitlerinema* sp., *Komvophoron* sp., *Microcystis* sp., *Oscillatoria* sp., *Planktothrix* sp. e *Raphidiopsis* sp. (Gráfico 2).

Gráfico 1 - Abundância dos táxons de cianobactérias predominantes nos pontos amostrados. (T1) *Aphanocapsa* sp.; (T2) *Chroococcus dispersus*; (T3) *Cuspidothrix* sp.; (T4) *Dolichospermum* sp.; (T5) *Geitlerinema amphibium*.; (T6) *Komvophoron* sp.; (T7) *Microcystis* sp.; (T8) *Oscillatoria limosa*; (T9) *Planktothrix* sp.; (T10) *Raphidiopsis* sp.



Fonte: Autores (2019).

Gráfico 2 - Abundância total (ind./mL) de cianobactérias nos pontos amostrados



Fonte: Autores (2019).

No ponto estuarino (P3) foram encontrados 135 ind./mL, *Geitlerinema amphibium* foi predominante e *Cuspidothrix* sp. foi encontrado apenas nesse ponto. No último ponto (P4), localizado no cais de Maragogipe, foi obtido o menor número de cianobactérias (37 ind./mL), representadas principalmente por *Planktothrix* sp. Estudos realizados por Hasler et al. (2017) e Junior et al. (2018) demonstraram a diminuição de alguns táxons de cianobactérias em regiões com maior circulação das águas. Desta maneira, no presente trabalho, a menor ocorrência de cianobactérias no último ponto provavelmente ocorreu devido à localização estuarina do mesmo, que favoreceu a diminuição da concentração de indivíduos em direção ao estuário da Baía do Iguape.

Os táxons identificados nesse estudo são comumente encontrados em outras regiões do Brasil, como em alguns reservatórios de Pernambuco (SILVA et al., 2013; LIMA, 2017), no canal do rio Pataxó no Rio Grande do Norte (CÂMARA et al., 2007), no rio Tapajós no Pará (SILVA et al., 2019), na bacia do rio Sorocaba em São Paulo (LEITE; BIAGIONI; SMITH, 2018) e no estuário do rio Catu no Ceará (PEREIRA, 2007). Os táxons de cianobactérias que se destacaram foram *Planktothrix* sp. (316 ind./mL), *Geitlerinema amphibium* (166 ind./mL) e *Raphidiopsis* sp. (131 ind./mL). Em outros trabalhos realizados em rios, estuários e reservatórios também foi encontrada maior abundância desses táxons, como no rio Sinos (CHAVES et al., 2009) e no rio de Contas (FUENTES et al., 2010), no estuário dos rios Catu (PEREIRA, 2007) e Capibaribe (ANJOS, 2012) e nos reservatórios do Carpina (ARAGÃO, 2007), Mundaú (SILVA et al., 2013) e de Guarapiranga (MACHADO et al., 2016).

No presente trabalho as maiores concentrações de cianobactérias ocorreram nos primeiros pontos, coincidindo com os maiores valores de pH e as menores concentrações de oxigênio dissolvido, condições favoráveis para a ocorrência de cianobactérias.

Foi possível observar um gradiente de menor concentração de cianobactérias do baixo curso do rio Paraguaçu em direção a baía do Iguape, provavelmente em virtude dos últimos pontos apresentarem maior volume e circulação da água, enquanto o menor volume e qualidade da água inferior nos primeiros favoreceu a maior ocorrência das cianobactérias.

Conclusão

A maior ocorrência de cianobactérias no ponto com maior influência urbana indica que na foz do Rio Paraguaçu existe um potencial risco para a saúde pública nos municípios de São Félix e Cachoeira. Recomenda-se que seja realizado um monitoramento a longo prazo visando conhecer a ocorrência de cianobactérias tanto espacial quanto temporalmente e o potencial de toxidade, visando proteção da saúde humana e dos recursos hídricos, garantindo assim a integridade desse ambiente e da comunidade no entorno.

Referências

ANJOS, D. L. **Taxonomia e biomassa fitoplanctônica no estuário do rio Capibaribe (Recife, Pernambuco, Brasil)**. 2012, 132 f. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Oceanografia) – UFPE, Pernambuco, 2012.

ARAGÃO, N. K. C. V. et al. Estudo da comunidade fitoplanctônica no reservatório do Carpina PE, com ênfase em Cyanobacteria. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.3, p. 240-248, 2007.

AZEVEDO, S. M. F. O. et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru Brazil. **Toxicology**, v. 181, p. 441-446, 2002.

BASTOS, R. B.; FEITOSA, F. A. N.; MUNIZ, K. Variabilidade espaço-temporal da biomassa fitoplanctônica e hidrologia no estuário do rio Una (Pernambuco – Brasil). **Tropical Oceanography**, Recife, v. 33, n.1, p. 1-18, 2005.

BRASIL, CONAMA. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília, 2005.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (Chave para Identificação e Descrições)**. 2 ed. São Carlos: Rima, 2006, 502p.

CÂMARA, F. R. A.; LIMA, A. K. A.; CHELLAPPA, N. T. Diversidade da comunidade fitoplanctônica do Canal do Pataxó, Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, 2, p. 21-23, 2007.

CARMICHAEL, W. W. The toxins of Cyanobacteria. **Scientific American**, v. 270, n. 1, p. 78-86, 1994.

CHAVES, P. F. et al. Ocorrência de cianobactérias produtoras de toxinas no rio dos Sinos (RS). **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 2, p. 319-328, 2009.

COSTA, I. A. S. et al. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 2, p. 382-401, 2009.

COSTA, R. L. et al. Florações de cianobactérias potencialmente tóxicas em tanques de pisciculturas da região centro sul do estado de Mato Grosso. **Biodiversidade**, v. 16, n. 1, p. 33-45, 2017.

FALCONER, I. R. Health implications of Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In: STEFFENSEN, D. A.; NICHOLSON, B. C. (Orgs.). **Toxic Cyanobacteria current status of research and management**. Proceedings of an International Workshop. Adelaide. Australia. 1994.

FERNANDES, S. **As Famílias Chlorococcaceae e Coccomyxaceae no Estado de São Paulo: levantamento florístico.** 2008. 158 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica. Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2008.

FRANCO, M. T. O. et al. Ocorrência de cianobactérias em manancial de água no município de Ituiutaba – MG. **Global Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 65-76, 2019.

FREITAS, T. C. et al. Análise qualitativa e toxicológica de uma floração de cianobactérias na Lagoa do Gambá em Ouro Preto, MG, e uma síntese da ocorrência de florações de cianobactérias no Brasil. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 17, n. 3, 17-28, 2012.

FUENTES, E. V. et al. Variação espacial e temporal do fitoplâncton do rio de Contas, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 5, n. 2, p. 13-25, 2010.

FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano.** Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003. 56 p.

GENZ, F. **Avaliação dos efeitos da barragem Pedra do Cavalo sobre a circulação estuarina do Rio Paraguaçu e Baía de Iguaçu.** 2006. 266 f. Tese (Doutorado em Ciências Geologia) – Programa de Pós-graduação em Geologia da Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

GÓIS, J. S.; OLIVEIRA, F. H. P. C. Variação sazonal das cianobactérias como parâmetro para análise da qualidade da água do reservatório Mororó, no município de Pedra/PE. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 7, n. 5, 1015-1023, 2014.

HASLER, P. *Jacksonvillea apiculata* (Oscillatoriales, Cyanobacteria) Gen. & Sp. Nov.: A new genus of filamentous, epipsamic Cyanobacteria from North Florida. **International Phycological Society**, v. 36, p. 284-295, 2017.

HUSZAR, V. L. M.; CARACO, N. The relationship between phytoplankton composition and physical chemical variables: a comparison of taxonomic and morphological functional approaches in six temperate lakes. **Freshwater Biology**, v. 40, n. 4, p. 679-696, 1998.

JUNIOR, A. et al. Composição de Cyanobacteria planctônicas em um reservatório de abastecimento público, Ceará, Brasil. **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 5, n. 1, p. 100-110, 2018.

LEITE, A. R. C.; BIAGIONI, R. C.; SMITH, W. S. Diversidade de cianobactérias em mananciais da bacia do rio Sorocaba, com ênfase nas represas de Itupararanga e Ipaneminha, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 16, n. 1, p. 11-20, 2018.

LIMA, P. F. **Índices de estado trófico, eutrofização e dominância de cianobactérias em açude do Semiárido cearense durante forte déficit hídrico**. 2016. 209 f. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

LIMA, V. H. M. Cianobactérias em reservatórios do estado de Pernambuco: ocorrência e toxicidade. **HOLOS**, v. 33, n. 4, p.111-124, 2017.

LOPES, A. M. M. B. et al. Dinâmica de protozoários patogênicos e cianobactérias em um reservatório de abastecimento público de água no sudeste do Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, n. 1, p. 25-43, 2017.

MACHADO S. L. et al. Fatores ambientais relacionados à ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas no reservatório de Guarapiranga, SP, Brasil. **Revista Ambiente e Água**, vol. 11, n. 4, p. 810-818, 2016.

MESTRINHO, S. S. P. **Estudo do comportamento geoquímico dos metais pesados nos sedimentos da região estuarina do Rio Paraguaçu – Bahia**. 1998. 173 f. Tese (Doutorado em Geociências)

– Programa de Pós-graduação em Geologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

PANOSSO, R. et al. Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 433-449, 2007.

PEREIRA, A. C. A. **Bioindicadores fitoplanctônicos da qualidade da água no estuário do rio Catu, Aquiraz, Ceará**. 2007. 62 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

RAMOS, C. P. S. et al. Cianobactérias e microcistina em águas de rio destinadas ao abastecimento de centro industrial de Caruaru, PE. **Vigilância Sanitária em Debate**, v.4, n. 1, p. 27-35, 2016.

SÁ, L. L. C. et al. Ocorrência de uma floração de cianobactérias tóxicas na margem direita do rio Tapajós, no Município de Santarém (Pará, Brasil). **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, p.159-166, 2010.

SILVA, E. D. et al. Ocorrência de cianobactérias no reservatório de Mundaú, no estado de Pernambuco, no período de janeiro de 2010 a novembro de 2011. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 1, n. 3, p. 35-42, 2013.

SILVA, S. C. F.; PELEJA, J. R. P.; MELO, S. Flutuação temporal de cianotoxinas (Microcistina- LR) no rio Tapajós (Santarém, Amazônia-Brasil). **Scientia Plena**, v. 15, n. 8, 082402, 2019.

SIQUEIRA, D. B.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Cianobactérias de água doce e saúde pública: uma revisão. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 03, n. 1, p. 109-127, 2008.

TEIXEIRA, M. G. L. C. et al. Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica, Bahia, Brazil. **Bulletin of PAHO**, v. 27, n. 3, 244-253, 1993.

Patogenicidade *in vitro* de *Beauveria bassiana*

Jéssica Mourato da Silva

Liza Nadine dos Santos Falcão

Breno de Jesus Brito

Olga Beatriz Alves de Sousa Ferreira

Wendell Marcelo de Souza Perinotto

Ana Karina da Silva Cavalcante

Os principais parasitos de importância para pequenos ruminantes são pertencentes à ordem Strongylida, a qual pertence algumas superfamílias: Trichostrongyloideas; as espécies desses nematóides que causam maiores prejuízos na criação de pequenos ruminantes destacam-se: *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* sp., *Cooperia* sp., *Oesophagostomum* spp. e *Strongyloides papillosus* (BRITO et al., 2009).

O uso indiscriminado na utilização de fármacos para combater as diversas hemoparasitoses ocasionou a resistência parasitária, onde os helmintos já não sofrem a injúria esperada pela ação do medicamento. Um reflexo desse uso abusivo é observado em estudos que demonstram que o mercado internacional de insumos veterinários apresenta um gasto de aproximadamente 15 bilhões de dólares com cerca de 27 % destes para compostos antiparasitários. Já no Brasil, calcula-se cerca de 600 milhões de dólares sobre produtos veterinários, onde 29 % são designados a aquisição de parasiticida. Diante disso, a busca por novas alternativas economicamente viáveis e com menor agressividade ao animal e ao ambiente vem crescendo cada vez mais (MOLENTO; VERISSIMO, 2003).

O ciclo de vida dos nematódeos leva em média de duas a três semanas. Inicia-se quando o parasita adulto elimina os ovos

juntamente com as fezes no meio ambiente, ocorrendo a eclosão da larva de primeiro estágio (L1), que se alimenta de microrganismos e muda para o segundo estágio (L2) que também se alimenta e passa para o terceiro estágio (L3) que contém uma bainha protetora e é a fase infectante, a qual não se alimenta e fica no ambiente à espera do hospedeiro (MORAES, 2002).

A maior parte dos fungos utilizados que contribuem para o controle natural de insetos e das populações de ácaros pertence às ordens Hipocreales e Entomophthorales (DOLINSKI; LACEY, 2007).

O controle biológico trata-se de uma estratégia ecológica que tem como objetivo a diminuição de pragas através da utilização de microrganismos antagonistas naturais. É preciso que o microrganismo selecionado possua algumas características necessárias para o uso nesse controle, tais como, ser eficiente na redução da população do patógeno alvo, ter capacidade de sobrevivência em condições climáticas adversas, possui facilidade ao manejo e produção do fungo *in vitro* em massa, ser de baixo custo e principalmente não ser patogênico para seres humanos e animais (GRONVOLD et al., 1996; FERRAZ et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2017).

Os fungos entomopatogênicos tem aplicações no controle biológico de insetos com grande potencial para o controle no desenvolvimento de populações de insetos sugadores que causam sérios prejuízos à produção de alimentos de origem vegetal (OWNLEY et al., 2008) e animal (KAAYA; HASSAN, 2000), sendo alguns desses fungos testados para o controle de helmintos também (RODRIGUES et al., 1996; PERINOTTO et al., 2018).

Mediante este contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade *in vitro* do fungo *Beauveria bassiana* sobre os estágios imaturos de helmintos gastrointestinais de caprinos.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no *Campus* da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), localizado no município de Cruz das Almas, BA. Os testes foram realizados no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias e no Laboratório de Morfofunção Animal, ambos da UFRB.

O experimento foi composto por três grupos: Controle água e *Tween*, tratado com solução de água e *Tween* 80 a 0,01%; Formulação aquosa de *B. bassiana*, tratado a $1,0 \times 10^7$ conídios/mL da solução fúngica diluída em água e *Tween* 80 a 0,1%; Formulação aquosa de *B. bassiana*, tratado a $1,0 \times 10^8$ conídios/mL da solução fúngica diluída em água e *Tween* 80 a 0,1% (Figura 1); cada grupo foi composto por seis unidades experimentais.

Para realização deste projeto foi utilizado um produto comercial composto por conídios do isolado ESALQ E9 de *B. bassiana*, produzido pela empresa Koppert Biological Systems. Foi preparada uma solução aquosa composta de água destilada estéril e 0,01% de *Tween* 80, na qual foram adicionados os conídios de acordo com a recomendação do fabricante e em seguida, a suspensão foi quantificada em microscópio óptico com o auxílio da câmara de Neubauer, segundo Alves (1998), tendo as concentrações ajustadas para 10^7 e 10^8 conídios/mL.

Figura 1 - Distribuição das amostras. A, Controle água e *Tween*; B, Formulação aquosa de *B. bassiana*, tratado a $1,0 \times 10^7$ conídios/mL; C, Formulação aquosa de *B. bassiana*, tratado a $1,0 \times 10^8$ conídios/mL.



Fonte: Autores (2019).

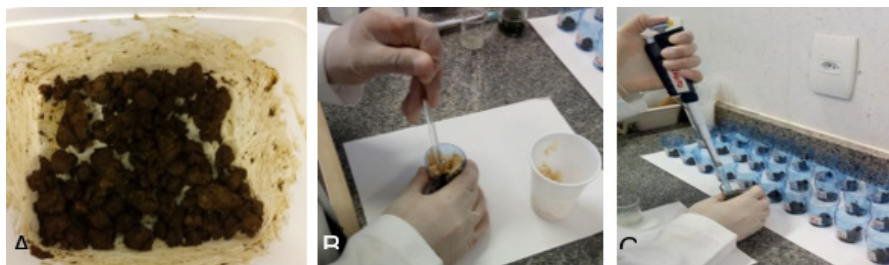
As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de caprinos naturalmente infectados e sem tratamento prévio com anti-helmíntico por 60 dias. As amostras foram avaliadas pela contagem do número de ovos por grama de fezes (OPG), de acordo com técnica de Gordon e Whitlock (1939), que consiste em pesar 2 g de fezes coletada diretamente da ampola retal do animal, diluir em 58 mL de solução hipersaturada de açúcar, homogeneizar, colar e preencher a câmara de McMaster, proceder com a leitura microscópica em aumento de 10x. O valor da contagem dos dois campos da câmara é então multiplicando pelo fator de correção 100, obtendo a quantidade de ovos contidos em 1g de fezes. Em seguida as amostras que apresentassem $OPG \geq 300$ seriam submetidas à confecção do pool das amostras e direcionada para a coprocultura quantitativa.

Para o *pool* de fezes (Figura 2), foram divididas 18 alíquotas de dois gramas para realização da coprocultura quantitativa de acordo com a metodologia de Ueno e Gonçalves (1998), que constitui em 2 g de fezes, 2 mL de água destilada e 2 g de serragem. Sendo assim, no grupo controle foi adicionada água destilada e *Tween* 80 a 0,01 %, junto com as fezes e a serragem e nos grupos tratados adicionou-se as suspensões fúngicas a $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^8$ conídios/mL de *B. bassiana*. Após a homogeneização, as amostras foram tampadas com plástico filme contendo pequenos furos e ficaram acondicionadas em estufa climatizada tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 27° C e UR $\geq 80\%$ por sete dias.

Após esse período, foi feita a retirada das larvas, adicionando-se água destilada até preencher todo o copo da amostra, o qual foi tampado com uma placa de Petri e invertido, em seguida adicionou-se 10 mL de água destilada ao redor do copo e o mesmo ficou em repouso por três horas. Passado esse período, a água destilada foi recolhida, adicionada em tubo tipo Falcon, centrifugado por cinco

minutos a 1500 rpm. Para a quantificação das larvas, foi realizada a leitura de três alíquotas de 10 μ L cada da amostra retirada do precipitado do tubo após a centrifugação e adicionada uma gota de Lugol, dos valores obtidos foi feita a média aritmética.

Figura 2 - A, Pool de fezes caprinas; B, Mistura da maravalha com 2 g de fezes; C, Adição da solução fúngica as alíquotas.



Fonte: Autores (2019).

Os dados foram submetidos à análise descritiva e posteriormente feito a distribuição da normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para os dados paramétricos foi utilizada a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey para a comparação entre as médias a 5 % de significância.

Resultados e discussão

Para preparar as coproculturas quantitativas realizou-se previamente a análise do número de ovos por grama de fezes dos caprinos, por meio da técnica de McMaster. Como descrito na metodologia, foi utilizado um *pool* de fezes, cujo valor de OPG foi de 1000 ovos de trichostrongilídeos/g/fezes. Sendo assim, as amostras estavam aptas a serem utilizadas, pois de acordo com Coles et al. (2006) o valor de OPG deve ser ≥ 300 para fezes de caprinos.

Na quantificação das larvas pode-se observar que o fungo *B. bassiana* foi capaz de diminuir significativamente o número de

helmintos, em ambas as concentrações (10^7 e 10^8 conídios/mL), quando comparado ao grupo controle (Tabela 1).

Tabela 1 - Média $\pm$ desvio padrão de larvas (L3) de *Trichostrongilídeos* recuperadas sete dias após os tratamentos.

Tratamentos	Larvas (L3)
Controle	492,3 $\pm$ 73,8 a
<i>B. bassiana</i> 10^7	113,8 $\pm$ 20,71 b
<i>B. bassiana</i> 10^8	0,08 $\pm$ 0,08 c

Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$). Fonte: Autores (2019).

O motivo da diminuição no número de larvas infectantes nos grupos tratados com o fungo, ainda não está claramente elucidado. Todavia, em estudos prévios utilizando este microrganismo sobre outros parasitos, verificou-se que a força mecânica causada pelo crescimento das hifas e a cutícula fragilizada pela hidrólise enzimática, permitem que o fungo atravesse a cutícula e alcance a hemolinfa do hospedeiro, causando danos mecânicos e morte (BIDOCHKA, KHACHATOURIANS, 1988). Outro fator é que se infere na patogênese do fungo é que os conídios aderem à cutícula e desenvolvem apressórios infectantes que produzem e liberam enzimas extracelulares como proteases, lipases e quitinases, em resposta à constituição química da cutícula (ANDERSEN, 2002). Justificando assim a destruição dos helmintos em fase larval como resultados obtidos no presente trabalho (Figura 3).

Figura 3 - Conídios (*) e larva de helminto (seta): A, Conídios no meio com a larva; B, Destruição da cutícula e entrada do fungo; C, Reprodução do fungo; D, Brotamento.



Fonte: Autores (2019).

Apesar de ter poucos relatos na literatura sobre o uso de fungos entomopatogênicos para uso no controle de helmintos, Rodrigues et al. (1996) demonstraram que a espécie *M. anisopliae*, um fungo de ação similar à de *B. bassiana*, foi capaz de diminuir a população de helmintos ciatostomíneos de equinos.

Ao avaliar o efeito da concentração de conídios, verificou-se que foi na suspensão contendo 10^8 conídios/mL de *B. bassiana*,

que a recuperação de larvas foi menor, diferindo significativamente de ambos os grupos ($P < 0,001$), confirmando a ação destrutiva do fungo sobre os estágios imaturos de helmintos gastrointestinais de caprinos em concentrações maiores. Segundo Gimenes et al (2014), as larvas de *A. aegypti* foram um dos melhores agentes indutores de proteases. Sabendo das semelhanças das diversas espécies, o presente relato corrobora aos resultados encontrados no presente trabalho, onde a alta quantidade de larva favoreceu a indução do aumento na produção das proteases, beneficiando a ação da *B. bassiana* com entomopatogenicidade do controle biológico do parasita-alvo provocando a destruição da mesma.

O aumento da patogenicidade do fungo em concentração de 10^8 conídios/mL de *B. bassiana* justifica-se devido à biodisponibilidade de matéria orgânica utilizada na coprocultura, a umidade controlada e temperatura favorável para o seu desenvolvimento, colonização e destruição do hospedeiro. Como o nitrogênio é essencial para o crescimento de fungos e não está disponível livremente no solo onde o carbono é abundante, a captura direta de compostos de nitrogênio de outras formas vivas é uma vantagem (ZHANG; HYDE 2014), com isso as larvas, em diferentes estados, são susceptíveis à ação bio-nematicida do fungo. Além disso, pode-se inferir também a possível ação interna do fungo no trato digestivo da larva, uma vez que esta se alimenta de microrganismos.

Conclusão

Através dos resultados conclui-se que *B. bassiana* é patogênica para estágios imaturos de helmintos gastrointestinais de caprinos, e que a concentração de 10^8 conídios/mL é a mais indicada, pois promoveu menor recuperação de larvas. Sendo assim, *B. bassiana* apresenta potencial para ser utilizado em programas de controle biológicos dos helmintos gastrointestinais, todavia, salienta-se a

necessidade de mais estudos elucidar a biologia do desenvolvimento do fungo nos helmintos.

Referências

ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 289-381.

ANDERSEN, S. O. Characteristic properties of proteins from pre-ecdysial cuticle of larvae and pupae of the mealworm *Tenebrio molitor*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, p. 1077-1087, 2002.

BIDOCHKA, M. J.; KHACHATOURIANS, G. G. N-Acetyl-D-Glucosamine-mediated regulation of extracellular protease in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, n. 11, p. 2699-2704, 1988.

BRITO, D. R. B; SANTOS, A. C. G.; TEIXEIRA, W. C.; GUERRA, R. M. S. N. C. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da microrregião do Alto Mearim e Grajaú, no estado do Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 967-974, 2009.

COLES, G. C. et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p.167-185. 2006.

DOLINSKI C.; LACEY L. Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruits. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 161-179, 2007.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 306 p.

GIMENES, D. C. et al. Induction of proteases from *Beauveria bassiana* by *Aedes aegypti* larvae and cuticle cicadas. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.3, n.1, p. 41-47, 2014.

GORDON, H. M. C. L.; WHITLOCK, H. V. A. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

GRONVOLD, J. et al. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, n. 64, p. 47-64, 1996.

KAAYA, G.; HASSAN, S. Entomogenous fungi as promising biopesticides for tick control. **Experimental & Applied Acarology**, v. 24, n. 12, p. 913-926, 2000.

MOLENTO, M.B.; VERÍSSIMO, C. J. Método Famacha – nova estratégia no controle de endoparasitoses em pequenos ruminantes. **Veterinária in Foco**, v. 1 p. 17-18. 2003.

MORAES, F. R. **Uso de marcadores imunológicos na avaliação da resposta imune dos ovinos à infecção natural por nematóides e na seleção de animais resistentes às parasitoses**. 2002. 194 f. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias. Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

OLIVEIRA, I. C. et al. **Controle biológico de nematóides gastrintestinais de bovinos através da utilização de fungo nematófago *Arthrrobotry scladodes***. 2017. 51 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2017.

OWNLEY, B. H. et al. *Beauveria bassiana*: Endophytic colonization and plant disease control. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 28, p. 267-270, 2008.

PERINOTTO, W. M. S.; SILVA, J. M.; CAVALCANTE A. K. S.; FALCÃO, L. N. S.; PAIVA, C. C. L.; AMORIM, A. S.; JUNIOR, G. S. L.; SANTOS, R. A. M. Efeito de formulação comercial de *Metarhizium anisoplae* sobre estágios imaturos de helmintos gastrintestinais de caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 20, Londrina, 2018. **Anais...** Londrina: UEL, 2018. p. 345.

RODRIGUES, M. L. A. et al. A. Efeito do fungo *Metarhizium anisoplie* sobre estágio pré-parasíticos de Cyathosminae (Nematoda: Strongylidae). **Ciência Rural**, v. 26, n. 2, p. 301-303, 1996.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico de helmintos de ruminantes**. 4. ed., Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.

ZHANG, K. Q.; HYDE, K. D. **Nematode trapping fungi**. Fungal Diversity Research Series, v. 23, 392 p, 2014.

Enzimas de leveduras isoladas de vegetação sobre rocha

*Tiago Santos Freitas
Márcia Luciana Cazetta*

As leveduras são microrganismos eucariotos unicelulares que apresentam uma notável diversidade metabólica e bioquímica. Em função disso, encontram-se amplamente distribuídas, podendo ser encontradas em todos os biomas e continentes (HITTINGER et al., 2015). Atualmente, já foram descritos mais de 100 gêneros de leveduras, que incluem cerca de 900 espécies. No entanto, estimativas sugerem que esse número representa cerca de, apenas, 1% das espécies que ocorrem na natureza (HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017; LI et al., 2020).

São inúmeras as pesquisas voltadas para produção de substâncias de interesse biotecnológico por leveduras, entretanto, as enzimas são algumas das moléculas mais estudadas e produzidas. Devido à grande diversidade de espécies, as enzimas microbianas apresentam uma grande plasticidade, algumas com grande resiliência a variações de pH, temperatura e salinidade, o que as torna ideais para aplicações industriais, como as lipases, proteases, amilases e celulasas empregadas nas indústrias de detergentes, couro, alimentos, bebidas e cosméticos (JUTURU; WU, 2014; AGUILAR; SATO, 2018; JAVED et al., 2018).

As plantas são habitats bastante propícios para o isolamento de leveduras, uma vez que, por meio da fotossíntese, açúcares e outros compostos são produzidos, disponibilizando substratos para seu crescimento. Uma diversidade de tecidos vegetais tem sido descrita

como micro-habitats para leveduras como filoplano, flores, nectários e frutos (RUIVO et al., 2006; CAMARGO et al., 2016; MARTINS et al., 2018; LI et al., 2020). A heterogeneidade deste micro-habitat influencia na diversidade de leveduras, sendo que cada comunidade ocupa um microambiente específico.

No entanto, comparando-se com estudos em regiões temperadas, existem ainda poucas pesquisas sobre a diversidade de leveduras em ambientes tropicais. Esses estudos vêm ganhando espaço em diversas linhas de pesquisa, que evidenciam a riqueza da biodiversidade de leveduras, com descrição de várias espécies novas, das diferentes regiões brasileiras como Mata Atlântica, Cerrado e Floresta Amazônica (LOPES et al., 2018; CAMARGO et al., 2016; CAMARGO et al., 2018; MORAIS et al., 2020).

No Brasil, existem muitas regiões ainda inexploradas quando se trata de bioprospecção microbiana. Um exemplo é a Serra da Jiboia, localizada na região do Recôncavo Sul da Bahia, e constituída por um conjunto de morros (Pioneira, Monte Cruzeiro, Oiti, Água Branca, entre outros). Situados entre os domínios de Mata Atlântica e Caatinga, apresentam vários tipos vegetacionais, como campos rupestres nos afloramentos rochosos, mata ombrófila densa nas encostas e caatinga (JUNCÁ; BORGES, 2002; BLENGINI et al., 2015).

Desde o início dos anos 2000 o Ministério do Meio Ambiente lista a Serra da Jiboia entre as áreas ainda insuficientemente conhecidas, mas de provável valor biológico para a conservação prioritária no Brasil (MMA, 2000), com uma das biodiversidades menos conhecidas do Corredor Central da Mata Atlântica (BLENGINI et al., 2015). Assim, o objetivo deste trabalho foi isolar e avaliar o potencial enzimático de leveduras isoladas da Serra da Penha e Morro da Pioneira, localizadas no Recôncavo Sul da Bahia.

Material e métodos

As leveduras foram isoladas da vegetação de dois afloramentos sobre rocha: Serra da Penha (Figura 1A) e Morro da Pioneira (também conhecido como Morro das Antenas) localizado dentro do complexo de morros da Serra da Jiboia (Figura 1B), no Recôncavo Sul da Bahia e situados, respectivamente, nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, coordenadas 12°46'19" sul e longitude 39°31'24" oeste, município de Santa Terezinha, Bahia.

As leveduras foram isoladas de flores e frutos da vegetação sobre rocha. Nas flores grandes executou-se uma raspagem com alça de inoculação esterilizada, na região do nectário e posterior transferência para tubos de ensaio contendo solução salina a 0,85%. Flores e frutos pequenos foram coletados e transferidos inteiros para tubos de ensaio contendo solução salina. Em seguida, 100 µL da solução salina foram transferidos para placas de Petri contendo o meio de isolamento YMA (g/L): extrato de levedura 3, extrato de malte 3, peptona 5, glicose 10, ágar 15, cloranfenicol 0,1 mg/mL e pH 4. Colônias morfológicamente distintas foram isoladas e transferidas para placas de Petri contendo meio GYMP (g/L): glicose 20, extrato de malte 10, extrato de levedura 5, NaH_2PO_4 2, ágar 20, para isolamento e purificação dos isolados. Os isolados foram preservados em glicerol a 20% em freezer. Após crescimento nas placas, os isolados foram agrupados de acordo com as características morfológicas: cor, textura (lisa e rugosa) e aparência (opaca e brilhante).

Figura 1 - Vegetação sobre afloramento de rocha. A, Serra da Penha; B: Morro da Pioneira, município de Santa Terezinha, Bahia.



Fonte: Autores (2015).

Para determinação da produção de enzimas foi utilizado o método de plaqueamento em meio sólido. As colônias foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio YP (extrato de levedura 1% e peptona 2%) acrescido de amido, caseína ou carboximetilcelulose, para os testes de produção das enzimas amilase, protease e celulase, respectivamente. Posteriormente, as placas foram incubadas a uma temperatura de 25 ± 2 °C de 3 a 5 dias. Após o crescimento dos microrganismos, a capacidade de produção das enzimas foi analisada por meio das medidas do halo de hidrólise em torno das colônias. Nos meios contendo amido e carboximetilcelulose foram adicionadas soluções de lugol e de Vermelho Congo 1%, respectivamente, para visualização do halo de hidrólise. A atividade proteolítica foi observada pela formação de uma zona clara ao redor da colônia. O cálculo do Índice Enzimático (IE) foi determinado por meio da relação entre o diâmetro médio do halo (cm) e o diâmetro médio da colônia (cm). Para a produção de amilase foram considerados os seguintes valores: $IE \leq 1,5$ cm indicou produção fraca, $IE \geq 1,6$ cm e $\leq 2,4$ cm indicou produção intermediária e $IE \geq$ de 2,5 cm, produção forte. Para determinar a produção de protease foram utilizados os seguintes valores de IE: $\leq 0,5$ cm foram considerados fracos; $\geq 0,6$ cm e $\leq 0,9$ cm foram considerados

intermediários e $\geq 1,0$ cm foram considerados fortes (MAUTONE et al., 2010). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Resultados e discussão

Foram isoladas 79 cepas, sendo 66 oriundas da Serra da Penha e 13 do Morro da Pioneira. Os isolados foram agrupados de acordo com suas características morfológicas, sendo obtidos 17 grupos fenotipicamente distintos da Serra da Penha e 6 do Morro da Pioneira (Quadro 1).

Quadro 1 - Agrupamento por meio de características morfológicas das leveduras isoladas da vegetação sobre rocha da Serra da Penha e do Morro da Pioneira, município de Santa Terezinha, Bahia.

Grupo	Código dos isolados	Pigmentação	Textura	Aparência
Isolados da Serra da Penha				
1	*P-22/ P-33/ P-E2	rosa a vermelho	lisa	brilhante
2	P-02/ P-05/ P-35	vermelha	lisa	brilhante
3	P-08/ P-D1/P-D2/P-N6	rosa	rugosa	opaca
4	P-06/P-09/ P-30/P-F2	rosa	lisa	opaca
5	P-03/ P-L1/P-N3/P-N5	branca	rugosa	opaca
6	P-04/P-13/P-17/P-24/P-27/P-28/P-32/P-M7	branca	lisa	opaca
7	P-11/P-12/P-J1/P-J2	branca	lisa	brilhante
8	P-12/P-16/P-23/P-29/P-31	branca a creme	lisa	opaca
9	P-01/P-07/P-20/P-L2/P-L3/P-M1/P-M3/P-N1	creme	lisa	opaca
10	P-18/P-19/P-25/P-34/P- H1/P-M9/P-N7	creme	lisa	brilhante
11	P-E1/P-F1/P-N2	creme	rugosa	opaca
12	P-21	creme amarelado	lisa	brilhante
13	P-26/P-N4	creme amarelado	lisa	opaca
14	P-M2	amarela	rugosa	opaca
15	P-H2/P-M4	marrom	rugosa	opaca
16	P-M5/ P-M6	marrom	lisa	opaca
17	P-11/P-14/P-15/P-M8	negra	lisa	opaca
Isolados da Serra da Pioneira				
1	**Pi-B2/ Pi-B5/ Pi-C1/ Pi-A4	rosa a vermelho	lisa	brilhante
2	Pi-B1	rosa a vermelho	lisa	opaca
3	Pi-B4	branca	lisa	brilhante
4	Pi-C2/ Pi-C3/ Pi-C4	branca	lisa	opaca
5	Pi-A1/ Pi-A2/ Pi-B3	creme	lisa	brilhante
6	Pi-A3	creme	rugosa	opaca

*P: Leveduras da Serra da Penha; **Pi = Levedura do Morro da Pioneira.

Fonte: Autores (2020).

De acordo com as características morfológicas foi possível observar que a cor clara (branco a creme) predominou em 60% dos isolados, seguido das cores rosa a vermelho, com 24%. Também foram predominantes os isolados que apresentaram textura lisa (80%) e opaca (67%). Esses resultados foram semelhantes aos descritos por Camargo et al. (2018) para leveduras isoladas de frutas do cerrado, ninhos de frango e usinas de açúcar e álcool, onde também predominaram os isolados com cor clara, textura lisa e aparência opaca. Entretanto, entre os isolados da Serra da Penha foram encontradas, também, leveduras de cor amarela e com coloração escura, de marrom a negro.

Leveduras negras são muito associadas a doenças em humanos e animais. A presença de melanina e carotenos na parede celular é responsável pela cor escura (SEYEDMOUSAVI et al., 2014). O isolamento destas leveduras na Serra da Penha pode estar relacionado à forte ação antropogênica na região, como a agricultura familiar e criação de animais domésticos, como caprinos e bovinos, que circulam livremente pela serra. As cores vermelhas e amarelas de colônias de leveduras são características de pigmentos carotenóides (LI; SWOFFORD; SINSKEY, 2020), o que sugere que os isolados da Serra da Penha e do Morro da Pioneira tem potencial para produção de pigmentos naturais de interesse comercial. Além de pigmentos, flores e frutos nativos do Brasil têm sido descritos como ambientes favoráveis para isolamento de leveduras produtoras de compostos aromáticos e compostos fenólicos antioxidantes (GRONDIN et al., 2015; BARROS et al., 2019; OTERO et al., 2019). Isso reforça a importância da bioprospecção de leveduras em ambientes ainda pouco estudados.

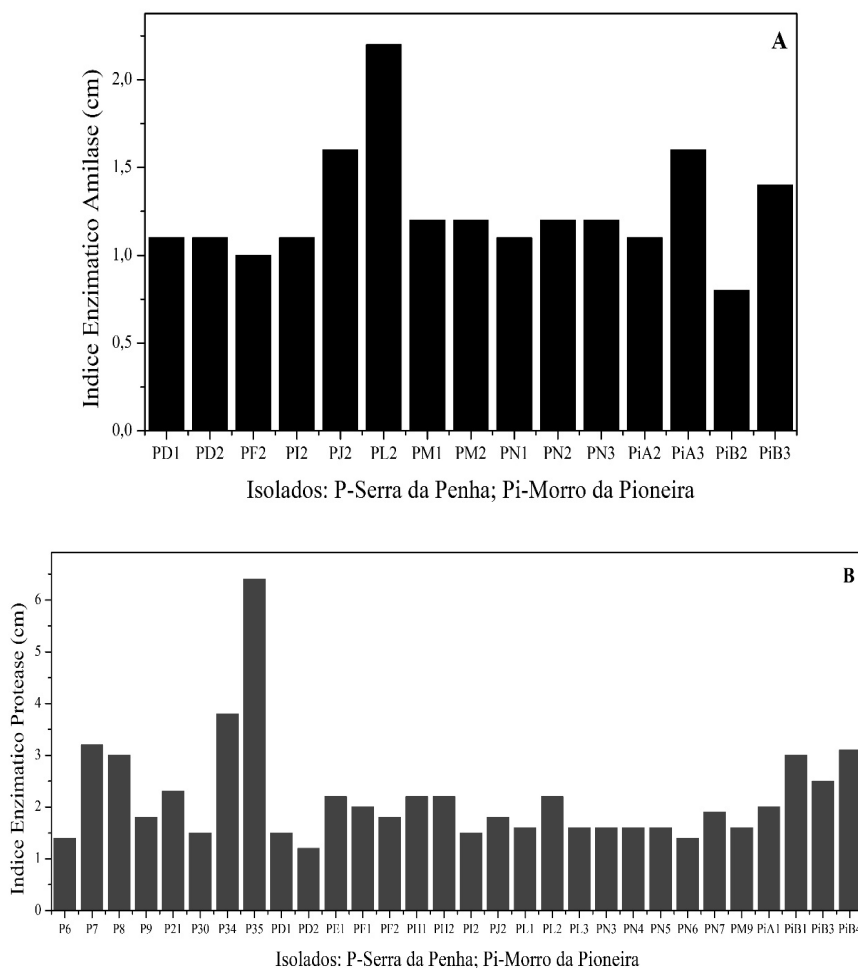
Segundo Stamford et al. (1998), a relação direta entre o tamanho do halo e a capacidade degradativa das leveduras torna possível a determinação da atividade enzimática por difusão radial,

utilizando meio sólido. Essa metodologia é muito simples e de custo relativamente baixo, sendo bastante conveniente para realização de levantamentos, de forma rápida, do potencial biotecnológico de isolados microbianos, especialmente quando existe um grande número de amostras (OBASE et al., 2011; SUNITHA; DEVI; SRINIVAS, 2013).

Do total de isolados de leveduras (79) quase 20% apresentaram produção de amilases, 38% de proteases e cerca de 10% dos isolados apresentaram tanto atividade proteolítica quanto amilolítica, corroborando com os resultados de leveduras isoladas de filoplano de plantas tropicais por Mautone et al. (2010). A capacidade de produzir várias enzimas não é incomum, pois Soliman et al. (2017) descreveram o isolamento de uma levedura capaz de produzir as enzimas amilase, protease, lipase e catalase. Dentre os isolados da Serra da Penha, 17% mostraram atividade de amilase e cerca de 40% de protease, enquanto no Morro da Pioneira 31% tiveram atividade amilolítica e 31% apresentaram atividade proteolítica.

Entre os isolados produtores de amilase, 80% apresentaram atividade fraca. Apenas 3 isolados (20%) apresentaram atividade amilolítica intermediária, destacando-se o isolado P-L2, com IE de 2,2 cm (Gráfico 1A). Dentre os isolados produtores de protease, todos apresentaram IE igual ou superior a 1,0 cm, indicando forte atividade enzimática, com destaque para o isolado P-35, com IE de 6,4 cm, mostrando excelente potencial para a produção desta enzima (Gráfico 1B).

Gráfico 1 - Índices enzimáticos (cm) apresentados pelos isolados da Serra da Penha e Morro da Pioneira. A, atividade de amilase; B, atividade de protease.



Fonte: Autores (2020).

Diversos são os estudos que descrevem a produção de amilase e protease por leveduras isoladas de várias partes de plantas. Landell (2006), ao analisar leveduras isoladas do filopiano de bromélias, observou 40,2% dos isolados com atividade amilolítica. Para os isolados de folhas de figueiras no Parque Itapuã (RS),

Mautone (2008) descreveu que 29,1% das cepas foram produtoras da enzima amilase. Mautone et al. (2010) observaram que cerca de 15% das leveduras isoladas de plantas tropicais produziram amilases e 56% foram produtoras de proteases, entre caseinase e gelatinase. Hesham et al. (2017) descreveram que cerca de 22% de leveduras isoladas de frutas, vegetais e solo apresentaram elevada produção de proteases neutras e ácidas. De acordo com Costa et al. (2011) estas variações encontradas na produção de enzimas podem ser explicadas pela variabilidade nos habitats de onde os microrganismos são isolados. As leveduras que habitam plantas têm como principal substrato os exsudados vegetais, que são produzidos em pequena quantidade e de forma transitória, e sua capacidade de produzir amilase e protease mostram a grande versatilidade nutricional destes microrganismos (MAUTONE et al., 2010).

Neste trabalho nenhum dos isolados apresentou produção de celulase. Provavelmente, o tipo de substrato presente nas flores não favoreceu o isolamento de leveduras produtoras desta enzima, pois a literatura descreve o isolamento de leveduras produtoras de celobíases e xilanases em madeira podre, como descrito por Lopes et al. (2018) na Mata Atlântica e Morais et al. (2020) no Cerrado e Floresta Amazônica.

Conclusão

O grande número de grupos formados pelos isolados da Serra da Penha e do Morro da Pioneira, de acordo com as características morfológicas, sugere que existe uma considerável diversidade de leveduras na vegetação dos afloramentos sobre rocha do Recôncavo Sul da Bahia. A análise do perfil enzimático dos isolados revelou que eles apresentam relevante capacidade para a produção de enzimas. Estes resultados mostram o grande potencial biotecnológico da região, e os estudos de bioprospecção microbiana devem ser aprofundados,

pois podem revelar novas espécies com capacidade de produção de diversas substâncias de interesse comercial e científico.

Referências

AGUILAR, J. G. S.; SATO, H. H. Microbial protease: Production and application in obtaining protein hydrolysates. **Food Research International**, v. 103, p. 253-262, 2018.

AUER, C. G. et al. Atividade degradativas de celulose e de fenóis por fungos isolados de acículas de *Pinus taeda*. **Floresta**, v. 44, n. 2, p. 179-184, 2014.

BARROS, R. G. C. et al. Enhancement of phenolic antioxidants production in submerged cultures of endophytic microorganisms isolated from achachairu (*Garcinia humilis*), araca-boi (*Eugenia stipitata*) and bacaba (*Oenocarpus bacaba*) fruits. **LWT-Food Science and Technology**, v. 111, p. 370-377, 2019.

BLENGINI, I.A. D. et al. (Org.). **Proposta de unidade de conservação da Serra da Jibóia**. Salvador: Gambá, 2015. 226 p.

CAMARGO, F. P. et al. A comparison between cactophilic yeast communities isolated from *Cereus hildmannianus* and *Praecereus euchlorus* necrotic cladodes. **Fungal Biology**, v. 120, p. 1175-1183, 2016.

CAMARGO, J. Z. et al. Biochemical evaluation, molecular characterization and identification of novel yeast strains isolated from Brazilian savannah fruits, chicken litter and a sugar and alcohol mill with biotechnological potential for biofuel and food industries. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 390-399, 2018.

COSTA, S. T. C; ABREU-LIMA, T. L.; CARREIRO, S. C. Atividade amilolítica de leveduras isoladas de batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). **Revista de Biociências da Universidade de Taubaté**, v. 17, n. 2, 2011.

GRONDIN, E. et al. A comparative study on the potential of epiphytic yeasts isolated from tropical fruits to produce flavoring compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 203, p. 101-108, 2015.

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology Spectrum**. v. 5, p. 1-2, 2017.

HITTINGER, C. T. et al. Genomics and the making of yeast biodiversity. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 35, p. 100-109, 2015.

JAVED, S. et al. Bacterial lipases: a review on purification and characterization. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 132, p. 23-34, 2018.

JUNCÁ, F. A.; BORGES, C. L. S. Fauna associada a bromélias terrícolas da Serra da Jiboia, Bahia. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 2, n. 1-2, p. 73-81, 2002.

JUTURU, V.; WU, J. C. Microbial cellulases: engineering, production and applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 33, p. 188-203, 2014.

LANDELL, M. F. **Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos leveduriformes associadas ao filoplano de bromélias do Parque de Itapuã, Viamão, RS**. 2006. 136 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LI, A. H. et al. Diversity and phylogeny of basidiomycetous yeasts from plant leaves and soil: proposal of two new orders, three new families, eight new genera and one hundred and seven new species. **Studies in Mycology**, v. 96, p. 17-140, 2020.

LI, C.; SWOFFORD, C. A.; SINSKEY, A. J. Modular engineering for microbial production of carotenoids. **Metabolic Engineering Communications**, v. 10, e0018, 2020.

LOPES, M. R. et al. Characterisation of the diversity and physiology of cellobiose fermenting yeasts isolated from rotting wood in Brazilian ecosystems. **Fungal Biology**, v. 122, p. 668-676, 2018.

MARTINS, G. M. et al. The isolation of pentose-assimilating yeasts and their xylose fermentation potential. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 162-168, 2018.

MAUTONE, J. N. **Diversidade e potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de folhas de Figueira do Parque de Itapuã, RD, Brasil**. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MAUTONE, J. N. et al. Phylloplane yeasts as a source of industrially interesting enzymes. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 2, p. 169-173, 2010.

MORAIS, C. G. et al. Production of ethanol and xylanolytic enzymes by yeasts inhabiting rotting wood isolated in sugarcane bagasse hydrolysate. **Fungal Biology**, v.124, p. 639-647, 2020.

Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos**. Brasília: MMA/SBF, 2000.

OBASE, K. et al. Enzyme activity of *Cenococcum geophilum* isolates on enzyme-specific solid media. **Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 125-128, 2011.

OTERO, D. M. et al. Carotenoid-producing yeasts in the Brazilian biodiversity: isolation, identification and cultivation in agroindustrial waste. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 01, p. 117-129, 2019.

ROSA, C. A. et al. *Candida floscolorum* sp. nov. and *Candida floris* sp. nov., two yeast species associated with tropical flowers. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, p. 2970-2974, 2008.

RUIVO, C. C. C. et al. *Candida heliconiae* sp. nov., *Candida picinguaibensis* sp. nov.; *Candida saopaulonensis* sp. nov., three ascomycetous yeasts from *Heliconia velloziana* (Heliconiaceae). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 56, p. 1147-1151, 2006.

SEYEDMOUSAVI, S. et al. Black yeasts and their filamentous relatives: principles of pathogenesis and host defense. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 27, n. 3, p. 527-542, 2014.

SOLIMAN, H.; ELSAYED, A.; DYAA, A. Enzymatic activity and growth pattern for isolated yeast. **Life Science Archives (LSA)**, v. 3, n. 5, p. 1177-1182, 2017.

STAMFORD, T. L. M.; ARAÚJO, J. M.; STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, 1998.

SUNITHA, V. H.; DEVI, D. N.; SRINIVAS, C. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 9, n. 1, p. 01-09, 2013.

Resistência antimicrobiana e fatores de virulência em *Aeromonas*

*Norma Suely Evangelista-Barreto
Iara Fonseca Souza
Mariza Alves Ferreira
Manuela Oliveira Pereira
Elaine Araújo de Carvalho
Moacyr Serafim Junior*

O gênero *Aeromonas* compreende um grupo de bactérias com distribuição ubíqua em habitats naturais, incluindo o ambiente aquático, onde espécies como *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. salmonicida* e *A. veronii* biovar *sobria* causam doenças em peixes marinhos e têm sido relatadas como importantes patógenos oportunistas humanos capazes de causar gastroenterite, septicemia, infecções da pele e dos tecidos moles, sepse abdominal/peritoneal e infecções do trato hepatobiliar. A infecção também pode ocorrer após o contato com água ou peixes contaminados (JANDA; ABBOTT, 2010; HOSSAIN et al., 2019). A patogenicidade de *Aeromonas* está ligada à produção de várias enzimas hidrolíticas extracelulares, como lipases e proteases, que auxiliam na invasão bacteriana e no estabelecimento da infecção (ODEYEMI; AHMAD, 2017).

A resistência de espécies de *Aeromonas* a diversos grupos de antimicrobianos tem preocupado os órgãos de saúde humana, pois as bactérias resistentes podem se espalhar do ambiente aquático para os seres humanos por meio da cadeia alimentar ou contato direto (TAYLOR et al., 2011). Além disso, mutações e outras alterações genéticas no genoma bacteriano são a base da resistência antimicrobiana. Essas alterações genéticas podem ocorrer de diversas maneiras, incluindo mutação espontânea e aquisição de elementos

genéticos móveis, como plasmídeos e integrons (GUARDABASSI et al., 2020 apud PEIXOTO et al., 2010 p. 456).

A cidade de Maragogipe, Bahia, está inserida na Resex-mar da Baía do Iguape, no estado da Bahia, e se destaca pela importância social da pesca, pois grande parte da população sobrevive dos recursos pesqueiros, principalmente do extrativismo de moluscos. A qualidade desses recursos pesqueiros tem sido comprometida devido ao aumento populacional e a precariedade dos serviços de saneamento no meio urbano e rural. A degradação crescente dos recursos hídricos pela ação antropogênica tem levado os pescadores artesanais a comercializarem seu pescado com alta carga microbiana, principalmente, de origem fecal (SERAFIM-JÚNIOR et al., 2018).

Devido à existência de poucas informações sobre a resistência de *Aeromonas* spp. isoladas do ambiente aquático aos antimicrobianos usados na terapia humana, este estudo teve como objetivo o isolamento e identificação de *Aeromonas* spp. em amostras de água e ostras nativas no estuário do rio Paraguaçu, Resex-mar da Baía do Iguape, para verificar a presença de fatores fenotípicos de virulência e o perfil de resistência antimicrobiana a antimicrobianos comerciais usados na terapia humana e veterinária.

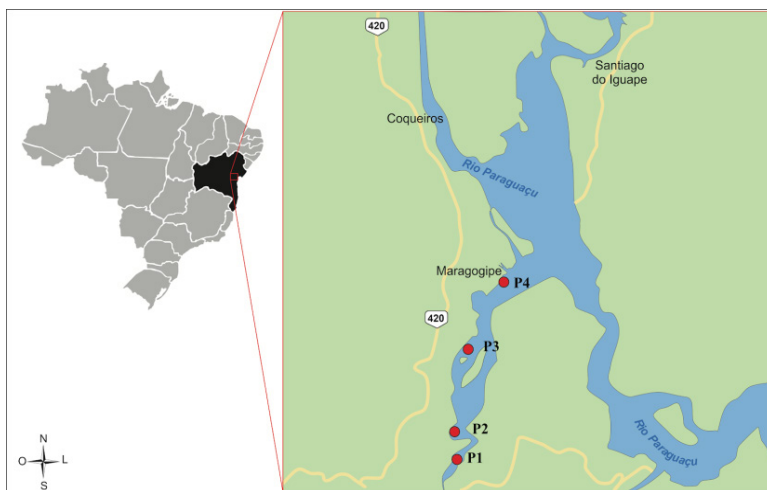
Material e métodos

Área de estudo

Durante o período de abril a dezembro de 2016 foram realizadas nove coletas de ostras e água (24 ostras e 2 litros de água/ ponto de coleta/ mês) no estuário que abrange as comunidades de pescadores quilombolas de Capanema e Baixão do Guaí, banhados pelos rios Paraguaçu e Cachoeirinha, no município de Maragogipe, Bahia. As coletas de água foram realizadas nos pontos P1 na comunidade de Baixão do Guaí (rio Guaí -12°50'61"S e 38°56'11"O); ponto P2 na comunidade de Capanema (rio Cachoeirinha - 12°50'61"S e

38°56'31"O); ponto P3 na foz do rio Cachoeirinha entre a comunidade de Capanema e o porto do Cajá (12°48'25"S e 38°55'38"O) e ponto P4 no atracadouro da cidade de Maragogipe (ponte do Cajá - 12°47'22"S e 38°55'16"O) (Figura 1).

Figura 1 - Pontos de coleta de amostragem dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. P1 (Baixão do Guai), P2 e P3 (Capanema) e P4 (Maragogipe).



Fonte: Autores (2016).

Os pontos foram escolhidos de acordo com a influência urbana (P1 e P2), área de manguezal (P3), e, atracadouro, que é um ponto de entrada e saída de embarcações (P4). Para a análise da carne das ostras, as ostras foram coletadas nos mangues das comunidades de Capanema e Baixão do Guai.

Análise microbiológica

As ostras foram lavadas em água corrente e abertas assepticamente para a retirada do músculo e do líquido intervalvar. Após homogeneização, foi retirada uma alíquota de 25 g/ amostra. Para o isolamento da bactéria foi realizado o teste de presença ou

ausência (P/A), seguindo a metodologia proposta em Silva et al. (2010). Para a identificação bioquímica das espécies de *Aeromonas* spp. foi utilizada a chave de identificação Aerokey II proposta por Carnahan et al. (1991).

Parâmetros físico-químicos

As variáveis salinidade, temperatura e pH foram determinadas durante cada amostragem. As medidas foram realizadas usando sonda multiparâmetros, modelo Hanna.

Resistência antimicrobiana

As cepas de *Aeromonas* foram avaliadas frente a 18 antimicrobianos, pertencentes às famílias: Aminoglicosídeo (gentamicina 10 µg e amicacina 30 µg); β-lactâmico (ampicilina 10 µg, cefalotina 30 µg, cefoxitina 30 µg, ceftazidima 30 µg, cefepima 30 µg, imipenem 10 µg, aztreonam 30 µg, amoxicilina 10 µg, oxacilina 10 µg), Anfenicol (cloranfenicol 30 µg); Glicopeptídeo (vancomicina 30 µg); Nitrofurano (nitrofurantoina 300 µg); Quinolona (ácido nalidíxico 10 µg e ciprofloxacino 5 µg); Sulfonamida (sulfazotrin 23,75/1,25 µg) e Tetraciclina (tetraciclina 30 µg).

A suscetibilidade aos antimicrobianos foi avaliada pela técnica de difusão de disco em placa, seguindo a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2015). Também foi calculado o índice de resistência aos antimicrobianos (ARI) (JONES et al., 1986) e a múltipla resistência antimicrobiana (MRA) conforme Krumperman (1983).

Perfil de virulência

Para a detecção de enzimas (fatores fenotípicos de virulência), as cepas foram cultivadas em ágar triptona de soja - TSA suplementado com 0,5% de gelatina (gelatinase), 5% de leite em pó desnatado (caseína), 1% de emulsão de ovo (fosfolipase), Tween 80 a 1% (lipase), 0,1% de amido (amilase) e em ágar DNase suplementado com 0,01% de cloreto de tolônio (DNase). As placas foram incubadas a 37°C por 24-48 horas e a formação de um halo transparente ou

opalescente indicava a positividade dos testes (AUSTIN et al., 2007; CABRERA-RODRÍGUEZ et al., 2008; HONGPING et al., 2011).

Resultados e discussão

Ao longo do monitoramento, se observou a presença de *Aeromonas* spp. em 28% das amostras de água nos pontos P2 (Capanema) e P4 (Maragogipe). As espécies foram identificadas como *A. schubertii* em 50% (n=5) dos isolados, seguido de *A. trota* com 30% (n=3) e *A. jandaei* com 20% (n=2). Essas espécies apresentam ampla distribuição geográfica, encontradas, principalmente em resíduos de origem fecal sob condições precárias de higiene, desencadeando prejuízos econômicos para a aquicultura (HARNISZ; KORZENIEWSKA, 2018).

Os pontos em que as bactérias foram isoladas sofrem influência rural (P2) e urbana (P4), favorecendo o desenvolvimento de microrganismos no ambiente. Este fato se agrava devido à descarga de esgoto doméstico e ao descarte de resíduos domiciliares de forma incorreta. Estas condições expõem a população a infecções causadas por diversos patógenos, sugerindo que o ambiente aquático está envolvido no transporte e disseminação desses microrganismos, desencadeando uma série de riscos à saúde da população local (SILVA et al., 2014).

De acordo com os dados ambientais do período de coletas, a temperatura média da água nos pontos onde foi isolada *Aeromonas* spp. foi de $29,31 \pm 2,03^{\circ}\text{C}$ e $28,86 \pm 1,19^{\circ}\text{C}$, respectivamente para Capanema e Maragogipe. O valor médio do pH variou de $7,46 \pm 0,54$ (P2) a $7,57 \pm 0,46$ (P4) e a salinidade média registrada em Capanema foi de $23,47 \pm 5,66$ ppt e em Maragogipe de $29,13 \pm 1,97$ ppt.

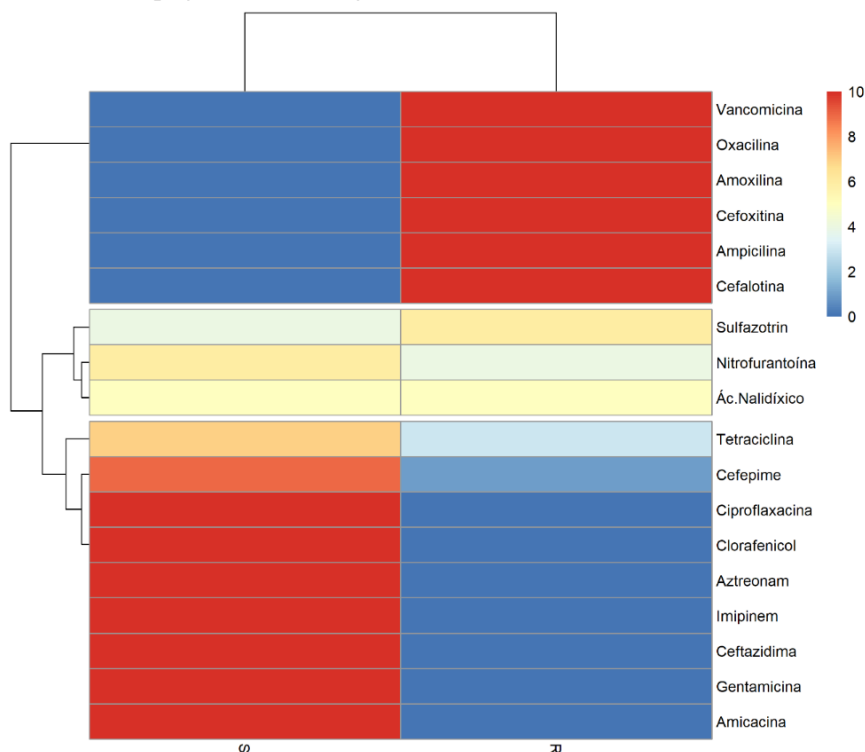
A sobrevivência de *Aeromonas* no ambiente não depende apenas da temperatura, salinidade e pH, mas também da incidência

de radiação solar e da disponibilidade de nutrientes do ambiente. O aumento no nível do mar pode gerar a entrada de água salgada em cursos de água doce no litoral podendo resultar em salinidades flutuantes e frequentemente altas, desestabilizando o ambiente aquático. Adicionalmente, outro fator que interfere em oscilações na salinidade dos corpos d'água é quando o grau de evapotranspiração excede o grau de precipitação (MAALEJ et al., 2003; SILVA et al., 2014).

Não foi constatada a presença de *Aeromonas* nas amostras de ostras. Este fato pode ser justificado quando se tem baixa densidade microbiana em tecidos de ostras e, nesse caso, a ação de enzimas lisozimas sintetizadas nos hemócitos e presente na hemolinfa atuam no rompimento da parede celular dos microrganismos, como mecanismo de defesa contra a invasão de bactérias patogênicas (XUE et al., 2010). No entanto, ressalta-se a importância da qualidade da água, por ser o habitat natural dos organismos aquáticos, onde os níveis de poluição comprometem a inocuidade desses organismos, podendo servir de veículo à saúde humana (BIANCHI et al., 2019).

A análise do dendrograma com agrupamento hierárquico, por meio do *Heat map*, apresenta uma visão global do perfil de resistência das espécies de *Aeromonas* estudadas de acordo com a suscetibilidade aos antimicrobianos testados (Figura 2). Todas as cepas apresentaram perfil de resistência a, no mínimo, sete fármacos e, no máximo, 10 antimicrobianos. Este resultado foi observado para *A. schubertii* que apresentou perfil de resistência aos β -lactâmicos (ampicilina, cefoxitina, amoxicilina, oxacilina), glicopeptídeos (vancomicina), quinolonas (ácido nalidíxico e ciproflaxacina), sulfonamida (sulfazotrin) e tetraciclina (tetraciclina). Merece destaque a resistência observada para as três espécies de *Aeromonas* aos antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos (ampicilina, amoxicilina e oxacilina) e das cefalosporinas de primeira geração (cefalotina) e segunda geração (cefotaxima).

Figura 2 - A, Agrupamento não hierárquico de *K-means*: cluster 1 (sensível); clusters 2, 3 e 5 (parcialmente resistente); cluster 4 (resistente). B, Dendrograma de agrupamento hierárquico com base na distância euclidiana.



Fonte: Autores (2016).

Com base no processo de clusterização (Figura 2A), o nível de suscetibilidade aos antimicrobianos foi distribuído também, em níveis de resistência. Esse tipo de perfil foi constatado em todas as espécies analisadas a, pelo menos, três dos fármacos agrupados. A distribuição permite observar a formação de cinco agrupamentos de acordo com o grau de resistência exibido pelas três espécies de *Aeromonas*; é possível constatar a proximidade do cefepima ao grupo 1 (sensível), pois somente 10% das cepas apresentou resistência a esse antimicrobiano. Um segundo grupo foi formado em torno da nitrofurantoína (40%) e tetraciclina (30%); na sequência, temos os

antimicrobianos sulfazotrin (60%) e ácido nalidíxico (50%) que, devido a mais de 50% das espécies apresentarem resistência, mantiveram uma certa proximidade ao grupo formado por 100% de resistência.

Na Figura 2 é possível, também, confirmar a alocação dos antimicrobianos em cinco grupos com base na distância euclidiana, demonstrando a grau de dissimilaridade, ou seja, o grupo resistente formou um grupo mais distante, seguido do grupo sensível e os demais grupos que se tornam mais próximos à medida que o percentual de resistência diminui. Evangelista-Barreto et al. (2010), ao isolarem sete diferentes espécies de *Aeromonas* no rio Cocó no Ceará/Brasil, verificaram que 60% dos isolados apresentavam resistência a pelo menos um antimicrobiano.

Dos 30% das aeromonas que apresentaram resistência à tetraciclina, 50% foram identificados como *A. jandaei* e 40% como *A. schubertii*. A tetraciclina é um antimicrobiano de amplo espectro usado no tratamento de várias infecções em humanos e animais (CLSI, 2015). A resistência aos antimicrobianos está intimamente associada aos mecanismos inerentes à bactéria em função dos fatores ambientais (HARNISZ; KORZENIEWSKA, 2018; GAGETTI et al., 2019).

Não foi observada resistência aos antimicrobianos aztreonam e imipenem o que é satisfatório, visto que o aztreonam é uma cefalosporina de terceira geração e o imipenem é uma carbapenemase de quarta geração, ambos pertencentes ao grupo dos β -lactâmicos de amplo espectro de ação e uso controlado (VIEIRA; PICOLI, 2015).

Os ecossistemas aquáticos estão constantemente expostos a mudanças antropogênicas, como poluição de fontes urbanas, agrícolas e industriais. Nessas condições podem fornecer um cenário ideal para a aquisição e disseminação de resistência a antimicrobianos (GAGETTI et al., 2019). No presente estudo 100% das cepas de *Aeromonas* foram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados (com um IRA de 0,05) e índice MRA variando de 0,39

(resistência a 7 dos 18 antimicrobianos testados) a 0,56 (resistência a 10 antimicrobianos), para *A. schubertii* (Tabela 1).

A presença de bactérias aquáticas multirresistentes é uma preocupação crescente na saúde pública. Em geral, essas bactérias aquáticas não diferem de outras bactérias quando expostas aos agentes antimicrobianos, sendo capazes de transferir genes de resistência antimicrobiana para outras bactérias (SILVA et al., 2014).

Para os fatores de virulência das bactérias, a ordem de potencial fenótipo de virulência foi DNase > β -hemólise > fosfolipase > caseinase. O complexo de virulência das *Aeromonas* é bastante diverso, pois as toxinas e os produtos extracelulares podem agir em conjunto ou separadamente, tornando o processo infeccioso mais complexo em decorrência da debilidade imunitária (PESSOA et al., 2019). Além disso, a ampla secreção de enzimas extracelulares incluindo proteases, DNases, lipases, elastases, amilases, quitinases, nucleases e gelatinases confere às espécies alto potencial de adaptação às variações ambientais (ELSHESHTAWY et al., 2019).

Tabela 1 - Índice de múltipla resistência aos antimicrobianos (MRA) e índice de resistência a antimicrobianos (IRA) das espécies de *Aeromonas*.

Bactérias	Cepas	Antimicrobianos	ARI	MRA
<i>A. trola</i>	1	AMP, VAN, CFL, CFO, AMO, OXA, NIT	0,05	0,39
	2	AMP, VAN, NAL, CFL, CFO, AMO, OXA, SUL		0,44
	3	AMP, VAN, CFL, CFO, AMO, OXA, SUL		0,39
<i>A. jandaei</i>	1	AMP, TET, VAN, NAL, CFL, CFO, AMO, OXA, SUL	0,05	0,44
	2	AMP, VAN, NAL, CFL, CFO, AMO, OXA, NIT		0,39
<i>A. schubertii</i>	1	AMP, VAN, CFL, CFO, AMO, OXA, NIT	0,05	0,39
	2	AMP, VAN, CFL, CFO, AMO, OXA, SUL		0,39
	3	AMP, TET, VAN, NAL, CFL, CFO, CPM, AMO, OXA, SUL		0,56
	4	AMP, VAN, CFL, CFO, AMO, OXA, SUL		0,39
	5	AMP, TET, VAN, NAL, CFL, CFO, AMO, OXA, NIT		0,50

AMO: amoxicilina; AMP: ampicilina; CFL: cefalotina; CFO: cefoxitina; CPM: cefepima; NAL: ácido nalidíxico; NIT: nitrofurantoína; OXA: oxacilina; SUL: sulfazotrin; TET: tetraciclina; VAN: vancomicina.

Fonte: Autores (2016).

Apesar da legislação não estabelecer limites para microrganismos do gênero *Aeromonas*, essas bactérias causam danos fisiológicos aos peixes e outros organismos marinhos de interesse comercial. Por outro lado, sua presença em moluscos bivalves como ostras, põe em risco a saúde dos consumidores devido ao hábito de consumi-las in natura ou pré-cozidas (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2010). Estudos sobre *Aeromonas* spp. Presentes em áreas onde a pesca artesanal é praticada, o grau de resistência aos antibacterianos utilizados em seu controle tem sido fundamental para evitar a disseminação, os desconfortos e doenças relacionadas a bactérias patogênicas.

Conclusão

Nas amostras de água coletada, as cepas das espécies *A. schubertii*, *A. jandaei* e *A. trota* apresentaram elevada resitência microbiana, principalmente à classe dos β -lactâmicos. A presença de cepas de *Aeromonas* resistentes aos antimicrobianos e com perfil de virulência no ambiente aquático representa um risco à saúde da comunidade local, visto que os mecanismos de resistência podem ser disseminados a outros microrganismos, principalmente por se tratar de uma área de extração de moluscos bivalves.

Referências

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. A. **Bacterial fish pathogens: Disease of farmed and wild fish**. 4. ed. Goldaming: Springer Praxis, 594 p, 2007.

BIANCHI, E. et al. Water quality monitoring of the Sinos River Basin, Southern Brazil, using physicochemical and microbiological analysis and biomarkers in laboratory-exposed fish. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 19, n. 3, p. 328-338, 2019.

CARNAHAN, A. M.; BEHRAM, S.; JOSEPH, S. W. Aerokey II: a flexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 2843-2849, 1991.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement**. CLSI document M100 – S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

CABRERA-RODRÍGUEZ, L. E. et al. Susceptibilidad a los antimicrobianos y factores de obilizing com cepas de *Vibrio cholerae* no-O1 isoladas de pacientes com enfermedad diarreica aguda. **Revista Biomédica**, v. 19, n. 3, p. 138-144, 2008.

ELSHESHTAWY, A. et al. Direct detection of unamplified *Aeromonas hydrophila* DNA in clinical fish samples using gold nanoparticle probe-based assay. **Aquaculture**, v. 500, p. 451-457, 2019.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. et al. Characterization of *Aeromonas* species isolated from an estuarine environment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 452-460, 2010.

GAGETTI, P. et al. Resistance to β -lactams in enterococci. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 51, n. 2, p.179-183, 2019.

HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E. The prevalence of multidrug-resistant *Aeromonas* spp. In the municipal wastewater system and their dissemination in the environment. **Science of the Total Environment**, v. 626, p. 377-383, 2018.

HONGPING, W. et al. Insufficiency of the Kanagawa hemolytic test for detecting pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Shanghai, China. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2011.

HOSSAIN, S. et al. Characterization of virulence determinants and multiple antimicrobial resistance profiles in Motile *Aeromonas* spp. Isolated from ornamental goldfish (*Carassius auratus*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 29, p. 51-62, 2019.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. The genus *Aeromonas*: Taxonomy, pathogenicity, and infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 1, p. 35-73, 2010.

JONES, J. G. et al. Factors affecting the measurement of antibiotic resistance in bacteria isolated from lake water. **Journal of Applied Microbiology**, v. 60, n. 5, p. 455-462, 1986.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic indexing of *Escherichia coli* to identify high risk sources of fecal contamination of foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 165-170, 1983.

MAALEJ, S. et al. Simultaneous effects of environmental factors on motile *Aeromonas* dynamics in an urban effluent and in the natural seawater. **Water Research**, v. 37, p. 2865-2874, 2003.

ODEYEMI, O. A.; AHMAD, A. Antibiotic resistance profiling and phenotyping of *Aeromonas* species isolated from aquatic sources. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 1, p. 65-70, 2017.

PEIXOTO, L. J. S. et al. *Aeromonas* spp.: Fatores de virulência e perfis de resistência a antimicrobianos e metais pesados. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 79, n. 3, p. 453-461, 2012.

PESSOA, R. B. G. et al. The genus *Aeromonas*: A general approach. **Microbial Pathogenesis**, v. 130, p. 81-94, 2019.

SERAFIM-JUNIOR, M. et al. **Monitoramento e avaliação da mariscação na reserva extrativista marinha da Baía do Iguape**. Programa Pesca para Sempre Brasil. Cruz das Almas: Laboratório de ecologia aquática e aquicultura – UFRB, 2017. (Relatório técnico final).

SILVA, R. M. L. et al. *Aeromonas* spp. Em água de pisciculturas da região da baixada ocidental maranhense. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 3, p. 245-249, 2010.

SILVA, C. M. et al. Population dynamics and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. Along a salinity gradient in an urban estuary in Northeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 89, n. 1-2, p. 96-101, 2014.

TAYLOR, N. G., VERNER-JEFFREYS, D. W., BAKER-AUSTIN, C. Aquatic systems: maintaining, mixing and obilizing antimicrobial resistance? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 26, n. 6, p. 278-284, 2011.

VIEIRA, P. B.; PICOLI, S. U. *Acinetobacter baumannii* multirresistente: Aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 19, n. 2, p. 151-156, 2015.

XUE, Q. et al. A new lysozyme from the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, and a possible evolutionary pathway for i-type lysozymes in bivalves from host defense to digestion. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 213, p. 2-17, 2010.

Avaliação do crescimento de mamoneira submetida ao alumínio em hidroponia

Keylla Souza dos Santos

Camila Nogueira Pestana Caldas

Edna Lobo Machado

Rogério Ferreira Ribas

Simone Alves Silva

A mamoneira é uma espécie sensível ao excesso de alumínio no solo, tornando importante a seleção de cultivares resistentes, a fim de aumentar a produtividade da cultura e o melhor aproveitamento de áreas consideradas de baixo potencial produtivo (LIMA et al, 2007).

Os solos ácidos são caracterizados por apresentar baixo pH devido a sua alta concentração de alumínio trocável, a baixa saturação de bases e baixos teores de fósforo. Uma alternativa para contornar os problemas enfrentados pela acidificação do solo é a técnica da calagem. Essa técnica é responsável pela precipitação do alumínio trocável do solo, entretanto, esta é uma técnica limitada, pois, a correção ocorre apenas nas camadas superficiais impedindo assim, a expansão do sistema radicular das plantas nas camadas mais profundas. Ocorrendo assim, a limitação do crescimento de plantas sensíveis a este metal (NAVA, 2005).

A toxidez por alumínio é um grande problema para a expansão de culturas de interesse agrônomo. O efeito do alumínio nas plantas pode ser comprovado pela diminuição da disponibilidade de nutrientes essenciais para as plantas tais como: potássio, molibdênio, cálcio, magnésio e fósforo. O aumento da concentração desses nutrientes pode levar a alta solubilidade de íons como cobre, alumínio, zinco, ferro e manganês, que a depender do manejo do solo e adubação podem causar toxicidade as plantas (PASSOS, 2009).

O uso da técnica hidropônica apresenta inúmeras vantagens quando comparada ao cultivo no ambiente natural, neste primeiro caso as condições são perfeitamente controladas, além de ser um método rápido, que possibilita a avaliação de um grande número de plantas, em um curto período de tempo (NAVA, 2005). No cultivo hidropônico as avaliações são mais precisas, já que as raízes sofrem menos danos físicos ao serem retiradas da solução nutritiva quando comparadas a cultivo em solos (PORTALUPPI, 2008). O Estudo conjunto, estresse em campo e hidropônico, é importante para verificar se a resposta ao estresse é igual nos dois tratamentos. Portanto o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos do alumínio no desenvolvimento da parte aérea das cultivares de mamoneira BRS 129 Nordestina e EBDA MPB 01 em cultivo hidropônico.

Material e métodos

Foram utilizadas soluções denominadas de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 (PASSOS, 2009). Cada solução foi composta pelos macronutrientes: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (78,4 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (40,92 g), KNO_3 (33,6 g), $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (4,77 g), KH_2PO_4 (5,6 g) e micronutrientes H_3BO_3 (0,05 g), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,002 g), NaCl (0,146 g), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,02 g), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,006 g) e $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,037). A solução 7 foi composta por 43,25 mL/L ($\text{Fe} + \text{EDTA} = \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{Na EDTA}$). No preparo da solução 7 foi utilizada água aquecida até 80° C para evitar a precipitação do ferro. Estas soluções forneceram o aporte nutricional necessário para o desenvolvimento das plântulas em casa de vegetação. A solução composta pelos macro e micronutrientes teve o pH ajustado para uma faixa em torno de 3,7 e 4,3.

Para a obtenção de radículas de tamanho homogêneo, inicialmente realizou-se um teste quanto ao período necessário para a germinação das sementes das cultivares BRS 129 Nordestina e EBDA MPB 01. A cultivar BRS 129 Nordestina apresentou período

germinativo de 2 dias e EBDA MPB 01 de 3 dias. O experimento foi conduzido como descrito por Camargo e Oliveira (1981) e adaptado por Dornelles et al. (1997).

As sementes dos genótipos avaliados foram desinfestadas em solução de hipoclorito a 20% (produto comercial) por 20 minutos e lavadas com água destilada, para retirar o excesso do produto. Em seguida, as sementes foram semeadas em papel germitex umedecido com água destilada e levadas para germinar, em germinador, a temperatura de 25° C, com iluminação permanente, onde permaneceram por dois dias (BRS 129 Nordestina) e três dias (BRS MPB 01) até o início da germinação visível. As sementes pré germinadas com aproximadamente 2 mm de raiz foram transferidas para uma tela em material de algodão, sendo dispostas em fileiras.

As telas contendo as sementes foram acopladas a um recipiente com capacidade de 5,5 litros, com solução nutritiva completa, de modo a ficarem em contato permanente com a solução.

Os recipientes contendo as plântulas foram organizados em tanque banho-maria em água, à temperatura de 25° C, com iluminação permanente. A temperatura das soluções foi mantida com o auxílio de resistências adaptadas ao tanque. Também, foi feita a aeração por meio da implantação de um sistema de aeração, que através de um tubo fornecia oxigênio necessário ao desenvolvimento do sistema radicular. As plântulas permaneceram em solução nutritiva por um período de 48 horas, então foram transferidas para a solução tratamento contendo (0, 50, 70, 90 e 120 ppm de Al^{3+} L⁻¹), onde permaneceram por mais 48 horas. Após o período de tratamento com as concentrações de alumínio, as plantas retornaram para a solução nutritiva por mais 72 horas para que estas pudessem retomar seu crescimento. Depois de completado este período foi aferido os caracteres indicativos de tolerância ao alumínio: Comprimento da parte aérea (CPA em cm) e diâmetro do caule (DC em cm). As

medições foram aferidas com auxílio de régua graduada, medindo-se da base do caule ao ápice da última folha emitida. Para o diâmetro do caule foi utilizado um paquímetro.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições (15 plântulas por repetição), num esquema fatorial 2 x 5 (dois genótipos para cinco doses de alumínio). Para as análises de variância e regressão utilizou-se o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008). A análise de comparação de médias foi realizada por meio do teste de Tukey a 1%. Os gráficos de regressão foram desenvolvidos no software EXCEL.

Resultados e discussão

O teste F mostrou diferenças significativas entre os genótipos e também para as doses de alumínio avaliadas e insignificante para a interação genótipo X dose, a 1% de probabilidade para as variáveis analisadas: Diâmetro do caule (DC) e comprimento da parte aérea (CPA). Resultados distintos foram observados por Passos (2009), que ao avaliar as cultivares de mamoneira, Sipeal 28, EBDA MPA 17, BRS 149 Nordestina e BRS 188 Paraguaçu, observou que o CPA teve resultados significativos apenas para o fator genótipo. No entanto, o fator dose e a interação genótipo X dose não foram significativos.

A partir da comparação das médias pode-se observar que o genótipo BRS 129 Nordestina apresentou melhor resposta ao alumínio (Tabela 1) para as duas variáveis analisadas.

Tabela 1 – Comparação de médias entre os genótipos BRS 129 Nordestina e EBDA MPB 01 para as variáveis: Comprimento da Parte Aérea (CPA) e Diâmetro do Caule (DC). Médias seguidas pela mesma letra não difere estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Genótipo	Médias	
	CPA	DC
BRS 129 Nordestina	15,647 ^a	4,866 ^a
EBDA MPB 01	11,994 ^b	4,613 ^b

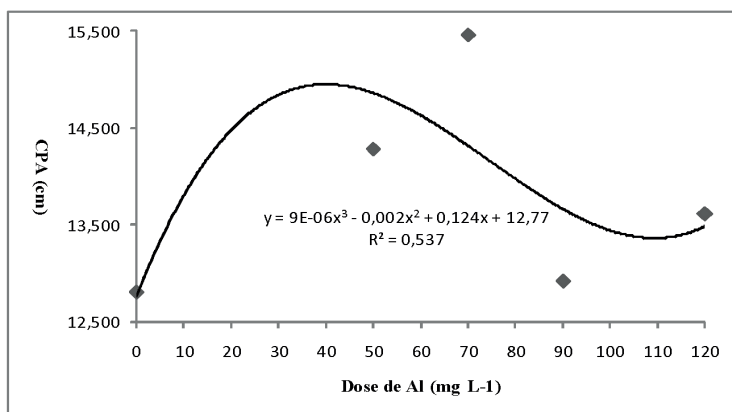
Fonte: Autores (2011).

Para a avaliação do fator dose, por se tratar de uma característica quantitativa foi realizada a análise de regressão para as variáveis comprimento da parte aérea CPA e diâmetro do caule DC.

A equação de regressão polinomial de terceiro grau mostrou melhor ajuste para as características avaliadas, sendo que o coeficiente de determinação foi de $R^2 = 0,537$ para a variável CPA e de $R^2 = 0,9993$ para a variável DC. Assim, supõe-se que existe uma concentração de Al^{+3} , que inibe, em maior grau, o crescimento regular da planta.

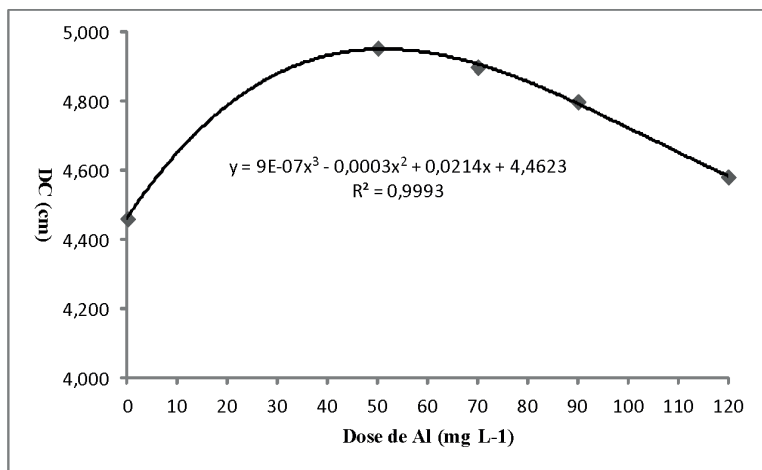
Para as variáveis comprimento da parte aérea e diâmetro do caule pode-se observar que houve aumento significativo do comprimento e diâmetro do caule para os tratamentos de 50 e 70 ppm de $Al^{3+} L^{-1}$ em relação aos indivíduos controle. Entretanto, a ação tóxica do alumínio para as cultivares pode ser observada nas dosagens de 90 e 120 ppm de $Al^{3+} L^{-1}$. Nessas dosagens, o caule apresenta uma redução em seu diâmetro e comprimento (Gráficos 1 e 2). Santos et. al (2010) observaram em cultivares de rúcula uma redução de 101% no comprimento da haste para a dose máxima de 60 mg de $Al^{3+} L^{-1}$ em relação ao indivíduo controle (dose 0 mg de $Al^{3+} L^{-1}$).

Gráfico 1 - Efeitos do alumínio sobre o comprimento da parte aérea em cultivares submetidas a diferentes doses de alumínio (0, 50, 70, 90 e 120 ppm de $Al^{3+} L^{-1}$)



Fonte: Autores (2011).

Gráfico 2 - Efeitos do alumínio sobre o diâmetro do caule em cultivares submetidas a diferentes doses de alumínio (0, 50, 70, 90 e 120 ppm de $\text{Al}^{3+} \text{ L}^{-1}$).



Fonte: Autores (2011).

O efeito tóxico do alumínio representa um fator limitante para o desenvolvimento de diversas culturas de interesse agrícola, a mamoneira em especial, apresenta grande sensibilidade à presença deste metal no solo, tornando fundamental o desenvolvimento de estudos que objetivem selecionar cultivares com maior grau de adaptabilidade visando uma maior produtividade.

Ainda são escassos na literatura trabalhos que relatem a respeito de alterações morfológicas que acometem a parte aérea de cultivares submetidas a estresse por alumínio cultivadas em hidroponia, entretanto estudos desta natureza devem ser considerados, pois já se foi comprovado que o alumínio causa danos ao crescimento da parte aérea.

Conclusão

Os resultados mostram que as concentrações de 50 e 70 mg $\text{Al}^{3+} \text{ L}^{-1}$ de alumínio promoveram um rápido aumento no crescimento da

parte aérea das cultivares analisadas. Para as concentrações de 90 e 120 mg AL³⁺ L⁻¹ houve uma diminuição dessa variável. Entretanto, para a variável diâmetro do caule todas as concentrações de alumínio levaram ao aumento do diâmetro do caule. Assim, conclui-se que o alumínio apresenta efeito tóxico que limita o desenvolvimento da mamoneira tanto em cultivo em campo quando hidropônico.

Referências

CAMARGO, C. E. O.; OLIVEIRA, O. F. Tolerância de cultivares de trigo a diferentes níveis de alumínio em solução nutritiva e no solo. **Bragantia**, v. 40, n. 3, p. 21-31, 1981.

DORNELLES, A. L. C.; CARVALHO, F. I. F.; FEDERIZZI, L. C. Avaliação simultânea para tolerância ao alumínio e sensibilidade ao ácido giberélico em trigo hexaplóide. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 9, p. 893-896, 1997.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41, 2008.

LIMA, R. de L. S. et al. Tolerância de genótipos de mamoneira ao alumínio. In: CONGRESSO DAREDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2., 2007, Brasília, DF. **Anais...** Brasília: DF. 2007.

NAVA, I. C. **Estratégias de avaliação e herança da tolerância ao alumínio em linhagens recombinantes de aveia (*Avena sativa* L.)**. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

PASSOS, A. R. **Avaliação de Cultivares de Mamoneira para Tolerância ao Alumínio Tóxico e Insensibilidade ao Ácido Giberélico**. 2009. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2009.

PORTALUPPI, R. **Caracterização molecular e estudo da variabilidade genética em cereais de inverno quanto à tolerância**

do alumínio tóxico. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2008.

SANTOS, C. A. C. et al. Rúcula em cultivo hidropônico submetida a diferentes concentrações de alumínio. **The Bioscience Journal**, v. 26, n. 6, p. 905-912, 2010.

Estruturas secretoras de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum minutiflorum*

Thayane Pereira Macedo

Larisse de Freitas-Silva

Fabiano Machado Martins

A família Rutaceae está amplamente distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e temperada do mundo com grande ocorrência na Austrália, América e África (MELO; ZICKEL, 2004). No Brasil, a família está representada por cerca de 32 gêneros e 150 espécies (BAYLY et al., 2013). A família é notória por sua importância econômica, ecológica e medicinal (SANTOS et al., 2009), possuindo gêneros amplamente utilizados pelo homem como por exemplo: *Citrus*, *Polycarpus* e *Zanthoxylum* (ISIDORO et al., 2012).

O gênero *Zanthoxylum* L. compreende cerca de 200 espécies com ocorrência em praticamente todo mundo e distribuída em quase todo território nacional (FLORA DO BRASIL, 2020). Esse gênero tem sido objetivo de constantes e recentes estudos na área da farmacobotânica, que enfatizam suas propriedades terapêuticas, tais como, antifúngica, antibactericida, inseticida, anti-helmíntica, antitumoral, dentre outras (VILLALBA et al., 2007). Muitos metabolitos secundários produzidos por *Zanthoxylum* são produzidos, acumulados e secretados em estruturas secretoras distribuídas pelas raízes, caules e folhas. Dentre essas estruturas, podemos destacar a presença de cavidades secretoras, células resiníferas, tricomas glandulares, idioblastos geralmente taníferos, células epidérmicas mucilaginosas (FAHN, 1979; METCALFE; CHALK, 1957). Considerando a vasta ocorrência de estruturas secretoras dentro do gênero, caracterizá-las se justifica por nos fornecer uma ferramenta importante para estudos

taxonômicos e também para a caracterização das espécies, já que muitas vezes a similaridade vegetativa entre elas pode rotineiramente dificultar a identificação precisa.

Considerando que até o presente momento, nenhuma descrição anatômica foi realizada para as espécies *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. e *Zanthoxylum acuminatum* (Sw.) Sw., (Rutaceae), este capítulo objetivou descrever a anatomia foliar de ambas as espécies, contribuindo desta forma para o entendimento das estruturas secretoras na família Rutaceae.

Material e métodos

Ápices vegetativos e folhas completamente desenvolvidas de três indivíduos de *Zanthoxylum acuminatum* e *Zanthoxylum rhoifolium* espontaneamente crescendo no campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, Brasil foram coletados e depositados no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia sob números de tombo: HURB 25811 e 25812, respectivamente. As amostras foram fixadas em FAA (JOHANSEN, 1940), desidratadas em série butílica e incluídas em parafina histológica (JOHANSEN, 1940). Cortes seriados foram efetuados em micrótomo rotativo e corados com safranina alcoólica e azul de astra aquoso (GERLARCH, 1969). A diafanização foi realizada com a porção mediana de folhas completamente expandidas. Para tal, as amostras foram tratadas com hidróxido de sódio 5%, clarificadas com hipoclorito de sódio e coradas com safranina álcool-xilólica. As lâminas permanentes foram montadas com resina sintética (Permout/Fisher) e fotografadas com auxílio de microscópio óptico com câmera digital acoplada, pertencente ao Laboratório de Anatomia e Histoquímica Vegetal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

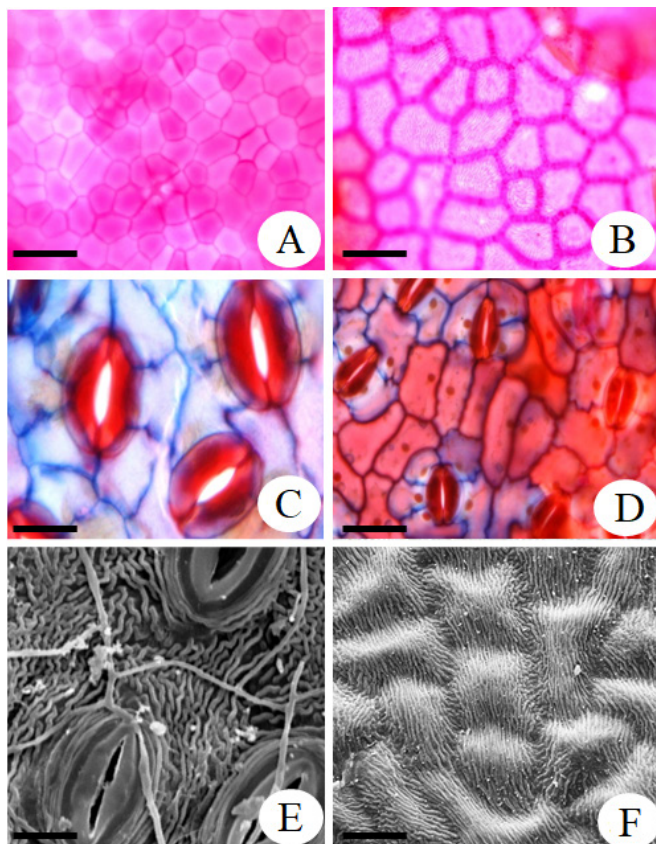
Amostras foliares para observação em microscopia eletrônica de varredura foram desidratadas em série etílica e tratadas em ponto crítico

com CO₂ líquido. Após a secagem, as amostras foram aderidas em suportes metálicos e recobertas por ouro (BOZZOLA; RUSSEL, 1991).

Resultados e discussão

As características anatômicas evidenciadas neste estudo, por vezes, se contrapõem ao descrito na literatura. As células epidérmicas ordinárias na face adaxial da folha e em vista frontal de *Z. rhoifolium* e *Z. acuminatum* apresentam formato irregular e contornos retos a levemente sinuosos (Figura 1A e B). Na epiderme da face abaxial da folha, em vista frontal, ambas as espécies apresentam células de formato irregular, variando entre contornos retos a levemente ondulados (Figura 1C e D). Tais características divergem das encontradas por Ogundipe (2002) que verificou em onze espécies de *Zanthoxylum*, epiderme com células de formato retangular, mais longas que largas. A presença de cutícula estriada foi evidenciada na epiderme da face abaxial da folha de *Z. rhoifolium* e na epiderme da face adaxial da folha de *Z. acuminatum* (Figura 1E e F), sendo esse um caráter comum na família e no gênero (CAO; ZHANG, 2008; RAKIC et al., 2009).

Figura 1 - Epiderme de folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum acuminatum* em vista frontal. A, face adaxial de *Z. rhoifolium*; B, face adaxial de *Z. acuminatum*; C, estômatos actinocítico em *Z. rhoifolium*; D, estômato actinocítico *Z. acuminatum*; E, cutícula estriada na face abaxial de *Z. rhoifolium*; F, face adaxial de *Z. acuminatum* com estrias cuticulares. Barra: A, B =120µm; C = 60µm; D=100µm; E, F= 80µm.

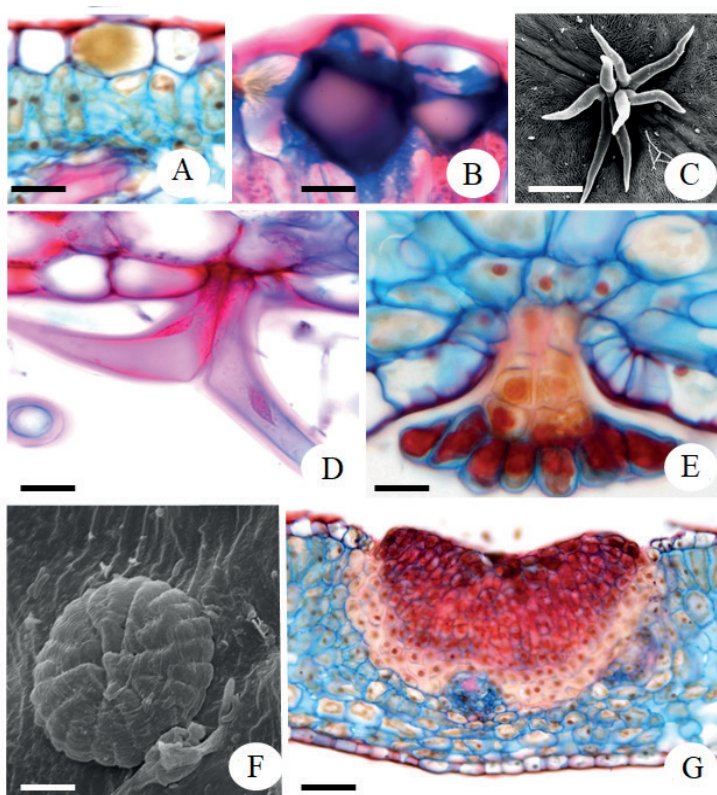


Fonte: Autores (2011).

Em vista transversal a epiderme de ambas as espécies é unisseriada, com células que variam em tamanho e apresentam idioblastos cristalíferos (Figura 2A). As drusas normalmente são formadas por oxalato de cálcio e são abundantes em Rutáceas, inclusive na epiderme. Adicionalmente, os cristais podem refletir uniformemente a radiação solar entre as células do mesofilo, devido

às suas propriedades reflexivas (LARCHER, 2001). Células com secreção fortemente corada pelo azul de astra foram evidenciadas na epiderme de *Z. rhoifolium*, possivelmente indicando presença de mucilagem (Figura 2B). A presença de mucilagem na epiderme foi citada por Solereder (1908) para diversos gêneros da família, entretanto, ainda não tinham sido relatadas em *Zanthoxylum*.

Figura 2 - Seções transversais e eletromicrografias de varredura do limbo foliar de *Z. rhoifolium* e *Z. acuminatum*. A, cristais na epiderme de *Z. acuminatum*; B, idioblasto secretor em *Z. rhoifolium*; C, eletromicrografia do tricoma tector de *Z. rhoifolium* evidenciando os múltiplos segmentos do tricoma; D, tricoma tector de *Z. rhoifolium*; E, tricoma secretor *Z. acuminatum* evidenciando células secretoras de conteúdo denso; F, eletromicrografia do tricoma secretor de *Z. acuminatum*; G, nectário embutido de *Z. acuminatum*. Barras: A, B, C, F e G = 80µm; D e E = 60µm.



Fonte: Autores (2011).

Os tricomas estrelados não pedunculados são observados em ambas as faces da epiderme de *Z. rhoifolium* (Figura 2C e D). Essa tipologia também foi evidenciada por Ogundipe (2002) em onze espécies do gênero *Zanthoxylon* e por Cao e Zang (2008) em oito espécies do mesmo gênero. A ampla ocorrência atribui esse caráter não só como sendo uniforme para o gênero, mas também importantíssimo para identificação das poucas espécies em que ele não ocorre. De acordo com Larcher (2001), a densa cobertura de tricomas sobre a superfície da folha age como um filtro capaz de modificar a radiação direta em luz difusa e aumentar a reflexão da mesma, minimizando assim o efeito da radiação intensa nos tecidos fotossintetizantes. Segundo Werker (2000), os tricomas tectores densamente distribuídos em folhas podem servir como uma barreira mecânica contra temperaturas extremas, alta intensidade luminosa, perda excessiva de água, entre outros fatores.

Na face abaxial da epiderme de *Z. acuminatum* pode-se observar tricomas glandulares pedunculados presentes em depressões epidérmicas (Figura 2E e F). São formados por células basais que variam de 6 a 8 células. As células apicais do tricoma variam em forma e tamanho apresentando-se algumas vezes unisseriadas ou bisseriadas. Esses tricomas também estão presentes na face adaxial da epiderme. Solereder (1908) descreve para família Rutaceae variados tipos de tricomas, dentre eles, os tricomas tectores estrelados e tricomas glandulares. Metcalfe e Chalk (1950) descreveram a presença de glândulas externas com cabeça multicelular clavada ou esférica. Rakic et al. (2009), relataram a mesma estrutura em *Z. acanthopodium*, entretanto, Ogundipe (2002), Dias-Leme (2013) e Munir et al. (2011) não relataram tal estrutura em seus estudos.

Nectários extraflorais foliolares do tipo embutido foram observados em ambas as faces da folha de *Z. acuminatum*. As células do tecido secretor são globosas, pequenas, citoplasma denso

e núcleo evidente. Algumas vezes são observados pequenos feixes vasculares próximos ao nectário (Figura 2G). Nectário extrafloral embutido é aquele que se apresenta totalmente imerso nos tecidos do órgão no qual ocorre (ELIAS, 1980). Segundo Metcalfe e Chalk (1950) a família possui apenas registro de nectários florais para o gênero *Citrus*. Não há relatos da presença de nectário extrafloral para o gênero *Zanthoxylum*, assim como para Rutaceae.

Os nectários, segundo Roshchina e Roshchina (1993), são estruturas secretoras de néctar que ocorrem na superfície de vários órgãos vegetais. Desempenham diferentes funções ecológicas dependendo da sua posição, estrutura, composição química do néctar, entre outros fatores. Fisiologicamente, são considerados como estruturas responsáveis pela secreção de excesso dos fotoassimilados. O néctar é uma solução composta basicamente por glicose, frutose, sacarose, nas mais variadas concentrações, podendo conter ainda mucilagem, aminoácidos, proteínas entre outros. A composição do néctar pode variar dependendo da posição e do tipo de nectário (ROSHCHINA; ROSCHCHINA, 1993).

A presença de nectários extraflorais pode estar distribuída pela extensão do mesofilo e pode ser justificada pelo patrulhamento de formigas que cobrem uma porção da folha enquanto buscam por néctar, o que pode resultar em maiores taxas de herbívoros descobertos pelas formigas, aumentando as taxas de predação (PAIVA; MACHADO, 2006). O mesmo autor encontrou para *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae) nectários extraflorais localizados na face abaxial da folha e atribuiu à localização, a diminuição da evaporação do néctar, aumentando a disponibilidade para os agentes protetores.

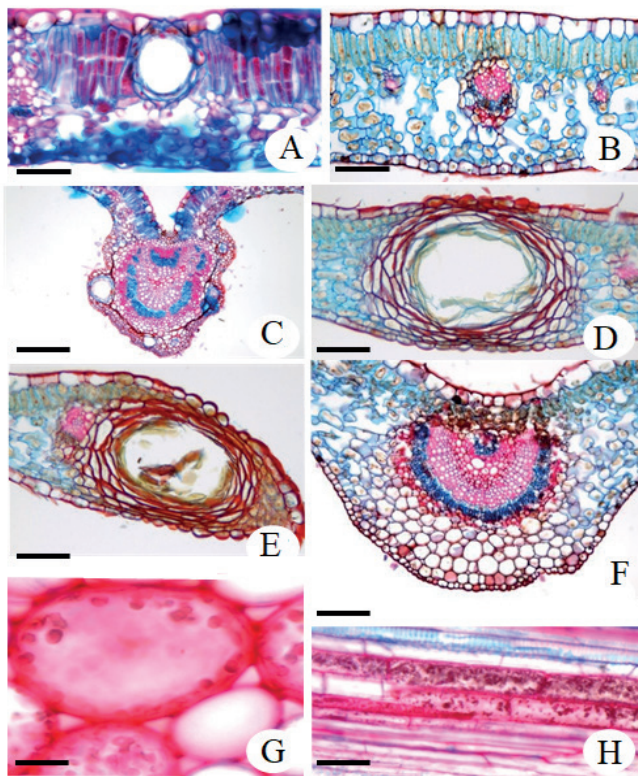
As folhas de ambas as espécies são dorsiventrais, sendo formadas por duas a três camadas de parênquima paliádico em *Z. rhoifolium*, enquanto em *Z. acuminatum* ocorre apenas uma camada de células nesse parênquima. As células do parênquima

lacunoso possuem tamanho e forma variável com grandes espaços intercelulares, ocorre no mesofilo à presença de pequenos feixes vasculares (Figura 3A e B). A ocorrência de mesofilo dorsiventral foi amplamente citada no gênero (OGUNDIPE, 2002; RAKIC et al., 2009; DIAS-LEME, 2013), demonstrando ser um caráter unificador.

Em *Z. rhoifolium* as cavidades secretoras foram observadas logo abaixo da epiderme adaxial, entre as células do parênquima paliçádico e também ocorrem na região da nervura central, voltadas para face abaxial (Figura 3A e C). Devido ao seu tamanho, algumas cavidades formam, por vezes, projeções salientes na superfície da nervura (Figura 3C). Em *Z. acuminatum* as cavidades ocupam todo espaço no mesofilo foliar, estando em contato com a epiderme de ambas as faces (Figuras 3D e E). As cavidades secretoras de *Z. rhoifolium* apresentam um aspecto que pode indicar uma origem esquizógena enquanto em *Z. acuminatum* indicam uma provável origem lisígena. Os dados encontrados no presente trabalho contrariam as informações encontradas na literatura referente à família e ao gênero, como não corroboram com os dados encontrados por Ogundipe (2002) que verificou a presença de cavidades secretoras de óleo de origem esquizógena, presentes no mesofilo e foi observada nas onze espécies estudadas pelo referido pesquisador.

A nervura central de ambas as espécies apresenta formato côncavo, sendo mais proeminente em *Z. rhoifolium* e os feixes vasculares são tipo colateral. Fibras esclerenquimáticas formam uma bainha perivascular (Figuras 3C e F). No centro da nervura de *Z. rhoifolium* notam-se células com conteúdo denso que aparentam conter resinas (Figura 3G e H). Segundo Dell e McComb (1978) secreções resinosas externas proporcionam resistência foliar e proteção as gemas vegetativas axilares e apicais, em regiões áridas, já as secreções internas parecem estar relacionadas à defesa contra o ataque de insetos.

Figura 3 - Seções transversais e longitudinais do limbo de *Z. rhoifolium* e *Z. acuminatum*. A, mesofilo com cavidade secretora em *Z. rhoifolium*; B, mesofilo foliar de *Z. acuminatum*; C, nervura central com cavidades em *Z. rhoifolium*; D e E, cavidades secretoras com aspecto lisígeno em *Z. acuminatum*; F, vista geral da nervura central de *Z. acuminatum*; G, células de resina em *Z. rhoifolium*; H, aspecto longitudinal das células resina de *Z. rhoifolium*. Barra: A, B, D, E e F =140µm; C = 200µm; G = 60µm; H = 100 µm.



Fonte: Autores (2011).

Conclusão

Nosso trabalho revelou que as espécies *Z. rhoifolium* e *Z. acuminatum* possuem características anatômicas que contrapõem o descrito na literatura para demais espécies do gênero, como células epidérmicas de formato irregular e contornos retos, bem como a

ocorrência de cavidades secretoras de provável origem lisígena e nectários extraflorais em *Z. acuminatum*. *Zanthoxylum rhoifolium* possui células epidérmicas com provável conteúdo mucilaginoso e cavidades secretoras.

A caracterização da anatomia foliar e a identificação das estruturas secretoras permite a distinção das espécies estudadas com as demais espécies do gênero, demonstrando a relevância do conhecimento anatômico para outras áreas do conhecimento, tais como a sistemática, filogenia e a farmacobotânica.

Referências

BAYLY, M. J. et al. Major clades of Australasian Rutoideae (Rutaceae) based on *rbcl* and *atpb* sequences. **PLOS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1-17, 2013.

BOZZOLLA, J. J.; RUSSEL, L. D. **Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists**. London: Hardcover, 1991. 450 p.

CAO, M.; ZHANG, D. X. Leaf epidermal morphology of *Zanthoxylum* s.l. (Rutaceae) from China. **Journal of Systematics and Evolution**, v. 46, p. 628-640, 2008.

DELL, B.; McCOMB, A. J. Plant resins: their formation and possible functions. **Advances in Botanical Research**, v. 6, n. 13, p. 277-316, 1978.

DIAS-LEME, C. L. et al. Leaflet anatomy and epicuticular wax composition of *Zanthoxylum tingoassuiba* (Rutaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 32, n.3, p. 425-430, 2013.

ELIAS, T. S. Foliar nectarines of unusual structure in *Leonardoxa africana* (Leguminosae), an African obligate myrmecophyte. **American Journal of Botany**, v. 3, n. 67, p. 423-425, 1980.

FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press Inc. 1979. 303 p.

FLORA DO BRASIL 2020. **Rutaceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB1064>. Acesso em: 26 julho de 2020.

GERLARCH, D. **Botanische Mikrotechnik**: Eine Einführung. Stuttgart: Georg Thieme, 1969. 321 p.

ISIDORO, M. M. et al. Fitoquímica e quimiosistemática de *Euxylophora paraensis* (Rutaceae). **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 2119-2124, 2012.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Rima: São Carlos, 2001. 531 p.

MELO, M. F. F.; ZICKEL, C. S. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunt (Rutaceae) no estado de Pernambuco, Brasil, **Acta Botânica Brasilica**, v. 18, n.1, p. 73-90, 2004.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. Oxford: Clarendon Press. 1950. 724 p.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press. 1957. 557 p.

MUNIR, M. et al. Foliar epidermal anatomy of some ethnobotanically important species of wild edible fruits of norther Pakistan. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n.9, p. 5873-5880, 2011.

OGUNDIPE, O. Leaf anatomical studies on eleven species of *Zanthoxylum* Linn. (Rutaceae), **Phytomorphology**, v. 52, n. 3, p 103-112, 2002.

PAIVA, E. A. S; MACHADO, S. R. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 2, p. 471-482, 2006.

RAKIC, T. et al. Ecophysiological and anatomical characteristics of the subtropical shrub *Zanthoxylum acanthopodium* (Rutaceae) in conditions of a temperate continental climate. **Archives of Biological Science**, v. 61, n. 2, p. 249-260, 2009.

ROSHCHINA, V. V.; ROSCHINA, V. D. **The excretory function of higher plants**. Springer-Verlag. Berlin, 1993. 369 p.

SANTOS, L. M. et al. Avaliação da atividade alelopática de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) na germinação e crescimento de sementes de *Lactuca sativa* cv. Babá. **Visão Acadêmica**, v. 10, n.12, p. 1-15, 2009.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. London: Clarendon Press, 1908. 1182 p.

VILLALBA, M. A. et al. Atividades farmacológicas dos extratos de *Zanthoxylum chiloperone* (Rutaceae). Revista brasileira de farmacognosia. João Pessoa, v. 2, n. 17, p. 236-241, 2007.

WERKER, E. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. **Plant Trichomes**. London: Academic, 2000. p. 1-30.

***Jatropha* L. (Euphorbiaceae Juss.) de Santa Terezinha/Bahia**

*Cassiéle Gonçalves Santana
Márcio Lacerda Lopes Martins*

Euphorbiaceae é um grupo que apresenta a morfologia diversificada, com distribuição pantropical, 317 gêneros e cerca de 8.000 espécies. No Brasil ocorrem cerca de 60 gêneros e 900 espécies, representando uma das principais famílias da flora brasileira e uma das mais complexas do ponto de vista taxonômico, sendo encontrada em todos os tipos-de vegetação do Brasil (FLORA DO BRASIL 2020, em construção). Apresentam-se como árvores, arbustos, subarbustos e ervas normalmente latescentes, com folhas alternas estipuladas, flores unissexuadas e frutos tricocas (JUDD et al., 2009).

Euphorbiaceae é a segunda família mais representativa da Caatinga em número de espécies, com representantes monoicos ou dioicos, sendo, em geral, generalistas quanto aos polinizadores, ou seja, visitadas por vários grupos de polinizadores (WEBSTER, 1994; SAMPAIO, 1995).

O gênero *Jatropha* L. representa o quinto lugar entre os mais representativos da família Euphorbiaceae com cerca 175 espécies e destaca-se pelos seus usos como ornamental, medicinal e econômico, porém, carece de estudos taxonômicos (STEVENS, 2008; AQUINO et al., 2009; HIROTA et al., 2010). Recentemente, no entanto, esses estudos vêm se intensificando e já resultaram na descrição de novas espécies para o gênero (MOREIRA et al., 2020). As plantas do gênero *Jatropha* são arbustos que possuem inflorescência terminal cimosa, monóica, flores pentâmeras, pistiladas e estaminadas do tipo prato e produtoras de néctar e frutos do tipo esquizocárpicos, secos, com

três cocos globosas de deiscência explosiva e dispersão primária por autocoria (NEVES et al., 2010).

Devido a sua representatividade na caatinga esse capítulo teve como objetivos descrever as espécies de *Jatropha* e elaborar uma chave de identificação para as espécies identificadas no município de Santa Terezinha, Bahia, Brasil.

Material e métodos

O município de Santa Terezinha localiza-se a 247 km de Salvador e faz divisa com Castro Alves, Rafael Jambeiro, Elísio Medrado e Itatim (SEI, 2014). Possui área de 713.167 km² e clima semi-árido Aw segundo *Köppen*, com precipitação média anual de 582 mm.

As espécies foram acessadas por meio de coletas realizadas no ano de 2019 no município de Santa Terezinha e adicionadas daquelas depositadas no acervo do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB), além de materiais disponíveis nas plataformas Specieslink (2020) e Herbário Virtual Re flora (REFLORA, 2020). Os materiais foram fotografados em campo e herborizados de acordo com os procedimentos usuais descritos por Fidalgo e Bononi (1989), e posteriormente depositados no HURB.

A identificação das espécies foi feita por meio de consulta à literatura especializada e por comparação com os acervos disponíveis online, como Flora do Brasil 2020 (em construção), que também contribuíram para a avaliação da distribuição geográfica. A descrição foi elaborada a partir dos espécimes coletados, complementadas pelos materiais analisados e pela literatura, quando necessário.

Os dados de floração e frutificação foram elaborados com base nas informações registradas nas etiquetas das espécies estudadas e na literatura consultada.

Resultados e discussão

Jatropha L. está representado na Bahia por 13 espécies, sendo doze delas com ocorrência na caatinga (FLORA DO BRASIL 2020, em construção). No município de Santa Terezinha foram registradas três espécies: *J. martiusii* (Pohl) Baill., *J. molissima* (Pohl) Baill. e *J. ribifolia* (Pohl) Baill, com ocorrência nesse bioma e em áreas antropizadas do município.

Jatropha L.

Árvores, arbustos, subarbustos ou ervas, monóicas, às vezes dióicas, látex hialino a esbranquiçado, tricomas simples ou glandulares comuns no caule e folhas. Estípulas presentes. Folhas alternas, simples, lobadas, palmatífidas a palmatipartidas, às vezes inteiras; longipeciouladas a subsésseis; Inflorescência dicásio, terminal, bissexual, flores pistiladas na base da inflorescência, estaminadas na porção superior. Flores pentâmeras, diclamídeas, actinomorfas, vistosas, cálice normalmente verde, às vezes vermelho, corola vermelha, às vezes amarela ou púrpura; disco nectarífero presente. Flores estaminadas pediceladas; estames 6 a 10, dispostos em 2 verticilos, soldados em um ou dois feixes, anteras com deiscência longitudinal. Flores pistiladas semelhantes às flores estaminadas; ovário glabro ou levemente pubescente; estiletes 3, unidos na base; estigma bifido. Fruto cápsula septicida-loculicida; sementes carunculadas.

Chave para as espécies de *Jatropha* L. de Santa Terezinha

1. Lâmina foliar 3-lobada.....3. *Jatropha bifolia*
- 1'. Lâmina foliar 5-6-lobada.....2
2. Folhas com margem serrada, flores estaminadas e pistiladas com pétalas vermelhas; 8 estames.....2. *Jatropha molissima*

2'. Folhas com margem inteira, flores estaminadas e pistiladas com pétalas púrpuras; 6 estames..... 1. *Jatropha martiusii*.

1. *Jatropha martiusii* (Pohl) Baill., Adansonia 4:268. 1864. (Figura 1 A e B)

Arbusto ca. 2,4 m alt., com tricomas glandulares no caule. Látex hialino. Folhas cartáceas, concolores, lâmina foliar 5-lobada, base cordada, lobo central oblongo, apiculado, margem inteira; pecíolo 7 cm compr., ápice agudo. Inflorescências terminais, brácteas lanceoladas, ápice agudo, tricomas glandulares. Flores estaminadas ca. 1 cm compr., sépalas ovais, ápice agudo, tricomas glandulares; pétalas espatuladas, ápice obtuso, margem inteira, glabra, vermelha-púrpura; 6 estames. Flores pistiladas 1-1,5 cm compr., sépalas ovais, ápice agudo, tricomas glandulares; pétalas espatuladas, ápice obtuso, margem inteira, glabras, vermelhas; 2 estiletes, estigma lobado. Fruto ca. 2,5 cm compr., sementes oblongas.

Jatropha martiusii é endêmica da Bahia onde ocorre em áreas de caatinga arbustiva aberta, cerrado e áreas antropizadas (FLORA DO BRASIL 2020, em construção; MOREIRA et al., 2020). Pode ser reconhecida pelas folhas 5-lobadas, com lobos oblongos e apiculados. Essa espécie ainda não foi avaliada quanto ao risco de extinção (CNCFLORA, 2019).

Material examinado: BRASIL. Bahia: Santa Terezinha, Serra do Leão, 26/III/2018, (fr.), Costa, G. et al. 3379 (HURB).

2. *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill., Adansonia. 4:268. 1864. (Figura 1 C e D)

Arbusto ca. 1-2 m alt., com tricomas glandulares no caule, látex hialino. Folhas membranáceas, concolores, lâmina foliar 5-lobada, base sagitada, lobo central oval, levemente serrilhado, margem denteada; pecíolo 2,5-5 cm compr., ápice agudo. Inflorescências com brácteas

lanceoladas, ápice agudo, tricomas glandulares. Flores estaminadas ca. 2 cm compr., sépalas ovais, ápice obtuso, com tricomas glandulares; pétalas espatuladas, ápice obtuso, margem inteira, glabras, vermelhas; 8 estames. Flores pistiladas 1-1,5 cm compr., sépalas ovais, ápice agudo, com tricomas glandulares; pétalas espatuladas, ápice obtuso, margem inteira, glabras, vermelhas; 3 estiletes, estigma lobado. Fruto ca. 2,5 cm compr., sementes oblongas.

Jatropha molissima é endêmica da Bahia onde ocorre em áreas de caatinga arbustiva aberta, cerrado e áreas antropizadas (FLORA DO BRASIL 2020, em construção; MOREIRA et al., 2020). Pode ser reconhecida pelas folhas 5 lobadas, com base sagitada e margem denteada. Essa espécie ainda não foi avaliada quanto ao risco de extinção (CNCFLORA, 2019).

Material examinado: BRASIL. Bahia: Santa Terezinha, Recôncavo Sul, 07/V/2016 (fl., fr.), M.L. Guedes et al. 24578 (ALCB); Fazenda Lagedinho, 18/X/2013 (fl.), M.L. Guedes & M.S. Silva et al. 21024 (HST); 12°43'39"S, 39°34'11"W, 15/II/ 2018 (fl.fr.), G. Costa et al. 3296 (HURB).

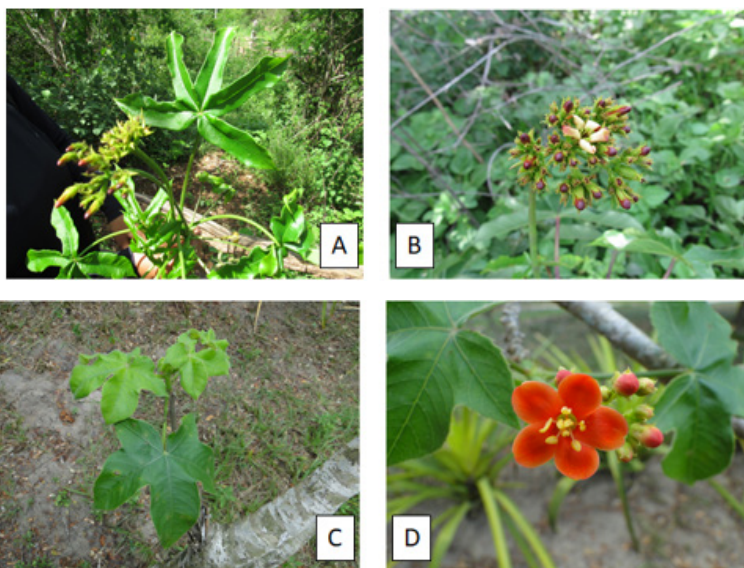
3. *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill., *Adansonia* 4:268. 1864. (Figura 1 E e F)

Arbusto ca. 2 m alt., com tricomas glandulares, látex hialino. Folhas membranáceas, concolores, lâmina foliar 3-lobada, base cordada, lobo central oval-orbicular, acuminado, margem inteira com tricomas glandulares; pecíolo 1,5 cm compr., ápice agudo. Inflorescências terminal com brácteas e bractéolas lanceoladas, ápice agudo, tricomas glandulares. Flores estaminadas ca. 5 cm compr., sépalas elípticas, ápice obtuso, tricomas glandulares; pétalas obovadas, ápice obtuso, margem inteira, glabras, amarelas; 7 estames. Flores pistiladas ca. 1- cm compr., sépalas ovais, ápice agudo, com tricomas glandulares; pétalas espatuladas, ápice agudo, margem inteira, glabras, alvo-amareladas; 3 estiletes, estigma oblongo. Fruto ca. 1 cm compr., sementes oblongas.

Jatropha ribifolia é endêmica do Brasil onde ocorre em áreas de caatinga arbustiva aberta, cerrado e áreas antropizadas (FLORA DO BRASIL 2020, em construção; MOREIRA et al., 2020). Pode ser reconhecida pelas folhas 3-lobadas, com lobos oblongos e com margem serreada. Essa espécie ainda não foi avaliada quanto ao risco de extinção (CNCFLORA, 2019).

Material examinado: BRASIL. Bahia: Santa Terezinha, Fazenda Lagedinho, 18/X/2013 (fl.), M.L. Guedes; M.S. Silva, et al. 21017 (HST); Recôncavo Sul, Margem do Rio Paraguaçu. 07/V/2016 (fl.), M.L. Guedes, et al. 24579 (ALCB), Morro do Cruzeiro, 13/IX/1997 (fl.), Miranda, E.B 29931 (HUEFS); 4 km NW de Pedra Branca, 27/X/1987 (fl.), Queiroz L.P. 1529 (HUEFS), Povoado do rio seco, 12°40'14"S, 39°36'14"W, 28 jun. 2018 (fl.fr.), G. Costa 3420 (HURB).

Figura 1 - Espécies de *Jatropha* ocorrentes em Santa Terezinha, Bahia, Brasil. *Jatropha martiusii* Pohl. A, Ramo fértil; B, Flores estaminadas. *Jatropha molissima* (Pohl) Baill. C, Ramo fértil; D, Flores estaminadas. *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill. E, Ramo; F, Flores estaminadas. (Fotos gentilmente cedidas por Arianne S. Moreira).





Fonte: Autores (2020).

Referências

AQUINO, N. F. de et al. Morfometria de sementes de *Jatropha curcas* L. em função da procedência. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 2, p. 142-145, 2009.

CNCFLORA. Lista Vermelha da flora brasileira versão 2016.1. 2016. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal>. Acesso em: 15 jul. 2019.

FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. 62 p.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 30 jul. 2020.

HIROTA, B. C. K. et al. Fitoquímica e atividades biológicas do gênero *Jatropha*: Mini-revisão. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2010.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: rtmed, 2009. 612 p.

MOREIRA, A. S. **Estudos Taxonômicos de *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) no Estado da Bahia e Potencial Ornamental**

das Espécies. 2020. 120 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2020.

MOREIRA, A. S., OLIVEIRA, J. F. C., CORDEIRO, I. & TORRES, D. S. C. Two new species of *Jatropha* (Euphorbiaceae) from limestone outcrops in Brazilian seasonally dry tropical forests. **Phytotaxa**, v. 451, n. 1, p. 73-82, 2020.

NEVES, E. L. et al. Comportamento fenológico de três espécies de *Jatropha*. **Revista Brasileira de Botânica**, v.3, n.1, p.155-166, 2010.

REFLORA - Herbário Virtual. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/> Acesso em: 30 jul. 2020.

SAMPAIO, E. V. S. B. Overview of the Brazilian Caatinga. In.: Bullock, S. H. Mooney; Medina, E. **Seasonally dry tropical forests**. Cambridge: University Press, 1995. p. 35-63.

SUPERINTENDÊNCIA DE ESTUDOS ECONÔMICOS E SOCIAIS DA BAHIA (SEI). **Estatísticas dos Municípios Baianos**: Santa Terezinha. Salvador, vol.4, n. 2, p. 224-240, 2014.

SPECIESLINK. Sistema de informação distribuído para coleções biológicas. Disponível em: <http://splink.cria.org.br>. Acesso em: 15 jul. 2019.

STEVENS, P. F. 2001. **Angiosperm phylogeny website**, version 9, June 2008 [and more or less continuously updated since]. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. **Annals of Missouri Botanical Garden**. v. 81, p. 33-144, 1994.

Ontogenia e histoquímica dos tricomas de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae)

Jamile Lima Fernandes
Ramon Lima Soares Junior
Fabiano Machado Martins

Ocimum gratissimum L. é uma espécie da família Lamiaceae com uma ampla distribuição no Brasil e conhecida popularmente como alfavaca-cravo, alfavacão e quioiô (LORENZI; MATOS, 2008). Suas folhas são utilizadas nas práticas comuns da medicina caseira e por seu sabor e odor é usado também como condimento em culinária. Estas práticas são possíveis devido à presença de tricomas glandulares que se projetam da epiderme foliar e exercem uma variedade de funções na planta, incluindo repelência de herbívoros e atração de polinizadores (EVERT, 2013). O produto da secreção destes tricomas muitas vezes possui alta concentração de metabólitos secundários com atividade biológica de interesse para as indústrias de pesticidas, indústrias farmacêuticas, de aromatizantes e perfumaria (DUKE, 1994).

A investigação destes apêndices epidérmicos e suas substâncias secretadas em *O. gratissimum* é de grande relevância para os estudos de diversas áreas da ciência. A importância taxonômica que estes tricomas glandulares conferem aos membros de Lamiaceae (METCALFE; CHALK, 1979), as potencialidades alelopáticas inibitórias dos óleos essenciais sobre a germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface (ALVES et al., 2004) e sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. e *Proteus mirabilis* (NAKAMURA et al., 1999), são apenas alguns exemplos da importância do estudos da folha e dos seus tricomas.

Visando contribuir com o conhecimento sobre *O. gratissimum*, este estudo caracteriza a anatomia foliar, descreve a ontogenia do tricoma glandular e identifica as principais classes de metabólitos secundários na secreção do tricoma.

Material e métodos

O material desse estudo foi coletado no município de Cruz das Almas, Bahia e o material testemunho foi incorporado ao Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (HURB 25813). Ápices vegetativos e folhas completamente desenvolvidas foram coletadas, fixadas em FAA (JOHANSEN, 1940) e em FNT (CLARK, 1973). Amostras foram isoladas, desidratadas em série butílica e incluídas em parafina histológica (JOHANSEN, 1940). Também ocorreu inclusão em metacrilato (MEIRA; MARTINS, 2003). Cortes seriados foram efetuados em micrótomo rotativo e corados com safranina alcoólica e azul de astra aquoso para amostras em parafina (GERLARCH, 1969) e corados em azul de toluidina quando incluídas em resina (O' BRIEN; MCCULLY, 1981). A diafanização foi realizada com a porção mediana de folhas completamente expandidas. As amostras foram tratadas com hidróxido de sódio 5%, clarificadas com hipoclorito de sódio e coradas com safranina álcool-xilólica. As lâminas permanentes foram montadas com resina sintética (Permout/Fisher).

A caracterização histoquímica foi realizada com amostras frescas seccionadas em criomicrotomo. As seguintes classes de metabólitos foram investigados: lipídios totais - Sudan Black B e Sudan IV (PEARSE, 1985); lipídios ácidos e neutros - Nile Blue (CAIN, 1947); essenciais e óleo-resinas - Reagente de Nadi (DAVID; CARDE, 1976); compostos fenólicos - dicromato de potássio (GABE, 1968); taninos - vanilina clorídrica (MACE; HOWELL, 1974); lignina - floroglucina acidificada (JOHANSEN, 1940); borracha - Oil Red

(PEARSE, 1985); alcalóides – reagente de Dragendorff e reagente Dittmar (FURR; MAHLBERG, 1981); proteínas totais – azul brilhante de Comassie (FISHER, 1968) e Xilidine-Ponceou (O'BRIEN; MACCULLY, 1981); polissacarídeos totais – reação PAS (MCMANUS, 1948); amido – lugol (JOHANSEN, 1940); mucopolissacarídeos – azul de Alciano (PEARCE, 1985); mucilagem – Pizzolato & Lillie (PIZZOLATI, 1977). A documentação e escalas foram realizadas em fotomicroscópio.

Resultados e discussão

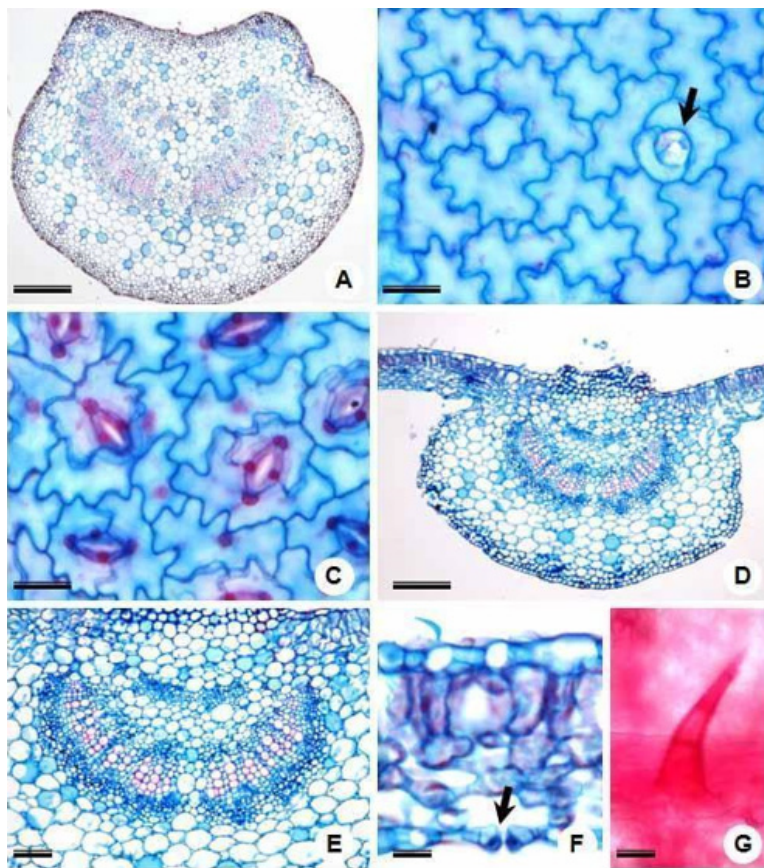
O pecíolo em corte transversal apresenta epiderme uniestratificada com células isodiamétricas, cutícula delgada e estômatos em ambas as faces. Abaixo da epiderme ocorrem quatro estratos de colênquima que formam uma faixa contínua seguida de parênquima fundamental com células isodiamétricas de tamanhos variados. O tecido vascular é colateral, em arco aberto formado por até oito feixes vasculares, sendo dois maiores centrais, quatro pequenos deslocados para face adaxial e outros dois pequenos nas suaves projeções das extremidades da face adaxial (Figura 1A). Feixes vasculares subsidiários adicionais presentes nas proeminências do pecíolo também são encontrados na maioria das espécies examinadas de Lamiaceae (METCALFE; CHALK, 1979).

Tricomas tectores ocorrem em ambas as faces, entretanto possuem localização preferencial sobre a nervura central, eles são unisseriados, multicelulares, constituídos por até oito células, eretos e com ápice agudo (Figura 1G). Os tricomas glandulares estão presentes em ambas as faces da folha, são do tipo capitado. Eles são constituídos por uma célula basal, um pedúnculo muito curto e uma grande cabeça redonda formada por quatro células secretoras (Figura 2F). Pode ser observada a formação de um espaço subcuticular onde a secreção acumulada determina a forma esférica ao tricoma (Figura

3A). A ocorrência de tricomas tectores e glandulares na mesma folha é habitual e proporciona informações valiosas de gêneros e espécies em Lamiaceae (METCALFE; CHALK, 1979). Os tricomas glandulares capitados de *O. gratissimum* apresentam um espaço subcuticular muito reduzido armazenando pouco óleo essencial secretado. Esta característica pode ser explicada pela possível presença de microporos da cutícula que permitem a passagem da secreção (ASCENSÃO et al., 1995), como foi observado em tricomas capitados de folhas de *Salvia aurea* L. (SERRATO-VALENTI et al., 1997) e *O. selloi* (GONÇALVES et al., 2010). O óleo produzido por estes tricomas apresentam propriedades como repelentes de insetos e agem como advertência sobre a toxicidade do vegetal, expulsando potenciais herbívoros mesmo antes que ataquem.

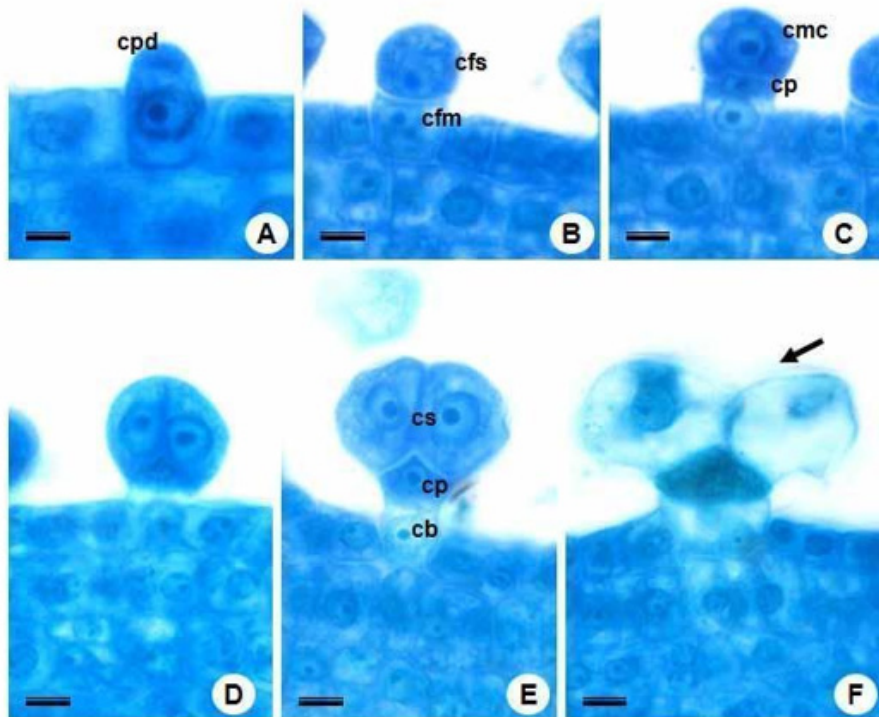
A ruptura da cutícula é rara, mas pode ocorrer ao longo de uma linha pré-determinada de aparente fraqueza no plano equatorial da cabeça (ASCENÇÃO et al., 1995; 1999). Ou também fatores externos como altas temperaturas, baixa umidade do ar ou a agressão animal que leve ao seu rompimento e consequente liberação do óleo essencial (ASCENSÃO et al., 1995).

Figura 1 - Anatomia do pecíolo e da folha de *Ocimum gratissimum* L. A, Seção transversal do pecíolo. B, Seção paradérmica da face adaxial da epiderme apresentando poucos tricomas diacíticos (seta). C, Seção paradérmica da face abaxial da epiderme apresentando muitos tricomas diacíticos. D, Seção transversal da nervura central da folha. E, Detalhe do feixe colateral na nervura central. F, Seção transversal do mesófilo foliar evidenciando estômato (seta) na face abaxial. G, Tricoma tector da folha. Escala: A-180 μ m; B, C, G - 60 μ m; D - 140 μ m; E - 100 μ m; F - 80 μ m.



Fonte: Autores (2010).

Figura 2 - Ontogenia dos tricomas glandulares de *O. gratissimum*. A, Projeção da célula protodérmica. B, Células-filhas após divisão periclinal da célula protodérmica inicial. C, célula do pedúnculo e a célula-mãe da cabeça após divisão periclinal da célula-filha superior. D, Células iniciais da cabeça do tricoma após divisão anticlinal da célula-mãe da cabeça. E, Células filhas da cabeça sofrendo diferenciação. F, Tricoma glandular completamente formado com cabeça composta por quatro células. cpd: célula protodérmica inicial, cfm: célula-filha menor, cfs: célula-filha superior, cmc: célula mãe da cabeça, cp: célula do pedúnculo, cb: célula basal, cs: célula superior.



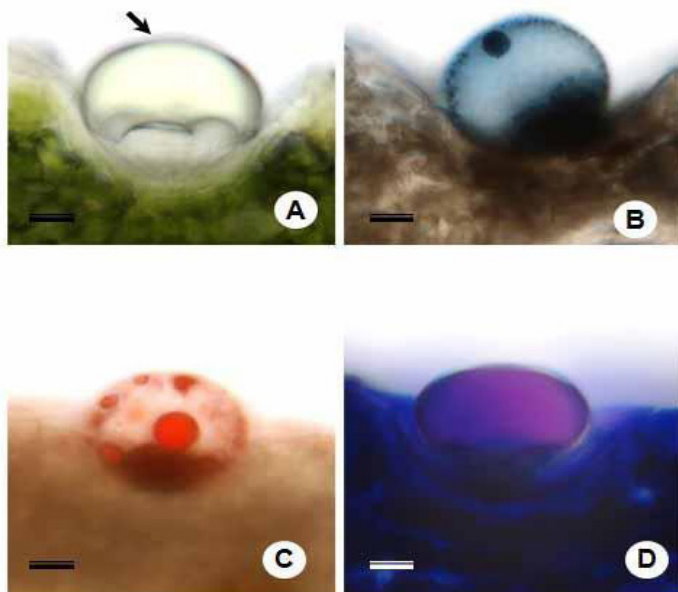
Fonte: Autores (2010).

Na nervura mediana, a região cortical é composta por quatro camadas de colênquima, com distribuição irregular e com células de diâmetro variado em ambas as faces, é o único tecido de sustentação presente na folha (Figura 1D, E). O feixe vascular é colateral, constituído por xilema e floema primários com arranjo idêntico ao pecíolo (Figura 1A, D). O mesofilo tem distribuição dorsiventral

formado por uma camada de parênquima paliçádico com células alongadas e parênquima lacunoso com arranjo muito frouxo, com quatro a seis camadas de células (Figura 1F).

O desenvolvimento dos tricomas glandulares se dá com um aumento no volume e projeção de uma única célula protodérmica (Figura 2A). Após este aumento de volume a célula protodérmica inicial sofre uma divisão periclinal, originando duas células de tamanho desigual (Figura 2B). A célula-filha menor corresponde à célula basal. A célula-filha superior sofre uma divisão periclinal assimétrica formando a célula do pedúnculo e a célula-mãe da cabeça (Figura 2C). No último estágio, a célula-mãe da cabeça passa por divisões anticlinais até que a cabeça com quatro células secretoras esteja completamente formada (Figura 2D-F). Os primeiros estágios de diferenciação dos tricomas glandulares de *O. gratissimum* são observados somente nos primórdios foliares, assim como para os tricomas glandulares de *Prostanthera ovalifolia* (GERSBACH, 2002) e os de *Leonotis leonurus* (ASCENSÃO et al., 1995). Tricomas glandulares de *Origanum dictamnus* L., (BOSABALIDIS; TSEKOS, 1982) possuem desenvolvimento muito similar ao do *O. gratissimum*, mas difere no último estágio, visto que aquela espécie possui a cabeça do tricoma composta por doze células secretoras.

Figura 3 - Testes histoquímicos realizados nos tricomas glandulares de *O. gratissimum*. A, Secreção *in natura* no espaço subcuticular da cabeça do tricoma (seta). B, Reação positiva da secreção ao Sudan Black B. C, Reação positiva da secreção ao Sudan IV. D, Reação positiva da secreção ao Nile Blue. Escala: 70µm.



Fonte: Autores (2010).

A conclusão das divisões da cabeça é seguida pela fase de secreção. O óleo essencial é acumulado em um espaço formado pelo descolamento da cutícula das paredes apicais das células secretoras constituindo um grande espaço subcuticular preenchido por uma secreção hialina que determina forma esférica ao tricoma (Figura 3A). As reações positivas aos testes Sudan Black B (Figura 3B), Sudan IV (Figura 3C) e Nile Blue (Figura 3D), indicaram a presença de compostos lipofílicos na secreção dos tricomas glandulares de *O. gratissimum*.

A secreção dos tricomas de *O. gratissimum* apresentaram reação positiva para compostos lipofílicos e terpenóides, assim como

em tricomas glandulares de *P. ornatus* (ASCENSÃO et al., 1997; 1999) e *S. aurea* (SERRATO-VALENTI et al., 1997).

Os testes histoquímicos para detectar alcalóides, proteínas, polissacarídeos e compostos fenólicos apresentaram resultados negativos igualmente aos trabalhos de Ascensão et al. (1997; 1999). Em *S. aurea* foram identificadas substâncias fenólicas e polissacarídeos não-celulósicos nos tricomas glandulares, mas a função dessas substâncias não foi sugerida pelos autores (SERRATO-VALENTI et al., 1997).

Conclusão

A anatomia do pecíolo e da folha e o desenvolvimento dos tricomas glandulares apresentam resultados consistentes quando comparados com resultados encontrados para a família. E a secreção dos tricomas glandulares das folhas possui apenas composição lipídica. Assim, estes dados contribuem aumentando o conhecimento acerca de *O. gratissimum* e consequentemente sobre a família Lamiaceae.

Referências

ALVES, M. C. S. et al. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, 2004.

ASCENSÃO, L. et al. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 75, n. 6, p. 619-626, 1995.

ASCENSÃO, L. et al. Peltate glandular trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: ultrastructure and histochemical characterization of secretions. **International Journal of Plant Sciences**, v. 156, n. 3, p. 249-258, 1997.

ASCENSÃO, L. et al. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. **Annals of Botany**, v. 84, n. 4, p. 437-447, 1999.

BOSABALIDIS, A.; TSEKOS, I. Glandular scale development and essential oil secretion in *Origanum dictamnus* L. **Planta**, v. 156, n. 6, p. 496-504, 1982.

CAIN, A. J. The use of Nile Blue in the examination of lipids. **Quartely Journal of Microscopical Science**, v. 88, n. 3, p. 383-392, 1947.

CLARK, G. **Staining procedures**. Baltimore: The Williams & Wilkins Co., 1973. 418 p.

DAVID, R.; CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles Du pin maritime au moyen Du reactif Nadi. **Comptes Rendus de L'Academie des Sciencies**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DUKE, S. O. Glandular trichomes, A focal point of chemical and structural interactions. **International Journal of Plant Sciences**, v. 155, n. 6, p. 617-620, 1994.

ESAU, K. **Anatomy of seed plants**. New York: John Wiley & Sons, 1977. 576 p.

EVERT, R. F. **Anatomia das plantas de Esau**: meristemas, células e tecidos do corpo da planta. São Paulo: Blucher, 2013. 762 p.

FISHER, D. B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, n. 1, p. 92-96, 1968.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products**, v. 44, n. 2, p. 153-159, 1981.

GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson & Cie, 1968. 1113 p.

GERLARCH, D. **Botanische mikrotechnik**: Eine Einführung. Stuttgart: Georg Thieme, 1969. 321 p.

GERSBACH, P. V. The essential oil secretory structures of *Prostanthera ovalifolia* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v. 89, n. 3, p. 255-260, 2002.

GONÇALVES, L. A. et al. Characterization and ontogeny of the glandular trichomes of *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 4, p. 909-915, 2010.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill, 1940. 523 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 512 p.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathology**, v. 64, p. 1297-1302, 1974.

McMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology**, v. 23, n. 3, p. 99-108, 1948.

MEIRA, R. M. S. A.; MARTINS, F. M. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. **Revista Árvore**, v. 27, n. 1, p. 109-112, 2003.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 1979. 276p.

NAKAMURA, C. V. et. al. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, p. 675-678, 1999.

O'BRIEN, T. P.; MCCully, M. E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Melbourne: Termarcaphi Pty. Ltda, 1981. 316 p.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology**. Edinburgh: Churchill Livingston, 1985. 439 p.

PIZZOLATO, T. D. Staining of *Tilia* mucilages with Mayer's tannic acid-ferric chloride. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 104, n. 3, p. 277-279, 1977.

SERRATO-VALENTI, G. et al. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea*. **Annals of Botany**, v. 79, n. 3, p. 329-336, 1997.

Espécies de gafanhotos da RPPN Ouro Verde, Igrapiúna/Bahia

*Marcos Gonçalves Lhano
Eduardo Nogueira Souza Santos
João Paulo Morselli
Daniela Santos Martins Silva*

A Biodiversidade é composta por diferentes níveis e seu entendimento quanto aos seus aspectos moleculares (diversidade genética), de riqueza (diversidade de espécies) e dos recursos nos diferentes ecossistemas (diversidade funcional), nos mostra como bilhões de anos de especiação e seleção natural resultaram na atual abundância e diversidade de organismos presentes em cada habitat. Cada bioma possui uma composição única de espécies envolvidas em complexas interações tróficas e atualmente, apesar de pouco explorada no estudo de gafanhotos, a diversidade biológica tropical vem sendo estudada sob três questões gerais: (I) descrição da diversidade presente nos diferentes ambientes; (II) entendimento sobre suas origens e manutenção; e (III) estimativas funcionais sobre como essa diversidade responde às mudanças naturais e antrópicas (NRC, 1999; NUNES; VAN DEN BERGH, 2001).

Dada a importância do conhecimento da biodiversidade, o esforço dedicado por cientistas ao seu estudo nunca foi distribuído de forma proporcional entre as regiões do planeta e, principalmente, entre os grupos taxonômicos (FRANCE; RIGG, 1998). Exemplos disso no Brasil são a Amazônia e a Mata Atlântica, biomas que concentram as maiores diversidades de espécies no país, formados a partir de florestas úmidas (MARINI; GARCIA, 2015), e que são os mais estudados, mas com grande desequilíbrio no conhecimento dos diversos taxa que os compõem.

A Mata Atlântica é um dos ecossistemas mais ricos do planeta e considerado um dos 34 *hotspots* mundiais de biodiversidade (ROSUMÉK et al., 2008). Atualmente este bioma está reduzido a menos de 16% da sua cobertura original, sendo considerado um dos mais ameaçados do planeta (FLESHER; LAUFER, 2013). Nesse cenário, áreas de preservação que apresentam e/ou apresentaram ações antrópicas são valoradas a partir da determinação da riqueza de espécies abrigadas nesses locais e de sua capacidade de, por meio da estrutura e do funcionamento de suas comunidades, expandir sua capacidade de conservação biológica.

A classe Insecta é o grupo mais diversificado de Artrópodes e corresponde atualmente a cerca de 55% das espécies conhecidas no mundo. Cada espécie de inseto é parte de um conjunto maior da estrutura e funcionamento do ecossistema, e sua perda afeta a complexidade e abundância de outros organismos - sendo algumas consideradas 'espécies-chave' porque a sua extinção local poderia levar um ecossistema inteiro ao colapso caso este ambiente não possua capacidade de resiliência ecológica (GULLAN; CRANSTON, 2017).

No mundo existem 33 ordens de insetos conhecidas, sendo que 27 destas ocorrem no Brasil, representadas em aproximadamente 85.000 espécies descritas (o que representa cerca de 10% da riqueza global). Entretanto, estima-se um número maior de espécies de insetos para o território brasileiro, ao redor de 400.000 espécies (LHANO, 2020; SPERBER et al., 2012).

A ordem Orthoptera é cosmopolita, com mais de 28 mil espécies conhecidas no mundo, sendo abundante nas regiões tropicais e subtropicais, mas ocorrem também em habitats frios de grandes altitudes ou de latitudes altas, estando ausentes somente nas regiões polares (SPERBER et al., 2012), e está dividida em três subordens: Titanoptera (extinta), Caelifera (gafanhotos, taquarinhas, mané-

magros e afins - 11.000 espécies) e Ensifera (grilos, esperanças, paquinhos e afins - 15.000 espécies) (CIGLIANO et al., 2020).

A maior diversidade de Caelifera encontra-se em Acrididae, que inclui 9 superfamílias: Acridoidea, Eumastacoidea, Locustopsoidea (extinta), Pneumoroidea, Proscopioidea, Pyrgomorphoidea, Tanaoceroidea, Trigonopterygoidea e Tetrigoidea (CIGLIANO et al., 2020). Esta última está composta por gafanhotos de pronoto muito alongado e de tamanho reduzido, e as demais superfamílias estão incluídas no grupo Acridomorpha, que inclui mais de 10.000 espécies (DOMENICO, 2007).

No Brasil, constitui a sexta ordem de insetos mais diversa e a maior entre os hemimetábolos, com a ocorrência registrada de 1.815 espécies, o que equivale a cerca de 6,5% da riqueza mundial (LHANO, 2020), sendo que esse número deva ser de pelo menos 5.000 (SPERBER et al., 2012). Em termos de subordens, para Ensifera estão registradas 748 espécies, de 285 gêneros, enquanto que para Caelifera estão catalogadas 734 espécies, de 450 gêneros, com Acrididae como a família mais numerosa dessa ordem, com aproximadamente 450 espécies catalogadas (LHANO, 2020). Neste contexto verifica-se a partir do Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil (CTFB) que o conhecimento sobre a biodiversidade de gafanhotos no Brasil é escassa.

A importância ecológica dos ortópteros é devida, principalmente, ao fato de que compõem a base alimentar de muitos vertebrados (tais como aves, anfíbios e pequenos mamíferos), sendo considerados elementos indispensáveis na teia trófica (STILING, 2011). Além disso, são desfolhadores naturais, contribuindo para o incremento de matéria orgânica no solo (NUNES-GUTJAHR; BRAGA, 2010). Os gafanhotos também possuem importância econômica, face aos severos danos que ocasionam a diversas plantas, especialmente as de pastagens (COSTA; JANTSCH, 1999). Algumas espécies de

gafanhotos podem formar populações em condições ambientais favoráveis e apresentar transformação fasária com condições de realizarem invasões danosas (MAGALHÃES; LECOQ, 2006).

Apesar da sua biodiversidade e da sua importância na natureza, a fauna de Caelifera tem sido pouco estudada no Brasil. Importante destacar que levantamentos focados em espécies de gafanhotos no Brasil são escassos e estudos na Bahia ainda mais poucos. Contribuições recentes de listas de espécies no Brasil foram realizadas por Assis-Pujol e Pujol-Luz (2014), Costa et al. (2015), Barreto e Wandscheer (2017) e Terra et al. (2017). Os estudos mais frequentes com registros de ocorrência de espécies de Caelifera são aqueles específicos de questões ecológicas relacionadas à estrutura e funcionamento da comunidade de gafanhotos e os que fazem amostragens gerais de invertebrados (especialmente de Arthropoda), onde também são encontrados registros da ocorrência de espécies de gafanhotos.

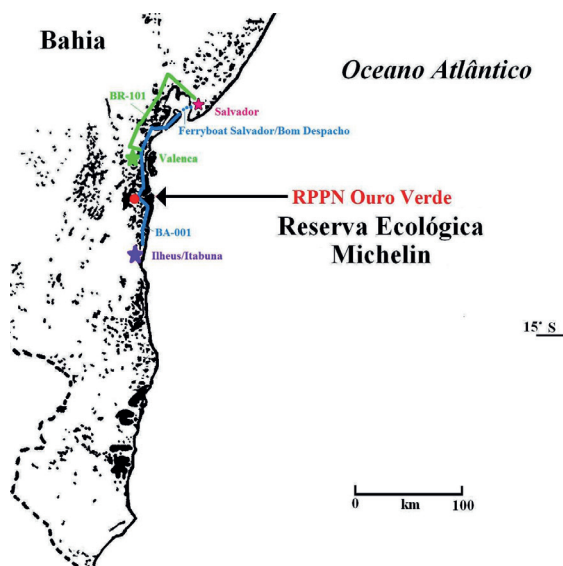
Considerando a importância destes estudos, principalmente em áreas naturais protegidas, o presente capítulo justifica-se devido à inexistência de estudos sobre biodiversidade de Caelifera na Bahia, sendo este um estudo pioneiro para o conhecimento desta fauna no Estado, e objetivou catalogar as espécies de gafanhotos (Caelifera) presentes na “Reserva Particular de Patrimônio Natural Ouro Verde”/ Reserva Ecológica Michelin (REM), município de Igrapiúna, Bahia, Brasil. Os resultados obtidos foram utilizados para compor a base de dados fundamental que subsidiou o plano de manejo da área, ressaltando assim a importância da sua conservação (FLESHER, 2014).

Material e métodos

A “Reserva Particular de Patrimônio Natural Ouro Verde” se situa na Reserva Ecológica Michelin (REM) e está localizada no município de Igrapiúna/BA (13°46’53,59”S 38°49’44,26”O Datum

SAD-69 – variação de 90 a 383 m acima do nível do mar), em uma região conhecida como “Baixo Sul”, localizada a 180 km Sul da cidade capital do estado, Salvador (FLESHER; LAUFER, 2013; FLESHER, 2014) (Figura 1). A Reserva Ecológica Michelin possui uma área de 3.069 ha, onde a RPPN ocupa 213,7 ha, e é de propriedade da empresa Plantações Michelin da Bahia Ltda (PMB). A RPPN Ouro Verde foi criada pela Portaria ICMBio 10, publicada no Diário Oficial da União em 28/01/2010 (DOU 19, Seção 01, Pgs. 68 e 69). Segundo Flesher (2014), o nome da RPPN faz referência ao Projeto Ouro Verde Bahia (POVB) dentro do qual faz parte a criação da REM. A escolha do nome “Ouro Verde” reflete o valor ecológico e econômico das árvores dentro da propriedade, onde a floresta preserva altos níveis de biodiversidade e as seringueiras sustentam a empresa e empregam centenas de pessoas da comunidade local”.

Figura 1 - Mapa de localização da RPPN Ouro Verde/Reserva Ecológica Michelin, Igrapiúna, BA.



Fonte: Flesher (2014).

A área, caracterizada como floresta pluvial ombrófila densa de terras baixas, localiza-se no bioma da Mata Atlântica e compõe o *hotspot* Corredor Central da Mata Atlântica, considerado como um dos locais de maior riqueza de espécies e de número de endemismos do bioma (THOMAS et al., 1998) e prioritário em termos de conservação (MYERS et al., 2000). Além de importantes fragmentos de floresta ombrófila, essa área também está composta por outros ambientes do complexo Mata Atlântica, como restinga, manguezal e estuário (FLESHER; LAUFER, 2013; FLESHER, 2014).

No entanto, destaca-se que o local de amostragem recebeu grande impacto antrópico no passado devido à atividade madeireira e atualmente recebe turistas que visitam principalmente a Cachoeira Pancada Grande, localizada na REM. A vegetação hoje presente na área de estudo é fundamentalmente de floresta secundária, com espécies pioneiras, e encontra-se em estado de regeneração (natural e por plantios de enriquecimento realizados pela PMB). Também na área adjacente à REM, a proprietária da área possui plantios de seringueira em sistema agroflorestal e que serve como extensão do habitat para muitas espécies da fauna e, portanto, aumenta a capacidade de carga da reserva (FLESHER; LAUFER, 2013; FLESHER, 2014).

Ao todo foram realizadas quatro amostragens na área, no período 2012/2013, com o intuito de realizar o levantamento das espécies de gafanhotos ao longo de um ano (Figura 2). As coletas aconteceram em Junho/12, Julho/12, Fevereiro/13 e Março/13, quando foram realizados dois dias de coleta para cada mês amostrado, sempre no período diário de 09:00 às 15:00 horas.

Figura 2 - Pontos de coletas na RPPN Ouro Verde, Igrapiúna/BA. A – Mata de Pacangê; B - Mata da Pancada Grande.



Fonte: Arquivo LETI/UFRB (2013).

O material foi coletado por meio de coleta manual ativa com o uso de rede entomológica, durante um período de tempo de 3 horas de caminhada, a partir das trilhas principais da Reserva Ecológica Michelin. A fim de potencializar a amostragem, a busca foi realizada por cinco pessoas que andaram paralelamente, distando entre si cerca de 10 metros, realizando o mesmo método de captura. Após a coleta, os exemplares foram transportados para o Laboratório

de Ecologia e Taxonomia de Insetos (LETI), do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB/UFRB), onde foram triados, eviscerados, preenchidos com talco + bórax, etiquetados, acondicionados em mantas entomológicas, submetidos à estufa de secagem a 60°C por 24 horas e identificados ao nível taxonômico de espécie. Para a identificação seguiu-se Amédégnato (1977) e literatura específica de cada taxa. A classificação adota seguiu a base de dados Orthoptera Species File Online Version 5.0/5.0 (CIGLIANO et al., 2020). Após a identificação, o material foi montado em alfinetes entomológicos para preservação a seco e depositado na Coleção Entomológica, no Museu de Zoologia e Paleontologia (MURB), da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Resultados e discussão

Ao longo do estudo foram coletados 749 indivíduos, sendo 507 adultos (68%) e 242 ninfas (32%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Número (N) de adultos, ninfas e espécies amostrados na RPPN Ouro Verde, Igapiúna/BA.

N	Jun/12	Jul/12	Fev/13	Mar/13	TOTAL
Adultos	153	75	132	147	507
Ninfas	30	90	84	38	242
Espécies	18	17	18	20	51

Fonte: Autores (2013).

Os 507 adultos coletados estão distribuídos em 4 Superfamílias, 6 Famílias, 15 Subfamílias e 51 espécies de gafanhotos (Tabela 2). As famílias amostradas foram: Acrididae, Eumastacidae, Ommexechidae, Proscopiidae, Romaleidae e Tetrigidae. Destas, o grupo mais amostrado foi Acrididae com 395 ortópteros (77,9%), enquanto Eumastacidae apresentou um único espécime. Estes dados

corroboram aos de Graciani et al. (2005) e Guerra et al. (2012), onde a maioria dos indivíduos capturados também fazem parte da família Acrididae, porém discordam de Garcia et al. (2004), onde a família mais amostrada foi Romaleidae.

Tabela 2 - Lista de espécies de gafanhotos (Orthoptera: Acridoidea) que ocorrem na Reserva Ecológica Michelin (REM), município de Igrapiúna, Bahia, Brasil.

Superfamília Acridoidea

Família Acrididae

Subfamília Acridinae

Eutryxalis filata (Walker, 1870)

Guaranacris specularis (Bruner, 1906)

Metaleptea adspersa (Blanchard, 1843)

Orphula sp. Stål, 1873

Parorphula graminea Bruner, 1900

Subfamília Copiocerinae

Aleuas sp. Stål, 1878

Bucephalacris bucephala (Marschall, 1836)

Subfamília Gomphocerinae

Amblytropidia sp. Rehn, 1939

Orphulella punctata (De Geer, 1773)

Subfamília Leptysminae

Belosacris coccineipes (Bruner, 1906)

Cornops frenatum (Marschall, 1836)

Leptysma filiformis (Serville, 1838)

Stenacris xanthochlora (Marschall, 1836)

Stenopola bohlsii Giglio-Tos, 1895

Stenacris sp. Walker, 1870

Stenopola dorsalis (Thunberg, 1827)

Stenopola puncticeps puncticeps (Stål, 1861)

Tucayaca biserrata Roberts, 1977

Subfamília Melanoplinae

Baeacris punctulata (Thunberg, 1824)

Ronderosia bergii (Stål, 1878)

Ronderosia sp. Cigliano, 1997

Subfamília Ommatolampidinae

Abracrini sp. Walker, 1870

Abracris dilecta Walker, 1870

Abracris flavolineata (De Geer, 1773)

Beckeracris sp. Amédégnato & Descamps, 1979

Eujivarus sp. Bruner, 1911

Lagidacris straminicola Amédégnato & Descamps, 1979

Omalotettix obliquus (Thunberg, 1824)

Pseudovilerna maculicrus Descamps & Amédégnato, 1989

Pycnosarcus sp. Bolívar, 1906

Roppacris longicerca Amédégnato & Descamps, 1979

Seabracris splendiflua Amédégnato & Descamps, 1979

Vilerna rugulosa Stål, 1878

Subfamília Proctolabinae

Coscineuta sp. (Burmeister, 1838)

Família Ommexechidae

Subfamília Ommexechinae

Descampsacris serrulatum (Thunberg, 1824)

Ommexecha virens Serville, 1831

Família Romaleidae

Subfamília Bactrophorinae

Adrolampis sp. Descamps, 1977

Subfamília Romaleinae

Chromacris speciosa (Thunberg, 1824)

Radacridium sp. Carbonell, 1984

Stornophilacris bahiensis Amédégnato & Descamps, 1978

Tropidacris collaris (Stoll, 1813)

Xyleus discoideus discoideus (Serville, 1831)

Superfamília Eumastacoidea

Família Eumastacidae

Subfamília Temnomastacinae

Eutemnomastax saurus (Burr, 1899)

Superfamília Proscopioidea

Família Proscopiidae

Subfamília Proscopiinae

Corynorhynchus hispidus (Klug, 1820)

Proscopia granulata Klug, 1820

Stiphra sp. Brunner von Wattenwyl, 1890

Tetanorhynchus longicornis Bruner, 1913

Superfamília Tetrigoidea

Família Tetrigidae

Subfamília Batrachideinae

Halmatettix sp. Hancock, 1909

Tettigidea sp. Scudder, 1862

Subfamília Cladonotinae

Cota bispina (Saussure, 1861)

Subfamília Metrodorinae

Crimisus sp. Bolívar, 1887

Com relação à riqueza de espécies de gafanhotos (n= 51), a RPPN Ouro Verde possui uma das maiores entre áreas estudadas recentemente no Brasil por outros autores e com maiores esforços de coleta: Graciani et al. (2005): margens do Rio Uruguai, Chapecó/SC, n= 18; Gontijo et al. (2005): campos rupestres em Minas Gerais da Serra do Ouro Branco n=39, e da Serra do Ribeiro n=23; Almeida e Câmara (2008): ao longo de cinco anos, na Estação Ecológica do Tapacurá, São Lourenço da Mata/PE, n=25; Lutinski et al. (2011):

três áreas distintas na Floresta Nacional de Chapecó (FLONA/SC) ao longo de 12 meses, $n=25$; e Nunes-Gutjahr e Braga (2010): Altamira e Novo Progresso/PA, antes do asfaltamento da rodovia Santarém-Cuiabá (BR-163), $n=37$. A riqueza amostrada na RPPN Ouro Verde ficou abaixo somente do reportado por Guerra et al. (2012), que estudou, durante 3 anos, 59 áreas com vegetação nativa de Cerrado e em 56 áreas de lavouras na Chapada de Cáceres/MT, obtendo 64 espécies com um esforço amostral muito superior ao realizado no presente estudo; e de Nunes-Gutjahr e Braga (2015), que amostraram 71 espécies de Acridoidea na Área de Influência Direta (AID) do Empreendimento Hidrelétrico Belo Monte, Volta Grande do Rio Xingu/PA, antes do impacto decorrente da construção da represa.

Dentre os gafanhotos pertencentes à família Acrididae foram identificadas 7 subfamílias: Acridinae, Copiocerinae, Gomphocerinae, Leptysminae, Melanoplinae, Ommatolampidinae e Proctolabinae. Destas, Acridinae foi a subfamília mais amostrada com 221 gafanhotos (56%), seguido por Leptysminae ($n=124$, 3%) e Melanoplinae ($n=32$, 8%). Esses resultados são semelhantes aos de Gontijo et al. (2005), onde Acridinae aparece como uma das subfamílias mais amostradas. Proctolabinae foi a subfamília menos amostrada, correspondendo a 18 indivíduos ou 5% do total capturado.

Com relação à proporção sexual no estudo, a relação encontrada foi de superioridade no número de machos com relação a fêmeas, apresentando uma razão de 0,61 fêmeas para cada macho. O mês com a maior diferença entre os sexos foi março com a relação de 0,44:1, o mês de julho foi o que apresentou um número mais próximo da homogeneidade com 0,79:1.

Conclusão

A apresentação desta lista de espécies contribui para o conhecimento da biodiversidade da fauna da Bahia, bem como para

o conhecimento da ocorrência de cada espécie amostrada. Destaca-se a riqueza de gafanhotos amostrada (muito superior ao encontrado na maioria de outros estudos publicados recentemente), reforça a importância de conservação da RPPN Ouro Verde/Reserva Ecológica Michelin.

Referências

ALMEIDA, A.; CÂMARA, C. Distribution of grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) in the Tapacurá Ecological Station (São Lourenço da Mata, PE/Brazil). **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 1, p. 21-24, 2008.

AMÉDÉGNATO, C. **Étude des Acridoidea centre et sud américaines (Catantopinae sensu lato), anatomie des genitalia, classification, repartition, phylogenic**. 1977. 385 f. Tese (Doctorat d'État et Sciences Naturelles) - Université Pierre et Marie Curie, Paris, 1977.

ASSIS-PUJOL, C. V.; PUJOL-LUZ, J. R. Checklist de Caelifera (Acridoidea e Eumastacoidea) do Estado do Rio de Janeiro (Orthoptera). **EntomoBrasilis**, v. 7, n. 2, p. 134-150, 2014.

BARRETO, M. R.; WANDSCHEER, R. B. Registro de ortópteros (Orthoptera, Caelifera, Ensifera) presentes no Acervo Biológico da Amazônia Meridional, Brasil. **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 3, p. 187-193, 2017.

CIGLIANO, M. M. et al. **Homepage**: Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Disponível em: <<http://Orthoptera.SpeciesFile.org>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

COSTA, M. K. M. da et al. Checklist of Grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) from Reserva Florestal Adolpho Ducke, State of Amazonas, Brazil, and New Records for the Country. **Journal of Orthoptera Research**, v. 24, n. 2, p. 59-65, 2015.

COSTA, M. K. M. da; JANTSCH, L. J. Acridóideos (Orthoptera, Caelifera, Acridoidea) ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, v. 7, n. 1, p. 135-155, 1999.

DOMENICO, F. C. de. **Revisão do gênero *Tetanorhynchus* Brunner von Wattenwyl, 1890 (Orthoptera, Caelifera, Proscopiidae)**. 2007. 204 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

FLESHER, K. M. **Plano de Manejo - Reserva Particular de Patrimônio Natural Ouro Verde**. Igrapiúna, Bahia: Centro de Estudos da Biodiversidade, Reserva Ecológica Michelin - Plantações Michelin da Bahia Ltda., 2014. 175 p.

FLESHER, K. M.; LAUFER, J. Protecting wildlife in a heavily hunted Biodiversity Hotspot: A case study from the Atlantic Forest of Bahia, Brazil. **Tropical Conservation Science**, v. 6, n. 2, p. 181-200, 2013.

FRANCE, R.; RIGG, C. Examination of the “founder effect” in biodiversity research: patterns and imbalances in the published literature. **Diversity & Distributions**, v. 4, n. 2, p.77-86, 1998.

GARCIA, F. R. M. et al. Ocorrência de artrópodes em lavoura de milho (*Zea mays*) no município de Arvoredo, SC. **Bioikos**, v. 18, n. 1, p. 21-28, 2004.

GONTIJO, A. B.; CARNEIRO, M. A. A.; PEREIRA, M. R. Efeitos da altitude e do substrato sobre a riqueza de espécies de gafanhotos em campos rupestres. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 7., 2005, Caxambu, MG. **Anais eletrônicos...** Sociedade Brasileira de Ecologia, 2005. Disponível em: <<http://seb-ecologia.org.br/revistas/indexar/anais/viiceb/resumos/1004a.pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2020.

GRACIANI, C.; GARCIA, F. R. M.; COSTA, M. K. M. da. Análise faunística de gafanhotos (Orthoptera, Acridoidea) em fragmento florestal próximo ao Rio Uruguai, município de Chapecó, Santa Catarina. **Biotemas**, v. 18, n. 2, p. 87-98, 2005.

GUERRA, W. D.; OLIVEIRA, P. C. de; PUJOL-LUZ, J. R. Gafanhotos

(Orthoptera, Acridoidea) em áreas de cerrados e lavouras na Chapada dos Parecis, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 2, p. 228-239, 2012.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Insetos - Fundamentos da Entomologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 436 p.

LHANO, M. G. Orthoptera. In: **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD, Rede BHL/Scielo. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/294>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

LUTINSKI, C. J. et al. Análise faunística de gafanhotos na Floresta Nacional de Chapecó, Santa Catarina. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 65, p. 43-50, 2011.

MAGALHÃES, B. P.; LECOQ, M. **Bioinseticida e gafanhotos-praga - Relatório final do projeto “Desenvolvimento de bioinseticidas para controle de gafanhotos-praga no Brasil”**. Montepellier, França: CIRAD: Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 116 p.

MARINI, M. Â.; GARCIA, F. I. Conservação de aves no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 95-102, 2015.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Perspectives on biodiversity: valuing its role in an everchanging world**. Washington: National Academy Press, 1999. 129 p.

NUNES, P. A. L.; VAN DEN BERGH, J. C. J. Economic valuation of biodiversity: sense or nonsense? **Ecological Economics**, v. 39, n. 2, p. 203-222, 2001.

NUNES-GUTJAHR, A. L.; BRAGA, C. E. S. Similaridade entre amostras da Acridofauna (Orthoptera: Acrididae) em quatro áreas ao longo da Estrada Santarém-Cuiabá (BR-163), Pará, Brasil. **Revista Nordestina de Zoologia**, v. 4, n. 1, p. 118-130, 2010.

NUNES-GUTJAHR, A. L.; BRAGA, C. E. S. Análise faunística de gafanhotos Acridoidea da Volta Grande do Rio Xingu, área de influência direta da Hidrelétrica Belo Monte, Pará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1220-1227, 2015.

ROSUMEK, F. B. et al. Formigas de solo e de bromélias em uma área de Mata Atlântica, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil: Levantamento de espécies e novos registros. **Biotemas**, v. 21, n. 4, 2008.

SPERBER, C. F. et al. Cap. 21 - Orthoptera. In: RAFAEL, J. A. et al. (Eds.). **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2012. p. 271-287.

STILING, P. D. **Ecology: global insights & investigations**. 1. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2011. 656 p.

TERRA, B. R. et al. The grasshoppers (Orthoptera: Caelifera) of the grasslands in the southern portion of the Espinhaço Range, Minas Gerais, Brazil. **Check List**, v. 13, n. 1, (article 2052) p. 1-16, 2017.

THOMAS, W. W. et al. Plant endemism in two forests in southern Bahia, Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 7, n. 3, p. 311-322, 1998.

Interação alimentar entre girinos de *Boana*

Joanna Karine Gomes de Oliveira

Vivian Gama

Airan dos Santos Protázio

Carla Fernandes Macedo

Arielson dos Santos Protázio

A dimensão trófica do nicho ecológico é considerada uma das características mais importantes para a compreensão do modo como diferentes espécies interagem nas comunidades, bem como do reflexo dessa interação na determinação da diversidade (WINEMILLER et al., 2015). Pares de espécies podem apresentar diferentes níveis de sobreposição no nicho alimentar capazes de garantir a coexistência (MENIN; ROSSA-FERES; GIARETTA, 2005). Assim, a identificação de partição alimentar entre essas espécies é frequentemente interpretada como sendo evidência da presença de competição regulando o uso do recurso (PIANKA, 1973). Acredita-se que esse fenômeno seja mais evidente entre espécies próximas filogeneticamente, já que o seu elo evolutivo pode determinar um maior nível de similaridade ecológica e comportamental (PROTÁZIO et al., 2015).

Anuros são organismos muito utilizados como modelos em estudos sobre a interação alimentar. No entanto, a maioria desses estudos tem sido realizada com indivíduos adultos, evidenciando, frequentemente, um padrão alimentar oportunista, em que a dieta varia de acordo com a disponibilidade das presas no ambiente (CERON et al., 2019). Por outro lado, estudos sobre ecologia alimentar de girinos têm revelado resultados contrastantes, onde alguns autores apontam que a dieta das espécies parece refletir a composição de itens disponíveis no ambiente, enquanto outros defendem a existência de níveis de preferência

alimentar que direcionam para a partição (BORGES; ROCHA, 2013). Este cenário revela a necessidade de novos conhecimentos sobre a dieta das larvas de anuros e o seu papel na interação de nicho alimentar entre as diferentes espécies, a fim de possibilitar uma melhor compreensão dos mecanismos que determinam a coexistência desses organismos em um mesmo corpo d'água.

Boana albomarginata (Spix, 1824) e *Boana faber* (Wied-Neuwied, 1821) são duas espécies de perereca pertencentes ao grupo *B. faber* (FAIVOVICH et al., 2005) e podem ser encontradas em sintopia em áreas de Mata Atlântica do Nordeste brasileiro. Ambas apresentam similaridade ecológica e comportamental, com larvas exotróficas, livres e natantes, comumente encontradas nos mesmos tipos de micro-habitat (MELO; GAREY; ROSSA-FERES, 2018). Estas características sugerem que girinos sintópicos podem interagir em alguma dimensão do nicho multidimensional e evidencia a necessidade de estudos que busquem mensurar a magnitude dessa interação. Neste estudo foi investigada a interação no nicho alimentar entre girinos de *B. albomarginata* e *B. faber* sintópicos em uma poça temporária da Mata Atlântica do Recôncavo Baiano. Para isso, buscou-se: (i) identificar os itens alimentares dos girinos das duas espécies; (ii) verificar os níveis de interação no nicho alimentar entre os girinos; e (iii) averiguar se a forma do corpo das duas espécies é capaz de explicar o componente da dieta.

Material e métodos

Os girinos foram coletados entre os dias 11 e 17 de agosto de 2018 em uma poça temporária (12°40'24.9" S; 39°06'06.1" O; altitude 226 m) localizada no interior de um fragmento florestal conhecido como "Riacho do Machado", no município de Cruz das Almas, região do Recôncavo Baiano, Nordeste do Brasil. A poça temporária possui uma área de 432 m² e profundidade máxima de 56 cm. O município

apresenta clima do tipo tropical mansônico (Am), com média de temperatura de 23,9 °C e precipitação anual de 1.131 mm (SILVA; COELHO-FILHO; COELHO, 2016). A vegetação original é de Floresta Estacional Semidecidual (BRAZÃO; ARAÚJO, 1981). Contudo, com o crescimento urbano e das atividades agropecuárias, grande parte da vegetação original foi reduzida a áreas de pasto, plantações e construções. A poça temporária investigada está inserida em uma região de vegetação secundária, formada por árvores de grande a médio porte. Além de *B. albomarginata* e *B. faber*, girinos de mais quatro espécies de anuros foram identificados utilizando a poça temporária (COSTA, 2012). Contudo, apenas as duas espécies aqui investigadas fazem parte do gênero *Boana*.

Foram analisados onze girinos de *B. albomarginata* e oito de *B. faber*, entre as fases 25 a 40 e 25 a 37, respectivamente, caracterizadas pelo desaparecimento das brânquias externas, presença de espiráculo e desenvolvimento dos membros posteriores (baseado em GOSNER, 1960). Os itens alimentares de cada girino foram obtidos a partir da remoção do intestino, sendo realizada uma incisão da cloaca ao disco oral e, posteriormente, aberto sobre uma placa de Petri para a remoção do conteúdo intestinal. Logo depois, foram realizados cortes longitudinais no intestino, auxiliados por um bisturi e esteriomicroscópio Olympus SZ51. Em seguida, o conteúdo intestinal foi diluído em 1 ml de formol a 6% e, posteriormente, a solução acondicionada em um microtubo. Durante o processo, duas amostras de *B. albomarginata* e três de *B. faber* ficaram secas e impossibilitaram a observação, por isso foram excluídas da análise. Para a observação dos itens alimentares, a solução foi homogeneizada em um agitador do tipo vortex e aproximadamente 0,05 ml dessa solução foi analisada sob um microscópio óptico Olympus CX21, utilizando-se lâminas (25,4 mm x 76,2 mm) e lamínulas (22,0 mm x 22,0 mm) de vidro. As amostras foram visualizadas nas aproximações

20x, 40x e 100x e os itens alimentares identificados ao menor nível taxonômico possível, por meio de bibliografia especializada.

Para a análise da dieta, foram obtidas frequências numéricas (FN%) (quantidade de itens de cada categoria alimentar), frequências de ocorrência (FO%) (quantidade de vezes que a categoria se repetiu na amostra) e Índices de Importância (FN% + FO% / 2) de cada categoria alimentar. Posteriormente, foi calculada a largura de nicho alimentar de cada espécie, através do inverso do Índice de Diversidade de Simpson (1949): $B = \frac{1}{\sum_{i=1}^n p_i^2}$. Neste índice são gerados valores que variam de 1 (especialista) ao total de categorias identificadas (generalista). Em seguida, o Índice de Importância foi utilizado para calcular a sobreposição de nicho alimentar entre os girinos das duas espécies, através da fórmula de Pianka (1973):

$\phi_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^n p_{ij} p_{ik}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n p_{ij}^2 \sum_{i=1}^n p_{ik}^2}}$, onde p representa a proporção de categorias alimentares i , n é o número de categorias e j e k representam as espécies que estão sendo comparadas. Os valores de sobreposição variam de 0 (ausência de sobreposição) a 1 (sobreposição completa). Por fim, uma análise de pseudocomunidade (modelo nulo) foi realizada para verificar a presença de competição entre as duas espécies. O cálculo da sobreposição de nicho alimentar e a análise de pseudocomunidade foram realizados no software EcoSim (GOTELLI; ENTSMINGER, 2005), utilizando 1.000 aleatorizações e o modelo de aleatorização do tipo R2.

Todos os exemplares tiveram sua morfometria mensurada com um paquímetro digital, auxiliado por um estereomicroscópio. Foram mensuradas 12 variáveis: comprimento da cabeça (CC), comprimento da cauda (Cca), largura da cauda (LC), altura do corpo (AC), largura da musculatura da cauda (LMC), altura da nadadeira dorsal (AND), altura da nadadeira ventral (ANV), altura da musculatura da cauda (AMC), altura máxima da cauda (AMCa), distância inter-olhos (DIO),

distância inter-órbita (DIOr) e comprimento total (CT). A Análise dos Componentes Principais (ACP) foi utilizada para verificar a existência de diferenças morfológicas entre os girinos de *B. albomarginata* e *B. faber*, a partir dos dados transformados (log). A ACP foi realizada no software Past 3.19 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Resultados e Discussão

Foram contabilizados 5.459 itens alimentares, sendo 3.998 de *B. albomarginata* e 1.461 de *B. faber*, distribuídos em 31 categorias (Tabela 1). A dieta das duas espécies foi composta por algas, fungos, animais, vegetais e protozoários. Contudo, os itens de maior importância em *B. albomarginata* foram diatomáceas (80,3) e os euglenófitos *Phacus* (52,5), *Trachelomonas* (48,4) e *Euglena* (45,2), enquanto em *B. faber* foram diatomáceas (75,4), *Trachelomonas* (50,5), Itens não identificados II (40,6) e *Phacus* (32,3). O cálculo da largura de nicho revelou valores baixos para ambas as espécies, sendo 2,63 em *B. albomarginata* e 3,22 em *B. faber*, indicando um grande predomínio de poucas categorias alimentares. Notadamente, diatomáceas corresponderam a 60,5% da dieta de *B. albomarginata* e 50,8% da dieta de *B. faber*.

Tabela 1 - Itens alimentares identificados nos girinos de *Boana albomarginata* e *Boana faber* da poça temporária de Cruz das Almas, Bahia.

	<i>Boana albomarginata</i>			<i>Boana faber</i>		
	FN%	FO%	I	FN%	FO%	I
CYANOBACTERIA						
<i>Spirulina</i>	0,15	22,2	11,2	—	—	—
Filamento de cianobactéria	0,60	66,7	33,6	—	—	—
BACILLARIOPHYTA						
Ordem <i>Penalles</i>	60,53	100,0	80,3	50,79	100,0	75,4
CHAROPHYTA						
<i>Sirogonium</i>	0,05	11,1	5,6	—	—	—
CHLOROPHYTA						
<i>Chlamydomonas</i>	0,10	11,1	5,6	—	—	—
<i>Closterium</i>	0,05	33,3	16,7	0,21	20,0	10,1
<i>Oocystis</i>	0,45	44,4	22,4	0,68	20,0	10,3
<i>Spirogyra</i>	0,05	22,2	11,1	—	—	—
<i>Ulothrix</i>	1,25	88,9	45,1	0,55	20,0	10,3
DYNOPHYTA						
<i>Gymnodinium</i>	—	—	—	0,55	20,0	10,3
<i>Peridinium</i>	1,50	11,1	6,3	0,82	20,0	10,4
EUGLENOPHYTA						
<i>Euglena</i>	1,45	88,9	45,2	0,07	20,0	10,0
<i>Phacus</i>	5,08	100,0	52,5	4,52	60,0	32,3
<i>Trachelomonas</i>	8,00	88,9	48,4	20,94	80,0	50,5
OCHROPHYTA						
<i>Tribonema</i>	1,78	55,6	28,7	0,89	60,0	30,4
CILIOPHORA	0,90	55,6	28,2	—	—	—
RIZHOPODA						
<i>Arcella</i>	1,15	66,7	33,9	3,90	40,0	21,9
DIVERSOS						
Animal	0,03	11,1	5,6	—	—	—
Esporo de fungo	1,20	44,4	22,8	4,24	60,0	32,1
Fungo	0,90	33,3	17,1	0,68	20,0	10,3
Ovo de helminto	0,88	33,3	17,1	0,27	40,0	20,1
Pólen	3,38	77,8	40,6	2,60	60,0	31,3
Vegetal	0,30	22,2	11,3	2,67	60,0	31,3
NÃO IDENTIFICADOS						
Itens não identificados I	2,43	33,3	17,9	—	—	—
Itens não identificados II	2,25	55,6	28,9	1,23	80,0	40,6
Itens não identificados III	0,33	33,3	16,8	0,07	20,0	10,0
Itens não identificados IV	3,73	44,4	24,1	3,63	60,0	31,8
Itens não identificados V	0,85	44,4	22,6	0,48	40,0	20,2
Itens não identificados VI	—	—	—	0,14	20,0	10,1
Itens não identificados VII	0,40	33,3	16,9	0,07	20,0	10,0
Itens não identificados VIII	0,25	11,1	5,7	—	—	—
TOTAL		3.998			1.461	

Fonte: Autores (2021).

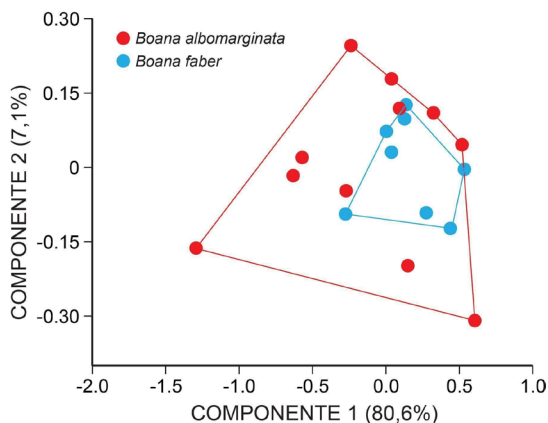
A composição de itens alimentares na dieta dos girinos de *B. albomarginata* e *B. faber* foi similar à dieta de girinos de outras espécies, sendo formada primariamente por algas (ROSSA-FERES; JIM; FONSECA, 2004). A marcante presença de diatomáceas na dieta de girinos é algo bem documentado e pode estar associada à elevada abundância dessas algas no ambiente (PROTÁZIO et al., 2020). Além disso, existem evidências de que as diatomáceas podem desempenhar papel importante nos processos metabólicos da metamorfose (KUPFFEBERG; MARKS; POWER, 1994), sugerindo a possibilidade de algum nível de seletividade deste item. Ainda assim, a alimentação composta por diferentes categorias alimentares, incluindo animais, vegetais, fungos e protozoários, permite caracterizar os girinos de *B. albomarginata* e *B. faber* como oportunistas onívoros (HOFF et al., 1999). No entanto, estudos que considerem a eletividade dos itens alimentares são necessários para melhor definir este padrão.

O cálculo da sobreposição de nicho alimentar evidenciou uma média observada de 86% e uma média simulada de 59%. A análise de pseudocomunidade revelou que as chances da média observada ser menor que a média simulada não foi significativa ($p = 1,0$), indicando ausência de competição entre as duas espécies. Muitos estudos têm evidenciado similaridade e elevada sobreposição na dieta de espécies filogeneticamente próximas. Santos et al. (2016) verificaram grande similaridade na dieta de girinos de *Aplastodiscus cavicola* (Cruz & Peixoto, 1985) e *Aplastodiscus sibilatus* (Cruz, Pimenta & Silvano, 2003) que habitavam riachos na Mata Atlântica do Sudeste do Estado da Bahia. Rossa-Feres, Jim e Fonseca (2004) encontraram o mesmo padrão na composição alimentar de girinos de 13 espécies provenientes de um açude artificial temporário, no Sudeste do Brasil. A elevada sobreposição na dimensão trófica entre pares de espécies próximas filogeneticamente pode estar associada,

sobretudo, à semelhança na forma do corpo e comportamento de forrageio das espécies, os quais parecem refletir a composição de itens alimentares consumidos (BORGES; ROCHA, 2013).

Na ACP as variáveis mais relevantes foram distância inter-olhos, largura da musculatura da cauda e comprimento da cauda. Ainda assim, as duas espécies ocuparam o mesmo espaço morfométrico, indicando grande similaridade na forma do corpo (Gráfico 1). Em geral, espécies filogeneticamente próximas tendem a apresentar forma do corpo e dieta similares, decorrentes da ligação evolutiva, indicando a presença de conservantismo do nicho (ETEROVICK et al., 2010). Este mesmo fenômeno é observado em girinos, onde diferentes espécies com ecomorfotipos diferenciados compartilham o mesmo espaço morfométrico (MARQUES; NOMURA, 2015). Desde que os girinos de *B. albomarginata* e *B. faber* pertencem à guilda bentônica, apresentando corpo adaptado à vida próximo ao substrato (ALTHIG; JOHNSTON, 1989), o padrão morfológico e alimentar observados no presente estudo sugere a presença de um forte efeito histórico atuando sobre estes traços.

Gráfico 1 - Análise dos Componentes Principais das variáveis morfométricas dos girinos de *Boana albomarginata* e *Boana faber*.



Fonte: Autores (2021).

Muitos autores consideram a partição espacial, regulada por variações na forma do corpo, o mecanismo primário para a coexistência entre girinos, enquanto a composição nos itens alimentares é colocada como secundário, uma vez que pode variar de acordo com a posição ocupada pelas espécies nos corpos d'água (DIAZ-PANIAGUA, 1985; LAJMANOVICH, 2000). Ainda assim, existem evidências de partição alimentar, com marcante diferenciação na quantidade e composição dos itens ingeridos (PRADO et al., 2009; ANTONIAZZI et al., 2020). Costa (2019), em estudo sobre a distribuição espacial de girinos na mesma poça aqui estudada, observou elevada sobreposição (90%) e ausência de competição no uso do micro-habitat entre girinos de *B. albomarginata* e *B. faber*. Esses resultados corroboram nossos achados, onde não foi identificada partição alimentar entre os girinos das duas espécies, indicando a ausência de competição, bem como não foram identificadas diferenciação morfológica que pudessem explicar possíveis variações na dieta. Assim, os baixos valores de largura de nicho e a elevada sobreposição alimentar e morfométrica identificados no presente estudo, aliados aos dados da literatura que indicam elevada sobreposição espacial entre os girinos de *B. albomarginata* e *B. faber*, sugerem que a abundância de recursos alimentares é o principal fator que garante a coexistência das duas espécies na poça estudada.

Conclusão

Os dados obtidos indicam que os girinos de *B. albomarginata* e *B. faber* são oportunistas onívoros, consumindo preferencialmente algas. O padrão no uso do recurso alimentar e a ausência de competição entre as duas espécies podem ser decorrentes de dois fatores: (i) a grande abundância de itens alimentares disponíveis no ambiente, a qual pode promover redução de interações negativas; e

(ii) grande similaridade na forma do corpo, a qual pode determinar uso dos mesmos micro-habitat e recursos alimentares.

Referências

ALTIG, R.; JOHNSTON, G. Guilds of anuran larvae: relationships among developmental modes, morphologies, and habitats. **Herpetological Monographs**, v. 3, p. 81-109, 1989.

ANTONIAZZI, C. E. et al. Trophic ecology of tadpoles in floodplain wetlands: combining gut contents, selectivity, and stable isotopes to study feeding segregation of syntopic species. **Hydrobiologia**, v. 847, p. 3013-3024, 2020.

BORGES, V. N. T.; ROCHA, C. F. D. Tropical tadpole assemblages: which factors affect their structure and distribution? **Oecologia Australis**, v. 17, n. 2, p. 217-228, 2013.

BRAZÃO, J. E. M.; ARAÚJO, A. P. Vegetação: as regiões fitoecológicas, sua natureza e seus recursos econômicos. Estudo fitogeográfico. In: **Folha SD24 Salvador: geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial da terra**. Rio de Janeiro: Ministério das Minas e Energia, 1981. p. 405-464.

CERON, K. et al. Global patterns in anuran-prey networks: structure mediated by latitude. **Oikos**, v. 128, n. 11, p. 1537-1548, 2019.

COSTA, M. B. S. **Distribuição espacial de espécies de girinos em uma poça temporária no município de Cruz das Almas, Bahia**. 2019. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biologia) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2019.

DIAZ-PANIAGUA, C. Larval diets related to morphological characters of five anuran species in the Biological Reserve of Doñana (Huelva, Spain). **Amphibia-Reptilia**, v. 6, n. 4, p. 307-322, 1985.

ETEROVICK, P. C. et al. Lack of phylogenetic signal in the variation in anuran microhabitat use in southeastern Brazil. **Evolutionary Ecology**, v. 24, n. 1, p. 1-24, 2010.

FAIVOVICH, J. et al. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, n. 294, p. 1-240, 2005.

GOSNER, K. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. 16, n. 3, p. 183-190, 1960.

GOTELLI, N. J.; ENTSMINGER, G. L. **EcoSim**: null models software for ecology. Versão 5.0. Out. 2019. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. Disponível em: <http://homepages.together.net/~gentsmin/ecosim.htm>, 2000. Acesso em: 31 mai. 2020.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.

HOFF, K. et al. Behavior: interactions and their consequences. In: MCDIARMID, R. W.; ALTIG, R. (eds.). **Tadpole**: the biology of anuran larvae. Chicago: The University of Chicago Press, 1999. p. 215-239.

KUPFERBERG, S. J.; MARKS, J. C.; POWER, M. E. Effects of variation in natural algal and detrital diets on larval anuran (*Hyla regilla*) life-history traits. **Copeia**, v. 1994, n. 2, p. 446-457, 1994.

LAJMANOVICH, R. C. Interpretación ecológica de una comunidad larvaria de anfibios anuros. **Interciencia**, v. 24, n. 2, p. 71-78, 2000.

MARQUES, N. S.; NOMURA, F. Where to live? How morphology and evolutionary history predict microhabitat choice by tropical tadpoles. **Biotropica**, v. 47, n. 2, p. 227-235, 2015.

MELO, L. S. O.; GAREY, M. V.; ROSSA-FERES, D. C. Looking for a place: how are tadpoles distributed within tropical ponds and streams? **Herpetology Notes**, v. 11, p. 379-386, 2018.

MENIN, M.; ROSSA-FERES, D. C.; GIARETTA, A. A. Resource use and coexistence of two syntopic hylid frogs (Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 1, p. 61-72, 2005.

PIANKA, E. R. The structure of lizard communities. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 4, p. 53-74, 1973.

PRADO, V. H. M. et al. Niche occupancy and the relative role of micro-habitat and diet in resource partitioning among pond dwelling tadpoles. **South American Journal of Herpetology**, v. 4, n. 3, p. 275-285, 2009.

PROTÁZIO, A. S. et al. Niche differentiation of an anuran assemblage in temporary ponds in the Brazilian semiarid Caatinga: influence of ecological and historical factors. **Herpetological Journal**, v. 25, n. 2, p. 109-121, 2015.

PROTÁZIO, A. S. et al. Diet of tadpoles of five anuran species from northeast Brazil. **Journal of Limnology**, v. 79, n. 2, p. 180-186, 2020.

ROSSA-FERES, D. C.; JIM, J.; FONSECA, M. G. Diets of tadpoles from a temporary pond in southeastern Brazil (Amphibia, Anura). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 4, p. 745-754, 2004.

SANTOS, F. J. M. et al. Diet and food resource partition among benthic tadpoles of three anuran species in Atlantic Forest tropical streams. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 31, n. 1, p. 53-60, 2016.

SILVA, T. S. M.; COELHO-FILHO, M. A.; COELHO, E. F. **Boletim meteorológico da estação convencional de Cruz das Almas, BA: variabilidade e tendências climáticas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2016. 77 p.

SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, p. 688, 1949.

WINEMILLER, K. O. et al. Functional traits, convergent evolution, and periodic tables of niches. **Ecology Letters**, v. 18, n. 8, p. 737-751, 2015.

Carcinofauna de Cruz das Almas e São Félix, Bahia

*Sérgio Schwarz da Rocha
Diego Luis Guedes de Souza
Lília Ferreira Souza Queiroz*

Conhecimentos taxonômicos das comunidades bentônicas são essenciais para a compreensão do funcionamento dos ecossistemas aquáticos. Neste cenário, os crustáceos representam um grande táxon de invertebrados predominantemente aquáticos que ocupa uma posição ecológica importante nos diferentes habitats em que ocorrem (ROCHA; BUENO, 2004).

Alguns estados no Nordeste do Brasil apresentam a fauna de crustáceos decápodes bem conhecida, com destaque para Pernambuco e Alagoas; já no Maranhão, Piauí e Ceará, o conhecimento sobre a composição da carcinofauna é incipiente (ALMEIDA et al., 2006). Além disso, o atual conhecimento dos decápodes dulcícolas do território baiano também é esparso e alguns poucos trabalhos merecem ser mencionados, tais como os estudos sobre camarões Palaemonidae (BORGES, 2003; ROCHA et al., 2015; ROCHA; BARBOSA, 2017; SILVA; OLIVEIRA; ROCHA, 2019), camarões Atyidae (ALMEIDA; MOSSOLIN; LUZ, 2010), caranguejos Trichodactylidae (COSTA NETO, 2007; SILVA et al., 2014) e o levantamento da carcinofauna estuarina do Sul da Bahia (ALMEIDA et al., 2006). Com relação aos camarões do gênero *Macrobrachium*, atualmente tem-se nove espécies com ocorrência registrada para o Estado da Bahia (MELO, 2003; ALMEIDA et al., 2008).

O contínuo e intenso processo de poluição e degradação dos ambientes de água doce causada pelo homem, que vemos

atualmente, representa uma séria ameaça às comunidades aquáticas, que interagem de forma inseparável e dependente. Tal degradação é notória no Recôncavo Baiano que vem sendo explorado de maneira predatória, desde o descobrimento do Brasil, há mais de quinhentos anos. Portanto, é essencial que um grande esforço seja feito no sentido de se tomar ciência da biodiversidade dessa região.

As informações geradas por trabalhos de inventário faunístico representam um avanço no conhecimento da biodiversidade, bem como uma base essencial para o desdobramento de novos estudos nas áreas de Ecologia, Biologia, manejo de áreas degradadas e políticas de conservação, além de constituírem material de referência importante em coleções de museus. Pelo exposto, o presente trabalho teve por objetivo realizar inventário da carcinofauna em corpos d'água de dois municípios do Recôncavo da Bahia.

Material e métodos

Quinze pontos de coleta foram visitados durante os meses de abril a outubro de 2010, abrangendo os municípios de Cruz das Almas e São Félix, localizados na região geográfica conhecida como Recôncavo Baiano, no estado da Bahia, dentro dos limites da bacia hidrográfica do rio Paraguaçu.

Os exemplares foram capturados com o auxílio de puçás passados em movimentos ascendentes pela vegetação marginal e leito dos rios ou lagos (licença ICMBio nº 28378-1). A fim de padronizar o esforço de captura durante as amostragens, foi estabelecida a utilização de dois coletores durante um período de trinta minutos em cada ponto de coleta. Em seguida, os exemplares foram fixados em álcool 70% no próprio local de coleta e acondicionados em frascos plásticos com tampa, devidamente etiquetados. Em laboratório, os exemplares foram identificados até o menor nível taxonômico possível

com o auxílio das chaves dicotômicas disponíveis em García-Dávila; Magalhães (2003) e Melo (2003). Lotes representativos do material coletado foram depositados no Museu de Zoologia da Universidade Federal da Bahia e na Coleção Zoológica da Universidade Federal do Sul da Bahia.

Resultados e discussão

O presente trabalho corresponde ao primeiro registro georeferenciado da existência de populações de camarões palemonídeos de água doce em habitats lóticos e lênticos dos municípios de Cruz das Almas e São Félix, no estado da Bahia.

Caridea

Palaemonidae

Macrobrachium jelskii (Miers, 1877)

Material. Brasil, Bahia: bacia do rio Paraguaçu, município de Cruz das Almas, açude Matataúba (12°41'35,7"S; 039°02'19,7"W) (MZUFBA 2729), rio de nome desconhecido (12°41'25,3"S; 039°03'00,8"W) (MZUFBA 3551), rio Capivari (12°38'47,5"S; 039°05'57,8"W) (MZUFBA 2726), açude Laranjeiras (12°39'53,6"S; 039°07'11,3"W) (MZUFBA 2732), açude Dr. Braz (M20180358UFSB) (12°40'05,1"S; 039°07'10,2"W), Fazenda Engenho São João, açude I (12°42'07,3"S; 039°03'00,5"W) (MZUFBA 2723, 2725), Fazenda Engenho São João, açude II e respectivo vertedouro (12°42'13,1"S; 039°02'57,7"W) (MZUFBA 2730) e Rio Saquarema (12°42'18,5"S; 039°07'11,4"W) (MZUFBA 2731); município de São Félix: Lagoa de Humberto, Bairro Boa Vista (12°42'36,6"S; 039°0,2'13,1"W), açude no Bairro Baziana (12°43'00,7"S; 039°02'51,1"W), Fazenda Calumbí (ponto 1) (12°42'30,0"S; 039°01'41,9"W) (MZUFBA 2733), Fazenda Calumbí (ponto 2) (12°42'34,5"S; 039°01'41,1"W) (MZUFBA 2733) e Fazenda Calumbí (ponto 3) (12°42'03,9"S; 039°01'13,5"W) (MZUFBA 2733).

Segundo Magalhães et al. (2005) jovens de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e algumas vezes também de *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) são morfologicamente muito semelhantes a adultos de *M. jelskii* tornando a identificação difícil ou duvidosa. Entretanto, García-Dávila; Magalhães (2003) destacam quatro características diferenciais que permitem separar *M. amazonicum* e *M. jelskii*. São elas: (1) rostro mais curvado para cima com 7 a 8 dentes proximais formando uma crista basal sobre a órbita ocular; (2) *Macrobrachium jelskii* possui margem posterior do télson mais claramente definida; (3) três últimos pares de pereópodes sempre lisos em *M. jelskii* devido à ausência de cerdas; (4) fêmeas de *M. jelskii*, quando ovígeras, carregam poucos ovos grandes.

Com relação a esta última característica, *M. jelskii* pertence ao grupo de camarões com desenvolvimento abreviado, cujos ovos são grandes e pouco numerosos, sendo capaz de desenvolver-se totalmente em água doce, possibilitando a colonização das águas continentais (MAGALHÃES, 2000). Por outro lado, *M. acanthurus* e *M. amazonicum* são camarões cujas fêmeas ovígeras apresentam ovos pequenos e numerosos, típicos de camarões com desenvolvimento não abreviado (GAMBA, 1984; MAGALHÃES, 1985; ALBERTONI et al., 2002; QUADROS et al., 2004). Dessa forma, no presente estudo levaram-se em consideração todas essas diferenças morfológicas e reprodutivas para corroborar a identificação da espécie.

Macrobrachium jelskii, popularmente conhecido como camarão sossego (PAIVA; BARRETO, 1960), apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo nas Antilhas, Venezuela, Guiana, Suriname, Guiana Francesa, Peru Bolívia, Brasil e norte da Argentina (COLLINS, 2000; GARCÍA-DÁVILA; MAGALHÃES, 2003; MELO, 2003). Especificamente no Brasil, a espécie foi registrada nos Estados do Amapá, Pará, Amazonas, Maranhão, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Minas Gerais, Rio

de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso, São Paulo e Santa Catarina (MELO, 2003; PILEGGI et al., 2013). Cabe aqui ressaltar que a ocorrência de *M. jelskii* em bacias hidrográficas do nordeste e sudeste do Brasil provavelmente se deve a ações antrópicas (MAGALHÃES et al., 2005; VERA-SILVA et al., 2016, 2017).

Com relação ao habitat, *M. jelskii* pode ser considerada generalista no que se refere às condições ambientais, uma vez que ocorre em águas transparentes e rápidas com gramíneas, pedras e areia (COELHO; RAMOS-PORTO, 1985; MELO, 2003; MONTOYA, 2003), além de águas marginais lênticas com abundância de macrófitas (PAIVA; BARRETO, 1960; WILLINER; COLLINS, 2002; MONTOYA, 2003; SILVA; OLIVEIRA; ROCHA, 2019). Segundo TADDEI (2006) a espécie é típica de ambientes represados, sendo altamente resistente a baixas concentrações de oxigênio dissolvido (BASTOS; PAIVA, 1959). As condições ambientais citadas acima são típicas dos corpos d'água investigados, o que justificaria a existência da espécie nestas localidades.

Vale ressaltar que todos os corpos d'água amostrados apresentaram sinais de perturbações causadas por ações antrópicas (desmatamento da mata ciliar, acúmulo de lixo e entulho). Todavia, foram encontradas populações bem estabelecidas de *M. jelskii* com grande abundância de indivíduos e fêmeas ovígeras, com exceção do riacho do Machado, localizado dentro dos limites da cidade de Cruz das Almas, onde não foram encontrados crustáceos.

A ampla distribuição do camarão sossego pela região estudada pode estar relacionada à sua biologia reprodutiva e estratégias de dispersão, uma vez que vários dos corpos d'água da região são açudes artificiais formados a partir do represamento de nascentes ou de porções de rios. Segundo Magalhães (2000), *M. jelskii* possui desenvolvimento abreviado, completando seu ciclo de vida em ambientes sem qualquer influência dos estuários. Além disso, há

registros da introdução da espécie em novos ambientes através de ações humanas acidentais ou planejadas, como, por exemplo, piscicultura e aquarioria (MAGALHÃES et al., 2005; SOARES et al., 2015). Essas características biológicas aliadas à sua rusticidade e tolerância a ambientes perturbados provavelmente foram fatores preponderantes para o seu estabelecimento nos corpos d'água investigados.

Conclusão

A carcinofauna dos rios e açudes estudados em ambos os municípios está restrita a apenas uma espécie de camarão palemonídeo, reconhecidamente generalista, resiliente e bem adaptada a ambientes continentais. A dominância absoluta desta espécie de decápode pode estar relacionada com alterações antrópicas e a exploração predatória do meio ambiente e seus recursos hídricos.

Referências

ALBERTONI, E. F.; PALMA-SILVA, C.; ESTEVES, F. A. Fecundity of *Macrobrachium acanthurus* Wiegmann, 1836 (Decapoda: Palaemonidae) in a tropical coastal lagoon subjected to human impacts (Macaé, Brazil). **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 14, n. 1, p. 71-80, 2002.

ALMEIDA, A. O.; COELHO, P. A.; LUZ, J. R.; SANTOS, J. T. A.; FERRAZ, N. R. Decapod crustaceans in fresh waters of southeastern Bahia, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v. 56, n. 3, p. 1225-1254, 2008.

ALMEIDA, A. O.; COELHO, P. A.; SANTOS, J. T. A.; FERRAZ, N. R. Crustáceos decápodos estuarinos de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 2, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167606032006000200024&lng=en&nrm=iso. Acessado em: 22 de agosto de 2012.

ALMEIDA, A. O.; MOSSOLIN, E. C.; LUZ, J. R. Reproductive biology of the freshwater shrimp *Atya scabra* (Leach, 1815) (Crustacea: Atyidae) in Ilhéus, Bahia, Brazil. **Zoological Studies**, v. 49, n. 2, p. 243-252, 2010.

BASTOS, J. A. M.; PAIVA, M. P. Notas sobre o consumo de oxigênio do camarão sossego *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 19, n. 4, p. 413-419, 1959.

BORGES, M. S. **Distribuição, abundância e biologia reprodutiva de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) e *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no Açude Público de Rômulo Campos, Itiúba – Bahia.** 2003. 87 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal da Bahia, Salvador. 2003.

COELHO, P. A.; RAMOS-PORTO, M. Camarões de água doce do Brasil: distribuição e geografia. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 2, n. 6, p. 405-410, 1985.

COLLINS, P. A. A new distribution record for *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) in Argentina (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana**, v. 73, n. 9, p. 1167-1169, 2000.

COSTA NETO, E. M. O caranguejo de água-doce, *Trichodactylus fluviatilis* (Latreille, 1828) (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae), na concepção dos moradores do povoado de Pedra Branca, Bahia, Brasil. **Biotemas**, v. 20, n. 1, p. 59-68, 2007.

GAMBA, A. L. Different egg-associated and larval development characteristics of *Macrobrachium jelskii* and *Macrobrachium amazonicum* (Arthropoda: Crustacea) in a Venezuelan continental lagoon. **International Journal of Invertebrate Reproduction and Development**, v. 7, n. 3, p. 135-142, 1984.

GARCÍA-DÁVILA, C. R.; MAGALHÃES, C. Revisão taxonômica dos camarões de água doce Crustácea: Decapoda: Palaemonidae, Sergestidae) da Amazônia Peruana. **Acta Amazônica**, v. 33 n. 4, p. 663-686, 2003.

MAGALHÃES, C. Desenvolvimento larval obtido em laboratório de palemonídeos da região Amazônica. I. *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Crustacea, Decapoda). **Amazoniana**, v. 9, n. 2, p. 247-274, 1985.

MAGALHÃES, C. Abbreviated larval development of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from the Rio Solimões floodplain, Brazil, reared in laboratory. **Nauplius**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2000.

MAGALHAES, C. et al. Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: records and possible causes of their introduction. **Biodiversity and Conservation**, v. 14, n. 8, p. 1929-1945, 2005.

MELO, G. A. S. **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo: Edições Loyola, 2003. 429 p.

MONTOYA, J. V. Freshwater shrimps of the genus *Macrobrachium* associated with roots of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth) in the Orinoco Delta (Venezuela). **Caribbean Journal of Science**, v. 39, n. 1, p. 155-159, 2003.

PAIVA, M. P.; BARRETO, V. A. Notas sobre a biologia do camarão “sossego” *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) Chace & Holthuis, 1948; numa pequena bacia potamográfica do nordeste brasileiro. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 20, n. 2, p. 121-129, 1960.

PILEGGI, L. G.; MAGALHÃES, C.; BOND-BUCKUP, G. & MANTELATTO, F. L. New records and extension of the known distribution of some freshwater shrimps in Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 84, n. 2, p. 563-574, 2013.

QUADROS, M. L. A.; MACIEL, C.; BASTOS, S.; SAMPAIO, I. Reprodução do camarão canela – *Macrobrachium acanthurus* em condições controladas de laboratório e montagem de um atlas para identificação de estágios larvais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, p. 1-11, 2004.

ROCHA, S. S.; BUENO, S. L. S. Crustáceos decápodes de água doce com ocorrência no Vale do Ribeira de Iguape e rios costeiros adjacentes, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21 n. 4, p. 1001-1010, 2004.

ROCHA, S. S.; SILVA, R. L. S.; SANTOS, J. L.; OLIVEIRA, G. Length-weight relationship and condition factor of *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) (Decapoda, Palaemonidae) from a reservoir in Bahia, Brazil. **Nauplius**, v. 23 n. 2, p. 149-161, 2015.

ROCHA, S. S.; BARBOSA, R. J. Population biology of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Decapoda, Palaemonidae) from an artificial pond in Bahia, Brazil. **Nauplius**, v. 25, e2017023, 2017.

SILVA, J. N.; OLIVEIRA, G.; ROCHA, S. S. Microhabitat preferences of the freshwater prawn *Macrobrachium jelskii* (Decapoda: Palaemonidae). **Iheringia, Série Zoologia**, v. 109, e2019027, 2019.

SILVA, T. R.; ROCHA, S. S.; COSTA NETO, E. M. Relative growth, sexual dimorphism and morphometric maturity of *Trichodactylus fluviatilis* (Decapoda: Brachyura: Trichodactylidae) from Santa Terezinha, Bahia, Brazil. **Zoologia**, v. 31 n. 1, p. 20–27, fev. 2014.

SOARES, M. R.; OSHIRO, L. M. Y.; TOLEDO, J. C. Biologia reprodutiva de *Macrobrachium jelskii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae) no rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 105, n. 3, p. 307-315, 2015.

TADDEI, F. G. **Biologia populacional, reprodutiva e crescimento dos camarões palaemonídeos *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) e *Macrobrachium brasiliense* (Heller, 1868) (Crustacea: Caridea) na região noroeste do estado de São Paulo.** 2006. 217 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2006.

VERA-SILVA, A. L.; CARVALHO, F. L.; MANTELATTO, F. Distribution and genetic differentiation of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Natantia: Palaemonidae) in Brazil reveal evidence of non-natural introduction and cryptic allopatric speciation. **Journal of Crustacean Biology**, v. 36, n. 1, p. 373-383, 2016.

VERA-SILVA, A. L.; CARVALHO, F. L.; MANTELATTO, F. Redescription of the freshwater shrimp *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Caridea, Palaemonidae). (Miers, 1877) (Caridea, Palaemonidae). **Zootaxa**, v. 4269, n. 1, p. 44-60, 2017.

WILLINER, V.; COLLINS, P. Variacion espacio-temporal de la actividad del camaron dulceacuicola *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). **Ecología Austral**, v. 12, n. 1, p. 3-10, 2002.

Variação morfológica de *Crotalus durissus cascavella*

*Caio Eloi dos Santos
Arielson dos Santos Protázio*

O modo como os organismos estão distribuídos no espaço e as variações comportamentais, morfológica, fisiológica e genética ao longo do seu gradiente de distribuição tem sido um dos tópicos mais intrigantes nas ciências naturais, motivando pesquisadores desde os séculos passados a se debruçarem sobre os mecanismos associados à distribuição dos organismos (DARWIN, 1861). Muitos fatores exercem influência na distribuição geográfica das espécies, com diferentes níveis de magnitudes perpassando as diferentes escalas de análise (LEVIN, 1992). Assim, a competição, a predação, a disponibilidade de recursos, o clima, a topográfica e a estrutura vegetacional são alguns fatores que atuam na determinação da composição e permanência das espécies no hábitat, sendo, em última instância, os mecanismos-chave da diversificação (BROWN; JACOBS; PEET, 2016).

Em geral, existe uma íntima relação entre distribuição geográfica e morfologia. Uma espécie pode apresentar alterações na forma do corpo ao longo de sua distribuição, refletindo tanto uma resposta à disponibilidade do recurso no ambiente (plasticidade) quanto uma seleção direcional moldada pela seleção natural (fator genético) (JAFPE; CAMPBELL-STATON; LOSOS, 2016), potencializando a seleção de fenótipos que garantem uma melhor performance no ambiente. Assim, as diferentes populações de uma mesma espécie podem apresentar pequenas variações na forma do corpo como

respostas a pressões seletivas locais ou até mesmo regionais (MARTÍNEZ-FREIRÍA et al., 2009), as quais podem proporcionar pistas sobre o funcionamento dos ecossistemas, o modo como as espécies respondem ao ambiente ou como opera os processos microevolutivos responsáveis pela diversificação (CADLE; GREENE, 1993).

A cascavel *Crotalus durissus*, Linnaeus 1758 (Serpentes, Viperidae) é uma serpente típica de regiões secas e abertas do continente sul-americano, sendo comum no Cerrado, Caatinga e Chaco (CAMPBELL; LAMAR, 2004). Alguns autores têm hipotetizado a existência de plasticidade na distribuição da espécie, a qual pode ter recentemente (últimos 500 anos) ampliado sua área de distribuição e se estabelecido em áreas abertas e alteradas, decorrentes da atividade humana (pastos, plantações e áreas urbanas) (BASTOS; ARAÚJO; SILVA, 2005). Apesar dos conhecimentos quanto a origem, dispersão e relações genéticas entre populações de *C. durissus* serem bem estabelecidos (WÜSTER et al., 2005), a espécie é considerada um complexo, formada por até 10 subespécies, sendo *Crotalus durissus cascavella* a subespécie reconhecida para todos os Estados do Nordeste brasileiro (UETZ; FREED; HOŠEK, 2020).

Este cenário evidencia a necessidade de estudos que busquem investigar a existência de variações interpopulacionais de *C. durissus*, cruzando extensas áreas geográficas, para ajudar na definição do status taxonômico da espécie. Neste estudo foram utilizados dados merísticos e morfométricos para investigar a existência de variações morfológicas entre indivíduos de diferentes populações de *Crotalus durissus* do Nordeste brasileiro. Buscou-se: (i) analisar os níveis de variação na contagem de escamas e no tamanho do corpo dos indivíduos; (ii) verificar a existência de padrões na forma do corpo; e (iii) verificar a existência de efeito espacial sobre a morfologia.

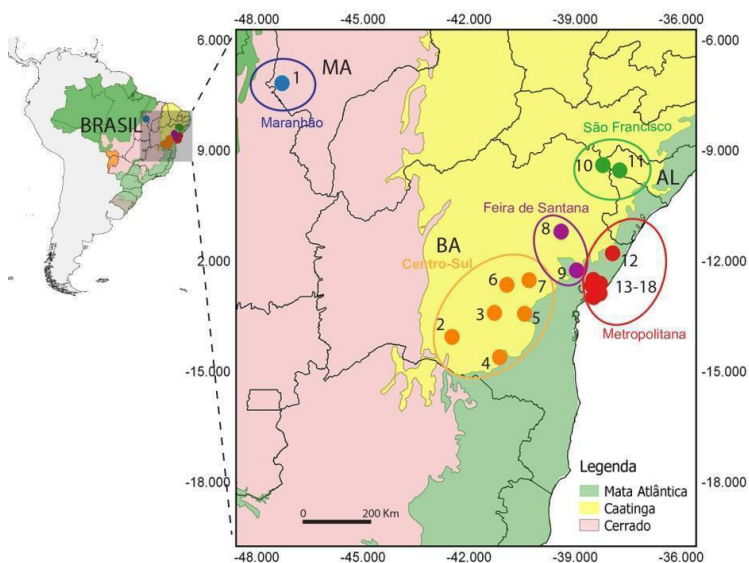
Material e métodos

Foram analisados 35 indivíduos de *C. durissus* obtidos na Coleção Herpetológica da Universidade Federal da Bahia. Os exemplares foram oriundos de 18 municípios e categorizados em 5 microrregiões, com base na proximidade geográfica e similaridade do ambiente de ocorrência (Figura 1). A categorização arbitrária buscou potencializar a identificação de padrões morfológicos em escala geográfica, sendo elas: Maranhão (Carolina - MA); São Francisco (Paulo Afonso - BA e Piranhas - AL); Região Metropolitana (Salvador, Camaçari, Candeias, Lauro de Freitas, Esplanada, Dias D'Ávila e São Sebastião do Passé - BA); Centro-Sul Baiano (Anagé, Caetité, Maracás, Itaberaba, Ibicoara e Ibiquera - BA); e Feira de Santana (Feira de Santana e Santa Luz - BA).

A análise morfológica seguiu-se Franco e Ferreira (2002). Foram analisadas 10 variáveis merísticas: escama loreal (ELO) - presente ou ausente; escamas dorsais quilhadas (EQi) - presente ou ausente; condição da escama cloacal (ECI) - única ou dividida; número de preoculares (PreOc); número de pós-oculares (PosOc); número de supralabiais (SLab); número de infralabiais (ILab); número de temporais (T - primeira e segunda linhas); número de escamas subcaudais (SCau); número de escamas dorsais (Dor). Todavia, as variáveis escama loreal, escama cloacal, escamas dorsais quilhadas e número de pré e pós-oculares não apresentaram variação entre as populações e foram excluídas das análises. Para análise morfométrica foram mensuradas 11 variáveis, utilizando paquímetro digital e fita métrica: comprimento rostro-cloacal (CRC); altura da cabeça (ACab); largura da cabeça (LCab); comprimento da cabeça (CCab); distância inter-olhos (DIO); distância olho-narina (DON); distância inter-narina (DIN); altura do corpo (ACo); largura do corpo (LCo); comprimento da

cauda (Ccau) e comprimento total (CT). Para cada indivíduo analisado foram obtidas as coordenadas geográficas do local de coleta.

Figura 1 - Locais de ocorrência e as microrregiões dos indivíduos de *Crotalus durissus*. 1, Carolina; 2, Caetité; 3, Ibicoara; 4, Anagé; 5, Maracás; 6, Ibiquera; 7, Itaberaba; 8, Santa Luz; 9, Feira de Santana; 10, Paulo Afonso; 11, Piranhas; 12, Esplanada; 13, Salvador; 14, Camaçari; 15, São Sebastião do Passé; 16, Dias D'Ávila; 17, Candeias; 18, Lauro de Freitas.



Fonte: Autores (2021).

Foi utilizada a Análise dos Componentes Principais (ACP) para verificar a existência de diferenças morfológicas entre populações (McGARIGAL; CUSHMAN; STAFFORD, 2000). Dados merísticos e morfométricos foram analisados separadamente e o modelo de seleção de *broken stick* foi usado para selecionar os componentes mais relevantes. Na morfometria, foi eliminada a variação isométrica através da criação de uma nova variável chamada “Tamanho do Corpo”, a qual representa o total de partição isométrica entre todas as variáveis (SOMERS, 1986). Para isso, foi criado um alto valor $p^{0,5}$, o qual foi multiplicado contra todas as observações (variáveis).

Posteriormente, foram realizadas regressões simples da variável “Tamanho do Corpo” contra todas as demais variáveis para se obter os residuais, os quais foram utilizados na ACP.

Adicionalmente, foi realizada uma Análise de Similaridade (AS) para verificar o nível de proximidade morfométrica entre cada população, utilizando o algoritmo UPGMA e a distância Euclidiana. A consistência de cada nó foi verificada com 1.000 aleatorizações de *Bootstrap*. Por fim, foi verificada a presença de estrutura espacial nas variáveis morfométricas de *C. durissus* através de correlogramas do Índice de Moran. O Índice de Moran permite verificar se dados ecológicos oriundos de um gradiente geográfico apresentam autocorrelação espacial, que é a chance de amostras mais próximas serem mais semelhantes entre si (LEGENDRE; LEGENDRE, 1998). A ACP e AS foram realizados no Past 3.19 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001), enquanto os Índices de Moran foram calculados no SAM 4.0 (RANGEL; DINIZ-FILHO; BINI, 2010). Todos os dados foram log-transformados, a fim de obterem a normalidade.

Resultados e discussão

Foi identificada grande semelhança na contagem de escamas entre todas as populações de *C. durissus*. Apesar disso, o número de escamas temporais foi a variável merística que apresentou maior plasticidade, variando entre 3 e 9. Na ACP, os três primeiros componentes explicaram 94,8% da variação no conjunto de dados e as variáveis número de escamas subcaudais, número de escamas temporais e número de escamas dorsais foram as mais relevantes (Tabela 1). O gráfico da ACP não separou claramente as populações (Figura 2). *Crotalus durissus* é uma serpente terrícola, considerada generalista térmica e no uso do micro-habitat (TOZETTI; MARTINS, 2008). Desde que a quantidade e estrutura das escamas podem ter papel funcional, refletindo a habilidade de uso do espaço (ROCHA-

BARBOSA; SILVA, 2009), a ausência de diferenciação na escamação de *C. durissus* sugere a ausência de pressões seletivas atuando sobre este traço, indicando que os indivíduos das diferentes populações apresentam o mesmo comportamento no uso do hábitat.

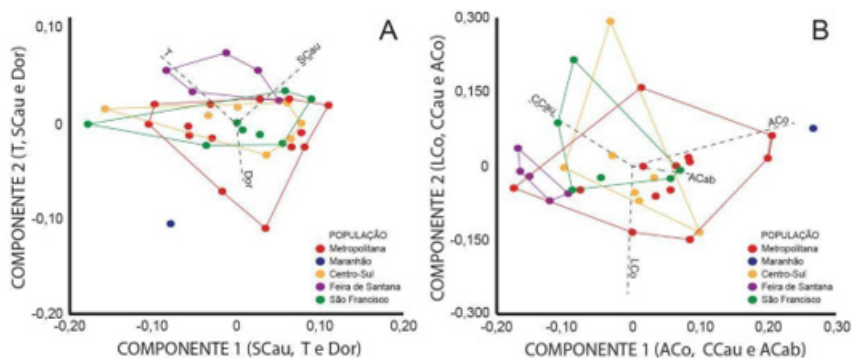
Foram observadas variações morfométricas entre as populações, ainda que pouco acentuadas. Os três primeiros componentes explicaram 74,76% da variação no conjunto de dados. As variáveis mais relevantes foram altura do corpo, comprimento da cauda, altura da cabeça e largura do corpo (Tabela 2). O gráfico da ACP evidenciou que as populações da Região Metropolitana e do Centro-Sul Baiano ocuparam o mesmo espaço morfométrico, enquanto a população do São Francisco mostrou tendência a se agrupar com a população de Feira de Santana (gráfico 1). A AS também revelou uma maior similaridade entre as populações da Região Metropolitana e do Centro-Sul Baiano, enquanto a população do Maranhão foi a mais dissimilar (Figura 2).

Tabela 1 - Análise dos Componentes Principais de 5 variáveis merísticas e 11 variáveis morfométricas da cascavel *Crotalus durissus* do Nordeste do Brasil.

Merística				Morfometria			
	CP1	CP2	CP3		CP1	CP2	CP3
ILab	-0,090	-0,368	0,459	ACab	0,272	-0,053	-0,093
SLab	0,011	-0,26	0,431	LCab	0,061	0,053	-0,258
T	-0,696	0,547	-0,124	CCab	-0,151	-0,026	-0,091
SCau	0,708	0,537	0,000	DIO	0,018	0,041	-0,184
Dor	0,066	-0,456	-0,766	DIN	-0,070	-0,046	-0,169
–	–	–	–	DON	-0,092	-0,059	-0,332
–	–	–	–	ACo	0,770	0,283	0,358
–	–	–	–	LCo	-0,026	-0,837	0,420
–	–	–	–	Ccau	-0,500	0,422	0,627
–	–	–	–	CRC	-0,132	0,082	-0,188
–	–	–	–	CT	-0,149	0,139	-0,086
Auto valor	0,005	0,001	0,005	Auto valor	0,012	0,008	0,004
Variação %	67,98	20,00	6,82	Variação %	34,22	26,07	14,47

Fonte: Autores (2021).

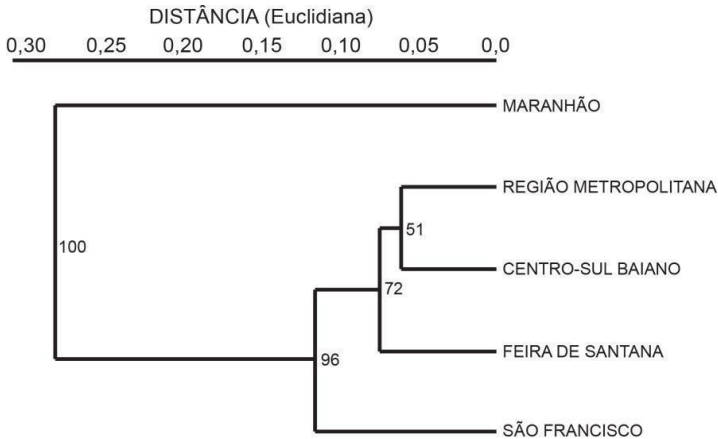
Gráfico 1 - Análise dos Componentes Principais das variáveis A, merísticas e B, morfométricas, da cascavel *Crotalus durissus* no Nordeste do Brasil, mostrando as variáveis mais relevantes.



Fonte: Autores (2021).

A diferenciação na altura do corpo, altura da cabeça e largura do corpo identificadas neste estudo, podem refletir a estratégia alimentar das serpentes. Indivíduos que apresentam cabeças e corpos maiores tendem a consumir grandes presas (GLAUDAS; JEZKOVA; RODRÍGUEZ-ROBLES, 2008). Estas variações podem, portanto, estar associadas à disponibilidade de presa e ao comportamento de uso do espaço, evidenciando uma adaptação morfológica ao habitat (BOBACK, 2006). Apesar da associação entre forma do corpo, tamanho das presas e variáveis ambientais ser bem documentada em répteis, a ausência de investigação da composição de presas e variáveis climática em nosso estudo, não permite o aprofundamento das discussões neste tema.

Figura 2 - Análise de Similaridade das variáveis morfométricas das populações de *Crotalus durissus*. Valores dos nós representam as aleatorizações sustentadas no *Bootstrap* (1.000).

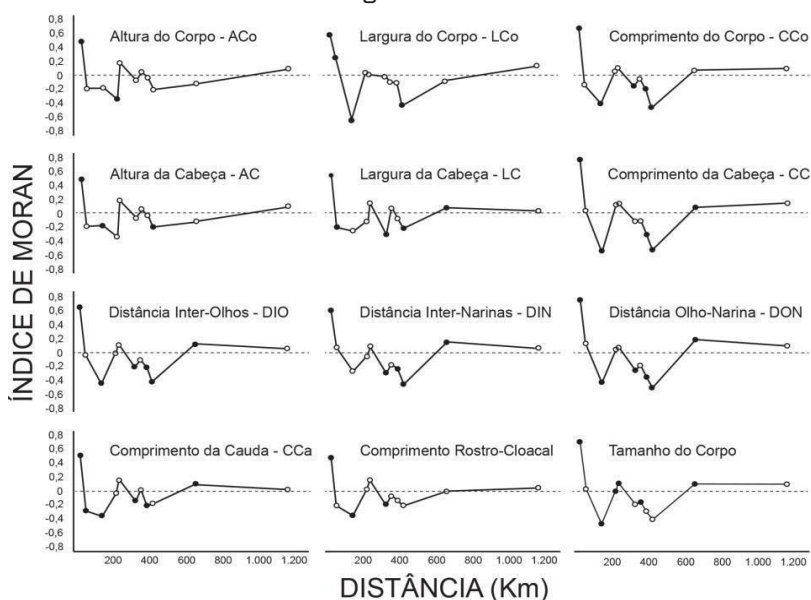


Fonte: Autores (2021).

Correlogramas revelaram uma forte estrutura espacial, evidenciando divergência morfométrica nas menores classes de distância (entre 100 e 400 km), com o mesmo padrão se repetindo em todas as variáveis (Figura 3). Variações morfométricas em serpentes podem estar associadas a fatores ecológicos e geográficos, e ser evidenciadas cruzando áreas geográficas pequenas, como observado em *Trimeresurus stejnegeri* Schmidt, 1925, na ilha de Taiwan (395 km de comprimento e 144 km de largura) (CASTELLANO; MALHOTRA; THORPE, 1994). É possível que um mecanismo similar atue em *C. durissus*. Apesar de ser típica da Caatinga e Cerrado, a espécie também pode ser encontrada no Pantanal, Pampa e áreas de Mata Atlântica (LIRA-DA-SILVA et al., 2009; GUEDES; NOGUEIRA; MARQUES, 2014). Assim, é possível que a vida em habitats com marcantes diferenças climáticas (chuvas, temperaturas e altitude), tenha moldado fenótipos específicos, se refletindo na existência de variações interpopulacional (MARTÍNEZ-FREIRÍA et al., 2009).

Em geral, espécies com ampla distribuição geográfica apresentam variações fenotípicas devido às pressões do ambiente e, consequentemente, apresentam algum nível de variação morfológica (SPENCER, 2008). Este padrão parece não ser marcante para *C. durissus*, já que não conseguimos encontrar variações morfológicas expressivas. No entanto, a pequena variação encontrada em algumas variáveis morfométricas, aliada ao padrão de estrutura geográfica observada no correlograma sugere algum nível de influência ecológica atuando na forma do corpo da espécie (RECODER; RIBEIRO; RODRIGUES, 2013). Adicionalmente, a falha da ACP das variáveis merísticas em separar as diferentes populações de *C. durissus* proveniente do Nordeste sugere um maior efeito ambiental atuando na forma do corpo do que nas estruturas.

Figura 3 - Correlogramas das variáveis morfométricas. Pontos fechados representam efeito significativo e pontos abertos representam efeito não significativo.



Fonte: Autores (2021).

Conclusão

Não foram identificadas diferenças nas variáveis merísticas. Contudo, as variações encontradas na altura e largura da cabeça, altura do corpo e comprimento da cauda parecem ser influenciadas por fatores ecológicos. Adicionalmente, as variações morfométricas encontradas na população do Cerrado do Maranhão direcionam para a possibilidade de pertencer a outra subespécie do complexo *C. durissus*. Fazem-se necessários estudos futuros que utilizem um maior número de espécimes, provenientes de localidades mais bem distribuídas, para uma melhor interpretação sobre o papel do ambiente na evolução da forma do corpo de *C. durissus*.

Referências

BASTOS, E. G. M.; ARAÚJO, A. F. B.; SILVA H. R. Records of the rattlesnakes *Crotalus durissus terrificus* (Laurenti) (Serpentes, Viperidae) in the State of Rio de Janeiro, Brazil: a possible case of invasion facilitated by deforestation. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 812-815, 2005.

BOBACK, S. M. A morphometric comparison of island and mainland boas (*Boa constrictor*) in Belize. **Copeia**, v. 2006, n. 2, p. 261-267, 2006.

BROWN, R. L.; JACOBS, L. A.; PEET, R. K. Species richness: small scale. In: **Encyclopedia of life sciences**. Chichester: John Wiley & Sons, 2016. p. 1-8.

CADLE, J. E.; GREENE, H. W. Phylogenetic patterns, biogeography, and the ecological structure of Neotropical snake assemblages. In: RICKLEFS, E.; SCHLUTER, D. (Eds.). **Species diversity in ecological communities: historical and geographical perspectives**. Chicago: The University of Chicago Press, 1993. p. 281-293,

CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. **The venomous reptiles of the Western Hemisphere**. Ithaca: Cornell University Press, v. 2, 2004. 976 p.

CASTELLANO, S.; MALHOTRA, A.; THORPE, R. S. Within-island geographic-variation of the dangerous Taiwanese snake, *Trimeresurus stejnegeri*, in relation to ecology. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 52, n. 4, p. 365-375, 1994.

DARWIN, C. **On the origin of species**: by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. New York: D. Appleton and Company, 1861. 440 p.

FRANCO, F. L.; FERREIRA, T. G. Descrição de uma nova espécie de *Thamnodynastes* Wagler, 1830 (Serpentes: Colubridae) do nordeste brasileiro, com comentários sobre o gênero. **Phyllomedusa**, v. 1, n. 2, p. 57-74, 2002

GLAUDAS, X.; JEZKOVA, T.; RODRÍGUEZ-ROBLES, J. A. Feeding ecology of the Great Basin Rattlesnake (*Crotalus lutosus*, Viperidae). **Canadian Journal of Zoology**, v. 86, n. 7, p. 723-734, 2008.

GUEDES, T. B.; NOGUEIRA, C.; MARQUES, O. A. V. Diversity, natural history, and geographic distribution of snakes in the Caatinga, Northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 3863, n. 1, p. 1-93, 2014.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.

JAFFE, A. L.; CAMPBELL-STATON, S. C.; LOSOS, J. B. Geographical variation in morphology and its environmental correlates in a widespread North American lizard, *Anolis carolinensis* (Squamata: Dactyloidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 117, n. 4, p. 760-774, 2016.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. Amsterdam: Elsevier, 1998. 853 p.

LEVIN, S. A. The problem of pattern and scale in ecology. In: POWELL T. M.; STEELE, J. H. (Eds.). **Ecological Time Series**. Boston: Springer, 1992. p. 277-326.

LIRA-DA-SILVA, R. M. et al. Serpentes de importância médica do Nordeste do Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 79, n. 1, p. 7-20, 2009. Supl. 1.

MARTÍNEZ-FREIRÍA, F. et al. Geographical patterns of morphological variation and environmental correlates in contact zones: a multi-scale approach using two Mediterranean vipers (Serpentes). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 47, n. 4, p. 357-367, 2009.

McGARIGAL, K; CUSHMAN, S.; STAFFORD, S. **Multivariate statistics for wildlife and ecology research**. New York: Springer, 2000. 293 p.

RANGEL, T. F.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; BINI, L. M. SAM: a comprehensive application for spatial analysis in macroecology. **Ecography**, v. 33, n. 1, p. 46-50, 2010.

RECODER, R. S.; RIBEIRO, M. C.; RODRIGUES, M. T. Spatial variation in morphometry in *Vanzosaura rubricauda* (Squamata, Gymnophthalmidae) from open habitats of South America and its environmental correlates. **South American Journal of Herpetology**, v. 8, n. 3, p. 186-197, 2013.

ROCHA-BARBOSA, O.; SILVA, R. B. M. Analysis of the microstructure of Xenodontinae snake scales associated with different habitat occupation strategies. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n. 3, p. 919-923, 2009.

SOMERS, K. M. Multivariate allometry and removal of size with Principal Component Analysis. **Systematic Zoology**, v. 35, n. 3, p. 359-368, 1986.

SPENCER, C. L. Geographic variation in western diamond-backed rattlesnake (*Crotalus atrox*) morphology. In: HAYES, W. K. et al. (Eds.). **The biology of rattlesnakes**. California: Loma Linda University Press, 2008. p. 55-78.

TOZETTI, A. M.; MARTINS, M. Habitat use by the South-American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in south-eastern Brazil. **Journal of Natural History**, v. 42, n. 19-20, p. 1435-1444, 2008.

UETZ, P.; FREED, P.; HOŠEK, J. **The Reptile Database**. Virgínia, 2020. Disponível em: <http://www.reptile-database.org>. Acesso em: 15 jun. 2020.

WÜSTER, W. et al. Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). **Molecular Ecology**, v. 14, n. 4, p.1095-1108, 2005.

Camarão de água doce como espécie bioindicadora

Marilene Bárbara dos Santos

Theila dos Santos Santana

Thais Arrais Motta

Elissandra Ulbricht Winkaler

A redução dos impactos ambientais certamente apresenta-se como um dos maiores desafios a serem enfrentados no século XXI. A preocupação com a contaminação ambiental aumentou significativamente nos últimos anos em virtude da grande quantidade de substâncias tóxicas que vêm sendo lançadas no ambiente (LIMA, 2010). Essas atividades antrópicas incluem a inserção no ecossistema de diversas substâncias químicas tais como: agrotóxicos, metais, derivados de petróleo e demais subprodutos oriundos de processos industriais (ANDRÉA, 2010).

Todos os processos biológicos, espécies ou comunidades que, ao se expressarem de algum modo a estressores, permitem avaliar a qualidade do ambiente, são denominados bioindicadores (HOLT; MILLER, 2011). A avaliação de bioindicadores, que podem ser definidas como espécies sentinelas utilizadas como primeiros indicadores de efeito da contaminação de seu habitat (ADAMS, 2002). Ao escolher um bioindicador, devem ser observadas algumas características importantes de acordo com o estudo que será desenvolvido. Assim, um bioindicador ideal deve sobreviver em ambientes saudáveis, mas também apresentar resistência relativa ao contaminante que está exposto. Outros aspectos que podem facilitar o desenvolvimento de um estudo são a abundância dessa espécie

no ambiente e a facilidade em adaptar-se aos ensaios laboratoriais (AKAISHI, 2004).

O uso de marcadores biológicos é uma abordagem promissora na avaliação da saúde do ecossistema, sendo útil para complementar as análises químicas e bioensaios de ecotoxicidade realizados em amostras ambientais para efeitos de toxicidade aguda e de curto prazo (COSSU et al., 2000). Dentre estes biomarcadores, destaca-se a enzima glutationa-s-transferase (GST). Esta enzima está envolvida em processos de conjugação de GSH com xenobióticos. As enzimas da família das glutationas atuam em diversas funções celulares, dentre as quais está inclusa a remoção de espécies reativas de oxigênio (HERMES-LIMA, 2004; SHEEHAN et al, 2001).

Alguns dos principais grupos de organismos usados como bioindicadores são as microalgas, os microcrustáceos, poliquetas, oligoquetas, peixes e bactérias (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). Atualmente, os crustáceos, mais precisamente a ordem decápoda, vêm sendo utilizados como potenciais bioindicadores da qualidade dos ecossistemas aquáticos. Dentre eles encontra-se o *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) que é uma espécie de crustáceo, da ordem dos Decapodas, que pode ser utilizada tanto como alimento quanto como meio de renda para populações que vivem próximas aos rios (CIRILO; SANTOS; NUNES, 2011).

Diversos ambientes aquáticos estão sofrendo com a degradação gradual de seus ecossistemas. Estudos que tentam encontrar possíveis alterações nesses ambientes tendem a ser uma ferramenta importante para o estabelecimento de um diagnóstico inicial de danos. Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar diferentes pontos do rio Paraguaçu, recôncavo da Bahia, utilizando como biomarcador a atividade da enzima glutationa-s-transferase (GST) do camarão *Macrobrachium jelskii*, em duas estações do ano.

Material e métodos

As coletas dos exemplares de *Macrobrachium jelskii* (Figura 1) foram realizadas no açude Dr. Braz ($12^{\circ}40'3,26''$ S, $39^{\circ}7'14,29''$ O), localizado no perímetro urbano do município de Cruz das Almas (BA). Os animais foram capturados com o auxílio de peneiras entre a vegetação marginal e acondicionados em baldes plásticos com água do próprio local. Em seguida, foram transportados até o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) (Figura 1).

Figura 1 - Exemplares de *Macrobrachium jelskii* utilizados como bioindicador da contaminação da água do rio Paraguaçu. Acima: Fêmea; Abaixo: Macho. Fotografia com escala de 1 cm.

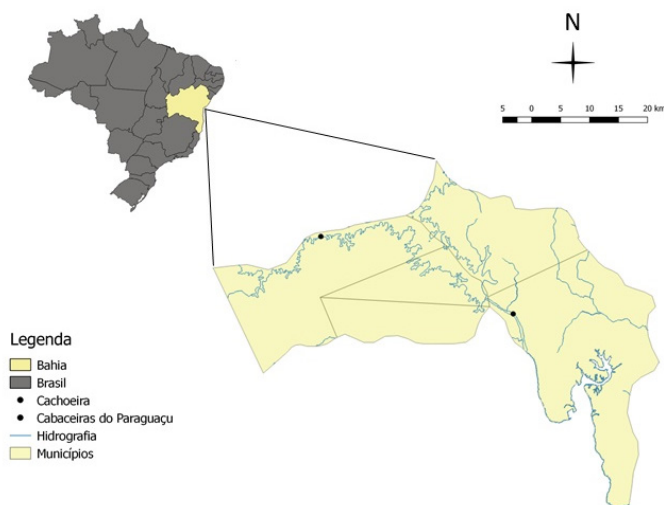


Fonte: Sérgio S. da Rocha (2017).

No LABEA, os camarões (aproximadamente 100 exemplares) foram aclimatados por 30 dias em aquários (30 L), com temperatura controlada (24° C) e aeração da água garantida por sopradores de ar. Os animais foram alimentados *ad libitum* com ração comercial para peixes ornamentais, sendo diariamente 25 % água substituída por água desclorada, proveniente do sistema de abastecimento

do laboratório. A identificação da espécie *M. jelskii* (Miers, 1877) foi confirmada de acordo com MELO (2003.) Para a realização dos testes, foram definidos dois pontos de coleta de água no rio Paraguaçu (Figura 2):

Figura 2 - Mapa do Brasil (em cinza), com destaque para o estado da Bahia (em amarelo), ampliando-se um trecho hidrográfico rio Paraguaçu.



Fonte: Autores, software Qgis (2017).

Ponto 1 - município de Cabaceiras do Paraguaçu, a montante da barragem da Usina Hidroelétrica da Pedra do Cavalo, próximo ao embarque da balsa que faz ligação entre os municípios de Cabaceiras do Paraguaçu e Santo Estevão (Figura 3.A).

Ponto 2 - município de Cachoeira, a jusante da barragem da Usina Hidroelétrica da Pedra do Cavalo. Ponto situado a margem esquerda do rio (região do Baixo Sul do rio Paraguaçu), cujo grau de urbanização é bastante acentuado (Figura 3.B).

Figura 3 - Fotografia do local de coleta de água do rio Paraguaçu: A) município de Cabaceiras do Paraguaçu (BA), a montante da barragem da Usina Hidroelétrica da Pedra do Cavalo e próximo ao embarque da balsa e B) município de Cachoeira (BA), a jusante da barragem da Usina Hidroelétrica da Pedra do Cavalo.



Fonte: Autores (2017).

Em cada local, foram coletadas amostras da água superficial e foi imediatamente armazenada em galões de plástico de 60 L e transportadas até o LABEA. Cada ponto foi analisado em duplicata, sendo realizadas duas coletas de água em cada período sazonal: período seco (fevereiro de 2017) e período chuvoso (junho de 2017). No momento da coleta de água foram determinados os parâmetros abióticos da água (Tabela 1), com auxílio de sonda multiparâmetros.

Tabela 1 - Valores de oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura e salinidade da água do rio Paraguaçu determinada nos pontos de coleta: município de Cabaceiras do Paraguaçu e Cachoeira (Bahia). Valores determinados nas coletas do período seco (fev/2017) e chuvoso (jun/2017).

	Ponto de Coleta	OD (mg.L ⁻¹)	pH	Temperatura (°C)	Salinidade (‰)
Período Seco	Cabaceiras do Paraguaçu	4,6	6,9	27,3	0,2
	Cachoeira	2,1	6,7	26,7	0,6
Período Chuva	Cabaceiras do Paraguaçu	3,8	8,3	24,5	0,1
	Cachoeira	2,8	8,2	24,6	0,6

Fonte: Autores (2017).

As amostras de água foram transferidas para aquários de vidro (30 L) e após 24 h, 32 exemplares de *M. jelskii* foram adicionados aos aquários. Dessa forma, o delineamento experimental foi constituído por 3 tratamentos: dois pontos do rio Paraguaçu (P1 e P2) e um grupo controle (CTR), onde os animais foram expostos a água de abastecimento do laboratório. Dessa forma, para o período sazonal (seca e chuva) foram utilizados 96 exemplares de *M. jelskii*.

O teste de exposição foi de 96 h e ao longo desse período, os animais não foram alimentados e os aquários permaneceram sob aeração constante, com sopradores de ar. A avaliação da mortalidade dos camarões *M. jelskii* foi realizada após 6, 24, 48, 72, 96 horas de exposição, sendo os animais mortos contabilizados e retirados do aquário. Durante os testes de exposição, os parâmetros abióticos da água foram monitorados e não variaram ao longo do experimento, bem como a mortalidade dos animais não ultrapassou 10% do número total de indivíduos expostos às amostras de água.

Ao término das 96 horas de exposição, os animais sobreviventes foram retirados do aquário e anestesiados em água com gelo (1:1) durante 15 segundos. Após a anestesia, os animais foram pesados e identificados quanto ao sexo, com o auxílio de estereomicroscópio. Em seguida, o hepatopâncreas de

cada indivíduo foi retirado e transferido para tubos criogênicos que foram armazenados em ultrafreezer (-80° C) até o momento das análises bioquímicas. Devido ao tamanho reduzido das amostras de hepatopâncreas, o material biológico foi agrupado para formação de *pool*, sendo agrupados apenas tecidos de animais do mesmo sexo. Desta forma, combinou-se os tecidos de 3 indivíduos adultos para compor cada *pool* de amostra, a fim de atingir o volume mínimo de 0,04 gramas.

Para a determinação da atividade da enzima glutathione-S-transferase (GST), o *pool* de hepatopâncreas dos camarões foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 0,1 M, com pH 7,0, 1:10 (volume/massa) e centrifugados (20 minutos a 4° C e 12.000 rpm). O sobrenadante foi separado para a determinação da atividade da GST (KEEN; HABIG; JAKOBY, 1976), método baseado na catalisação da reação de conjugação do substrato 1-26 cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) com a glutathione reduzida (GSH) pela GST. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis, e em cubetas de poliestireno com comprimento de onda de 340 nm.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software estatístico PAST versão 2.17 C. Na ocorrência de variações entre as médias ($p < 0,05$) o teste de Tukey foi aplicado para identificar os grupos que se distinguem (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Resultados e discussão

Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}$ de proteína hepatopancreática⁻¹, sendo que a concentração de proteína total do hepatopâncreas foi determinada com kit comercial (Katal®) em espectrofotômetro UV/Vis.

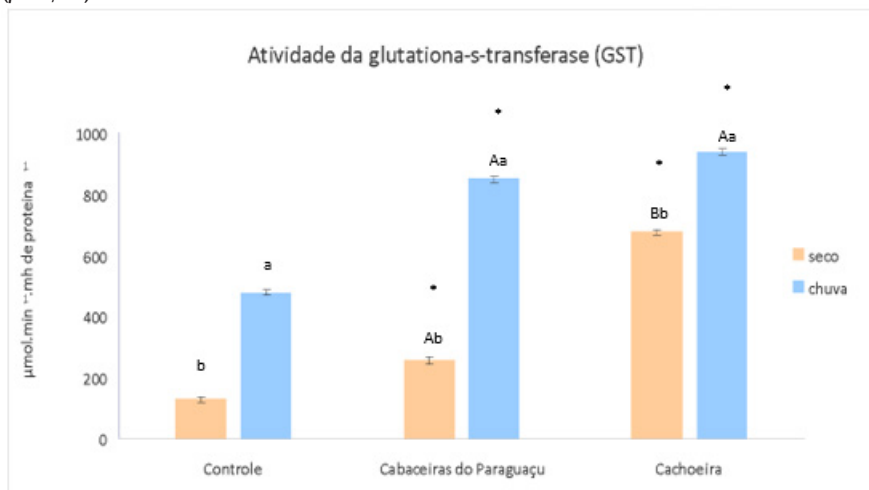
A enzima GST atua catalisando a conjugação da glutathione com compostos endógenos e exógenos, desempenhando importante

papel para detoxificação do organismo, auxiliando na homeostase do animal (HUBER; ALMEIDA, 2008). Desta forma, a exposição a compostos xenobióticos como metais, compostos orgânicos, fármacos, entre outros, induzem a expressão de enzimas de biotransformação (e.g. GST), resultando em aumento de sua atividade como uma adaptação bioquímica frente ao estresse provocado pelos contaminantes (ZANETTE; MONSERRAT; BIANCHINI, 2015).

Em nosso trabalho, em todos os testes de exposição, no período seco e chuvoso, a atividade da GST foi significativamente maior nos camarões expostos às amostras de água do rio Paraguaçu, quando comparado como grupo controle (Gráfico 1). Dessa forma, a maior atividade dessa enzima pode estar relacionada à presença de substâncias químicas tóxicas na água. A maior atividade da GST já foi relacionada à contaminação ambiental por Zanette, Monserrat e Bianchini (2015), que determinaram a atividade da GST em percevejos *Balanus improvisus* em áreas poluídas em comparação com os percevejos das áreas de referência (controle). Ferreira e Amado (2013) também observaram maior atividade da GST em exemplares de *Macrobrachium amazonicum* (Heller, 1862) coletados em locais contaminados por arsênio. No estudo de Capparelli, Abessa e Mcnacamara (2016) a atividade da GST também foi maior no hepatopâncreas dos caranguejos *Uca rapax* expostos ao cobre quando comparado com o controle.

Segundo Dudgeon (1995), as perturbações antrópicas ocorrentes nos cursos d'água podem causar danos às comunidades de organismos que habitam esses ecossistemas. Ainda que o fluxo de água seja descendente, as jusantes dos rios podem sofrer com o transporte de poluentes trazidos à sua montante (DUDGEON, 1995). Entretanto, mesmo levando-se em conta essa afirmação, os animais expostos à água do ponto a montante (Cabaceiras do Paraguaçu) também apresentaram maior atividade da GST, quando comparado com o CTR.

Gráfico 1 - Atividade da enzima glutatona-s-transferase (GST) de camarões *Macrobrachium jelskii* (n=32) expostos durante 96 h às amostras de água em dois pontos no rio Paraguaçu, Cabaceiras do Paraguaçu e Cachoeira, no período seco (fev/2017) e chuvoso (jun/2017) e seus respectivos grupos controle. Valores apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam valores significativamente distintos entre os pontos de coleta e letras minúsculas, diferença significativa entre as estações. (*) indicam valores diferentes do controle ($p < 0,05$).



Fonte: Autores (2017).

Cabe salientar que, apesar desse ponto se situar dentro da Área de Proteção Ambiental Lago de Pedra do Cavalo (Decreto Estadual nº 6.548/2007), no local é possível identificar o lançamento de esgoto doméstico, invasão de áreas de preservação permanente nas margens do lago, depósito de lixo irregular, desmatamentos e práticas agrícolas na cota de inundação do lago (INEMA, 2019). Nesse ponto ainda há uma balsa, que faz o transporte de passageiros e cargas no trajeto Cabaceiras do Paraguaçu e Santo Estevão. A energia elétrica da balsa é produzida por grupos geradores acionados a óleo diesel (SOIBELMAN; MOTTA, 2009), que por sua vez podem contaminar a água. Leme et al. (2012) observaram efeitos genotóxicos, mutagênicos e citotóxicos em águas contaminadas com Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAPs) e óleo diesel. Assim, enzimas de

detoxificação, como a GST, podem apresentar interferência na sua atividade na presença de compostos derivados do petróleo, como os hidrocarbonetos poliaromáticos (STIEN et al., 1998).

Em relação à sazonalidade, ao comparar a atividade da enzima GST de *M. jelskii* em cada ponto de coleta em relação aos períodos seca e chuva, foi possível observar variação significativa somente nos valores obtidos nos animais expostos a água do ponto de Cabaceiras do Paraguaçu (Gráfico 1). Nesse local, a maior atividade da GST foi observada no tecido hepatopancreático dos camarões nos experimentos realizados na estação chuvosa. Também foi possível observar que nessa estação chuvosa a GST do grupo CTR foi significativamente maior em relação ao resultado do grupo CTR dos animais amostrados na estação seca.

Em um estudo sobre a influência da precipitação com relação a qualidade de um rio amazônico, Silva et al (2008) estabeleceram que o regime de chuvas alterava algumas variáveis físico-químicas da água do rio, dentre estas estavam a temperatura, pH, oxigênio dissolvido e turbidez. Essas alterações, bem como o carreamento de outros poluentes, tais como produtos agrícolas, que podem ser carreados para o leito dos rios (MERTEN; MINELLA, 2002). Deste modo, a maior atividade da GST nos animais expostos a água coletada da estação chuvosa, pode estar relacionada ao maior aporte de substâncias potencialmente tóxicas em decorrência de processos de lixiviação e carreamento de contaminantes (HATJE; BARROS, 2012). Assim, a intensidade, qualidade e quantidade dos materiais carreados para os corpos d'água durante o regime de chuvas podem exercer alguma influência, levando a alterações de possíveis índices analisados em um estudo (SILVA; SOUZA, 2013).

Em nosso trabalho, a mortalidade dos animais expostos ao grupo CTR não excedeu o valor de 10% da população exposta, entretanto, a atividade da GST variou em relação aos testes

realizados durante a estação seca e chuva. Provavelmente, essa variação pode estar relacionada ao período sazonal em que esses animais foram coletados, porém, não foram encontrados trabalhos na literatura com a espécie avaliada para que pudessem oferecer base para tal explicação.

Conclusão

Assim, a variação na atividade de biomarcadores bioquímicos, como a enzima GST, pode estar relacionada à presença de substâncias químicas na água, que por sua vez, podem interferir em processos bioquímicos do animal e levar ao comprometimento de outras funções. Dessa forma, podemos inferir que a maior atividade da GST nos camarões expostos a água do rio Paraguaçu, coletada nos pontos de Cabaceiras do Paraguaçu e Cachoeira, pode indicar contaminação aquática. O fator sazonalidade também foi importante para se compreender a influência que os parâmetros hídricos têm sobre os biomarcadores bioquímicos (GST) de *Macrobrachium jelskii*, visto que, na estação com maior índice pluviométrico, a atividade da GST foi significativamente maior.

Referências

ADAMS, S. M. Biological indicators of aquatic ecosystems stress. **American Fishers Society**, v. 3, p.104-112, 2002.

AKAISHI, F. M. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after water borne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 244-253, 2004.

ANDRÉA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoologica Mexicana**, v. 26, p. 97-107, 2010.

CAPPARELLI, M. V.; ABESSA, D. M.; MCNACAMARA, J. C. Effects of metal contamination *in situ* on osmoregulation and oxygen consumption in the mudflat fiddler crab *Uca rapax* (Ocypodidae, Brachyura). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 185, p. 1102-1011, 2016.

CIRILO, A. T. O.; SANTOS, M. C.; NUNES, M. L. Caracterização física e nutricional do camarão “saburica” (*Macrobrachium jelskii*, Miers, 1877) e de produtos derivados. **Scientia Plena**, v. 7, n. 7, 2011.

COSSU, C. et al. Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 45, p. 106-121, 2000.

DUDGEON, D. Anthropogenic influences on Hong Kong streams. **GeoJournal**, v. 40, n. 1, p. 53-61, 1996.

FERREIRA, J.A; AMADO, L.L. Biomarcadores de estresse oxidativo em invertebrados bentônicos expostos a contaminação ambiental por arsênio na foz do rio Amazonas. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPA, 24., 2013. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <http://www.pibic.ufpa.br/ANAISSSEMINIC/XXIVSEMINIC/arquivos/resumos/Ciencias_Biologicas/ciencias_biologicas_004.pdf>. Acesso em: 12 jul. de 2019.

HATJE, V.; BARROS, F. Overview of the 20th century impact of trace metal contamination in the estuaries of Todos os Santos Bay: Past, present and future scenarios. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2603–2614, 2012.

HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: STOREY, K.B. (Ed.) **Functional metabolism: regulation and adaptation**. New York: John Wiley & Sons, 2004. p. 319-368.

HOLT, E. A.; MILLER, S. W. Bioindicators: using organisms to measure environmental impacts. **Nature Education Knowledge**, v. 3, n. 10, p. 8, 2011.

HUBER, P.C.; ALMEIDA, W. P. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, v. 31, p. 1170-1179, 2008.

INEMA. **Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos**. APA Rio Capivara. Disponível em: <http://www.inema.ba.gov.br/gestao-2/unidades-de-conservacao/apa/apa-rio-capivara/>. Acesso em: 03 jul. 2019.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.

LEME, D. M. et al. Genotoxicity assessment of water soluble fractions of biodiesel and its diesel blends using Salmonella assay and the in vitro MicroFlow kit (Litron) assay. **Chemosphere**, v. 86, n. 5, p. 512-520, 2012.

LIMA, N. C. **Avaliação do impacto da contaminação do solo de áreas agrícolas de Bom Repouso (MG) por meio de ensaios ecotoxicológicos**. 2010. 130 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO-FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MELO, G. A. S. Família Atyidae, Palaemonidae e Sergestidae. In: MELO, G.A.S. **Manual de identificação dos crustáceos Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo: Editora Loyola, 2003. p. 289-415.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, v. 3, n. 4, p. 33-38, 2002.

QGIS. **Sistema de Informação Geográfica QGIS**. Projeto da Fundação Geoespacial de Código Aberto. <http://www.qgis.org/>. Acesso em: 10 jan. de 2019.

ROCHA, S. S.; BARBOSA, R. J. Population biology of *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) (Decapoda, Palaemonidae) from an artificial pond in Bahia, Brazil. **Nauplius**, v. 25, n. 8, p.1-13, 2017.

PHAM, C. H.; YI, J.; GU, M. B. Biomarker gene response in male Medaka (*Oryzias latipes*) chronically exposed to silver nanoparticle. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 78, p. 239-245, 2012.

SHEEHAN, D. et al. Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. **Biochemical Society**, v. 360, n. 1, p. 1-16, 2001.

SILVA, A. G.; SOUZA, L. D. Efeitos antrópicos e sazonais na qualidade da água do rio do Carmo. **HOLOS**, v. 5, p. 122-136, 2013.

SILVA, A.E.P. et al. Influência da precipitação na qualidade da água do Rio Purus. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 733-742, 2008.

SOIBELMAN, H.J.; MOTTA, A. L.T.S. Avaliação de desempenho ambiental em uma Balsa Guindaste e de Lançamento – BGL. **Revista Eletrônica Sistemas & Gestão**, v. 4, n.1, p. 55-65, 2009.

STIEN, X. et al. Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. **Environmental Pollution**, v. 99, n. 3, p. 339-345, 1998.

ZANETTE, J.; MONSERRAT, J.M.; BIANCHINI, A. Biochemical biomarkers in barnacles *Balanus improvisus*: Pollution and seasonal effects. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 103, p. 74-79, 2015.

Tilápias como bioindicadoras de contaminação aquática

*Caroline Muniz de Abreu Santos
Theila dos Santos Santana
Marilene Bárbara dos Santos
Elissandra Ulbricht Winkaler*

O ecossistema aquático tem sido considerado um dos mais suscetíveis à contaminação, devido ao aumento da atividade industrial, descarte de substâncias químicas, despejos de resíduos domésticos resultantes das estações de tratamento de esgoto ou próprio esgoto *in natura* (ARIAS et al., 2007; AGOSTINI; MORAES; BOEIRA, 2013).

Muitas vezes a quantificação das concentrações de xenobióticos presentes na água é dispendiosa e não fornece real impacto sobre os organismos que vivem nesse compartimento (SCHIRMER et al., 2011). Assim, os testes ecotoxicológicos com biomarcadores têm sido utilizados para avaliar os efeitos de produtos químicos tóxicos nos diversos ecossistemas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Além disso, suas respostas podem ser utilizadas para estimar a exposição a produtos químicos ou efeitos resultantes sobre os organismos aquáticos (RAMSDORF et al., 2012; ARAUJO et al., 2017).

Os organismos aquáticos são mais suscetíveis a contaminação do ambiente e podem ser considerados excelentes bioindicadores (PIRSAHEB et al., 2019). Os peixes podem ser considerados um bom modelo para avaliação de danos oxidativos relacionados à exposição crônica ou concentrações subletais, mutagenicidade e outros efeitos adversos de xenobióticos no compartimento aquático (KARTHIGARANI; NAVARAJ, 2012).

O rio Paraguaçu, nasce na Chapada Diamantina (BA) e é considerado um dos mais importantes sistemas fluviais de domínio inteiramente estadual, com 600 km de extensão (INGÁ, 2008). Segundo o CRA (2011), um dos principais usos das águas da bacia do rio Paraguaçu, além do abastecimento de cidades e indústrias, é o lazer e a pesca (zona estuarina). Por atravessar áreas urbanas, recebe esgotos domésticos e industriais de maneira clandestina, além de sofrer influência direta do uso indiscriminado de pesticidas agrícolas em suas margens. Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar o nível de contaminação aquática de 3 pontos ao longo do rio Paraguaçu, utilizando como ferramenta as respostas de biomarcadores hematológicos e bioquímicos de tilápia [*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)].

Material e métodos

Para a realização deste trabalho, as tilápias (*O. niloticus*) foram fornecidas pela Estação de Piscicultura de Jequié (Bahia Pesca) e não tiveram contato prévio com a água do rio Paraguaçu. Os animais (n=100) foram transportados para o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e aclimatados por 25 dias em tanques de polietileno (250 L), com aeração contínua e fotoperíodo controlado (12 h claro/12 h escuro). Os foram peixes alimentados *ad libitum* e as variáveis físico-químicas da água como temperatura, pH, condutividade e salinidade, foram monitoradas diariamente.

Os pontos estabelecidos para coleta de água (P1, P2 e P3) foram definidos de acordo com característica antrópica de cada local, levando-se em consideração a influência da barragem da Usina Hidroelétrica (UH) da Pedra do Cavalo (Figura 1):

P1 - montante da UH da Pedra do Cavalo (12°30'48,8" S e 39°11'14,6"W), município de Cabaceiras do Paraguaçu, que faz

parte da Área de Proteção Ambiental Lago de Pedra do Cavalo. Ponto próximo ao embarque e desembarque de uma balsa que faz a travessia entre os municípios de Cabaceiras do Paraguaçu e Santo Estevão (BA).

P2 - barragem da UH da Pedra do Cavalo ($12^{\circ}32'29''\text{S}$ e $39^{\circ}15'51''\text{W}$), localizado na área de proteção ambiental da Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape, divisa de São Félix e Cachoeira, municípios do recôncavo da Bahia. Local caracterizado pelo represamento da água para formação da barragem. A vazão afluyente varia de $80 \text{ m}^3/\text{s}$ (1 turbina) a próximo de $160 \text{ m}^3/\text{s}$ (2 turbinas).

P3 - jusante da UH da Pedra do Cavalo ($12^{\circ} 36'25''\text{S}$ e $38^{\circ}57'59,2''\text{W}$), no município de Cachoeira. Ponto de coleta caracterizado pela descarga de esgoto doméstico e lixo urbano. O baixo curso do rio Paraguaçu tem extensão de 16 km, iniciando logo a jusante da Barragem Pedra do Cavalo até chegar à desembocadura na Baía de Iguape.

Figura 1 - Usina Hidrelétrica de Pedra do Cavalo no rio Paraguaçu, divisa dos municípios de São Félix e Cachoeira, no recôncavo da Bahia.



Fonte: Rômulo Faro (2021), (<https://www.brasil247.com>).

As amostras de água foram coletadas em março de 2014, com auxílio de galões plásticos (60 L), sendo que, em cada local

foram determinados os parâmetros abióticos da água com sonda multiparâmetro (Tabela 1).

Tabela 1 - Valor médio e desvio padrão dos parâmetros abióticos da água determinados nos pontos de coleta do rio Paraguaçu (BA): P1- montante da Usina Hidroelétrica (UH) da Pedra do Cavalo, P2- barragem da UH da Pedra do Cavalo e P3- jusante da UH da Pedra do Cavalo.

Ponto de coleta	pH	Temperatura (°C)	Oxigênio dissolvido (%)	Condutividade (uS.cm ⁻¹)
P1 – montante da UH	7,2 ± 0,0	25,9 ± 0,1	7,7 ± 0,3	226,0 ± 1,5
P2 – barragem da UH	6,8 ± 0,1	25,4 ± 0,4	3,0 ± 0,1	243,0 ± 4,5
P3 – jusante da UH	7,7 ± 0,1	28,6 ± 0,6	2,9 ± 0,1	3.887,0 ±13,5

Fonte: Autores (2014).

A água coletada foi transportada até o LABEA e transferida para aquários de vidro (25 L), sendo cada ponto avaliado em duplicata. A água dos aquários foi oxigenada com soprador de ar e após 24 h, 6 tilápias foram transferidas para cada aquário. No grupo controle (CTR) os peixes foram expostos à água de abastecimento do laboratório, previamente desclorada. O teste foi do tipo estático, com fotoperíodo controlado (12 Claro/12 Escuro) e duração de 120 h. Os animais não foram alimentados durante a exposição e os parâmetros abióticos da água foram monitorados diariamente. Esses valores mantiveram-se semelhantes aos valores determinados nos pontos de coleta.

Após 120 h de exposição, os peixes foram retirados dos aquários e procedeu-se a retirada de sangue dos animais por punção caudal. Em seguida os animais foram eutanasiados por imersão em água com gelo e o fígado foi retirado e congelado (-80 °C). Posteriormente, as tilápias foram pesadas (massa média: 17,7 ± 2,1 g) e medidas (comprimento total 10,0 ± 0,4 cm), com auxílio de balança digital e paquímetro.

Uma alíquota do sangue foi utilizada para determinação de hematócrito (GOLDENFARB et al., 1971) e o restante do sangue foi centrifugado para a separação do plasma. A concentração de glicose

total plasmática e a atividade da lactato desidrogenase (LDH) foram determinadas utilizando kit comercial (Katal®) e as leituras realizadas em espectrofotômetro UV/Vis. Para a determinação da atividade da glutathione-S-transferase (GST) e catalase (CAT) os fragmentos de fígado foram pesados e homogeneizados em tampão fosfato 1:10 (volume/massa) e centrifugados (20' a 4° C e 12.000 rpm). O sobrenadante foi separado para a determinação da atividade da CAT, de acordo com a técnica descrita por Aebi (1984) e da GST (KEEN; HABIG; JAKOBY, 1976). Os resultados foram determinados em função da concentração de proteínas totais do fígado, sendo que essa concentração foi determinada com kit comercial (Katal®) em espectrofotômetro UV/Vis.

Os valores médios dos resultados foram comparados entre si com o teste de análise de variância (ANOVA) e, quando verificadas diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$), foi aplicado o teste de Tukey (5% de probabilidade) com o programa estatístico BIOESTAT 5.3.

Resultados e discussão

O teste de hematócrito consiste na contagem das células sanguíneas de uma amostra coletada do animal. As variações neste parâmetro podem indicar hemoconcentração ou hemodiluição devido ao desbalanço osmorregulatório (TAKAHASHI et. al., 2006). Em nosso trabalho, o valor do hematócrito dos peixes expostos à água coletada nos diferentes pontos do rio Paraguaçu, não variou significativamente entre si (Tabela 2) e com o grupo controle (CTR). Porém, quando se compara a média dos valores de hematócrito obtido nesse estudo ($10,4 \pm 0,3 \%$), com valores pré-estabelecidos na literatura, observa-se que esse valor foi menor do que aqueles considerados normais para peixes em condições adequadas de bem-

estar. Segundo Barros et al. (2012), o valor médio do hematócrito para tilápias (*O. niloticus*) mantidas em condições adequadas de cultivo é de $29,5 \pm 5,4\%$. Valores próximos ($32,4 \pm 5,8\%$) foram observados em tilápias da mesma espécie mantidas em cultivo, no centro de piscicultura da Universidade de Caldas, Colômbia (HAHN; QUIROZ; QUINTERO, 2014).

Tabela 2 - Valor médio e desvio padrão do hematócrito e concentração de glicose total plasmática de tilápias (*O. niloticus*) expostas durante 120 h à água coletada no rio Paraguaçu: P1-montante da Usina Hidroelétrica (UH) da Pedra do Cavalo, P2-barragem da UH da Pedra do Cavalo e P3 – jusante da UH da Pedra do Cavalo e grupo controle.

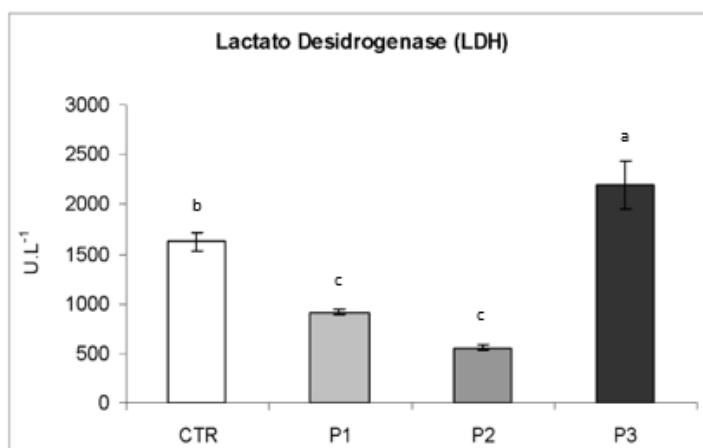
Biomarcadores	Controle	P1 - montante da UH	P2 - barragem da UH	P3 - jusante da UH
Hematócrito (%)	$9,9 \pm 2,3$	$10,8 \pm 2,3$	$9,7 \pm 1,8$	$11,2 \pm 1,3$
Glicose Total (mg.dL ⁻¹)	$27,6 \pm 1,1$	$29,4 \pm 3,0$	$27,8 \pm 2,8$	$34,0 \pm 3,9$

Fonte: Autores (2012).

Assim como o hematócrito, os valores de glicose plasmática nos animais expostos à água do rio Paraguaçu foram menores quando comparado com outros trabalhos. El-Sayed et al. (2014) observaram que para *O. niloticus* mantidas em condições controladas e ideais de aclimação, o valor da glicose total plasmática foi de $61,5 \pm 3,7$ mg.dL⁻¹. A tilápia (*O. niloticus*) é considerada uma espécie sedentária, limitando suas atividades ao seu território, não necessitando assim de um aumento imediato de glicose plasmática (HAWKINS; ARMSTRONG; MAGURRAN, 2004). As alterações nos níveis de glicose em resposta a algum estresse podem indicar modificações energéticas que são utilizadas pelo organismo durante situações adversas e essa resposta pode ser utilizada como bioindicador (TAKAHASHI et al., 2006). No presente trabalho, não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de glicose total plasmática (Tabela 3), entretanto, Martins (2009) relacionaram as variações de glicose de tilápias (*O. niloticus*) à contaminação da água por efluentes de indústria de papel e celulose.

A desidrogenase láctica (LDH) é uma enzima terminal do processo da glicólise anaeróbica, e fornece energia rápida para a natação súbita de alguns peixes (SILVA et al., 2012). A atividade dessa enzima tem sido utilizada no processo de análises de doenças em peixes, bem como na detecção de danos teciduais causados devido à exposição à poluição ambiental (FIRAT et al., 2011). Nos animais expostos às amostras de água do ponto a montante (P1) e na barragem da UH (P2), a atividade da LDH foi significativamente menor, enquanto que, nos animais expostos às amostras do ponto a jusante da barragem da usina (P3), a atividade dessa enzima foi significativamente maior, comparado aos demais pontos e o CTR (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Atividade da desidrogenase láctica de tilápias (*O. niloticus*) expostas durante 120 h à água do rio Paraguaiçu: P1 – montante da barragem da UH da Pedra do Cavalo, P2 - barragem da UH e P3 – jusante da barragem da UH e grupo controle. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($P < 0,05$) e as barras verticais representam o desvio padrão das médias.



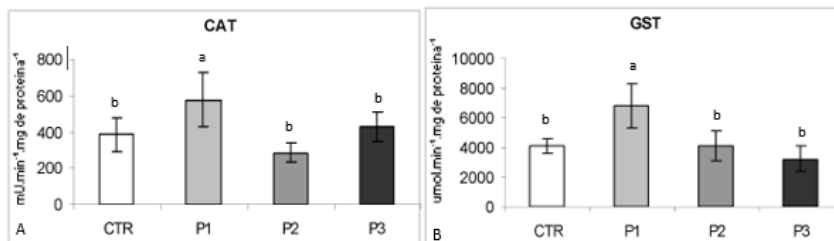
Fonte: Autores (2012).

A redução dos níveis hepáticos de LDH foi observada em *Genidens genidens*, popularmente chamado de bagre curiaçu, coletados no rio Escuro (Ubatuba, SP), considerado eutrofizado

devido a ações antropogênicas e aporte de xenobióticos e metais pesados (ALMEIDA; RODRIGUES, 2009). Entretanto, a atividade de muitas enzimas pode aumentar ou ser inibida sob estresse químico, indicando que não há uma regra geral. Assim, a maior atividade da LDH observada nos animais expostos à água do P3 também pode estar relacionada à presença de substâncias químicas na água. Cabe salientar que, neste local foi observado um valor elevado de condutividade elétrica na água ($3.181,17 \pm 2,03 \text{ uS.cm}^{-1}$) (Tabela 1). Segundo a resolução do CONAMA 357/05, níveis superiores a 100 uS.cm^{-1} podem indicar ambientes impactados, resultado do aporte de matéria orgânica proveniente de descartes de resíduos domésticos e estações de tratamento de esgoto. O aumento da atividade da LDH também foi observado por Firat et al. (2011) em tilápias expostas a metais (Cu e Pb) e pesticidas encontrados com frequência em efluentes que são despejados nos rios. Segundo Raj e Joseph (2015), a exposição de peixes a poluentes como agrotóxicos também pode estar relacionada com altos níveis de LDH.

Em nosso trabalho, a maior atividade das enzimas CAT e GST foi observada no fígado das tilápias expostas à água coletada no ponto P2, a montante da barragem (Gráfico 2A e B).

Gráfico 2 - Atividade da enzima catalase (A) e glutatona-s-transferase (B) em tilápias (*O. niloticus*) expostas durante 120 h à água coletada no rio Paraguaçu: P1 – montante da barragem da UH da Pedra do Cavalo (Cabaceiras), P2 - barragem da UH (barragem), P3 – da barragem da UH (Cachoeira) e grupo controle. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes ($P < 0,05$) e as barras verticais representam o desvio padrão das médias.



Fonte: Autores (2012).

A catalase (CAT) é uma enzima que atua no processo de remoção do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), transformando-o em oxigênio molecular e água. Sua elevada atividade é observada quando o organismo está sob estresse oxidativo, gerado pela bioacumulação de substâncias tóxicas (AVILEZ et al., 2008). O aumento da atividade da catalase também foi observado na espécie de peixe de água doce *Alburnus mossulensis* Heckel 1843, após a exposição a agrotóxicos frequentemente encontrados na água (BANAEE et al., 2014). A maior atividade da CAT também foi observada em tilápias (*O. niloticus*) expostas a amostras de água do rio Monjolinho (São Carlos, SP), o qual apresenta uma mistura de contaminantes de origem doméstica e industrial, com acentuada presença de metais pesados (CARVALHO et al., 2012).

Já a glutathione-s-transferase (GST) está envolvida no processo de detoxificação celular de xenobióticos, tendo como finalidade tornar estes compostos menos tóxicos e solúveis em água, sendo mais fácil serem degradados e excretados pelo organismo (CARLETTI et al., 2008). Como a GST apresenta uma resposta bifásica, a tendência é um aumento causado pelo contato com o agente estressor resultando, como resposta, a ativação do processo de síntese e, em seguida, uma redução desta atividade (REGOLI; NIGRO; ORLANDO, 1998). De acordo com Neta e Silva (2010), o aumento da atividade da GST em bagres [*Sciades herzbergii* (Bloch 1794)] foi relacionado à contaminação da água por efluentes de origem doméstica, industrial e agrícola. A maior atividade da GST também foi observada em brânquias de *Astyanax altiparanae* Garutti & Britski (2000), (lambari) coletados em locais de produção agrícola, com intenso uso de inseticidas e herbicidas (VIEIRA et al., 2014). Assim como a CAT, a maior atividade da GST nos animais do ponto da barragem (P2) pode estar relacionada à presença de substâncias químicas tóxicas

na água.

Cabe salientar que, apesar do ponto na barragem se situar dentro da Área de Proteção Ambiental Lago de Pedra do Cavalo (Decreto Estadual nº 6.548/2007), no local é possível identificar o lançamento de esgoto doméstico, invasão de áreas de preservação permanente nas margens do lago, depósito de lixo irregular, desmatamentos e práticas agrícolas na cota de inundação do lago (INEMA, 2019). Além disso, os grandes reservatórios atuam como um filtro decantador da poluição e tendem a melhorar a qualidade da água do rio a jusante da barragem (KLAPPER, 2003). Por outro lado, a água represada força o gradiente de energia a se aproximar de zero e resulta em perda de capacidade de transporte e leva à deposição do sedimento, que por sua vez, se estiver contaminado pode aumentar a toxicidade dos xenobióticos.

Conclusão

Vários estudos ainda são necessários para a caracterização da qualidade da água do rio Paraguaçu, porém, com base nas respostas conjuntas das atividades enzimáticas da LDH, CAT e GST das tilápias, podemos concluir que o ponto 2, na barragem da Usina Hidroelétrica da Pedra do Cavalo, parece ser o local mais impactado.

Referências

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121-126, 1984.

AGOSTINI, V. O.; MORAES, L. P.; BOEIRA, J. M. Avaliação da qualidade de água de sangradouro do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil e sua relação com a fauna bentônica de praias arenosas. **Revista Biociência**, v. 19, n. 2, p. 10-17, 2013.

ALMEIDA, R. V.; RODRIGUES, E. Resposta metabólica aeróbia,

anaeróbia e argininolítica do bagre tica do bagre *Genidens genidens*, presentes nos estuários dos rios Grande, Indaiá e Escuro do município de Ubatuba. **Revista Biociências**, v. 15, n. 1, p. 56-64, 2009.

ARAÚJO, F. G. et al. Biomarkers and bioindicators of the environmental condition using a fish species (*Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803) in a tropical reservoir in Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 2, p. 351-359, 2018.

ARIAS, A. R. L. et al. Use of bioindicators for assessing and monitoring pesticides contamination in streams and rivers. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 61-72, 2007.

AVILEZ, I. M. et al. Effects of phenol in antioxidant metabolism in matrinxã, *Brycon amazonicus* (Teleostei; Characidae). **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 148, n. 136, p. 142, 2008.

BANAE, M. et al. Alterations in biochemical parameters of the freshwater fish, *Alburnus mossulensis*, exposed to sub-lethal concentrations of Fenprothrin. **International Journal of Aquatic Biology**, v. 2, n. 2, p. 58-68, 2014.

BARROS, R. C. et al. Observação sobre os aspectos hematológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Ciclidae), capturada em cultivos na região de Pirai, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 34, n. 3, p. 183-187, 2012.

CARLETTI, E. et al. Glutathione transferases from *Anguilla anguilla* liver: Identification, cloning and functional characterization. **Aquatic Toxicology**, v. 90, p.48-57, 2008.

CARVALHO, C. S. et al. Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. **Chemosphere**, v. 89, p. 60-69, 2012.

CENTRO DE RECURSOS AMBIENTAIS – CRA. **Bacia Hidrográfica do Rio Paraguaçu**. Salvador, 2011. Avaliação da Qualidade de Água. >Disponível em <http://www.seia.ba.gov.br>> Acesso em: 10 de jun. de

2020.

CONAMA – **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Resolução nº 357/05. >Disponível em <http://www.mma.gov.br>> Acesso em 10 de jun. de 2020.

EI-SAYED, Y. S. E. et al. Physiological and oxidative stress biomarkers in the freshwater monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., exposed to Pendimethalin-based herbicide. **Environmental Toxicology**, v. 40, n. 1, p. 29-43, 2014.

FIRAT, O. et al. A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 37, p. 657-666, 2011.

GOLDENFARB, P. B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, p. 35-39, 1971.

HAHN, C. M. V. H.; QUIROZ, A. B.; QUINTERO, A. G. Caracteres hematológicos en individuos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Trewavas 1983) con pesos entre 50-150 g y 150-250 g. Estación Piscícola, Universidad de Caldas, Colombia. **Boletín Científico**. Centro de Museos. Museo de Historia Natural. Universidad de Caldas, v. 18, n. 1, p.142-157, 2014.

HAWKINS, L. A.; ARMSTRONG, J. D.; MAGURRAN, A. E. Predator-induced hyperventilation in wild and hatchery Atlantic salmon fry. **Journal of Fish Biology**, v. 65, p. 88-100, 2004.

INSTITUTO DE GESTÃO DAS ÁGUAS E CLIMA - INGÁ. **Relatório de Monitoramento da Qualidade das Águas – Relatório Anual**, Vol. 1, Salvador: INGÁ, 2008. Disponível em: www.inga.ba.gov.br. Acesso em: 10 jun. 2020.

KARTHIGARANI, M.; NAVARAJ D. P. S. Impact of nanoparticle on enzymes activity in *Oreochromis mossambicus*. **International**

Journal of Engineering, Science and Technology, v. 1, n. 10, p. 13-17, 2012.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H; JAKOBY, W. B. Mechanism for several activities of the glutathione-S-transferase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 20, p. 6183-6188, 1976.

KLAPPER, H. Technologies for lake restoration. **Journal of Limnology**, v. 62, n. 1, p. 73-90, 2003.

MARTINS, L. H. B. Variações bioquímicas em *Oreochromis niloticus* (tilápia), *in situ*, em região com despejo de efluente da indústria de polpa de celulose tipo Kraft. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 10, n. 1, p. 1-20, 2009.

NETA, C. R. N. F; SILVA, A. L. A. *Sciades herzbergii* oxidative stress biomarkers: an *in situ* study of an estuarine ecosystem (São Marcos, Maranhão, Brazil). **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, p. 11-17, 2010.

PIRSAHEB, M. et al. Toxicological effects of transition metal-doped titanium dioxide nanoparticles on goldfish (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus carpio*). **Chemosphere**. v. 215, p. 904-915, 2019.

RAJ, S. J.; JOSEPH, B. Impacts of acetamiprid toxicity on lactate dehydrogenase in some tissues of the fish *Oreochromis mossambicus*. **International Journal of Zoological Research**, v. 11, n. 3, p. 112-115, 2015.

RAMSDORF, W. A. et al. Handling of *Astyanax* sp. for biomonitoring in Cangüiri Farm within a fountainhead (Iraí River Environment Preservation Area) through the use of genetic biomarkers. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 10, p. 5841-5849, 2012.

REGOLI, F.; NIGRO, M.; ORLANDO, E. Lysosomal and antioxidant responses to metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. **Aquatic Toxicology**, v. 40, p. 375-392, 1998.

SCHIRMER, M. et al. Mass fluxes of xenobiotics below cities: challenges in urban hydrogeology. **Environmental Earth Sciences**, v. 64, n. 3, p. 607-617, 2011.

SILVA, E. M. P. et al. Atividade da catalase e da lactato desidrogenase em tilápias submetidas a estresse de confinamento: efeito da cor do ambiente. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 894-899, 2012.

TAKAHASHI, L. S. et al. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. **Acta Scientiarum**, v. 28, n. 4, p. 469-475, 2006.

VIEIRA, C. E. D. et al. Integrated biomarker response index using a neotropical fish to assess the water quality in agricultural area. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, n. 1, p. 153-164, 2014.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática** – princípios e aplicações. 2ª edição; São Carlos, 486 p, 2008.

Biomarcadores bioquímicos de tilápia

Marilene Bárbara dos Santos

Theila dos Santos Santana

Elissandra Ulbricht Winkaler

Os biomarcadores ou marcadores biológicos são respostas biológicas geradas em função da exposição a um ambiente químico, capazes de representar a dimensão da exposição e, em algumas ocasiões, os efeitos decorrentes da exposição (WALKER, 1995). As principais vantagens relacionadas ao uso de bioindicadores são a determinação de impactos biológicos, maior velocidade nos diagnósticos, o monitoramento dos efeitos de poluentes e a economia financeira (PARMAR; RAWTANI; AGRAWAL, 2016). Assim, é possível avaliar a saúde dos ecossistemas aquáticos, seja para monitorar processos de poluição de bacias hidrográficas e rios (BÜCKER; CONCEIÇÃO, 2012), identificar a presença de poluição por esgotamento urbano (CABANELAS; MOREIRA, 2012) ou quantificar o nível de contaminação por metais pesados (OMAR et al., 2013) utilizando as respostas biológicas de peixes, como por exemplo, a atividades de enzimas do sistema de defesa antioxidante.

Diversos fatores podem alterar a qualidade da água, desde enchentes e secas, até as várias fontes de poluição derivadas das atividades antrópicas (KHATRI; TYAGI, 2015). A qualidade da água é um problema circunstancial em várias partes do mundo. No recôncavo Baiano essa situação não é diferente, e pode sofrer agravamento à medida que os poluentes alcançam os estuários e deste modo comprometem os ecossistemas costeiros (SANTOS; GÓIS, 2004).

O rio Chapadinha está localizado no município de Cruz das Almas no recôncavo da Bahia e foi enquadrado pelo Conselho

Estadual de Recursos Hídricos (CONERH, 2010) na classe 2 - Água Doce. Os corpos hídricos dulcícolas da Classe 2 têm por característica salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰, e seu uso pode ser destinado ao abastecimento para consumo humano. Caso receba tratamento adequado, pode servir à proteção dos organismos aquáticos, também podendo ser utilizada na irrigação de vegetais, atividades aquícolas e recreativas (CONAMA, 2011).

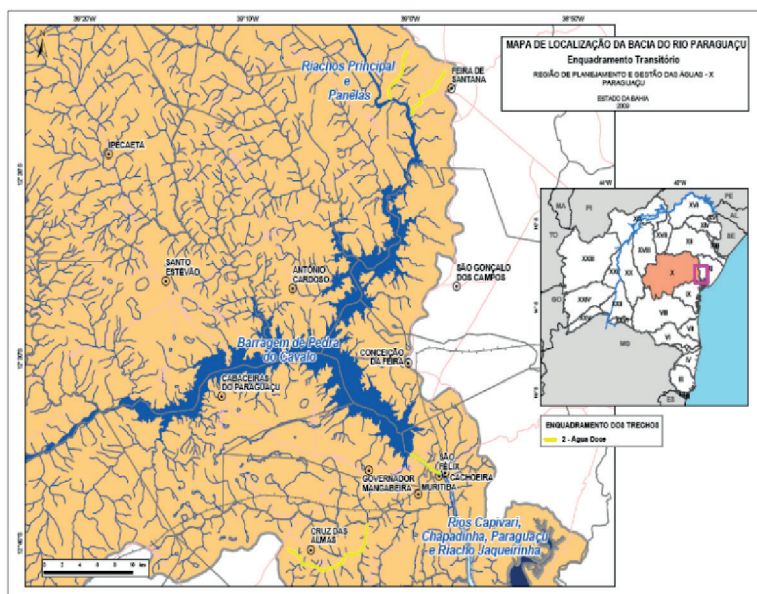
Compreendendo a importância dos ecossistemas hídricos naturais, o presente estudo teve como objetivo a identificar uma possível degradação aquática em diferentes pontos do rio Chapadinha, Cruz das Almas (BA), utilizando como biomarcadores a atividade da glutathione-S-transferase (GST) e catalase (CAT).

Material e métodos

As tilápias (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) foram fornecidas pela Aquavale Piscicultura, Ituberá, BA e não tiveram contato prévio com a água do rio Chapadinha. Os animais (n=250) foram transportados para o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e aclimatados por 25 dias em tanques de polietileno (250 L), com aeração contínua e fotoperíodo controlado (12 Claro/12 Escuro). Os peixes foram alimentados *ad libitum* (ração com 28% de proteína) e as variáveis físico-químicas da água como temperatura, pH, condutividade e salinidade, foram monitoradas diariamente.

Para a realização do estudo, foram determinados 3 pontos do rio Chapadinha, localizado no município de Cruz das Almas, Bahia (Figura 1).

Figura 1 - Mapa do estado da Bahia com destaque para o rio Chapadinha (seta vermelha), no município de Cruz das Almas.



Fonte: CONERH (2010), Resolução nº 79.

Não há muitas informações sobre o rio Chapadinha, entretanto, é possível observar que se trata de um rio com baixa profundidade, com trechos encobertos pela vegetação e grande quantidade de resíduos sólidos em seu entorno. Em 2004 foi inaugurada a Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) do município de Cruz das Almas que libera, depois de devido tratamento, seu efluente no rio Chapadinha. Os pontos de coleta foram:

Ponto 1 - Bairro da Tapera ($12^{\circ}41'29.05''S$ e $39^{\circ}5'27.03''O$). Local caracterizado por extensa área de pastagem, intercaladas por árvores, e vegetação ribeirinha. Recebe esgoto de origem doméstica com visível quantidade de lixo e descarte de outros materiais.

Ponto 2 - Bairro da Chapadinha ($12^{\circ}41'16.60''S$ e $39^{\circ}4'41.06''O$), próximo à Estação de Tratamento de Esgoto do município de Cruz das

Almas (BA). O local de coleta encontra-se encoberto por vegetação, cobrindo praticamente todo o leito do rio.

Ponto 3 - Fazenda Campo Limpo (12°40'35.09"S e 39°3'46.04"O). Local sem a presença de mata ciliar e com extensa área de pastagem.

As coletas de água foram realizadas em dezembro de 2017 e janeiro de 2018 e em cada local foram determinados: concentração de O₂ dissolvido, pH, temperatura, condutividade e salinidade da água, com auxílio de sonda multiparâmetros (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores de oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura, condutividade e salinidade da água nos pontos de coleta no rio Chapadinha: Tapera, Chapadinha e Campo Limpo, amostrados em dezembro de 2017 (Dez) e janeiro de 2018 (Jan).

Pontos de Coleta	Variáveis Abióticas									
	OD (mg.L ⁻¹)		pH		Temperatura (°C)		Condutividade (µS.cm ⁻¹)		Salinidade (‰)	
	Dez	Jan	Dez	Jan	Dez	Jan	Dez	Jan	Dez	Jan
Tapera	0,2	0	7,8	7,2	25,7	25,2	721	828	0,3	0,4
Chapadinha	0,2	0	7,4	7,1	25,6	26,2	515	1023	0,2	0,5
Campo Limpo	2,2	0,3	7,8	7,4	26,4	31,7	784	1040	0,4	0,5

Fonte: Autores (2018).

As amostras de água foram coletadas com o auxílio de galões de plástico e transportadas até o Laboratório de Ecotoxicologia Aquática (LABEA) da UFRB, onde foram peneiradas para retirada de partículas sólidas contidas na água e transferidas para aquários de vidro de 30 L. Em paralelo, determinou-se um grupo controle (CTR), contendo apenas água de abastecimento do laboratório. Cada ponto foi analisado em duplicata, totalizando assim 8 tratamentos (incluído 2 tratamentos do grupo CTR).

A água dos aquários foi oxigenada com soprador de ar e após 24 h, 10 tilápias foram transferidas para cada aquário. O teste foi do tipo estático, com fotoperíodo (12 horas Claro/12 horas Escuro)

controlado e aeração contínua da água. Os animais não foram alimentados durante os experimentos e os parâmetros abióticos da água foram monitorados diariamente. Todos os procedimentos adotados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Uso Animal (CEUA/UFRB) sob o registro nº 23007.029235/2017-75.

Após 96 h exposição, os animais foram retirados dos aquários e analgesiados por hipotermia. Em seguida foram eutanasiados por secção medular, pesados e medidos ($15,6 \pm 3,3$ g e $9,8 \pm 0,7$ cm), o fígado foi removido e imediatamente congelado a -80° C. Posteriormente, o fígado foi homogeneizado com tampão fosfato de potássio 0,5 M pH: 7,0, na proporção de 1:10 (massa/volume), centrifugado (25' 12000 RPM e 4° C) e o sobrenadante foi separado e armazenado no ultrafreezer a -80° C, para posterior quantificação da atividade cinética das enzimas GST e CAT.

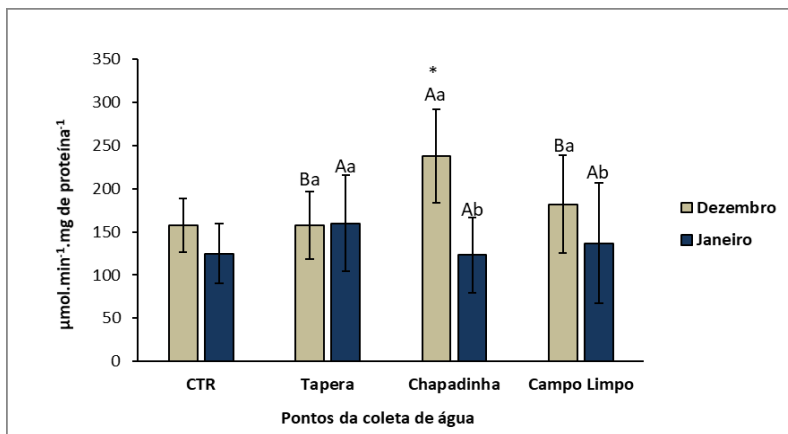
A atividade da GST foi determinada segundo o método descrito por Keen, Habig e Jakoby (1976), baseado na catalisação da reação de conjugação do substrato 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) com a glutatona reduzida (GSH) pela GST. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis e comprimento de onda de 340 nm. Para a determinação da atividade da catalase (CAT) utilizou-se o método definido por Aebi (1984), com base na degradação do H_2O_2 exógeno, pela CAT, gerando como subproduto H_2O e O_2 . As leituras foram realizadas no espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda de 240 nm em cubetas de quartzo. O cálculo da atividade enzimática baseou-se na concentração de proteínas totais nas amostras de fígado, determinada pelo método de biureto com kit comercial (Interkit).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o software estatístico PAST versão 2.17c. Na ocorrência de variações entre as médias ($p < 0,05$) o teste de Tukey foi aplicado para identificar os grupos que se distinguem (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

Resultados e discussão

No primeiro experimento (dez/2017), a maior atividade da enzima glutatona-s-transferase (GST) foi observada nos peixes expostos durante 96 h à água do ponto da Chapadinha, quando comparado com os valores dos pontos Tapera, fazenda Campo Limpo e grupo controle (CTR). Para os testes realizados em jan/2018, não foram observadas diferenças significativas entre os resultados (Gráfico 1). Na comparação entre as datas de realização dos experimentos (dez/2017 e jan/2018) num mesmo ponto, observa-se que nos pontos da Chapadinha e da fazenda Campo limpo coletadas no mês de dez/2017 a atividade da GST foi significativamente maior, quando comparados com os resultados obtidos em jan/2018 no mesmo ponto de coleta de água (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Valores da atividade da enzima glutatona-s-transferase (GST) em *O. niloticus* após 96 h de exposição a água coletada em 3 pontos do rio Chapadinha (BA) e grupo controle (CTR): P1 – Tapera, P2 – Chapadinha e P3 – Fazenda Campo Limpo, em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Valores representados como médias $\pm$ desvio padrão e $n = 20$. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos no mesmo período e letras minúsculas indicam diferenças entre o período de coleta. (*) indica variação em relação ao CTR.



Fonte: Autores (2018).

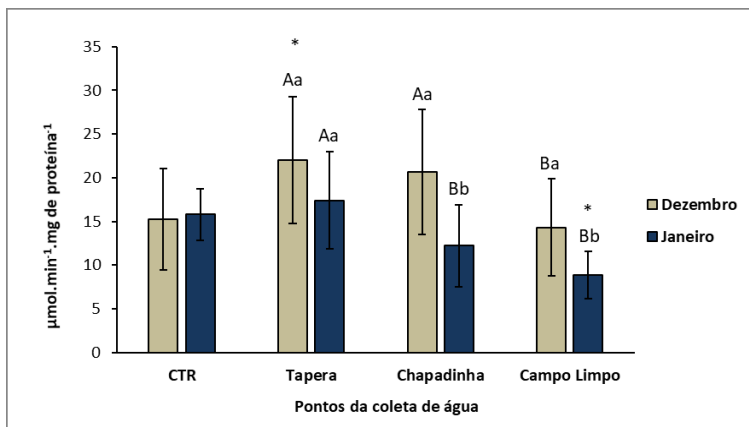
A GST é uma enzima que está envolvida no processo de detoxificação celular de compostos eletrofílicos. Essa enzima conjuga-se com as Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). As EROs, por sua vez, podem causar danos à maquinaria celular, resultando em alterações genéticas ou bioquímicas (COGO et al., 2009). Assim, a maior atividade da GST pode estar relacionada à ativação do mecanismo de defesa contra xenobióticos e/ou endobióticos que possuem capacidade para danificar as células (BRITO et al., 2012).

Pandey et al. (2003), observaram maior atividade da GST em peixe gato [*Wallago attu* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801)] coletados em locais com altos níveis de poluição no rio Yamana, na Índia. Segundo os autores, a atividade dessa enzima aumentou em decorrência da presença de substâncias químicas de origem orgânica na água. Azevedo et al. (2013) relacionaram a maior atividade da GST do bagre [*Cathorops spixii* (AGASSIZ, 1829)] coletados durante o verão, ao maior aporte de substâncias químicas transportadas para o rio com o aumento da precipitação nesse período. Em nosso trabalho, as duas coletas (janeiro de 2017 e dezembro de 2018) foram realizadas durante o verão. Dessa forma, não podemos atribuir a variação na atividade da GST com as características da estação, como temperatura e maior pluviosidade.

A enzima CAT catalisa a conversão de H_2O_2 , que é tóxico para as células em H_2O e O_2 (BENAVIDES et al., 2016). Assim, como a GST, a atividade da CAT tem sido usada como indicador de erradicação de oxidantes. Em nosso trabalho, nos experimentos de dez/2017, a atividade da CAT foi significativamente maior nos animais expostos à água do ponto da Tapera e Chapadinha, quando comparado com os resultados do ponto da fazenda Campo Limpo e grupo CTR (Gráfico 2). No experimento realizado em jan/2018, a maior atividade da enzima CAT também foi observada nos animais expostos a água coletada no ponto da Tapera, quando comparados

com os valores observados nos animais expostos às amostras de água da Chapadinha e da fazenda Campo Limpo. Os animais expostos à água proveniente do ponto na fazenda Campo Limpo apresentaram atividade da CAT hepática significativamente menor, em relação ao grupo CTR, como pode ser observado no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Valores da atividade da enzima catalase (CAT) em *O. niloticus* após 96 h de exposição a água coletada em 3 pontos do rio Chapadinha (BA) e grupo controle (CTR): P1 – Tapera, P2 – Chapadinha e P3 – Fazenda Campo Limpo, em experimentos realizados em dezembro de 2017 e janeiro 2018. Valores representados como médias $\pm$ desvio padrão e $n = 20$. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$), onde letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os pontos no mesmo período e letras minúsculas indicam diferenças entre o período de coleta. (*) indica variação em relação ao CTR.



Fonte: Autores (2018).

A maior atividade da CAT também foi observada em acarás [*Geophagus brasiliensis* (QUOY & GAIMARD 1824)] coletados em locais poluídos (WILHELM FILHO et al., 2001). Franco et al. (2010) em seu estudo, também encontraram maior atividade da catalase hepática em um local onde o desafio oxidativo apresentava-se mais elevado. Entretanto, nos testes realizados em jan/2018, observamos que a atividade da CAT foi significativamente menor nos peixes expostos à água coletada nos pontos da fazenda Campo Limpo (P3), quando comparado com o CTR.

As enzimas antioxidantes tendem a responder de maneira diferente a substâncias químicas e compostos. Portanto, a atividade de uma enzima antioxidante individual não pode servir como um marcador de dano oxidativo. Como resultado, vários valores antioxidantes são frequentemente medidos em conjunto para indicar a capacidade total de eliminação EROs (OGUNJI et al., 2007). A menor atividade da enzima catalase também pode indicar alguma interferência no processo de defesa antioxidante dos animais. Jonsson e Aoyama (2010) salientaram que inibição da atividade enzimática pode ocorrer em virtude de um processo metabólico competitivo, onde enzima e xenobiótico disputam por um substrato específico. Como a interação enzima substrato diminui, tende igualmente a diminuir o processo catalítico, e conseqüentemente há diminuição na atividade da enzima. Dessa forma, a menor atividade da CAT nos animais expostos à água do ponto da fazenda Campo Limpo pode estar relacionada à presença de xenobióticos na água, principalmente agrotóxicos. Segundo Wilkens, Valgas e Oliveira (2019), a exposição aos herbicidas sulfentrazone e glifosato diminuiu a atividade da CAT no fígado de rãs (*Rana catesbeiana*). Em bagres [*Clarias batrachus* (LINNAEUS 1758)] expostos ao herbicida pendimethalin, a redução da CAT hepática ocorreu após 45 e 60 dias de exposição (GUPTA; VERMA, 2020).

Conclusão

Com as ferramentas utilizadas em nosso trabalho, podemos concluir que a atividade das enzimas GST e CAT de tilápias (*O. niloticus*) podem ser ferramentas úteis para identificação da contaminação aquática do rio Chapadinha. Entretanto, como em todos os pontos amostrados do rio foram observadas alterações significativas nas respostas dos biomarcadores avaliados, não foi possível obter uma resposta padronizada para se identificar o nível de contaminação

entre os locais. Cabe salientar que em todos os locais de coleta de água foram identificados pontos difusos de contaminação, o que pode ter influenciado na resposta dos biomarcadores avaliados.

Referências

AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Methods in Enzymology**. v. 105, p. 121-126, 1984.

AZEVEDO, J. S. et al. Biochemical changes in the liver and gill of *Cathorops spixii* collected seasonally in two Brazilian estuaries under varying influences of anthropogenic activities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 96, p. 220-230, 2013.

BENAVIDES, M. et al. Single and combined effects of aluminum (Al_2O_3) and zinc (ZnO) oxide nanoparticles in a freshwater fish, *Carassius auratus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 24, p. 24578-24591, 2016.

BRITO, I. A. et al. Monitoring water quality in reservoirs for human supply through multi-biomarker evaluation in tropical fish. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, n. 2, p. 615-625, 2012.

BÜCKER, A.; da CONCEIÇÃO, M. B. Genotoxicity evaluation of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to waters from two sites of Itajaí-Açu River (SC, Brazil). **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, p. 51-56, 2012.

CABANELAS, I. T. D.; MOREIRA, L. M. A. Danos citogenotóxicos em ecossistema aquático submetido a esgotamento sanitário urbano. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 7, n. 2, p. 31-35, 2012.

COGO, A. J. D. et al. Utilização de enzimas de estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais. **Revista Natureza online**, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução nº430 de 13 de maio de 2011. Disponível em: <<http://www.>

mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646> Acesso em: 25 fev. 2018.

CONSELHO ESTADUAL DE RECURSOS HÍDRICOS (CONERH). Resolução nº 79 de 18 de novembro de 2010. Disponível em: <<http://www.seia.ba.gov.br/legislacao-ambiental/resolucoes/resolu-o-conerh-n-79>>. Acesso em: 16 de jun. de 2020.

FRANCO, J. L. et al. Biochemical alterations in caged Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 5, p. 864-872, 2010.

GUPTA, P.; VERMA, S.K. Evaluation of genotoxicity induced by herbicide pendimethalin in fresh water fish *Clarias batrachus* (Linn.) and possible role of oxidative stress in induced DNA damage. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 9, p. 1-10, 2020.

HAMMER, O.; HARPER, D.A. T.; RYAN, P. D. Paleontological statistics software: package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, p. 1-9, 2001.

JONSSON, C. M.; AOYAMA, H. Alteração da atividade enzimática em organismos aquáticos por poluentes de origem agrícola: uma abordagem geral e sobre a suscetibilidade da fosfatase ácida. **Química Nova**, v. 3, n. 4, p. 920-928, 2010.

KEEN, J. H.; HABIG, W. H.; JAKOBY, W. B. Mechanism for the several activities of the glutathione S-transferases. **Journal of Biological Chemistry**, v. 251, n. 20, p. 6183-6188, 1976.

KHATRI, N.; TYAGI, S. Influences of natural and anthropogenic factors on surface and groundwater quality in rural and urban areas. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 1, p. 23-39, 2015.

OGUNJI, J. O. et al. Evaluation of the influence of housefly maggot meal (magmeal) diets on catalase, glutathione S-transferase and glycogen concentration in the liver of *Oreochromis niloticus* fingerling. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 147, n. 4, p. 942-947, 2007.

OMAR, W. A. et al. Risk assessment and toxic effects of metal pollution in two cultured and wild fish species from highly degraded aquatic habitats. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 65, n. 4, p. 753-764, 2013.

PANDEY, S. et al. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish *Wallago attu* (Bl. & Schn.). **Science of the Total Environment**, v. 309, n. 1(3), p. 105-115, 2003.

PARMAR, T. K.; RAWTANI, D.; AGRAWAL, Y. K. Bioindicators: the natural indicator of environmental pollution. **Frontiers in Life Science**, v. 9, n. 2, p. 110-118, 2016.

SANTOS, M. C. D.; GÓIS, D. V. Urbanização e riscos ambientais no recôncavo Baiano: Um estudo do baixo e médio curso do rio da Dona. **Territorium**, v. 11, p. 15-20, 2004.

WALKER, C. H. Biochemical biomarkers in ecotoxicology: some recent developments. **Science of the Total Environment**, v. 171, n. 1-3, p. 189-195, 1995.

WILHELM FILHO, D.; TORRES, M. A.; TRIBESS, T. B.; PEDROSA, R. C.; SOARES, C. H. L. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 6, p. 19-726, 2001.

WILKENS, A. L. L.; VALGAS, A. A. N.; OLIVEIRA, G. T. Effects of ecologically relevant concentrations of Boral® 500 SC, Glifosato® Biocarb, and a blend of both herbicides on markers of metabolism, stress, and nutritional condition factors in bullfrog tadpoles. **Environmental Science Pollution Research**, v. 26, p. 23242-23256, 2019.

Fisionomias de bosques de mangue

Ivoneia de Sousa Oliveira

Pedro Rege Moura da Conceição

Camila de Jesus Luz

Alessandra Nasser Caiafa

Guilherme de Oliveira

O manguezal é um ecossistema tropical que ocupa praticamente todo o litoral do Brasil, do Oiapoque (04°30'N) no Amapá até Laguna (28°30'S) em Santa Catarina. Possui uma cobertura vegetal muito peculiar com a capacidade de colonizar depósitos de sedimentos em forma de vasas lamosas argilosas, ou arenosas (MENGHINI, 2008; SHAEFFER-NOVELLI et al., 2012).

Manguezal é um termo designado para um ecossistema costeiro que apresenta espécies vegetais e animais adaptadas as certas características únicas como: salinidade, alto aporte de matéria orgânica e condições anóxicas (PRADO-GAMERO et al., 2004 e MENGHINI, 2008). O mangue, por sua vez, é dito como o conjunto de espécies arbóreas do manguezal e caracteriza-se por apresentar uma diversidade e riqueza de espécies relativamente baixas (TOMLINSON, 1986).

O ecossistema de manguezal é único e possui um alto valor ecológico que propicia diversos bens e serviços ecossistêmicos para os seres humanos (MENGHINI, 2008). Porém, o manguezal vem sofrendo intensa pressão pelo aumento da população humana na região costeira, com suas atividades antrópicas que agem como um tensor. Dentre as principais atividades antrópicas estão o desmatamento, o aterro para expansão urbana, industrial e a criação de portos, o lançamento de dejetos sem um devido

tratamento, extração de madeira e de sua fauna, resultando na sua descaracterização fisionômica e estrutural (KRUG et al., 2007).

Vale destacar que um tensor é qualquer ação ou influência que desacelere o funcionamento ou desenvolvimento de unidades biológicas. Esta influência pode ser de origem natural, ou, em sua maioria, por ação antrópica, causando um impacto negativo nos ecossistemas. Caso o efeito desses tensores seja contínuo, isso impedirá o bom funcionamento, resultando em um maior gasto energético para conservar e restabelecer essas regiões (MENGHINI, 2008, SILVA et al., 2004).

Os manguezais estão sujeitos a diferentes tipos de tensores que influenciam no desenvolvimento estrutural de suas florestas (MENGHINI, 2008; MARTINS et al., 2011), podendo ocasionar dominância de uma única espécie, fenômeno conhecido como monodominância. Além disso, a baixa estatura dos indivíduos vegetais também é uma das características de áreas degradadas.

Uma forma de avaliação do efeito dos tensores antrópicos, pode se dar por meio da avaliação fisionômica dos bosques de mangue. Essa avaliação é conceituada como a expressão geral da vegetação, resultante do predomínio de certas formas de plantas como ervas, arbustos, árvores, entre outras, que se apresentam em diferentes estratos (CAIN e CASTRO 1959 apud MORO e MARTINS, 2011). A comparação visual entre a fisionomia de áreas distintas permite uma avaliação da estrutura de cada trecho comparado, tornado a descrição da mesma mais informativa quanto a características e diferenças da vegetação estudada (RICHARDS, 1996 apud MORO; MARTINS, 2011).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a estrutura fisionômica de duas áreas de bosques de mangue na RESEX Marinha Baía do Iguape, submetidas a graus diferentes de tensores antrópicos. Dessa forma, de maneira prática, comparamos por meio da descrição fisionômica, uma área com alto nível de atividades antrópicas com

outra área com menor nível dessas atividades (maiores detalhes na próxima seção).

Material e métodos

Localizado no município de Maragogipe, o complexo Lagunar Baía do Iguape encontra-se no extremo oeste da Baía de Todos os Santos e ocupa uma área de 76,1 km² e é abastecido pelo Rio Paraguaçu no seu baixo curso (FERNANDO, 2006). A área de manguezal localizada dentro da Baía do Iguape compreende 28 km². Essa região é protegida pela Reserva Extrativista Marinha Baía do Iguape (RESEX) que tem como objetivo garantir a exploração autossustentável e a conservação dos recursos naturais renováveis tradicionalmente utilizados pela população extrativista da área (BRASIL, 2000).

Os bosques de mangue estudados são de duas áreas: a área I e a área II que estão localizadas no setor sul do Complexo Lagunar da Baía do Iguape (Figura 1). A composição florística dos bosques consiste nas espécies *Rhizophora mangle* L. (Mangue vermelho), *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaertn. (Mangue branco), *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. ex Moldenke (Mangue preto) e *Conocarpus erectus* L. (Mangue de botão, apenas na área 2). O mangue de botão é associado a regiões mais próximas das regiões transicionais com a Floresta Atlântica (CAIAFA et al., 2015).

A área I tem relação direta com perímetro urbano e por isso sofre forte interferência antrópica como: esgotamento despejado a céu aberto, acúmulo de lixo e resíduos das conchas das marisqueiras, além da retirada de madeira para a construção de residências e lenha. Encontra-se nas proximidades da Avenida ACM, município de Maragogipe. Essa área apresenta 0,5 ha de área restaurada, iniciada em abril de 2004 no âmbito do Projeto Viva o Mangue, também executado pela Fundação Vovó do Mangue (CAIAFA et al., 2015).

A segunda área de estudo situa-se na Ponta do Ferreiro dentro dos limites do Quilombo de Salamina Putumuju. Por estar localizado distante de locais urbanos e de difícil acesso, não apresenta sinais visíveis de degradação e exploração, portanto é classificada como menos antropizada.

Figura 1 - Localização das áreas amostrais no Setor Sul do Complexo Lagunar Baía do Iguape, Maragogipe – Bahia.



Fonte: Caiafa et al., (2015).

Foi utilizada a metodologia proposta por Richards (1996 Apud Moro; Martins 2011) para a confecção dos diagramas de perfil para ilustrar a fisionomia da vegetação. Em cada área foi definido um transecto de 50 m x 2 m para que fossem amostradas todas as espécies lenhosas com distância de 1m para cada lado do transecto (MORO e MARTINS, 2011). Os esboços dos diagramas de perfil foram elaborados em papel milimétrico e desenho final em papel vegetal.

Todos os indivíduos foram identificados taxonomicamente e tiveram medidos a altura total e o perímetro à altura de 1,3 m do sedimento (PAP) de todos os troncos, no caso de indivíduos perfilhados. A altura total foi mensurada por indivíduo, tomando como base a copa mais alta no caso de indivíduos perfilhados/bifurcados.

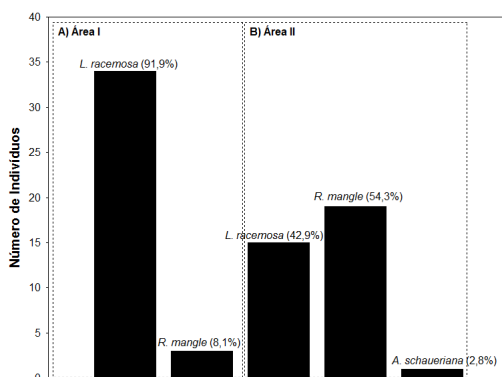
Os indivíduos menores que 1,3m, o PAP foi substituído pelo perímetro do tronco abaixo da primeira ramificação. Na espécie *R. mangle*, o perímetro foi tomado acima da saída do último rizóforo. As medidas fisionômicas seguiram o protocolo de Schaeffer-Novelli et al. (2015).

Os perímetros dos troncos/indivíduos foram transformados em diâmetro utilizando a fórmula: $D = P/\pi$. Em seguida, foram calculadas as seguintes variáveis por área: número total de indivíduos, percentual de abundância por espécie, média e desvio padrão da altura total, do número de tronco por indivíduo e do diâmetro dos troncos.

Resultados e discussão

Na área I, mais antropizada, foi possível perceber que o local de alocação do transecto apresenta um evidente impacto antrópico com grande quantidade de lixo, esgotamento a céu aberto e deposição de resíduos da atividade das marisqueiras com já relatado por Caiafa et al. (2015). Foram amostrados 37 indivíduos pertencentes a duas espécies: *Laguncularia racemosa* (Mangue branco) e *Rhizophora mangle* (Mangue vermelho). Foi notório o predomínio de *L. racemosa* (Figura 2A), em termos de número de indivíduos.

Figura 2 - Número e porcentagem de indivíduos por espécie na área I (A) e na área II (B), no Setor Sul do Complexo Lagunar Baía do Iguape, Maragogipe, Bahia.



Fonte: Autores (2019).

O diagrama de perfil da área I (Figura 3) evidencia a ausência de indivíduos do porte de plântulas e com menor espaçamento entre as árvores. Além disso, não existe evidência de diferença entre as duas espécies para a altura, número de troncos e diâmetro (Tabela 1A).

Tabela 1 - Variáveis estruturais aferidas da Área I (A), Avenida ACM e na Área II (B) Ponta do Ferreiro, no Setor Sul Complexo Lagunar Baía do Iguape, Maragogipe, Bahia. Os valores estão apresentados em média e em desvio padrão ($\pm$).

Área	Espécie	Altura (m)	totalNº de troncos (por ind.)	Diâmetro (cm)
A) Área I	<i>L. racemosa</i>	3,17 $\pm$ 1,43	1,53 $\pm$ 0,82	3,92 $\pm$ 2,19
	<i>R. mangle</i>	3,50 $\pm$ 3,47	2,00 $\pm$ 1,73	3,82 $\pm$ 2,81
	Geral	3,30 $\pm$ 1,60	1,57 $\pm$ 0,90	3,92 $\pm$ 2,24
B) Área II	<i>L. racemosa</i>	3,79 $\pm$ 1,58	2,02 $\pm$ 1,01	3,27 $\pm$ 2,63
	<i>R. mangle</i>	2,48 $\pm$ 3,68	1,10 $\pm$ 0,31	1,96 $\pm$ 2,31
	<i>A. schaueriana</i>	1,7*	1*	1,59*
	Geral	3,02 $\pm$ 2,94	1,57 $\pm$ 0,88	2,74 $\pm$ 2,55

* Único indivíduo Fonte: Autores (2019).

Figura 3 – Diagrama de perfil ilustrando a vegetação de mangue presente na Avenida ACM, Maragogipe, Bahia.



Fonte: Autores (2019).

Na área II, mais conservada, em comparação com a área I, não foram verificadas evidências claras da intervenção humana, apenas um canal de maré, utilizado de passagem pelas canoas dos pescadores residentes. Por essa razão, essa região se diferencia do bosque de mangue da área I no que diz respeito ao sedimento do manguezal mais escuro, mais pegajoso e com menos mau cheiro relacionados aos dejetos de esgoto. Foram amostrados 35 indivíduos das espécies *L. racemosa*, *R. mangle* e *A. schaueriana* (Mangue preto/Siriúba), representada esta última espécie por um único indivíduo (Figura 2B). Ainda com relação a contribuição percentual de cada espécie no total de indivíduos, há uma equidade entre *R. mangle* e *L. racemosa* (Figura 2B).

Afisionomia do bosque de mangue da área II (Figura 4) apresenta árvores com alturas mais variáveis e maior espaçamento entre os indivíduos (comparação entre a Figura 3 e a Figura 4). Há também um incremento de indivíduos ao sistema na forma de plântulas. Como visto na área I as espécies *L. racemosa* e *R. mangle* não diferem em termos de altura, número de troncos e diâmetro (Tabela 1B). Porém, a área II possui uma terceira espécie, a *A. schaueriana* (Tabela 1B).

Martins et al. (2011), utilizando uma metodologia similar de amostragem de perfil estrutural, avaliaram bosques de mangue, em Ilhéus-BA, no qual os resultados se assemelham ao presente estudo, pela alta densidade de indivíduos pouco desenvolvidos, em áreas sob efeito de tensores antrópicos. Porém, o estudo citado anteriormente, se diferencia na prevalência das espécies, pois, das quatro seções amostradas, três encontram a dominância do gênero *Rhizophora*. Smith III (1992), afirma que em bosques sujeitos a ação de tensores de origem antrópica há a ocorrência de menor representatividade de indivíduos do gênero *Rhizophora*, em comparação a *Laguncularia*, situação similar ao que encontramos no presente estudo.

Figura 4 – Diagrama de perfil ilustrando a vegetação de mangue da área II, na Ponta do Ferreiro, Maragogipe, Bahia.



Fonte: Autores.

Diversos autores encontraram valores reduzidos para altura e diâmetro em vegetação de mangue sob a ação de tensores antrópicos (SOUSA e SAMPAIO 2001; SOARES et al., 2003; BARBOSA, 2010; MARTINS et al., 2011). Essa redução está relacionada à drenagem da energia do sistema ocasionada pela ação antrópica, reduzindo assim a força estrutural do manguezal. Em compensação, acréscimos nos valores de altura e diâmetro dos indivíduos foram encontrados para florestas mais preservadas por Deus et al. (2003), na Parnaíba (PI), por Paraguassu e Silva (2007) em Porto de Sauípe (BA), por Pereira et al. (2009) no Anchieta (ES) e por Kilka et al. (2010) no manguezal do Rio Piauí (SE).

As diferenças estruturais entre as duas áreas estão na tendência a monodominância na área I de *L. racemosa* e no indicativo de estabelecimento de indivíduos regenerantes de *R.*

mangle na área II. Esse resultado foi evidenciado pelas variações das medidas dos indivíduos, medidas pelos desvios padrão, serem maiores que a média, tanto para altura quanto para diâmetro da referida espécie. Provavelmente, a causa dessa diferença entre as espécies em relação às áreas estudadas, que resulta no fenômeno da monodominância, seja devido a deposição de esgoto e resíduos sólidos sem o devido tratamento. Esse fator resulta na elevação da concentração de matéria orgânica, fazendo com que tenha uma diminuição ou ausência de oxigênio em zonas dentro do mangue. Dessa forma, há a obstrução de estruturas importantes, como lenticelas e pneumatóforos de *A. schaueriana* e *R. mangle*, podendo levar o indivíduo a morte (GUBITOSO et al., 2008).

É importante ressaltar que bosques de mangue monoespecíficos já foram reportados na literatura (BERNINI e REZENDE, 2004; PARAGUASSU e SILVA 2007; ZAMPROGNO et. Al., 2016) como parte do processo de sucessão ecológica da comunidade. Esses fatores provavelmente não se aplicam ao caso da área I, uma vez que fica evidente que nossos resultados representam um bosque onde a sucessão ecológica encontra-se estagnada.

Conclusão

A área II está em um melhor estado de conservação quando comparada com a área I, e constitui uma comunidade de mangue jovem, porém em vias de maturação. Já a área I, com bosques submetidos a fortes tensores antrópicos, encontra-se estagnado sem perspectivas de progresso de sucessão da comunidade arbórea e a ação de restauração efetuada parece não ter sido efetiva para iniciar o processo natural de restabelecimento da vegetação. Sendo assim, fica evidente que os tensores antrópicos ligados a atividades presentes na Baía do Iguape (i.e., esgotamento despejado a céu aberto, acúmulo de lixo e retirada de madeira para a construção de

residências e lenha) influenciam negativamente na manutenção e restauração dos bosques de mangue da região.

Referências

BARBOSA, F. G. **Estrutura e Análise espaço-temporal da vegetação do manguezal de Pina-PE. Subsídios para manejo e monitoramento e conservação.** 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

BERNINI, E.; REZENDE, C. E. Estrutura da vegetação em florestas de mangue do estuário do rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n.3, p. 491-502, 2004.

BRASIL. **Decreto de 11 de agosto de 2000:** Cria a Reserva Extrativista Marinha da Bahia do Iguapé, nos municípios de Maragogipe e Cachoeira, Estado da Bahia, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, 2000. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/dnn/2000/dnn8999.htm. Acesso em: 14 jul. 2019.

CAIAFA, A. N. et al. **Conhecendo os Bosques de Mangue.** In: Projeto CO₂ Manguezal- Conhecendo os Manguezais de Maragogipe, Bahia. P. 28, 2015.

DEUS, M. S. M. et al. Estrutura de vegetação lenhosa de três áreas de manguezal do Piauí com diferentes históricos de distúrbio. **Brasil Florestal**, v.78. p. 53-60, 2003.

FERNANDO, G. **Avaliação dos efeitos da barragem de Pedra do Cavalo sobre a circulação estuarina do Rio Paraguaçu e Baía do Iguape (BA).** 2006. 266 f. Tese (Doutorado em Geologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

GUBITOSO, S. et al. Estudo geoambiental da região circunjacente ao emissário submarino de esgoto de Araçá, São Sebastião – SP. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 38, n.3, p. 467-475, 2008.

KILKA, R. V. et al. Estrutura de manguezais em diferentes estágios sucessionais no Estuário do Rio Piauí, Sergipe- Brasil. **Pesquisa**

Botânica, São Leopoldo: Instituto Anchietano de Pesquisas, n. 61, p. 171-189, 2010.

KRUG, L. A.; LEÃO, C.; AMARAL, S. Dinâmica espaço-temporal de manguezais no Complexo Estuarino de Paranaguá e relação entre decréscimo de áreas de manguezal e dados sócio-econômicos da região urbana do município de Paranaguá – Paraná. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13., 2007, Florianópolis, SC. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. P. 2753-2760.

MARTINS, P. T. A.; COUTO, E. C. G.; DELABIE, J. H. C. Fitossociologia e estrutura vegetal do manguezal do Rio Cururupe (Ilhéus, Bahia, Brasil). **Gestão Costeira Integrada**, v. 11, n. 2, p. 163-169, 2011.

MENGHINI, R. P. **Dinâmica da recomposição natural em bosques de mangue impactados:** Ilha Barnabé (Baixada Santista), São Paulo, Brasil. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

MORO, M. F.; MARNTIS, F. R. Métodos de Levantamento do componente Arbóreo-Arbustivo. In: FELFILI, J.M. et al. (Orgs.). **Fitossociologia no Brasil:** métodos e estudos de caso. Viçosa: Editora UFV, 2011. P. 174-212.

PARAGUASSU, L. A. A.; SILVA, M. N. Caracterização fitossociológica do manguezal do Porto de Sauípe, Entre Rios, Bahia. **Diálogos & Ciência**, v. 5, n. 12, p. 1-12, 2007.

PEREIRA, F. V. et al. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, v. 22, p. 01-08, 2009.

PRADA-GAMERO, R. M.; VIDAL-TORRADO, P.; FERREIRA, T. O. Mineralogia e Físico-Química dos solos de Mangue do Rio Iriri no Canal de Bertioga (Santos, SP). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 2, p. 233-243, 2004.

SHAEFFER-NOVELLI, Y. et al. Alguns impactos do PL 30/2011 sobre os manguezais brasileiros. In: SOUZA, G.; JUCÁ, K.; WATHELY, M. (Orgs.). **Código Florestal e a Ciência:** o que nossos legisladores ainda precisam saber. Brasília: Comitê Brasil. 2012. P. 18-27.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y.; VALE, C. C.; CINTRÓN, G. Monitoramento do ecossistema manguezal: estrutura e características funcionais. In: TURRA, A.; DENADAI, M. R. (Orgs.). **Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros – Rede de Monitoramento de Habitat Bentônicos Costeiros – ReBentos**. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 2015. P. 62-80.

SILVA, E. M. et al. Characterization of the mangrove plant community and associated sediment of Todos os Santos Bay, Bahia, Brazil. *Aquatic. Ecosystem & Health Management*, v. 5, n. 2, p. 217-229, 2002.

SMITH III, T. J. Forest Structure. In: ROBERTSON, A. I.; ALONGI, D. M. (Eds.). **Coastal and estuarine studies, tropical mangrove ecosystems**. American Geophysical Union Washington. V. 41, p. 329, 1992.

SOARES, M. L. G. et al. Diversidade Estrutural de Bosque e sua relação com Distúrbios de Origem Antrópica: o Caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). **Anuário do Instituto de Geociência-UFRJ**, v. 26, p. 101-116, 2003.

SOUZA, M. M. de A.; SAMPAIO, E. V. S. B. Variação temporal da estrutura dos bosques de mangue de Suape-PE após a construção do porto. **Acta Botanica Brasilica**, v. 15 n. 1, p. 1-12, 2001.

TOMLINSON, P. B. **The botany of mangroves**. New York: Cambridge University Press, 1986. 413 p.

ZAMPROGNO, G. C. et al. The structural heterogeneity of an cossiste mangrove forest area in southeastern Brazil: Influence of environmental factors and anthropogenic stressors. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 64, n.2, p. 157-172, 2016.

Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores ambientais

*Adreani Araujo da Conceição
Sergio Schwarz da Rocha*

A biota de um corpo d'água reflete as condições do ambiente, fornecendo um diagnóstico das características ambientais do ecossistema, uma vez que quaisquer mínimas alterações influenciam na composição e estrutura da comunidade (AGOSTINHO; THOMAZ, GOMES, 2005). Atualmente, inúmeras atividades antrópicas decorrentes do crescimento urbano (desmatamento, lançamento de efluentes domésticos e industriais não tratados) têm contribuído para uma expressiva redução da biodiversidade nos ecossistemas aquáticos brasileiros (AGOSTINHO; THOMAZ, GOMES, 2005). Por este motivo, a avaliação da integridade ecológica tornou-se um assunto de fundamental importância para a manutenção deste recurso em todo o mundo (BAGATINI; DELARIVA; HIGUTI, 2012), fornecendo subsídios para criação de estratégias de conservação e recuperação desses ecossistemas (MAROTTA; SANTOS; ENRICH-PRAST, 2008).

A comunidade de invertebrados bentônicos tem sido frequentemente utilizada em diversos estudos relacionados à avaliação da integridade do ambiente mediante impactos (CORGOSINHO et al., 2004; BARBOLA et al., 2011). Os indivíduos que constituem essa comunidade apresentam diferentes graus de tolerância às perturbações ambientais, o que favorece sua utilização como bioindicadores (GONÇALVES; MENEZES, 2011). Além da sua função bioindicadora, esses organismos participam de diversos processos ecológicos, atuando na ciclagem de nutrientes (MOREYRA;

PADOVESI-FONSECA, 2015), degradação de detritos (OLIVEIRA; CALLISTO, 2010) e compõem a dieta de outros invertebrados e vertebrados (COPATTI; SCHIRMER; MACHADO, 2010).

A avaliação da integridade ecológica dos ecossistemas aquáticos utilizando as respostas biológicas é um método mais vantajoso quando comparados com outros métodos que utilizam as variáveis abióticas (e.g. medidas físicas, químicas e bacteriológicas) (DOCILE; FIGUEIRÓ, 2013). Estas últimas registram apenas a situação no momento da coleta, necessitando assim de mais repetições de análises para a realização de um monitoramento temporal eficiente (REMOR et al., 2014).

No final da década de 1960 alguns países da Europa começaram a utilizar índices bióticos que utilizavam macroinvertebrados bentônicos como organismos bioindicadores na avaliação da qualidade ambiental (DOCILE; FIGUEIRÓ, 2013). Esses índices consistiam em atribuir um valor numérico a um determinado táxon de acordo com a sua tolerância às perturbações ambientais (BUSS; BAPTISTA; NESSIMIAN, 2003).

No Brasil, o índice biológico mais amplamente utilizado no biomonitoramento dos ecossistemas aquáticos é o Biological Monitoring Working Party System (BMWP'). O BMWP' foi desenvolvido pelo Departamento Britânico de Meio Ambiente, em 1976 (BAPTISTA, 2008) e adaptado para diversas regiões no mundo (ALBA-TERCEDOR et al., 2002; MUSTOW, 2002; SEDEÑO-DÍAZ; KOHLMAN; LÓPEZ-LÓPEZ, 2012), incluindo o Brasil (IAP, 2007; MONTEIRO; OLIVEIRA; GODOY, 2008). Sua ampla utilização é atribuída à facilidade e baixo custo da amostragem e ao fato dele exigir uma identificação dos organismos somente ao nível de família, sendo, portanto, mais indicado para a avaliação dos ecossistemas brasileiros devido à escassez de chaves taxonômicas e taxonomistas específicos para alguns grupos de organismos (CORGOSINHO et al.,

2004). Este índice tem sido constantemente utilizado na avaliação de ambientes lênticos (BARBOLA et al., 2011; TANIWAKI; SMITH, 2011; OBOLEWSKI; GLINSKA-LEWCZUK; STRZELCZAK, 2014; ROMERO et al., 2017; KUMARI; MAITI, 2020), bacias (COPATTI; SCHIRMER; MACHADO, 2010; REMOR et al., 2014) e rios (IAP, 2007; MONTEIRO; OLIVEIRA; GODOY, 2008; SANTOS et al., 2018) brasileiros.

O índice BMWP', independentemente de qualquer adaptação regional, é baseado no somatório dos táxons em nível de família, no qual cada organismo apresenta uma pontuação relacionada ao seu grau de tolerância aos poluentes orgânicos, sendo assim, um índice qualitativo por avaliar a presença ou ausência de táxons na biota aquática (CAIRNS JR.; PRATT, 1993).

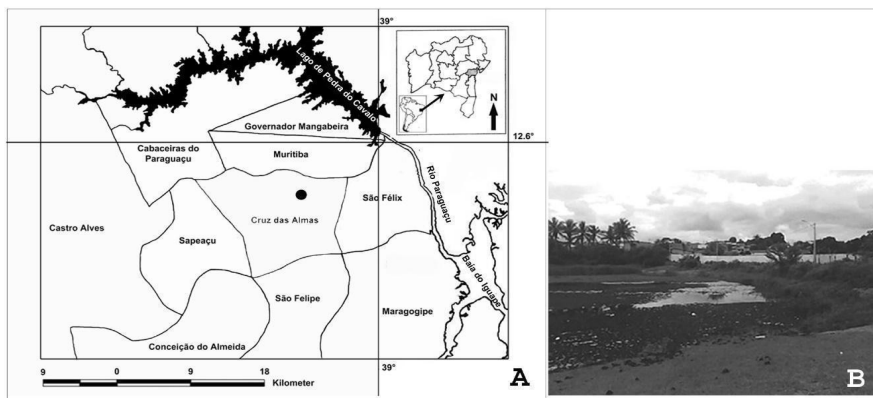
Estudos utilizando a comunidade de macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da integridade ecológica têm se mostrado como uma importante ferramenta, fornecendo relevantes informações acerca da qualidade ambiental de diversos ecossistemas aquáticos. Entretanto, estudos desta natureza ainda são escassos nos ecossistemas dulcícolas do Recôncavo Baiano, que vem sendo explorado de maneira predatória há muitos anos e com contínuo e intenso processo de poluição e degradação.

Portanto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a comunidade de macroinvertebrados de um açude urbano no município de Cruz das Almas para determinar a qualidade de sua água, utilizando índices bióticos baseados em macroinvertebrados (BMWP' e ASPT) e índices ecológicos.

Material e métodos

O presente estudo foi realizado no açude artificial Laranjeiras (12°39'59,54"S; 039°07'12,06"W), localizado na zona urbana do município de Cruz das Almas, da Bahia (Figura 1).

Figura 1 – A, Mapa da região do Recôncavo da Bahia, com destaque para o município de Cruz das Almas (ponto preto); B, açude Laranjeiras, município de Cruz das Almas, Bahia.



Fonte: Autores (2018).

A partir da análise de uma série histórica (30 anos) de dados climatológicos, obtidos no site (<http://www.climatempo.com.br/climatologia/901/cruzasalmas-ba>) foram definidas duas estações climáticas para a área de estudo: 1) estação chuvosa com precipitação superior a 85 mm, abrangendo os meses de março a julho; 2) estação seca com precipitação inferior a 85 mm, compreendendo os meses de agosto a fevereiro.

A coleta da macrofauna bentônica foi realizada mensalmente, de outubro de 2012 a setembro de 2013, utilizando-se uma rede “D” (malha de 500 μ m), passada rente ao sedimento e em movimentos ascendentes entre a vegetação marginal e macrófitas submersas. O esforço amostral foi realizado por um coletor, percorrendo a margem dos açudes durante cinco minutos, seguindo o proposto por Cortes et al. (2002). Todo material coletado foi fixado em solução de álcool a 70% contendo corante rosa de bengala (0,05%). Em seguida, o material foi triado sob microscópio estereoscópico e os espécimes

identificados até o menor nível taxonômico possível com base em bibliografia específica (ver MELO, 2003; COSTA; IDE; SIMONKA, 2006; FROEHLICH, 2007; MUGNAI; NESSIMINI; BAPTISTA, 2010). Todo o material identificado foi depositado na Coleção de Invertebrados do Museu de Zoologia e Paleontologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (MURB).

Os parâmetros riqueza taxonômica, abundância e diversidade de Shannon-Wiener foram calculados utilizando-se o programa de computador PAST versão 3.0 (HAMMER, HARPER, RYAN, 2001). Devido à impossibilidade de identificação dos morfotipos dos indivíduos no estágio de pupa, estes não foram incluídos nos cálculos das métricas de diversidade.

Para a avaliação da qualidade da água no açude Laranjeiras foi utilizado o índice biológico BMWP' (Biological Monitoring Work Party System), o qual atribui a cada família identificada uma pontuação que varia de 1 a 10 de acordo com o seu grau de sensibilidade aos níveis de poluição do ambiente; famílias sensíveis recebem pontuações elevadas enquanto famílias tolerantes recebem pontuações baixas (IAP, 2007). Para as famílias amostradas no açude Laranjeiras foram atribuídas as pontuações estabelecidas nos trabalhos de Monteiro; Oliveira; Godoy (2008) e Santos et al. (2018). O somatório das pontuações de todas as famílias amostradas correspondeu a uma das cinco classes de qualidade da água estabelecidas pelo referido índice (ver IAP, 2007).

Por fim, o ASPT (Average Score Per Taxon) foi obtido dividindo a pontuação BMWP' pelo número de famílias utilizadas no referido índice (ARMITAGE et al., 1983). Uma pontuação elevada do ASPT é um indicativo de local limpo contendo uma alta diversidade taxonômica (ARMITAGE et al., 1983).

Resultados e discussão

Ao todo foram coletados 3.822 espécimes, sendo a riqueza da macrofauna representada por 48 táxons distribuídos entre os seguintes filos (valores em porcentagens referem-se à abundância relativa): Arthropoda ($n = 3.238$; 84,7%), Mollusca ($n = 520$; 13,6%) e Annelida ($n = 64$; 1,7%). Durante a estação seca foram amostrados 2.043 organismos pertencentes a 27 famílias incluídas em sete ordens. Já na estação chuvosa foram coletados 1.779 organismos pertencentes a 27 famílias, distribuídas em oito ordens (Tabela 1).

Considerando as duas estações, os representantes das Ordens Diptera (Chironomidae), Decapoda (Palaemonidae) e Gastrophoda (Thiaridae) foram coletados durante todo o período estudado. Os representantes das ordens Coleoptera (Curculionidae), Ephemeroptera (Caenidae), Trichoptera (Hydroptilidae) e Hemiptera (corixidade) foram amostrados somente na estação seca, enquanto os representantes das Ordens Odonata (Aeshinidae) e Diptera (Tabanidae) foram exclusivos da estação chuvosa. Hemiptera foi a ordem que apresentou maior riqueza nas duas estações e Diptera (Ceratopogonidae, Chironomidae, Culicidae e Tabanidae) foi a mais abundante.

A máxima riqueza taxonômica (42 táxons) foi registrada durante a estação seca, quando também se observou a maior abundância ($n = 2.012$). Por outro lado, os menores valores de riqueza (34 táxons) e abundância ($n = 1.710$) foram registrados na estação chuvosa.

Diversos táxons amostrados no açude Laranjeiras (por exemplo, Hydrophylidae, Dytiscidae, Curculionidae, Libellulidae, Belostomatidae, Chironomidae, Palaemonidae, Thiaridea, Planorbidae, Ceratopogonidae, Tabanidae, Annelida e Mollusca) também foram encontrados em açudes e outros ambientes similares compondo a fauna bentônica em diversas regiões brasileiras (SOUZA;

ABÍLIO, 2006; SOUZA; ABÍLIO; RIBEIRO, 2008; MONTEIRO; OLIVEIRA; GODOY, 2008).

A análise da composição taxonômica da comunidade de macroinvertebrados também evidenciou uma baixa representatividade de indivíduos pertencentes às ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (EPT) que recebem a maior pontuação no índice BMWP', pois são considerados sensíveis à poluição e às alterações do habitat (HEPP; RESTELLO, 2007). Apenas três indivíduos de uma família classificada como sensível (ver tabela 1 em SANTOS et al., 2018), pertencente à ordem Ephemeroptera (Leptophlebiidae) foi amostrada. Além disso, famílias de Trichoptera (Hydroptilidae) e Ephemeroptera (Baetidae e Caenidae) consideradas tolerantes (ver tabela 1 em SANTOS et al., 2018) também foram amostradas em baixa frequência e abundância (Tabela 1). Neste contexto, cabe ressaltar que apenas algumas poucas famílias de EPT são conhecidas por habitar ambientes lênticos, as quais são geralmente mais tolerantes (BRITAIN, 1990; NOGUEIRA; CABETTE; JUAN, 2011).

Tabela 1 – Abundância absoluta e relativa (%) da comunidade de macroinvertebrados do Açude Laranjeiras durante as estações seca e chuvosa.

Táxons		Estação	
		Seca n (%)	Chuvosa n (%)
FILO ANNELIDA	Classe Hirudinea	35 (1,71)	10 (0,56)
FILO ARTROPHODA	Classe Oligochaeta	10 (0,49)	9 (0,51)
ORDEM COLEOPTERA	Família Curculionidae	1 (0,05)	
	Família Dytiscidae	12 (0,59)	9 (0,51)
	Família Dytiscidae (larva m1)	9 (0,44)	15 (0,84)
	Família Dytiscidae (larva m2)	2 (0,10)	2 (0,11)
	Família Haplidae	2 (0,10)	1 (0,06)
	Família Hydrophilidae	1 (0,05)	14 (0,79)
	Família Hydrophilidae (larva m1)		2 (0,11)
	Família Noteridae	19 (0,93)	20 (1,12)
	Família Noteridae (larva)	1 (0,05)	8 (0,45)
	Família Ceratopogonidae (larva)	67 (3,28)	52 (2,92)
	Família Ceratopogonidae (pupa)	17 (0,83)	49 (2,75)
	Família Chironomidae (m1)	316 (15,47)	493 (27,71)
	Família Chironomidae (m2)	118 (5,78)	134 (7,53)
	Família Chironomidae (m3)	17 (0,83)	158 (8,88)
	Família Chironomidae (m4)	14 (0,69)	8 (0,45)
	Família Chironomidae (pupa)	9 (0,44)	6 (0,34)
	Família Culicidae (larva)	43 (2,10)	31 (1,74)
	Família Culicidae (pupa)	5 (0,24)	13 (0,73)
	Família Tabanidae (pupa)		1 (0,06)
	Família Baetidae	11 (0,54)	15 (0,84)
ORDEM EPHEMEROPTERA	Família Caenidae <i>Caenis</i> sp.	1 (0,05)	
ORDEM HEMIPTERA	Família Leptophlebiidae	2 (0,10)	1 (0,06)
	Família Belostomatidae (m1)	5 (0,24)	22 (1,24)
	Família Belostomatidae (m2)	8 (0,39)	5 (0,28)
	Família Corixidae	1 (0,05)	
	Família Mesoveliidae	8 (0,39)	5 (0,28)
	Família Naucoridae	43 (2,10)	15 (0,84)
	Família Notonectidae	269 (13,17)	243 (13,66)
	Família Pleidae	2 (0,10)	1 (0,06)
	Família Aeshnidae <i>Limnetron</i>		1 (0,06)
	Família Coenagrionidae (m1)	16 (0,78)	5 (0,28)
ORDEM ODONATA	Família Coenagrionidae (m2)	7 (0,34)	
	Família Corduliidae <i>Neocordulia</i>	5 (0,24)	3 (0,17)
	Família Libellulidae <i>Dythemis</i>	4 (0,20)	
	<i>Elasmothemis</i>	1 (0,05)	
	<i>Erythrodiplox</i> ssp. 1	36 (1,76)	11 (0,62)
	<i>Erythrodiplox</i> ssp. 2	10 (0,49)	
	<i>Idiataphe</i> ssp. 1	1 (0,05)	
	<i>Idiataphe</i> ssp. 2	1 (0,05)	
	<i>Libellula</i>	10 (0,49)	1 (0,06)
	Família Hydroptilidae	6 (0,29)	
ORDEM TRICOPHTERA	Classe Ostracoda (m1)	224 (10,96)	52 (2,92)
SUBFILO CRUSTACEA	Classe Ostracoda (m2)	43 (2,10)	10 (0,56)
FILO MOLLUSCA	Família Palaemonidae <i>Macrobrachium jelskii</i>	347 (16,98)	118 (6,63)
	Família Thiaridae <i>Melanoides tuberculata</i>	271 (13,26)	212 (11,92)
	Família Planorbidae	13 (0,64)	24 (1,35)

Fonte: Autores (2020).

A baixa representatividade dos táxons classificados como sensíveis pode estar relacionada com o fato desses organismos apresentarem preferência por ambientes de correntezas e que, em geral, apresentam elevadas concentrações de oxigênio (COPATTI; SCHIRMER; MACHADO, 2010; PACIENCIA et al., 2011). Por outro lado, o predomínio de táxons classificados como tolerantes (por exemplo, Chironomidae, Notonectidae, Thiariidae e Palaemonidae) pode estar relacionado às adaptações morfológicas e/ou fisiológicas (por exemplo, pigmento respiratório e respiração aérea) que permitem a esses organismos colonizarem desde ambientes conservados até locais altamente poluídos que apresentam baixas concentrações de oxigênio (CALLISTO; MORETTI; GOULART, 2001; COPATTI et al., 2013).

Além disso, devido à localização em área urbana, o açude Laranjeiras encontra-se vulnerável a impactos antrópicos. Durante as coletas foi possível registrar a presença de lixo e fezes de animais em seu entorno e nos últimos meses do período amostral (julho, agosto e setembro) eram visíveis alguns sinais de eutrofização, tais como maciça proliferação de *Salvinia* sp. Estes fatores podem ter favorecido espécies mais tolerantes, ao mesmo tempo em que limitaram a presença das espécies sensíveis a essas condições, afetando os resultados.

O valor calculado (score total) para o índice biótico BMWP' foi de 121 para a estação seca e de 107 para a estação chuvosa, classificando a água do açude Laranjeiras como de Classe II sendo considerada, portanto, como de qualidade boa. O ASPT para a estação seca foi de 4,48 e para a chuvosa de 4,46 caracterizando o açude Laranjeira com provável poluição moderada (Tabela 2).

Tabela 2 - Índices de diversidade e bióticos calculados a partir da fauna de macroinvertebrados coletada no açude Laranjeiras, município de Cruz das Almas, Bahia.

Índice	Estação	
	Seca	Chuvosa
Riqueza taxonômica	42	34
Abundância	2012	1710
BMWP'	121	107
ASPT	4,48	4,46

Fonte: Autores (2020).

Apesar do resultado do índice BMWP' ter considerado as águas do açude Laranjeiras como sendo de boa qualidade durante os dois períodos sazonais avaliados, ao observamos as condições do entorno do açude e os dados da comunidade estudada, na qual o número de famílias consideradas sensíveis foi reduzido, há fortes indícios de que o ambiente estudado se encontre num processo de poluição e enriquecimento orgânico. Portanto, é provável que o resultado do índice BMWP' deveu-se à elevada quantidade de táxons tolerantes e/ou resistentes amostrados, cujos valores foram se somando e resultaram em uma classificação superestimada da qualidade do ambiente aquático.

O índice ASPT refletiu melhor as condições observadas no açude Laranjeiras, um ecossistema que devido à localização em área urbana encontra-se vulnerável a impactos antrópicos, como mencionado anteriormente. Nossos resultados evidenciam que a incorporação do ASPT às análises torna o resultado do BMWP mais eficiente e realista (WALLEY; HAWKES, 1997).

Conclusão

A utilização dos macroinvertebrados neste estudo demonstra que o índice BMWP' deve ser considerado com cautela, uma vez que a presença de grande quantidade de táxons tolerantes pode resultar em altos valores do referido índice, mascarando situações

de poluição e/ou degradação. Recomenda-se associação do BMWP' a outros índices para um melhor reconhecimento das condições de conservação do corpo d'água.

Referências

AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservation of the Biodiversity of Brazil's Inland Waters. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 646-652, n. 2005.

ALBA-TERCEDOR, J. et al. Caracterización del estado ecológico de ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP'). **Limnetica**, v. 21, n. 3-4, p. 175-185, 2002.

ARMITAGE, P. D. et al. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. **Water Research**, v. 17, n. 3, p. 333-47, 1983.

BAGATINI, Y. M.; DELARIVA, R. L.; HIGUTI, J. Benthic macroinvertebrate community structure in a stream of the north-west region of Paraná State, Brazil. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 307-317, jan./mar. 2012.

BAPTISTA, D. F. Uso de macroinvertebrados em procedimentos de biomonitoramento em ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 427-441, 2008.

BARBOLA, I. F. et al. Avaliação da comunidade de macroinvertebrados aquáticos como ferramenta para o monitoramento de um reservatório na bacia do rio Pitangui, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 101, n. 1,2, p. 15-23, 2011.

CAIRNS JR., J.; PRATT, J. R. A History of Biological Monitoring Using Benthic Macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (Eds.). **Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates**, New York: Chapman/Hall, 1993. p. 10-27.

CALLISTO, M.; MORETTI, M; GOULART, M. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 1, p. 71-82, 2001.

COPATTI, C. E.; SCHIRMER, F.; MACHADO, J. V. Diversidade de macroinvertebrados bentônicos na avaliação da qualidade ambiental de uma microbacia no sul do Brasil. **Perspectiva Erechim**, v. 34, n. 125, p. 79-91, 2010.

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.

CORGOSINHO, P. H. C. et al. Diversidade de habitats e padrões de diversidade e abundância do bentos ao longo de um afluente do reservatório de três Marias, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 2, p. 227-232, 2004.

CORTES, R.; PINTO, P.; FERREIRA, M. T.; MOREIRA, I. Qualidade biológica dos ecossistemas fluviais. In: MOREIRA, I. et al. (Org.). **Ecossistemas Aquáticos e Ribeirinhos, Ecologia, Gestão e Conservação**. Lisboa: Instituto da Água, 2002. p. 9-28.

COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C. E. **Insetos imaturos metamorfose e identificação**. Ribeirão Preto: Holos, 2006.

DOCILE, T. N.; FIGUEIRÓ, R. Histórico e perspectivas da utilização macroinvertebrados no monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos no Brasil. **Acta Scientiae & Technicae**, v. 1, n. 1, jun. 2013. Disponível em: <<http://www.uezo.rj.gov.br/ojs/index.php/ast/article/view/6>>. Acesso em: 17 mai. 2017.

FROEHLICH, C. G. (Org.). **Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo**. São Paulo, 2007. Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>. Acesso em: 3 jun. 2012.

GONÇALVES, F. B.; MENEZES, M. S. A comparative analysis of biotic indices that use macroinvertebrates to assess water quality in

a coastal river of Paraná state, southern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 4, p. 27-36, 2011.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Eletrônica**, v.1, n. 4, p. 1-9, 2001. Disponível em: http://paleo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm. Acesso em: 15 mai. 2012.

HEPP, L. U.; RESTELLO, R. M. Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade das águas do Alto Uruguai Gaúcho. In: ZAKRZEWSKI, S. B. (Org.). **Conservação e uso sustentável da água: múltiplos olhares**. Erechim: Edifapes, 2007. p. 75-85.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ (IAP). Avaliação da qualidade da água através dos macroinvertebrados bentônicos – índice BMWP. Paraná, Circular Técnica, p. 26, 2007.

KUMARI, P.; MAITI, S. K. Bioassessment in the aquatic ecosystems of highly urbanized agglomeration in India: An application of physicochemical and macroinvertebrate-based índices. **Ecological Indicators**, v. 111, p. 1-12, 2020.

MAROTTA, H.; SANTOS, R. O.; ENRICH-PRAST, A. Monitoramento limnológico: um instrumento para a conservação dos recursos hídricos no planejamento e na gestão urbano-ambientais. **Ambiente & Sociedade**, v. 11, n. 1, p. 67-79, 2008.

MELO, G. A. S. **Manual de Identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo: Loyola, 2003. 429 p.

MONTEIRO, T. R.; OLIVEIRA, L. G.; GODOY, B. S. Biomonitoramento da qualidade de água utilizando macroinvertebrados bentônicos: adaptação do índice biótico BMWP' à bacia do rio Meia Ponte-GO. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 3, p. 555-563, 2008.

MOREYRA, A. K.; PADOVESI-FONSECA, C. Environmental effects and urban impacts on aquatic macroinvertebrates in a stream of central

Brazilian Cerrado. **Sustainable Water Resources Management**, v. 1, n. 2, p. 125-136, 2015.

MUGNAI, R.; NESSIMINIAN, J. L.; BAPTISTA, D. F. **Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010. 174 p.

MUSTOW, S. E. Biological monitoring of rivers in Thailand: use and adaptation of the BMWP score. **Hydrobiologia**, v. 479, n. 1-3, p. 191-229, 2002.

OBOLEWSKI, K.; GLINSKA-LEWCZUK, K.; STRZELCZAK, A. The use of benthic macroinvertebrate metrics in the assessment of ecological status of floodplain lakes. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 29, n. 2, p. 225-242, 2014.

OLIVEIRA, A.; CALLISTO, M. Benthic macroinvertebrates as bioindicators of water quality in an Atlantic forest fragment. **Iheringia Série Zoologia**, v. 100, n. 4, p. 291-300, 2010.

PACIENCIA, G. D. P. et al. Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera em corredeiras de riachos do Parque Estadual Intervales, Estado de São Paulo. **EntomoBrasilis**, v. 4, n. 3, p. 114-118, 2011.

REMOR, M. B. et al. Qualidade da água do rio das Pedras, oeste do Paraná, utilizando macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores. **Arquivos Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 2, p. 121-129, 2014.

ROMERO, K. C. et al. Lentic water quality characterization using macroinvertebrates as bioindicators: An adapted BMWP index. **Ecological Indicators**, v. 72, p. 53-66, 2017.

SANTOS, J. L. et al. Biomonitoramento de um riacho na Serra da Jiboia (Bahia, Brasil) através de macroinvertebrados bentônicos. **Magistra**, v. 29, n. 2, 235-245, 2018.

SEDEÑO-DÍAZ, J. E.; KOHLMAN, B.; LÓPEZ-LÓPEZ, E. Benthic macroinvertebrates as indicators of water quality in streams of Costa

Rica: using an adaptation of the BMWP score. **Transylvanian Review of Systematical and Ecological Research**, v. 14, p. 163-175, 2012.

SOUZA, A. H. F. F.; ABÍLIO, F. J. P. Zoobentos de duas lagoas intermitentes da caatinga paraibana e as influências do ciclo hidrológico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Supl.1, p. 146-164, 2006.

SOUZA, A. H. F. F.; ABÍLIO, F. J.; RIBEIRO, L. L. Colonização e sucessão ecológica do zoobentos em substratos artificiais no açude Jatobá I, Patos–PB, Brasil. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 2, p. 125-144, 2008.

TANIWAKI, R. H.; SMITH, W. S. Utilização de macroinvertebrados bentônicos no biomonitoramento de atividades antrópicas na bacia de drenagem do Reservatório de Itupararanga, Votorantim – SP, Brasil. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, n. 1, p. 7-10, 2011.

WALLEY, W. J.; HAWKES, H. A. A computer-based development of the biological monitoring working party score system incorporating abundance rating, site type and indicator value. **Water Research**, v. 31, n. 2, p. 201-210, 1997.

O V.A.N.T. na restauração ecológica substitui o pesquisador em campo?

Pedro Rege Moura da Conceição

Graziele Silva da Cruz

Ricardo Vieira Alexandrino

Alessandra Nasser Caiafa

Os processos de degradação e fragmentação nos ecossistemas brasileiros vem acelerando a cada dia, causados principalmente pela ação antrópica (FISZON et al., 2003). Dentre as ações antrópicas podemos destacar o uso dos recursos naturais e a expansão territorial e agrícola que impulsionam a perda de habitats e constituem uma das principais ameaças à conservação da biodiversidade e a prestação dos serviços ambientais (DANTAS et al., 2017). No Brasil esses processos de degradação estão relacionados geralmente a ciclos econômicos, como; pau-brasil, cana-de-açúcar, mineração, café e pecuária (ALMEIDA, 2016).

A restauração ecológica surge como principal forma de trazer de volta a integridade de áreas que foram degradadas, possibilitando que a área afetada possa se manter, estrutural e funcionalmente (SER, 2004). E a restauração não trata apenas de questões ecológicas, engloba também aspectos socioeconômicos relacionados a essas ações desenvolvidas (NAIR; RUTT, 2009).

O sucesso da implantação de um projeto de restauração depende de um bom planejamento. Uma vez que cada área a ser restaurada é específica e possui suas particularidades. Logo, realizar um diagnóstico para avaliar as condições bióticas e abióticas para o desenvolvimento das plantas, a resiliência da área afetada, analisar a probabilidade de colonização por espécies presentes em fragmentos

próximos é fundamental na tomada de decisão sobre a melhor técnica a ser implantada (RODRIGUES et al., 2009).

Depois da restauração implantada é imprescindível que a mesma seja avaliada, por meio de um bom protocolo de monitoramento. Segundo Brancalion et al. (2012), no Brasil pouco se dá atenção para essas duas medidas, especialmente, devido a forma de como a restauração é vista pelos órgãos públicos licenciados e as empresas que prestam serviço de restauração.

O monitoramento é um instrumento para inferir se a área está seguindo a trajetória ecológica desejada (PACTO PELA RESTAURAÇÃO DA MATA ATLÂNTICA, 2013), além de verificar se as metas estão sendo alcançadas e assim, corrigir trajetórias, para a garantia do sucesso da ação. Segundo Ramos e Junior (2018), é um estudo contínuo que acompanha as variáveis e indicadores com o propósito de reconhecer e avaliar as condições dos recursos naturais e mostrar quais os fatores que afetam a conservação, preservação, degradação e recuperação da área.

Um indicador fundamental para o monitoramento da área em processo de restauração é a mortalidade (CAIAFA et al., 2016). A mortalidade deve ser avaliada até cerca de três anos após a implantação da ação de restauração e permite se obter informações importantes sobre a necessidade de manutenções na área, e sobre a adequação das espécies ao clima local (SCHIEVENIM et al., 2012; UEHARA; GANDARA, 2011).

Para Faria e Costa (2015), se faz necessário inovar e aperfeiçoar as práticas de monitoramento, nesse cenário, e diante o incessante investimento em tecnologias, surge o uso do veículo aéreo não tripulado (VANT), ou mais comumente denominado drone como uma inovação, dentre as formas de monitoramento ambiental.

Os VANTs foram planejados para serem manuseados por um controle remoto ou de forma autônoma, voando a uma distância

do solo que pode variar dependendo do modelo utilizado, sendo capazes de obter imagens áreas com alta qualidade e com baixa altitude (FARIA; COSTA, 2015; HOERLLE et al., 2015). Com o uso do VANT é possível construir modelos tridimensionais por meio da fotogrametria, além de imagens específicas a partir do seu processamento, permitindo análises em diferentes escalas, realizar cálculos e quantificação de áreas e o monitoramento ao longo do tempo das áreas em processo de recuperação (EISENBEISS, 2009; HOERLLE et al., 2015).

O presente trabalho tem por objetivo investigar o potencial dos VANTs no planejamento e monitoramento da restauração ecológica a partir dos produtos gerados, bem como comparar a eficiência da avaliação de campo e do VANT na avaliação da mortalidade das plantas.

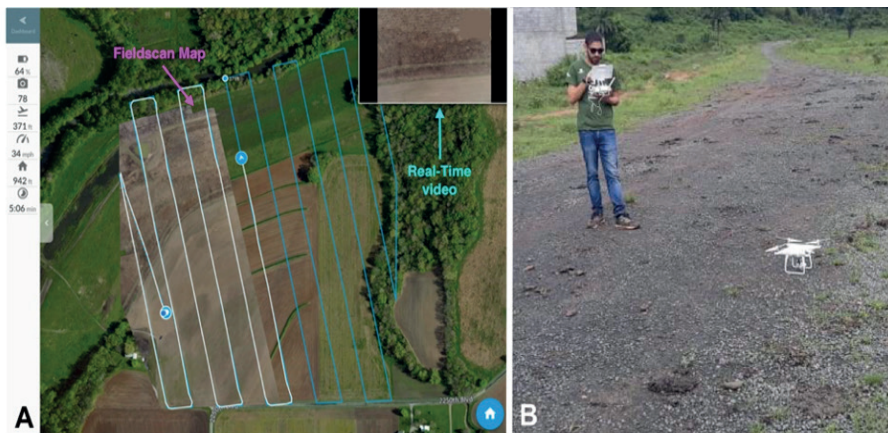
Material e métodos

O estudo foi realizado no entorno de uma nascente na zona rural de Cruz das Almas/Bahia, sob as coordenadas 12°40'56" latitude Sul e 39°10'44" de longitude Oeste de Greenwich, em uma comunidade rural denominada Boca da Mata. Para subsidiar a tomada de decisão na etapa de planejamento da restauração ecológica, foi realizado um diagnóstico da área a partir do sobrevoo de VANT (modelo Phantom 4 Advanced), obtendo-se informações com precisão geográfica e alto nível de detalhamento.

Definida a área, o método de restauração adotado foi o plantio total com base nas recomendações do LERF-ESALQ-USP (SEMA, 2017), sendo a mortalidade das plantas avaliadas por duas metodologias distintas. A primeira, utilizando as imagens de VANT, onde se contabilizou o tempo necessário para elaboração do plano de voo, o sobrevoo na área em processo de restauração (Figura 1), a montagem e desmontagem do equipamento, a elaboração

da ortofotografia e a avaliação da mortalidade em ambiente GIS em laboratório. A avaliação da mortalidade em ambiente GIS levou em consideração as mudas ausentes nas covas, bem como a presença de folhas e caules de aspecto seco, possível de se visualizar na ortofotografia. A segunda metodologia baseou-se no monitoramento em campo, cova por cova, planilhando os dados (Figura 2). Foram analisadas e contabilizadas as plantas vivas e mortas. É importante destacar que a verificação da mortalidade em campo se deu de forma similar ao avaliado via VANT, porém com avaliação visual do estado da muda. O tempo de campo, bem como de tabulação e cálculo da mortalidade, em laboratório, foram mensurados.

Figura 1 - Avaliação da mortalidade com o uso do VANT. A, Execução do plano de voo na área a ser restaurada, na localidade da Boca da Mata, Cruz das Almas, Bahia. B, VANT retornando após sobrevoo.



Fonte: Autores (2020).

Todos os planejamentos de voo do VANT foram realizados no software DroneDeploy, responsável por determinar os pontos de passagem assim como os níveis de sobreposição das imagens (overlap e sidelap) para garantir a qualidade no levantamento

aerofotogramétrico. Para processar os produtos do drone foi utilizado o software Agisoft Photoscan, que de acordo com Torres-Sánchez et al. (2014), é o mais indicado para o processamento e obtenção de ortomosaicos georreferenciados. Toda a análise das imagens bem como as avaliações em ambiente GIS foram realizadas por meio do software Quantum GIS (QGIS, 2018).

Figura 2 - Avaliação da mortalidade em campo, localidade Boca da Mata, Cruz das Almas, Bahia. A, Anotação dos dados em planilha. B, Aspecto geral das linhas em avaliação.



Fonte: Autores (2020).

Após a coleta em campo, os dados foram analisados nos quesitos elencados, sendo a avaliação da mortalidade em campo, por meio do programa Microsoft Excel, e com uso de VANT, a própria tabela de atributos do ambiente GIS.

Resultados e discussão

O sucesso da restauração se concretiza em ações que são executadas antes da implantação, nesse sentido, as ortofotografias

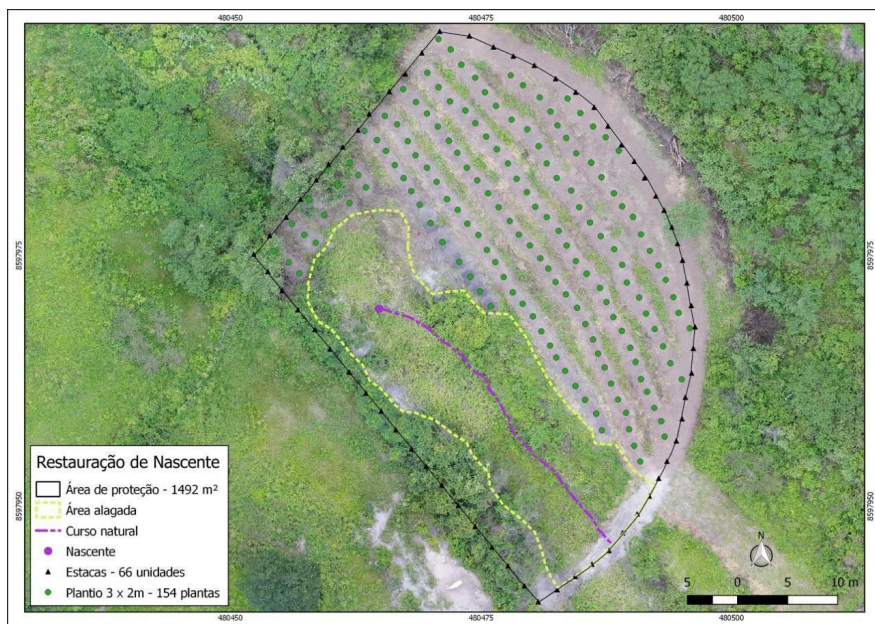
geradas a partir do voo de VANT permitiram observar características do ambiente, altimetria do terreno e vegetação próxima a área a ser restaurada. A partir das imagens em alta resolução, foi possível determinar o tamanho da área objeto da ação de restauração, delimitar a nascente, a área alagada e elaborar um croqui do plantio em ambiente SIG. Passos esses fundamentais para a operacionalização da ação de restauração, pois podem auxiliar estimativa de mudas a serem utilizadas de acordo com o modelo de restauração proposto, bem como na demanda por insumos como adubos, cercamento entre outros (Figura 3).

Segundo Cândido, Silva e Paranhos Filho (2015), essas imagens aéreas com alta resolução espacial e temporal contribuem para obtenção de informações em campo, caracterização do problema e até a geração de cartas temáticas em escala de elevado detalhe. Outros autores revelam que imagens já estão sendo usadas no monitoramento de copas de árvores em ruas de áreas urbanas (LIMA NETO et al., 2012), classificação de cobertura do solo (PEREA et al., 2010), monitoramento agrícola (XIANG; TIAN, 2011) e estimativa de índice de área foliar (CÓRCOLES et al., 2013).

No entanto, Paranhos Filho, Lastoria e Torres (2008) revela que a maioria dos trabalhos realizados a partir de imagens aéreas ocorre por meio de fotointerpretação e, dependendo da complexidade das feições presentes na área, o trabalho pode demandar tempo, por conta do volume de dados e características das classificações, carecendo da experiência e conhecimento do foto-intérprete.

Diante dos resultados, a utilização do VANT durante a etapa de planejamento da restauração ecológica permitiu uma melhor descrição e avaliação das características locais, principalmente pela alta resolução espacial. Bem como permitiu o cálculo dos insumos iniciais para a implantação da ação de restauração, com precisão e de forma prática

Figura 3 - Mapa base da ação de restauração. Localidade da Boca da Mata, Cruz das Almas, Bahia.



Fonte: Autores (2020).

Em relação ao monitoramento da mortalidade, os resultados obtidos pela análise da ortofotografia identificaram 154 covas de plantio (Figura 4). Deste total, seis plantas foram consideradas mortas, e destas, 30 delas geraram dúvidas sobre a determinação da mortalidade. A indeterminação se deu pela dificuldade de observação das plantas na imagem, bem como, a cobertura vegetal de outras árvores no entorno. Vale destacar que o monitoramento foi feito após um mês de plantio e foram constatados indivíduos com apenas 15 cm de altura.

Félix et al. (2017) revela que a utilização de outros sensores acoplados aos drones e outras plataformas de coleta com alta resolução, permitem não só a melhor distinção e classificação da vegetação como também favorecem o monitoramento destas

áreas. Contudo, segundo os autores, estes sensores de plataformas remotas ainda representam uma alternativa pouco acessível, dado aos seus elevados custos e complexidade de operação, logo, os levantamentos de campo associados aos sensores tradicionais no espectro visível ainda são uma alternativa de baixo custo operacional e com resultados satisfatórios.

O tempo total para o monitoramento com o VANT foi de 01:38 hora. O método em campo observou que das 154 plantas, apenas 2,6% indivíduos estavam mortos, em oposição a metodologia de VANT que determinou 3,9%, fora uma indeterminação em 19,5% dos indivíduos avaliados. O tempo total gasto foi de 00:54 hora, contabilizando desde a coleta até a análise dos dados em laboratório.

No entanto, é importante salientar que a área avaliada, em processo de restauração, é pequena (1.492 m²). Em áreas maiores, com mão de obra reduzida, ou objetivando reduzir custos com mão de obra na restauração, pode se mostrar uma solução que viabiliza a avaliação da mortalidade em grandes escalas. Outra questão que pode ter influenciado para um desempenho aquém do VANT é a idade da ação no momento do monitoramento. A literatura preconiza que a mortalidade deve ser checada pela primeira vez, após um mês do plantio das mudas. Porém como ressaltado, alguns indivíduos se encontravam muito pequenos, e mesmo com a elevada precisão da ortofotografia pode ter contribuído para as dúvidas em relação ao estado das mudas.

Figura 4 - Monitoramento por ortofotografia na nascente na localidade da Boca da Mata, Cruz das Almas, Bahia. As setas exemplificam covas com mudas vivas.



Fonte: Autores (2020).

Conclusão

Após a observação dos resultados é notório o potencial dos VANT's e produtos gerados no planejamento das ações de restauração ecológica. A quantificação de insumos e mudas foi feita com precisão, o que pode auxiliar na diminuição dos custos de implantação.

Sobre o monitoramento do parâmetro mortalidade conclui-se que sua avaliação por meio do VANT se mostrou menos eficiente, pois requer mais tempo para a execução da atividade e gera dúvidas/erro sobre o estado das plantas. Em contrapartida a contagem de plantas em campo, se mostrou mais eficiente na área avaliada já que permite resultados mais confiáveis por ser uma análise individualizada.

É importante destacar que outros parâmetros de monitoramento como a progressão da cobertura de copas, pode ter uma avaliação mais confiável com o uso dos VANT's, uma vez os planos de voo realizados regularmente, permitem o monitoramento das modificações da paisagem ao longo do tempo.

Referências

ALMEIDA, D. S. **Recuperação ambiental da Mata Atlântica**. 3. ed. Ilhéus: Editus, 2016. 200 p.

BRANCALION, P. H. S. et al. Avaliação e monitoramento de áreas em processo de restauração. In: MARTINS, S. V. (Org.). **Restauração ecológica de ecossistemas degradados**. Viçosa: Editora UFV, 2012. p. 262-293.

CAIAFA, A. N. et al. A restauração ecológica no Recôncavo Sul Baiano: cenário atual e necessidades futuras. In: DUARTE, E. F. (Org.). **Recursos e estratégias para a restauração florestal: ações para o Recôncavo da Bahia**. Cruz das Almas: Editora UFRB, 2016. p. 105-145.

CÂNDIDO, A. K. A. A.; SILVA, N. M.; PARANHOS FILHO, A. C. Imagens de alta resolução espacial de Veículos Aéreos Não Tripulados (VANT) no planejamento do uso e ocupação do solo. **Anuário do Instituto de Geociências** – UFRJ. v. 38, n. 1, p.147-156, 2015.

CÓRCOLES, J. I. et al. Estimation of leaf area index in onion (*Allium cepa* L.) using an unmanned aerial vehicle. **Biosystems Engineering**, v. 115, n. 1, p. 31-42, 2013.

DANTAS, M. S. et al. Diagnóstico da vegetação remanescente de Mata Atlântica e ecossistemas associados em espaços urbanos. **Journal of Environmental Analysis and Progress**. v. 2, n. 1, p. 87-97, 2017.

EISENBEISS, H. **UAV Photogrammetry**. Zurich: ETH Zurich, 2009.

FARIA, R. R; COSTA, M. E. A inserção dos veículos aéreos não tripuláveis (drones) como tecnologia de monitoramento no combate ao dano ambiental. **Revista Ordem Pública**, v. 8, n. 1, p. 81-102, 2015.

FÉLIX, F. C. et al. Mapeamento da cobertura vegetal a partir de imagens de alta resolução obtidas por VANT. In: CONGRESSO NACIONAL DE GEOGRAFIA FÍSICA, 1., 2017, São Paulo, SP. **Anais...** Campinas: Instituto de Geociências – Unicamp, 2017. p. 5095-5105.

FISZON, J. T. et al., Causas Antrópicas. In: RAM-BALDI, D. M.; OLIVEIRA, D. A. S. de (Org.). **Fragmentação de Ecossistemas:** Causas efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. Brasília: MMA/SBF, 2003. p. 66-99.

HOERLLE et al. Monitoramento de Áreas de Proteção Permanente através de imagens e Ortofotos geradas por Vants e Fotogrametria. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 6., 2015, Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre: IBEAS, 2015. p. 1-5.

LIMA NETO, E. M. et al. Fotografias aéreas para mensuração da área de copa das árvores de ruas de Curitiba–PR. **Revista Floresta**, v. 42, n. 3, p. 577-586, 2012.

NAIR, C. T. S.; RUTT, R. L. Creating forestry jobs to boost the economy and build a green future. **Unasylva**, v. 60, n. 3, p. 3-10, 2009.

PACTO PELA RESTAURAÇÃO DA MATA ATLÂNTICA. **Protocolo de Monitoramento para Programas e Projetos de Restauração Florestal**. 2013. Disponível em: http://media.wix.com/ugd/5da841_c228aedb71ae4221bc95b909e0635257.pdf. Acesso em: 1 jun. 2020.

PARANHOS FILHO, A. C.; LASTORIA, G.; TORRES, T. G. **Sensoriamento Remoto Ambiental Aplicado:** introdução às geotecnologias. Campo Grande: UFMS. 2008. 198 p.

PEREA, A. J. et al. Land-cover classification with an expert classification algorithm using digital aerial photographs. **South African Journal of Science**, v. 106, n. 5-6, p. 92-97, 2010.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. **QGIS 2.18 Las Palmas Geographic Information System User Guide**. 2018. Open Source Geospatial Foundation Project. Disponível em: https://docs.qgis.org/2.18/pt_PT/docs/user_manual. Acesso em: 10 jun. 2020.

RAMOS, N. P; JUNIOR, A. L. **Monitoramento ambiental**. 2018. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/canadeacucar/arvore/CONTAG01_73_711200516719.html. Acesso em: 6 jun. 2020.

RODRIGUES, R. R et al. On the restoration of high diversity forests: 30 years of experiences in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1242-1251, 2009.

SCHIEVENIN, D. F. et al. Monitoramento de área de restauração florestal em Sorocaba-SP. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 19, n. 1, p. 95-108, 2012.

SER - Society for Ecological Restoration International. **Fundamentos de Restauração Ecológica**. v. 2. 2004. Disponível em: http://www.lerf.eco.br/img/publicacoes/2004_12%20Fundamentos%20de%20Restauracao.pdf. Acesso em: 10 jun. 2020.

SEMA - Secretaria do Meio Ambiente. **Guia técnico para a recuperação de vegetação em imóveis rurais no Estado da Bahia**. Salvador: SEMA, 2017. 82 p.

TORRES-SÁNCHEZ, J. et al. Configuration and specifications of an unmanned aerial vehicle (UAV) for early site specific weed management. **Plos One**, v. 8, n. 3, p. 259-269, 2003.

UEHARA, T. H. K.; GANDARA, F. B. (Org.) **Monitoramento de áreas em recuperação: subsídios à seleção de indicadores para avaliar o sucesso da restauração ecológica**. São Paulo: SMA (Cadernos da Mata Ciliar, n. 4.), 2011. 63 p.

XIANG, H.; TIAN, L. Development of a low-cost agricultural remote sensing system based on an autonomous unmanned aerial vehicle (UAV). **Biosystems Engineering**, v. 108, n. 2, p. 174-190, 2011.

Índices de qualidade ambiental em açudes

Deise Ferreira Cazumbá dos Santos

Alisson Sousa Matos

Sérgio Schwarz da Rocha

Elinsmar Vitória Adorno (in memoriam)

O processo de degradação dos ecossistemas aquáticos atingiu alarmantes níveis de intensificação em decorrência das atividades humanas. Os impactos negativos causados nesses ambientes podem comprometer a disponibilidade de água para consumo humano e afetar diretamente a biodiversidade aquática (VOROSMARTY et al., 2010).

A macrofauna bentônica presente nos corpos aquáticos é constituída por uma diversidade de grupos taxonômicos, abrangendo moluscos, crustáceos, anelídeos e insetos, estes últimos apresentando maior diversidade e abundância (CARVALHO; UIEDA, 2004). Alguns desses organismos são utilizados como bioindicadores de qualidade de água devido a suas características fisiológicas e morfológicas que determinam sua sensibilidade em relação à poluição ou degradação dos corpos d'água (BUSS et al., 2003; REMOR et al., 2014). Diante disso, podem ser classificados em três grupos de indicadores: (a) organismos sensíveis às alterações ambientais - considerados indicadores de água limpa, de boa qualidade; (b) organismos tolerantes – aqueles que conseguem sobreviver em sistemas severamente perturbados, e (c) os organismos resistentes à poluição, considerados indicadores de má qualidade de água (CALLISTO; MORETTI; GOULART, 2001).

O levantamento da macrofauna bentônica permite avaliar, através das espécies encontradas, a qualidade dos ambientes aquáticos através da aplicação de índices bióticos. O índice BMWP (*Biological Monitoring Working Party*) tem por objetivo avaliar a

qualidade da água por meio de macroinvertebrados bentônicos (CAIRNS JUNIOR; PRATT, 1993; DOCILE; FIGUEIRÓ, 2013). Este índice foi revisado e adaptado em diversos países, incluindo o Brasil, passando a ser denominado BMWP' (ALBA-TERCEDOR; SANCHEZ-ORTEGA, 1988; BIEGER et al., 2010; COTA et al., 2002; CZERNIAWSKA-KUSZA, 2005; PARANÁ, 2007; JUNQUEIRA; CAMPOS, 1998; JUNQUEIRA et al., 2000; PAISLEY; TRIGG; WALLEY, 2013; SANTOS et al., 2018). O índice ASPT (*Average Score Per Taxon*) determina a sensibilidade média das famílias dos organismos de algum corpo d'água, dividindo-se o valor obtido no cálculo do BMWP' pelo número de famílias pontuadas na amostra (WALLEY; HAWKES, 1996; 1997).

Sendo o uso de índices biológicos uma importante ferramenta na avaliação da saúde de ecossistemas de água doce, fornecendo resultados acessíveis às decisões políticas (COTA et al., 2002), os objetivos deste estudo foram classificar a macrofauna bentônica de açudes no Recôncavo da Bahia em grupos funcionais tróficos e utilizá-la para avaliar a qualidade da água utilizando os índices bióticos BMWP' e ASPT.

Material e métodos

O estudo foi desenvolvido em três açudes urbanos no município de São Gonçalo dos Campos, no Recôncavo Baiano. O açude Cascalheira (12°26'98" S; 38°56'79" W) apresentava abundância de *Salvinia* sp. (Pteridophyta) e era margeado por gramíneas. O açude Fontinha (12°25'86" S; 38°56'67" W) possuía macrófitas aquáticas do tipo *Salvinia* sp., *Nymphaea* sp. e gramíneas. O açude Fazenda (12°27'31" S; 38°57'51" W) era desprovido de mata ciliar e macrófitas aquáticas, e frequentemente utilizado para dessedentação de animais.

As coletas foram realizadas trimestralmente, entre os anos de 2012 e 2013, totalizando quatro amostragens (abril, julho,

outubro/2012 e janeiro/2013), a fim de considerar a possibilidade de mudanças sazonais na comunidade, garantindo assim uma maior representatividade da fauna.

Para a coleta dos organismos utilizou-se uma rede D (malha: 500 μ m), a qual foi passada no sedimento e por entre a vegetação submersa e exposta às margens dos corpos hídricos. O esforço amostral foi realizado por um coletor, percorrendo a margem dos açudes durante cinco minutos, seguindo o proposto por Cortes et al. (2002). Todo o material retido na rede foi acondicionado em sacos plásticos, conservado em etanol 70% com rosa de Bengala a 0,02% (SILVEIRA; QUEIROZ; BOEIRA, 2004). Os organismos foram identificados até o menor nível taxonômico possível com auxílio de bibliografias especializadas (FROEHLICH, 2007; HAMADA; FERREIRA-KEPPLER, 2012; MUGNAI, NESSIMIAN; BAPTISTA, 2010).

Os valores atribuídos às famílias de macroinvertebrados para a composição do índice BMWP' corresponderam àqueles adotados pelo Instituto Ambiental do Paraná (PARANÁ, 2007) e listas de táxons disponíveis em Ramos (2012). Deste modo, cada família identificada recebeu uma pontuação e o somatório desses valores determinou um escore final que representa a qualidade do ambiente aquático avaliado; quanto mais elevado o valor adquirido, maior é a qualidade ambiental (BUSS et al., 2003). Em seguida, usando os valores obtidos no BMWP' aplicou-se o índice ASPT (WALLEY; HAWKES, 1996; 1997), por meio da divisão do índice BMWP' pelo número total de famílias encontradas.

Resultados e discussão

Ao todo foram coletados 2.100 macroinvertebrados, pertencentes a 32 táxons distribuídos entre os filos Arthropoda, Mollusca e Annelida. As ordens com maior riqueza de famílias foram Coleoptera (n = 9) e Diptera (n = 8), ambas pertencentes à classe Insecta

(Hexapoda), a qual foi a mais representativa em todo o estudo (Tabela 1). A classe Insecta apresenta uma distribuição geográfica ampla, colonizando todos os tipos de corpos d'água, além de serem abundantes e de fácil amostragem, como observado em diferentes ambientes lênticos do Brasil (MARQUES; FERREIRA; BARBOSA, 1999; SOUZA, 2012).

No açude Cascalheira foram coletados 529 indivíduos, distribuídos em 22 táxons; no açude Fontinha foram coletados 943 indivíduos, distribuídos em 28 táxons; e no açude Fazenda, 628 indivíduos distribuídos em 24 táxons. Verificou-se, portanto, que o açude Fontinha apresentou maior riqueza e maior abundância em comparação aos demais. Isto pode estar relacionado à presença de uma maior cobertura de mata ciliar observada naquele açude. Áreas com maior cobertura vegetal tendem a apresentar alta riqueza devido ao maior aporte de matéria alóctone, a qual serve como recurso alimentar, abrigo e aumenta a oferta de substrato para a comunidade aquática (ROQUE; TRIVINO-STRIXINO, 2000).

O açude Cascalheira apresentou maior abundância de indivíduos da ordem Diptera (Insecta) com 36,3%, divididos entre as famílias Chironomidae e Ceratopogonidae. No açude Fontinha foi predominante a espécie *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Hygrophila, Gastropoda) (48,3%) e no açude Fazenda a ordem Coleoptera (Insecta) foi predominante, com 31,5% dos indivíduos amostrados (Tabela 1). Este padrão foi semelhante ao observado em outros estudos sobre a comunidade de macroinvertebrados em ambientes aquáticos brasileiros (CALLISTO et al., 2004; OTTONI, 2009).

Invertebrados das famílias Tabanidae (Diptera) e Corduliidae (Odonata) foram registrados somente no açude Cascalheira. Da mesma forma, as famílias Gyrinidae (Coleoptera), Tipulidae (Diptera), Libellulidae (Odonata) e Hydrobiidae (Mesogastropoda) só foram

amostrados no açude Fontinha, enquanto Hyalellidae (Amphipoda) foi exclusiva do açude Fazenda (Tabela 1). Não foram amostrados organismos que compõem o grupo EPT (Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera), os quais são considerados sensíveis à poluição e às alterações do habitat (HEPP; RESTELLO, 2007). Por outro lado, a densidade de grupos que indicam alteração ambiental foi elevada em todos os açudes indicando possíveis impactos ambientais.

Tabela 1 - Táxons de invertebrados aquáticos coletados nos açudes Cascalheira, Fontinha e Fazenda, município de São Gonçalo dos Campos, com respectivos valores de abundância.

TÁXONS	Cascalheira	Fontinha	Fazenda	Total
FILO ARTHROPODA				
Classe Insecta				
Ordem Coleoptera				
Família Dytiscidae	54	72	45	171
Família Dryopidae	1	3	12	16
Família Haliplidae	0	1	2	3
Família Gyrinidae	0	1	0	1
Família Curculionidae	2	0	4	6
Família Noteridae	34	32	30	96
Família Hydrophilidae	12	48	67	127
Família Hydraenidae	16	11	37	64
Família Elmidae	2	6	1	9
Ordem Diptera				
Família Chironomidae	105	106	39	250
Família Ceratopogonidae	81	42	40	163
Família Culicidae	1	7	3	11
Família Stratiomyidae	3	9	20	32
Família Dolichopodidae	0	2	1	3
Família Tipulidae	0	13	0	13
Família Psychodidae	0	9	3	12
Família Tabanidae	2	0	0	2
Ordem Heteroptera				
Família Naucoridae	6	7	8	21
Família Mesovellidae	0	3	1	4
Família Notonectidae	13	25	87	125
Família Belostomatidae	2	14	0	16
Família Pleidae	0	1	1	2

Ordem Odonata				
Família Coenagrionidae	5	14	7	26
Família Libellulidae	0	1	0	1
Família Corduliidae	1	0	0	1
Classe Crustacea				
Ordem Amphipoda				
Família Hyalellidae	0	0	63	63
Ordem Decapoda				
Família Palaemonidae				
<i>Macrobrachium jelskii</i>	119	35	139	293
FILO MOLLUSCA				
Classe Gastropoda				
Ordem Hygrophila				
Família Planorbidae				
<i>Biomphalaria glabrata</i>	21	441	7	469
Família Physidae				
<i>Physa acuta</i>	23	14	0	37
Subclasse Mesogastropoda				
Família Ampullariidae				
<i>Pomacea</i> sp.	20	4	3	27
Família Hydrobiidae	0	13	0	13
FILO ANNELIDA				
Classe Hirudinea	6	9	8	23
Total	529	943	628	2100

Fonte: Autores (2013).

A classificação da qualidade de água, conforme o índice BMWP' variou entre os três açudes. De acordo com as pontuações atribuídas às famílias encontradas no estudo (Tabela 2), foi possível observar que os açudes Cascalheira e Fazenda apresentaram águas pertencentes à classe III (águas aceitáveis), com efeitos moderados de poluição; já a água do açude Fontinha foi classificada na classe II (água de qualidade boa), água não poluída ou sistema perceptivelmente não alterado (Tabela 3). De maneira semelhante, os valores de ASPT variaram entre os três açudes, sendo a água dos açudes Cascalheira e Fontinha considerada "provável poluída moderada", enquanto a água do açude Fazenda considerada "provável poluída severa" (Tabela 3).

A abundância de táxons resistentes ou tolerantes a perturbações no ambiente resultou em valores baixos do índice

BMWP', nos açudes Cascalheira e Fazenda, evidenciando efeitos moderados de poluição. O elevado teor de material orgânico remove seletivamente os organismos mais sensíveis, resultando no aumento das abundâncias de espécies mais tolerantes (MELO; HEPP, 2008). Por outro lado, o maior valor do índice BMWP' observado no açude Fontinha foi influenciado pelo maior número de famílias catalogadas naquele ponto, mas não necessariamente de organismos sensíveis.

Tabela 2 - Pontuações atribuídas às famílias de macroinvertebrados bentônicos encontradas nos açudes Cascalheira, Fontinha e Fazenda, município de São Gonçalo dos Campos, de acordo com o índice BMWP' (IAP, 2007) e Ramos (2012).

Família	Pontuação
Corduliidae, Libellulidae, Belostomatidae	8
Hyalellidae, Palaemonidae, Coenagrionidae	6
Dryopidae, Elmidae (Elminthidae), Hydraenidae, Tipulidae, Noteridae	5
Halipidae, Curculionidae, Tabanidae, Stratiomyidae, Dolichopodidae, Psychodidae, Ceratopogonidae	4
Mesovellidae, Naucoridae, Pleidae, Notonectidae, Hydrophilidae, Dytiscidae,	3
Gyrinidae, Hydrobiidae, Physidae, Planorbidae, Hirudinae, Ampullariidae	3
Chironomidae, Culicidae	2

Fonte: Autores(2013).

Tabela 3 - Classificação da qualidade da água dos açudes Cascalheira, Fontinha e Fazenda, município de São Gonçalo dos Campos, de acordo com os índices BMWP' e ASPT, em que N é o número de famílias encontradas nos açudes.

Açudes	N	BMWP	Qualidade	Significado	ASPT	Qualidade
Cascalheira	22	92	Aceitável	São evidentes efeitos moderados de poluição	4,18	Provável Poluição Moderada
Fontinha	28	113	Boa	Águas não poluídas ou sistema perceptivelmente não alterado	4,04	Provável Poluição Moderada
Fazenda	24	93	Aceitável	São evidentes efeitos moderados de poluição	3,88	Provável Poluição Severa

Fonte: Autores (2013).

Conclusão

A comunidade de macroinvertebrados foi eficiente como ferramenta indicadora de qualidade de água. Os resultados dos índices para os três ambientes foram condizentes com as observações em campo, no momento da coleta, pois eram visíveis os sinais de que eles sofriam influência antrópica (situados em zonas urbanas, além da existência de estradas paralelas aos açudes). Portanto, pode-se concluir que os açudes têm sido afetados por fontes poluidoras (pontuais), acarretando alterações na qualidade de suas águas. Desta forma, faz-se necessária a implementação de medidas mitigadoras, como intervenções de saneamento básico, implantação de redes de esgotos, bem como recuperação da vegetação ciliar, principalmente no açude Fazenda.

Referências

ALBA-TERCEDOR, J.; SANCHEZ-ORTEGA, A. Un método rápido y simple para evaluar localidade biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). **Limnética**, v. 4, p. 51-56, 1988.

BIEGER, L. et al. Are the streams of the Sinos River basin of good water quality? Aquatic macroinvertebrates may answer the question. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 4, p. 1207-1215, 2010.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMIAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água de rios. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, n. 2, p. 465-473, 2003.

CAIRNS JUNIOR J.; PRATT, J. R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. **Freshwater Biomonitoring and Benthic Macroinvertebrates**, New York: Chapman & Hall, 1993. p. 10-27.

CALLISTO, M., MORETTI, M.; GOULART, M. D. C. Macroinvertebrados bentônicos como ferramenta para avaliar a saúde de riachos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 6, n. 1, p. 71-82, 2001.

CALLISTO, M. et al. Diversity assessment of benthic macroinvertebrates, yeasts, and microbiological indicators along a longitudinal gradient in Serra do Cipó, Brazil. **Brazilian Journal Biology**, v. 64, n. 4, p. 743-755, 2004.

CARVALHO, E. M.; UIEDA, V. S. Colonização por macroinvertebrados bentônicos em substrato artificial e natural em um riacho da serra da Itaitinga, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 21, n. 2, p. 287-293, 2004.

CORTES, R.; PINTO, P.; FERREIRA, M. T.; MOREIRA, I. Qualidade biológica dos ecossistemas fluviais. In: MOREIRA, I. et al. (Org.). **Ecossistemas Aquáticos e Ribeirinhos, Ecologia, Gestão e Conservação**, Lisboa: Instituto da Água, 2002. p. 9-28.

COTA, L.; GOULART, M.; MORENO, P.; CALLISTO, M. Rapid assesment of river water quality using an adaptaded BMWP index: a practical tool to evaluate ecosystem health. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**, v. 28, n. 4, p. 1713-1716, 2002.

CZERNIAWSKA-KUSZA, I. Comparing modified biological monitoring working party score system and several biological indices based on macroinvertebrates for water-quality assessment. **Limnologica**, v. 35, n. 3, p. 169-176, 2005.

DOCILE, T. N.; FIGUEIRÓ, R. Histórico e perspectivas da utilização macroinvertebrados no monitoramento biológico de ecossistemas aquáticos no Brasil. **Acta Scientiae & Technicae**, v. 1, n. 1, p. 31-44, 2013. Disponível em: <<http://www.uezo.rj.gov.br/ojs/index.php/ast/article/view/6>>. Acesso em: 17 mai. 2017.

FROEHLICH, C. G. (Org.). Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo. 2007. Disponível em: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/guiaonline>.

HAMADA, N.; FERREIRA-KEPPLER, R. L. (Org.) **Guia ilustrado de insetos aquáticos e semiaquáticos da Reserva Florestal Ducke**. Manaus: Editora da Universidade Federal do Amazonas, 2012.

HEPP, L. U.; RESTELLO, R. M. Macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores da qualidade das águas do Alto Uruguai Gaúcho. In: ZAKRZEWSKI, S. B. (Org.). **Conservação e uso sustentável da água: múltiplos olhares**. Erechim: Edifapes. 2007. p. 75-85.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ (IAP). **Avaliação da qualidade da água através dos macroinvertebrados bentônicos – índice BMWP**. Curitiba, PR, 2007.

JUNQUEIRA, V. M.; CAMPOS, S. C. M. Adaptation of the “BMWP” method for water quality evaluation to Rio das Velhas watershed (MG/Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 10, n. 2, p. 125-135, 1998.

JUNQUEIRA, V. M. et al. Biomonitoramento da qualidade das águas da Bacia do alto do rio das Velhas (MG/Brasil) através de macroinvertebrados. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 12, n. 1, p. 73-87, 2000.

MARQUES, M. G. S. M.; FERREIRA, R. L.; BARBOSA, F. A. R. A comunidade de macroinvertebrados aquáticos e características limnológicas das Lagoas Carioca e da Barra, Parque Estadual do Rio Doce, MG. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, n. 2, p. 203-210, 1999.

MELO, A. S.; HEPP, L. U. Ferramentas estatísticas para análises de dados provenientes de biomonitoramento. **Oecologia Australis**, v. 12, n. 3, p. 463-486, 2008.

MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J. L.; BAPTISTA, D. F. **Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2010. 174 p.

OTTONI, B. M. P. **Avaliação da qualidade da água do Rio Piranhas-Açu/RN utilizando a comunidade de macroinvertebrados**

bentônicos. 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Bioecologia Aquática) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

PAISLEY M. F.; TRIGG D. J; WALLEY, W. J. **Revision of the Biological Monitoring Working Party (BMWP) Score System: Derivation of present-only and abundance-related scores from field data**. *River Research and Applications*, v. **30**, n. **7**, p. **887-904**, 2013.

RAMOS, S. M. **Efeito do percentual florestal sobre a macrofauna bentônica em riachos no Oeste do Paraná**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

REMOR, M. B. et al. Qualidade da água do rio das Pedras, oeste do Paraná, utilizando macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores. **Arquivos Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 2, p. 121-129, 2014.

ROQUE, F. O.; TRIVINHO-STRIXINO, S. Avaliação preliminar da qualidade da água dos córregos do Município de Luiz Antônio (SP) utilizando macroinvertebrados bentônicos como bioindicadores: subsídios para o monitoramento ambiental. **Ciências Biológicas do Ambiente**, v. 2, n. 1, p. 21-34, 2000.

SANTOS, J. L. et al. Biomonitoramento de um riacho na Serra da Jiboia (Bahia, Brasil) por meio de macroinvertebrados bentônicos. **Magistra**, v. 29, n. 2, p. 235-245, 2018.

SILVEIRA, M. P.; QUEIROZ, J. F.; BOEIRA, R. C. Protocolo de coleta e preparação de amostras de macroinvertebrados bentônicos em riachos. **Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico**, Jaguariúna, v. 19, p. 1-7, out. 2004. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPMA/5841/1/comunicado_19.pdf. Acesso em: 15 mai. 2017.

SOUZA, B. B. **Macroinvertebrados associados à macrófitas aquáticas em lagoas intermitentes do Semi-árido**. 2012. 40 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2012.

VOROSMARTY, C. J. et al. Global threats to human water security and river biodiversity. **Nature**, v. 467, p. 555–561, 2010.

WALLEY, W. J.; HAWKES, H. A. **A computer-based reappraisal of the Biological Monitoring Working Party scores using data from the 1990 river quality survey of England and Wales.** Water Research, v. 30, n. 9, p. 2086-2094, 1996.

WALLEY, W. J. & HAWKES, H. A. **A computer-based development of the Biological Monitoring Working Party score system incorporating abundance rating, site type and indicator value.** Water Research, v. 31, n. 2, p. 201-210, 1997.

Recursos poliníferos explorados por *Melipona* spp. (Meliponinae)

Daiane Rodrigues dos Santos

Andreia Santos do Nascimento

Suelen Oliveira França

Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva

Rogério Marcos de Oliveira Alves

Geni da Silva Sodré

Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

A meliponicultura ou criação de abelhas sociais sem ferrão é uma atividade sustentável, intimamente ligada à agricultura devido aos benefícios da polinização, e comumente relatada como uma fonte de renda alternativa para os produtores de base familiar (VIT; PEDRO; ROUBIK, 2018). A importância da criação dessas abelhas pode ser calculada tanto pelo seu papel como polinizador, contribuindo na manutenção das comunidades vegetais e animais, como pela possibilidade de exploração comercial dos produtos da colmeia (NASCIMENTO et al., 2018). Dentre as espécies de abelhas sociais sem ferrão que ocorrem no Brasil, se destacam as espécies do gênero *Melipona*, dentre elas *Melipona scutellaris* e *Melipona quadrifasciata anthidioides*, encontradas no Recôncavo Baiano (CARVALHO et al., 2006; ALVES et al., 2012).

O conhecimento da origem floral do pólen armazenado por abelhas sociais sem ferrão auxilia no reconhecimento das plantas poliníferas utilizadas pelas abelhas para a sua produção, e é imprescindível para os produtores, apontando as fontes adequadas e com suprimento abundante de pólen (VIT et al., 2016). Os métodos utilizados para determinação da origem floral de produtos da colmeia ocorrem por meio de estudos palinológicos, que se baseiam

em análises feitas a partir de amostras do pólen transportado ou armazenado na colônia ou ainda no mel (SANTOS et al., 2019).

A palinologia contribui nos estudos das interações florais entre as abelhas e as plantas, por meio do estudo polínico do alimento transportado e armazenado pelas campeiras nas colônias (BARTH et al., 2013). Além de possibilitar o reconhecimento dos principais recursos florais utilizados pelas abelhas, essa ferramenta também pode indicar a disponibilidade destes recursos em um determinado período na natureza (BARTH, 2004). As análises qualitativas e quantitativas dos tipos polínicos auxiliam na identificação botânica, informando as plantas mais utilizadas pelas abelhas para a produção do mel e ou pólen armazenado (BARTH, 1989; SANTOS et al., 2020).

No estado da Bahia, apesar da diversidade floral e do potencial de exploração meliponícola, existem poucas informações sobre as plantas fornecedoras de pólen para as abelhas sociais sem ferrão, notadamente para as espécies *M. quadrifasciata anthidioides* e *M. scutellaris*. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi contribuir para o conhecimento da flora meliponícola do estado da Bahia por meio da determinação da afinidade botânica do pólen coletado e armazenado por *M. quadrifasciata anthidioides* e *M. scutellaris* em uma área restrita do Recôncavo Baiano. Os resultados desta pesquisa foram comparados com outros estudos na mesma região, para avaliar a situação das fontes disponíveis de recursos poliníferos para ambas as espécies ao longo dos anos.

Material e métodos

O experimento foi desenvolvido em um meliponário implantado da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), situado na área experimental do Núcleo de Estudos dos Insetos (INSECTA) do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Campus de Cruz das Almas-BA, região do Recôncavo da Bahia.

Amostras do pólen armazenado em colônias de *M. quadrifasciata anthidioides* e em colônias de *M. scutellaris* foram coletadas por um período de 12 meses (2012-2013). As colônias foram instaladas em caixas do tipo Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) contendo ninho, sobreninho e melgueira, e previamente demarcadas.

As coletas foram realizadas diretamente dos potes de pólen armazenados pelas abelhas, escolhidos de forma aleatória, sendo apenas um pote por colônia, por espécie. O conjunto de três potes de pólen coletados em três colônias por espécie formou a amostra composta mensal. Não houve alimentação artificial das colônias a base de pólen durante o experimento.

No processamento das amostras foi adotado o método de acetólise proposto por Erdtman (1960). Com o sedimento polínico resultante do processo acetolítico foi possível realizar a montagem das lâminas para microscopia, procedendo a identificação da afinidade polínica por meio de literatura especializada (BARTH, 1989; 2004; BARTH et al., 2013) e por comparação com o laminário de referência do INSECTA/UFRB.

Para cada amostra de pólen armazenado foi realizada a contagem consecutiva de até 1.000 grãos de pólen. Com o número total de grãos foi estabelecida a frequência (F%) para cada tipo polínico. A frequência de ocorrência (Fo%) entre as amostras também foi determinada, de forma a estabelecer o percentual do número de amostras em que um determinado tipo polínico foi observado.

O índice de Shannon (1948) foi calculado a fim de caracterizar a diversidade (H') de tipos polínicos identificados nas amostras. Para efetuar os cálculos utilizou-se o software PAST 3.x versão 3.20 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001).

A similaridade polínica entre as amostras de pólen armazenado de ambas as espécies de abelhas sociais sem ferrão estudadas em

área restrita do Recôncavo da Bahia, foi obtida utilizando o índice de similaridade de Sørensen, expresso pela equação $IS = 2c / (s1+s2)$, onde $s1$ é o número de tipos polínicos coletado pela espécie 1, $s2$ é o número de tipos polínicos coletado pela espécie 2 e “ c ” é o número de tipos polínicos coletado por ambas as espécies (SANTOS et al., 2019).

Resultados e discussão

Um total de 10 amostras de pólen armazenadas por espécie foi analisado, uma vez que não houve material armazenado nas colônias de *M. quadrifasciata anthidioides* passível de coleta nos meses de junho e julho. Embora para *M. scutellaris* tenha sido coletada amostras nesses dois meses, elas não foram consideradas para efeito comparativo entre as espécies. A ausência de amostras de pólen armazenado nas colônias nesses mesmos meses também foi registrada por Carvalho et al. (2006) na mesma região e é um alerta para os criadores dessa espécie, que não aprovisiona pólen nesse período mais frio na região do estudo.

Análise polínica do pólen armazenado por *Melipona scutellaris*

Nas amostras ($n=10$) de pólen armazenado por *M. scutellaris* foram identificados 13 tipos polínicos de cinco famílias botânicas (Tabela 1). As famílias Fabaceae (46,15%), Myrtaceae (23,08%) e Sapindaceae (15,38%) apresentaram maior riqueza de tipos polínicos. Para Fabaceae destacaram-se os tipos pertencentes ao gênero *Mimosa*.

Os tipos polínicos mais frequentes foram *Mimosa arenosa* (21,66%) e *Eucalyptus* (27,41%), ambos ocorrendo em 90% das amostras. O tipo Sapindaceae só ocorreu em uma das amostras (10%).

A diversidade ($H' = 2,29$) de tipos polínicos revela o hábito generalista de *M. scutellaris*, sendo esta uma característica padrão de

abelhas eussociais, uma vez que necessitam de um maior volume de alimento, ao longo do ano, para sustentar suas colônias (RAMALHO; SILVA; CARVALHO, 2007; SANTOS et al., 2019). Entretanto, observou-se maior concentração da atividade de forrageio de pólen em um número pequeno de famílias (cinco), resultado diferente do encontrado em estudos anteriores na mesma região (NASCIMENTO et al., 2009).

Tabela 1. Frequência (F) e frequência de ocorrência (Fo) dos tipos polínicos encontrados em amostras de pólen armazenado por *Melipona scutellaris* no município de Cruz das Almas, Bahia.

Família	Tipos Polínicos	F (%)	Fo (%)
Euphorbiaceae	<i>Croton heliotropiifolius</i>	0,05	20
Fabaceae	<i>Acacia bahiensis</i>	1,29	70
	<i>Anadenanthera</i>	5,02	30
	<i>Mimosa</i>	6,28	20
	<i>Mimosa arenosa</i>	21,66	90
	<i>Mimosa caesalpinifolia</i>	8,69	60
	<i>Mimosa pudica</i>	1,45	30
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	27,41	90
	<i>Myrcia</i>	7,94	20
	<i>Psidium</i>	8,36	50
Sapindaceae	<i>Serjania pernambucensis</i>	9,15	40
	Tipo Sapindaceae	2,59	10
Solanaceae	<i>Solanum</i>	0,12	40

F = % de grãos de pólen de um determinado tipo polínico, considerando o total dos grãos de pólen contados; Fo = % de coletas com a presença de um determinado do tipo polínico.

Fonte: Autores (2012-2013).

A família Myrtaceae representada por três tipos (*Eucalyptus*, *Myrcia* e *Psidium*) está entre as mais frequentes no estudo, aparecendo praticamente durante todo período de amostragem, com destaque para *Eucalyptus* que aparece como pólen dominante e como pólen acessório em 50% das amostras. Resultado semelhante

também foi encontrado para a família Fabaceae, com destaque para os tipos *A. bahiensis* e *M. arenosa*, o que demonstra a afinidade de *M. scutellaris* por essas fontes polínicas. Em estudos realizados com méis do Recôncavo Baiano representantes destas famílias também ocorreram como pólen dominante (NASCIMENTO et al., 2009). Espécies de Myrtaceae, como *Eucalyptus torelliana* F. Muell., *Eugenia uniflora* L., *Myrciaria cauliflora* Berg., *Psidium araca* Raddi., *Psidium guajava* L. e *Syzygium cumini* (L.) Skeels, são reportadas como plantas fornecedoras de pólen e ou néctar para abelhas no Recôncavo Baiano (NASCIMENTO; CARVALHO; MARTINS, 2014; NASCIMENTO; CARVALHO, 2019).

Os tipos de menor frequência foram *Croton heliotropiifolius* e *Solanum* (<1%), embora este último tenha sido encontrado em 40% das amostras do pólen armazenado por *M. scutellaris*. Os tipos polínicos com baixa frequência podendo auxiliar nos aspectos fitogeográficos e interpretação mais detalhada de fontes de procedência utilizadas pelas abelhas (BARTH, 1989).

Análise polínica do pólen armazenado por *Melipona quadrifasciata anthidioides*

No conjunto amostral (n=10) do pólen armazenado por *M. quadrifasciata anthidioides* observou-se a ocorrência de 12 tipos polínicos, distribuídos em cinco famílias botânicas. As famílias Fabaceae (50,00%) e Myrtaceae (25,00%) apresentaram a maior riqueza de tipos polínicos (Tabela 2).

Tabela 2 - Frequência (F) e frequência de ocorrência (Fo) dos tipos polínicos encontrados em amostras de pólen armazenado por *Melipona quadrifasciata anthidioides* no município de Cruz das Almas, Bahia.

Família	Tipos Polínicos	F (%)	Fo (%)
Fabaceae	<i>Acacia bahiensis</i>	0,92	20
	<i>Anadenanthera</i>	1,55	30
	<i>Mimosa</i>	5,64	20
	<i>Mimosa arenosa</i>	27,39	50
	<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	8,09	50
	<i>Mimosa pudica</i>	13,26	30
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	16,82	30
	<i>Eugenia uniflora</i>	6,73	10
	<i>Myrcia</i>	10,07	30
Sapindaceae	<i>Serjania pernambucensis</i>	0,51	10
Solanaceae	<i>Solanum</i>	4,05	30
Verbenaceae	<i>Lippia</i>	4,98	10

F = % de grãos de pólen de um determinado tipo polínico, considerando o total dos grãos pólen contados; Fo = % de coletas com a presença de um determinado do tipo polínico.

Fonte: Autores (2012-2013).

As maiores frequências foram observadas para os tipos *M. arenosa* (27,39%), *Eucalyptus* (16,82%), *M. pudica* (13,26%) e *Myrcia* (10,0%). A presença dos tipos *E. uniflora*, *Lippia* e *Serjania pernambucensis* em apenas 10% das amostras pode ser resultado da característica nectarífera dessas fontes de recursos tróficos utilizadas pelas abelhas. Os resultados para as famílias Fabaceae e Myrtaceae foram semelhantes a outros estudos na região (NASCIMENTO et al., 2009; SANTOS et al., 2019; 2020). Na avaliação de méis de quatro espécies de meliponíneos do Recôncavo da Bahia foram encontrados os tipos *Eucalyptus*, *M. caesalpiniiifolia* e *M. scabrella* (= *M. pudica*) como pólen dominante (CARVALHO et al., 2006).

A diversidade ($H' = 2,21$) de tipos polínicos explorados como fonte de recursos poliníferos revela o hábito generalista desta espécie. No entanto, a participação do tipo polínico *M. arenosa* (F = 27,39%; Fo = 50%) nas amostras, denota uma possível especificidade de *M.*

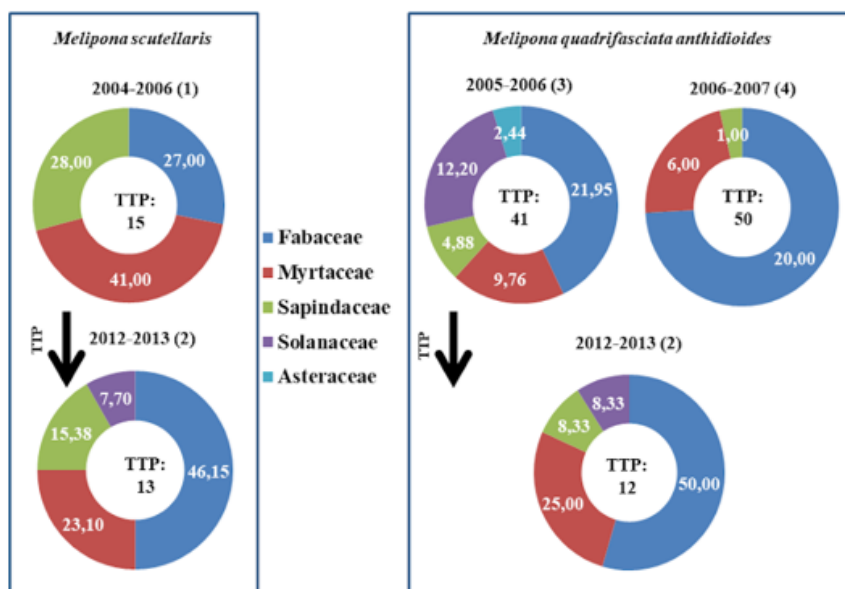
quadrifasciata anthidioides por determinadas espécies vegetais e família botânica na região, uma vez que houve coleta expressiva de pólen pertencente aos táxons de Fabaceae. A presença de Fabaceae foi também observada em estudos polínicos na região do Recôncavo Baiano por Santana et al. (2011). Especificamente em Cruz das Almas, Bahia, o estudo sobre recursos nectaríferos e poliníferos explorados por *M. quadrifasciata anthidioides* por Nascimento et al. (2009) obtiveram resultados próximos dos dados obtidos no presente estudo. Os autores coletaram 24 amostras de pólen, podendo constatar a ocorrência de 50 tipos polínicos pertencentes a 17 famílias botânicas. Neste estudo, além de Fabaceae, se observou contribuição destacada de Myrtaceae. De acordo com Nascimento e Carvalho (2019), o pólen é o principal recurso oferecido aos polinizadores por espécies de Myrtaceae, sendo recurso primário pelo qual as abelhas visitam suas flores. No entanto, pode representar também uma fonte eficaz na produção do mel por possuir espécies nectaríferas como as pertencentes ao gênero *Eucalyptus*.

A família Myrtaceae, representada no pólen armazenado por *M. quadrifasciata anthidioides* pelos gêneros *Eucalyptus*, *E. uniflora* e *Myrcia*, foi explorada com frequência por esta abelha durante o período estudado, sinalizando que táxons pertencentes a esses gêneros podem ser importantes fontes de recursos poliníferos para essa abelha. A preferência das abelhas *M. quadrifasciata anthidioides* e *M. scutellaris* por determinadas plantas representadas pelos tipos polínicos dominantes e muito frequentes no conjunto amostral, pode ser influenciada por fatores diversos como a atratividade da planta e recompensas florais oferecidas ao visitante floral. Além disso, muitas espécies florescem em diversas épocas do ano, algumas delas podendo ser encontradas praticamente durante todo o ano. Observou-se que o espectro polínico de *M. scutellaris* foi representado por 13 tipos polínicos e o de *M. quadrifasciata anthidioides* por 12, sendo que dois tipos foram coletados exclusivamente por *M.*

quadrifasciata anthidioides e três por *M. scutellaris*. Um total de 10 tipos polínicos foi coletado por ambas as espécies. Neste cenário, o Índice de Similaridade de Sørensen foi igual a 0,80, revelando uma sobreposição de pasto meliponícola para a coleta de pólen de 80%.

A comparação das principais famílias associadas com fontes poliníferas na mesma região amostral, ao longo de diferentes anos, demonstra a redução no número de tipos polínicos coletados por ambas as espécies (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Representação dos tipos polínicos por família botânica presentes no pólen transportado e armazenado por *Melipona scutellaris* e *M. quadrifasciata anthidioides* em diferentes estudos, na mesma área de avaliação. Períodos: 2004-2006 (RAMALHO; SILVA; CARVALHO, 2007) (1); 2005-2006 (CARVALHO et al., 2006) (3); 2006-2007 (NASCIMENTO et al., 2009) (4); e 2012-2013 (presente estudo) (2). TTP= total de tipos polínicos. As setas indicam a redução do TTP entre 2004 e 2013.



Fonte: Carvalho et al., (2006); Ramalho, Silva e Carvalho, (2007); Nascimento et al., 2009; Autores (2012-2013).

Um total de 15 tipos polínicos foi identificado para *M. scutellaris* entre 2004-2006, com destaque para as famílias Fabaceae,

Myrtaceae e Sapindaceae (RAMALHO; SILVA; CARVALHO, 2007). No estudo de 2012-2013 houve uma redução do número de tipos polínicos (12 tipos), mesmo com o acréscimo da família Solanaceae. Para *M. quadrifasciata anthidioides* os estudos de 2005-2006 (CARVALHO et al., 2006) e de 2006-2007 (NASCIMENTO et al., 2009) identificaram 41 e 50 tipos, respectivamente. Observações sobre o desenvolvimento das colônias nos anos posteriores (2014 a 2020) demonstraram uma redução populacional e perdas de colônias de *M. quadrifasciata anthidioides*. Das 180 colônias presentes em 2005, restaram apenas 32 em 2020.

Diversos fatores podem estar envolvidos com a perda de colônias, entre as quais podem ser citadas as doenças, agrotóxicos e as mudanças climáticas, mas a redução da diversidade da flora poliníferas pode ter implicações diretas na reprodução e, consequentemente, na população das colônias. Os estudos representados no Gráfico 1 revelam a perda de diversidade na dieta polínica de ambas as espécies.

Conclusão

As espécies *Melipona quadrifasciata anthidioides* e *M. scutellaris* utilizaram como principais fontes polínicas os representantes das famílias Fabaceae e Myrtaceae. Embora essas famílias continuem sendo a principal fonte poliníferas dessas espécies na região de estudo, há uma redução no número de fontes visitadas para a coleta de pólen ao longo dos anos, merecendo atenção dos meliponicultores, de forma a recompor e ou ampliar o conjunto de plantas de interesse polinífero para ambas as espécies.

Referências

ALVES, R. M. O. et al. Areas of natural occurrence of *Melipona scutellaris* Latreille, 1811 (Hymenoptera: Apidae) in the state of Bahia,

Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 84, n. 3, p. 680-688, 2012.

BARTH, O. M. **O pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989. 151 p.

BARTH, O. M. Melissopalynology in Brazil: a review of pollen analysis of honeys, propolis and pollen loads of bees. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 2, p. 342-350, 2004.

BARTH, O. M. et al. Palynological analysis of Brazilian stingless bee pot-honey. In: VIT, P.; ROUBIK, D.W. (Eds.). **Stingless bees process honey and pollen in cerumen pots**. Mérida: Facultad de Farmacia y Bioanálisis, 2013, p. 1-8.

CARVALHO, C. A. L. et al. Fontes nectaríferas e políniferas utilizadas por *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera: Apidae) no Recôncavo Baiano. **Magistra**, v. 18, p. 249-256, 2006.

ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 54, p. 561-564, 1960.

FELLER-DEMALSY, M. J. et al. Microscopic analysis of honeys from Saskatchewan, Canada. **Journal of Apicultural Research**, v. 26, p. 47-254, 1987.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologica Electronica**, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.

LOUVEAUX, et al. Methods of Melissopalynology. **Bee World**, v. 59, n. 4, p. 139-157, 1978.

NASCIMENTO, A. S. et al. Recursos nectaríferos e políniferos explorados por *Melipona quadrifasciata anthidioides* em Cruz das Almas, Bahia. **Magistra**, v. 21, p. 25-29, 2009.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, C. A. L.; MARTINS, M. L. L. Plants visited by *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) in Recôncavo Baiano, State of Bahia, Brazil. **Revista de Agricultura**, v. 89, n. 2, p. 97-116, 2014.

NASCIMENTO, A. S. et al. Honey from stingless bee as indicator of contamination with metals. **Sociobiology**, v. 65, n. 4, p. 727-736, 2018.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, C. A. L. Pollen morphology of Myrtaceae visited by social bees. **Plant Science Today**, v. 6, n. 2, p. 98-195, 2019.

RAMALHO, M.; SILVA, M. D.; CARVALHO, C. A. L. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 38-45, 2007.

SANTANA, A. L. A. et al. Tipos polínicos em amostras de méis de abelhas sem ferrão de municípios do semiárido. **Magistra**, v. 23, n. 3, p. 134-139, 2011.

SANTOS, A. M. V. et al. Pollen spectrum of the honey of *Apis mellifera* L. collected in the period of honey production. **Scientific Electronic Archives**, v. 12, n. 6, p. 69-76, 2019.

SANTOS, P. C. et al. Pollen spectrum of honey of *Apis mellifera* L. and stingless bees (Hymenoptera: Apidae) from the semi-arid region of Bahia State, Brazil. **Grana**, v. 59, p. 1-12, 2020.

SOUZA, C. M. et al. Caracterização do “samburá” de abelhas sociais sem ferrão (Meliponinae): revisão. In: VIEIRA, V. B; PIOVESAN, N. (Ed.) **Sustentabilidade em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Ponta Grossa: Atena, 2020, p. 51-62.

SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 623-656, 1948.

VIT, P.; PEDRO, S. R. M.; ROUBIK, D. (Ed.). **Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology**. New York: Spring, 2018. 481 p.

VIT, P. et al. Chemical and bioactive characterization of pot-pollen produced by *Melipona* and *Scaptotrigona* stingless bees from Praia Grande, Amazonas State, Venezuela. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 28, p. 78-84, 2016.

Youtube no ensino da anatomia humana

Gabriel Ribeiro

Atualmente, o ensino do componente curricular Anatomia Humana ainda é desenvolvido, em diversas universidades, por intermédio de aulas expositivas que contemplam aspectos estruturais e funcionais do corpo humano, associadas à observação laboratorial de peças cadavéricas ou modelos anatômicos sintéticos (SUGAND; ABRAHAMS; KHURANA, 2010).

Essa forma de trabalho, muitas vezes descontextualizada – aqui “contexto é definido como a inter-relação entre um conjunto de circunstâncias que acompanham um fato ou uma situação” (ALMEIDA, 2016, p. 531) - e focalizada na memorização de estruturas anatômicas, distancia-se das tendências educacionais contemporâneas em Anatomia Humana que consideram o estudante como o centro do processo educativo e o professor como mediador ou facilitador da aprendizagem (RIBEIRO; OLIVEIRA; SILVA, 2011).

Na perspectiva de renovar/superar este quadro, e se adequar às aptidões, atitudes, expectativas e estilos de aprendizagem dos “nativos digitais”, muitas universidades têm investido em estratégias de ensino de Anatomia Humana pautadas na utilização da internet e direcionadas à aprendizagem multimídia (JAFFAR, 2012; SUGAND; ABRAHAMS; KHURANA, 2010) – processo que ocorre quando os indivíduos arquitetam a construção do conhecimento por meio da representação mental de palavras e imagens (ALMEIDA et al., 2014).

Para Mustafa et al. (2020) é fundamental acomodar os processos de ensino e aprendizagem aos estilos e preferências dos indivíduos reconhecidos como “Geração Internet”, “Geração Conectada”, “Geração *YouTube*”, para que sejam alcançados

melhores resultados educacionais. De acordo com alguns autores, os estudantes demonstram maior interesse pelos assuntos trabalhados e o aprendizado é (re)significado quando são integrados recursos multimídia aos processos formativos desenvolvidos no âmbito da Anatomia Humana (JAFFAR, 2012; MUSTAFA et al., 2020; SUGAND; ABRAHAMS; KHURANA, 2010).

Uma das ferramentas tecnológicas que pode promover o desenvolvimento das aprendizagens dos estudantes de Anatomia Humana é o *website* de compartilhamento de mídia *YouTube*; um entre vários aplicativos da internet criados com base em conteúdos elaborados pelos usuários, e denominados coletivamente de *Web 2.0* (AZER, 2012; JAFFAR, 2012; MUSTAFA et al., 2020).

Um número grande e crescente de vídeos relacionados à Anatomia Humana está presente no *YouTube*, cobrindo um amplo espectro de produções que perpassa por animações, vídeos de dissecação, palestras, tutoriais de anatomia radiológica, demonstrações clinicamente orientadas entre outras (MUSTAFA et al., 2020). É importante destacar que o *YouTube* está presente em mais de 100 países e pode ser acessado em 80 idiomas diferentes, contando com mais de dois bilhões de usuários e um bilhão de horas assistidas por dia (YOUTUBE, 2020). Segundo Marcus e Perez (2007) apud Raikos e Waidyasekara (2014), o sucesso deste *website* associa-se às seguintes características: “fácil compartilhamento de vídeos por upload, envio por e-mail de um link ou incorporação em sites, ambiente de publicação fácil de usar e serviço totalmente gratuito” (p. 12, tradução nossa).

Embora apresente um reconhecido potencial educacional, há uma limitada literatura científica discutindo o valor do *YouTube* como ferramenta para a aprendizagem de Anatomia Humana (JAFFAR, 2012; RAIKOS; WAIDYASEKARA, 2014). No estudo conduzido por Jaffar (2012), por exemplo, com 91 estudantes de medicina, foi

verificado que 98% dos estudantes utilizam o *YouTube* como fonte de informação online e que 92% destes reconhecem a criação de um canal nesta plataforma (*Human Anatomy Education Channel*) como recurso que auxilia na aprendizagem de Anatomia Humana.

Corroborando com esses dados, e indicando a capilaridade mundial desta ferramenta educacional, Mustafa et al. (2020) menciona estudos desenvolvidos em faculdades de medicina da Irlanda e da Venezuela que evidenciam a ampla utilização do *YouTube* (acima de 78%) pelos estudantes. A ampla busca por vídeos relacionados à Anatomia Humana, em particular à anatomia macroscópica, deve-se, também, ao caráter observacional desta ciência e a necessária visualização tridimensional das estruturas para a construção de conhecimentos substantivos (MUSTAFA et al., 2020).

De acordo com Jaffar (2012), o *YouTube* é uma ferramenta eficaz para aprimorar os processos de ensino e aprendizagem de Anatomia Humana quando os materiais produzidos ou selecionados no *website* são avaliados, diversificados e direcionados aos objetivos do componente curricular.

Em uma pesquisa que pretendeu analisar o potencial educativo de vídeos do *YouTube*, relacionados à anatomia de superfície, Azer (2012) reivindicou a necessidade de um maior engajamento de universidades (docentes e discentes) na produção destes materiais, tendo em conta as lacunas/limitações identificadas nos materiais analisados. Entre os vídeos avaliados, apenas 27% foram considerados úteis para a aprendizagem, resultado similar ao identificado no estudo de Raikos e Waidyasekara (2014) que analisou a utilidade de vídeos do *YouTube* para a aprendizagem da anatomia cardíaca. Para os últimos autores a baixa taxa de aprovação dos vídeos investigados relacionou-se, principalmente, com a limitada cobertura dos conteúdos e, em parte, com os elementos gerais dos vídeos, como a qualidade de som e imagem.

O cenário de pesquisas apresentado contempla uma perspectiva na qual os estudantes são considerados consumidores de vídeos do *YouTube* produzidos por indivíduos vinculados à academia ou não. Tal enfoque é legítimo e, certamente, tem contribuído para o desenvolvimento educacional no atual contexto em que a autonomia dos estudantes, na construção de seus itinerários formativos, tem sido valorizada.

Todavia, existem outras possibilidades para a exploração educativa desta ferramenta, já que o *YouTube* oferece aos estudantes a oportunidade de compartilhar seus trabalhos com outros espectadores, característica que pode contribuir para integrá-los aos processos de criação, desenvolvimento e produção de vídeos e, portanto, para torná-los autores na elaboração de conteúdos, em um horizonte que valorize a construção de aprendizagens, ativas e diversificadas.

Considerando este olhar sobre uma das potencialidades educacionais do *YouTube*—o compartilhamento de vídeos produzidos pelos estudantes — cabe ao professor realizar alguns movimentos, entre eles: (i) a elaboração de situações em que os estudantes participem de experiências autênticas, questionando, investigando, desenvolvendo o senso crítico, a ética e a estética (ALMEIDA, 2016); (ii) uma atuação como tutor/moderador/provocador das atividades realizadas pelos estudantes (QUINTANILHA, 2017).

Destaca-se que alguns docentes vislumbraram a possibilidade de envolver os estudantes na produção de vídeos para o *YouTube*, no contexto do ensino superior (QUINTANILHA, 2017; ARAGÃO et al., 2019; LIMA et al., 2019). Entretanto, esses relatos ainda são escassos, sendo que não foram localizadas pesquisas, com este perfil, no campo da Anatomia Humana. Neste sentido, o objetivo desta pesquisa foi realizar uma análise descritivo-exploratória do canal do *YouTube* intitulado “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB” (RIBEIRO, 2020), que abriga vídeos relacionados à Anatomia Humana

produzidos por alunos dos cursos de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Material e métodos

Trata-se de uma pesquisa descritivo-exploratória que pretendeu observar, classificar e descrever fenômenos por meio da utilização de duas fontes de informação: (i) dados extraídos do canal “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB” (RIBEIRO, 2020), mediante a utilização do painel do *YouTube Studio*; (ii) documentos referentes ao componente curricular CCA 330 Anatomia Humana, que integra a estrutura curricular do curso de Curso de Bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Sublinha-se que a recolha de informações do referido canal restringiu-se ao período compreendido entre 01/01/2016 e 06/06/2020, pois o canal foi criado em 2013, mas o primeiro vídeo foi postado apenas no ano de 2016. Os dados incluídos na análise do canal relacionam-se a três categorias: visão geral do canal, alcance do canal e público do canal. Por outro lado, os documentos referentes ao componente curricular Anatomia Humana (código CCA 330) incluem os planos de ensino de diversos semestres e a descrição do Projeto Canal do *YouTube*.

Resultados e discussão

Inicia-se esta seção com uma breve caracterização da estruturação do canal do *YouTube* “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB” (RIBEIRO, 2020), baseada na análise de planos de ensino do componente CCA 330 Anatomia Humana e na configuração do Projeto Canal do *YouTube*, elementos reestruturados ao longo dos semestres letivos, mediante um processo constante de reflexão sobre a ação docente (ZEICHNER, 2008).

A perspectiva educacional do canal foi idealizada e instituída a partir do semestre 2016.1, do calendário letivo da UFRB, e sua implementação ocorreu, em um primeiro momento, no contexto do componente curricular CCA 330 Anatomia Humana, do curso de Bacharelado em Biologia. Nos semestres subsequentes, até o presente momento, este canal vem sendo desenvolvido, também, no âmbito do componente curricular CCA-481 Anatomia Humana, do curso de Licenciatura em Biologia da UFRB. Os vídeos deste canal são produções, exclusivas, dos estudantes destes dois componentes curriculares, construídas com a finalidade de socializar conhecimento referente à Anatomia Humana.

A elaboração dos vídeos tem sido ancorada no Projeto Canal do *YouTube* que consiste, fundamentalmente, em uma estratégia de ensino e aprendizagem pautada em processos de idealização, estruturação e apresentação de vídeos destinados ao *YouTube*.

Tais vídeos, que integram a dimensão avaliativa dos componentes curriculares supracitados, foram produzidos por grupos de alunos e relacionam-se aos sistemas do corpo humano como digestório, circulatório, respiratório, nervoso, urinário, genital masculino e genital feminino. Até o momento de elaboração deste trabalho, os grupos de alunos produziram 37 vídeos diversificados – sob a orientação do docente e dos monitores dos componentes curriculares – agrupados nas categorias descritas abaixo:

Vídeos associados à modelos anatômicos sintéticos: prendem-se à processos de identificação de estruturas anatômicas e exploração de seus aspectos funcionais, recorrendo-se ao acervo do Laboratório de Ensino e Aprendizagem do Corpo Humano, do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB. Atualmente sete vídeos do canal integram esta categoria.

Vídeos associados à História da Ciência: abrangem materiais focalizados em eventos da História da Ciência, que contemplam

elementos como personalidade(s) envolvida(s), contexto sociocultural, métodos de trabalho dos(as) cientistas e evolução do conhecimento científico. Atualmente 22 vídeos do canal compõem esta categoria.

Vídeos associados à produção de conhecimento científico atual: contemplam a apresentação de artigos científicos, por meio de linguagem audiovisual, que versam sobre o conhecimento produzido no final do século XX e início do século XXI. Atualmente seis vídeos do canal fazem parte desta categoria.

Na continuidade desta seção são apresentados dados extraídos do canal “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB” (RIBEIRO, 2020), tendo em conta três categorias: visão geral do canal, alcance do canal e público do canal.

Visão Geral do Canal

Os vídeos que integram o canal foram assistidos 15.283 vezes no período investigado (01/01/2016 à 06/06/2020). Quanto ao tempo de exibição e ao número de inscrições no canal, mil horas foram assistidas, sendo que atualmente o canal conta com 345 inscritos. Destaca-se que o reduzido número de inscrições e visualizações do canal, quando comparado com outros canais do *YouTube* que dialogam com a Anatomia Humana, não é um aspecto relevante, já que as intenções educacionais são diferentes.

Primeiramente, o propósito da produção de vídeos para o canal “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB” é a construção de aprendizagens diversificadas – conceituais, procedimentais e atitudinais (sobre tipologia de conteúdos, ver ZABALA, 1998) – por meio da elaboração dos vídeos. Em segundo lugar, os vídeos produzidos são utilizados para responder às questões colocadas no seio dos componentes curriculares, ou seja, as informações do canal nutrem os objetivos do componente curricular, como orienta Jaffar (2012).

A Tabela 1 aponta o título dos 10 vídeos mais visualizados no canal, o link dos mesmos e o número de visualizações de cada um. Uma análise da tabela 1 mostra que os estudantes do Curso de Bacharelado em Biologia (BachBio) produziram a maioria dos vídeos com taxa de visualização superior a 400.

O vídeo mais acessado no canal trata das relações entre racismo científico, neurociências e frenologia, temáticas trabalhadas no componente curricular CCA 330 Anatomia Humana no contexto do ensino do sistema nervoso, por intermédio de uma abordagem histórica desta disciplina (ver, por exemplo, RIBEIRO; COELHO DA SILVA, 2019). Supõe-se que a utilização do conceito frenologia na busca de informação, estratégia que correspondeu a 19,2% da origem do tráfego de dados do canal (RIBEIRO, 2020) originado por pesquisa no *YouTube*, seja responsável por este resultado. Os outros vídeos indicados na Tabela 1 referem-se, em sua maioria, a modelos anatômicos sintéticos e sua predominância pode estar relacionada aos contributos dos mesmos para a realização de avaliações laboratoriais, centradas em aspectos estruturais e funcionais.

Cabe destacar, tendo-se em conta o caráter formativo do presente estudo, que os vídeos de número 1 e 8 foram desenvolvidos pelos estudantes com recurso ao aplicativo online Powtoon, também utilizado na investigação conduzida por Lima et al. (2020). Segundo estes autores, a ferramenta possibilita a manipulação de desenhos animados, além de possuir várias ferramentas de edição e ser de acesso livre e de fácil manuseio. Algumas dessas características, que serviram para enriquecer os vídeos mencionados, podem ter contribuído para o maior número de acessos e para as aprendizagens de muitos estudantes.

Tabela 1 - Vídeos com maior número de visualizações do canal “Professor Gabriel Ribeiro- UFRB”.

Número	Título do Vídeo	Link do Vídeo	Número de visualizações
1	Frenologia, neurociências e racismo científico_BachBio_2017.2	https://www.youtube.com/watch?v=ubAYalqTH8U	2.901
2	Sistema Digestório_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=xoqlSp4X-C0	1.929
3	Sistema Urinário_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=GcbwXFJlrKY	1.541
4	Sistema Circulatório_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=EN7Gdruk4YY	937
5	Sistema Genital Feminino_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=MY2WxGu0D2o	848
6	Sistema Genital Masculino_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=Cape4Kp9NnA	690
7	Sistema Respiratório_BachBio_2016.1	https://www.youtube.com/watch?v=Us6puDurYUY	519
8	Priapismo na Doença Falciforme_BachBio_2017.2	https://www.youtube.com/watch?v=Q-sKlecO1T4	427
9	Cláudio Galeno Médico dos Gladiadores_LicBio_2017.2	https://www.youtube.com/watch?v=r7-riDW2poQ	425
10	Vesálio e a mecânica respiratória_LicBio_2017.1	https://www.youtube.com/watch?v=zqcaA1cBEPk	415

Fonte: Dados extraídos do *YouTube Studio* (RIBEIRO, 2020).

Alcance do Canal

Os espectadores tiveram acesso ao conteúdo do canal por meio de: (i) vídeos sugeridos (58%), ou seja, visualizações das sugestões que aparecem ao lado ou depois de outros vídeos; (ii) páginas do canal (22,8%); (iii) pesquisas no *YouTube* (17,3%); (iv) tráfego externo ao *YouTube* (14, 5%); (v) origem direta ou desconhecida (5%); (vi) outros (11,8%) (RIBEIRO, 2020). Entre os vídeos sugeridos, os de número 1 a 5 (Tabela 1), que possuem, em sua maioria, títulos estritamente anatômicos, foram os mais acessados; resultado que pode consubstanciar a tendência apontada por Jaffar

(2012) e Mustafa (2020) de uma ampla utilização de vídeos de Anatomia Humana, publicados no *YouTube*. Em termos específicos, ao realizarem buscas no *YouTube* utilizando temáticas anatômicas, os usuários receberam a indicação de vídeos do canal e acabaram acessando os mesmos.

Destaca-se que a maioria do tráfego de origem externa do canal foi proveniente do *WhatsApp* (35,4%) e apenas 1,8% originaram-se do *Facebook* (RIBEIRO, 2020) característica que mostra o potencial do primeiro como ferramenta educativa a ser utilizada no ensino da Anatomia Humana, como defendem estudantes de uma universidade privada da região metropolitana de Porto Alegre, RS, matriculados nesta disciplina (SCHEUNEMANN; ALMEIDA; LOPES, 2019).

Público do Canal

Entre os indivíduos que acessaram os vídeos do canal, 68,5% pertenciam ao gênero feminino e 31,5% ao masculino, dados muito similares ao perfil dos estudantes dos Cursos de Bacharelado e Licenciatura em Biologia da UFRB (SIGAA, 2020). A maioria dos usuários (68,3%) encontrava-se na faixa etária regular (18 a 24), certamente dando continuidade, sem interrupção, aos estudos concluídos na educação básica, aspecto que reforça a utilização do canal para finalidades educacionais, no nível da graduação (RIBEIRO, 2020).

O tempo de exibição dos vídeos do canal divide-se entre não inscritos (61,8%) e inscritos (38,2%), sendo que este tempo foi distribuído entre acessos oriundos do Brasil (60,4%) e de outros países (39,6%) (RIBEIRO, 2020), revelando a capacidade de difusão das ideias publicadas nesta ferramenta (RAIKOS ; WAIDYASEKARA, 2014).

Quanto à notificação de sino dos inscritos, ou seja, quanto ao desejo dos inscritos de receberem notificações do canal, 26,2% (90 pessoas) marcaram a opção “Todas as notificações” para o canal, evidenciando que o canal se localiza dentro da faixa média do *YouTube*, entre 10 e 30%. Ademais, 15,7% (54) dos inscritos marcaram a opção “Todas as notificações” para o canal e ativaram as notificações do *YouTube*, sendo que a faixa média deste *website*, para essa característica, é de 5 a 20%. Estes dados indicam certo grau de adesão/interação dos inscritos e, portanto, uma possível vontade de interagir com este ambiente virtual. Nesta direção, avalia-se que a construção de um canal do *YouTube* pode constituir-se, também, como um fórum para os acadêmicos se comunicarem, já que um artigo científico, por exemplo, pode ser lido por um pequeno número de estudiosos, enquanto a difusão online das mesmas ideias, em formato de vídeo, como implementado no canal em tela, pode promover a interação entre diferentes atores (JAFFAR, 2012).

Conclusão

Considera-se que o objetivo desta pesquisa, realizar uma análise descritivo-exploratória do canal do *YouTube* intitulado “Professor Gabriel Ribeiro – UFRB”, foi alcançado. A gênese do canal, sua relação com o componente curricular CCA 330 Anatomia Humana e algumas de suas características (visão geral do canal, alcance do canal e público do canal) foram explorados e analisados.

Como Mustafa et al. (2020), retifica-se a importância da atualização profissional dos professores de Anatomia Humana, tendo em consideração a apropriação de novas habilidades de ensino capazes de despertar o interesse dos estudantes “Nativos Digitais” para o aprendizado, em ambientes educacionais mais estimulantes e agradáveis. As mídias sociais disponíveis, incluindo o *YouTube*, podem contribuir para esta agenda.

Referências

ALMEIDA, M. Currículo e narrativas digitais em tempos de ubiquidade: criação e integração entre contextos de aprendizagem. **Revista de Educação Pública**, v. 25, n. 59/2, p. 526-546, 2016.

ALMEIDA, R. et al. Avaliação de objetos de aprendizagem sobre o sistema digestório com base nos princípios da Teoria Cognitiva de Aprendizagem Multimídia. **Ciência e Educação**, v. 20, n. 4, p. 1003-1017, 2014.

ARAGÃO, J. et al. Produção de vídeos como material didático de apoio para aprendizagem em saúde da mulher: Relato de experiência. **Revista Práxis**, v. 11, n. 22, p. 45-52, 2019.

AZER, S. Can “YouTube” help students in learning surface anatomy? **Surgical and Radiologic Anatomy**, v. 34, n. 5, p. 465-468, 2012.

JAFFAR, A. YouTube: An emerging tool in anatomy education. **Anatomical Science Education**, v. 5, n. 3, p. 158-164, 2012.

LIMA, V. et al. Produção de vídeo-educacional: estratégia de formação docente para o ensino na saúde. **RECIIS - Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, v. 13, n. 2, p. 428-438, 2019.

MUSTAFA, A. et al. Using YouTube to Learn Anatomy: Perspectives of Jordanian Medical Students. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1-8, 2020.

QUINTANILHA, Luiz Fernando. Inovação pedagógica universitária mediada pelo Facebook e YouTube: uma experiência de ensino-aprendizagem direcionado à geração-Z. **Educação em Revista**, n. 65, p. 249-263, 2017.

RAIKOS, A.; WAIDYASEKARA, P. How useful is YouTube in learning heart anatomy? **Anatomical Science Education**, v. 7, n. 1, p. 12-18, 2014.

RIBEIRO, G. Professor Gabriel Ribeiro - UFRB. **YouTube**, 07 de jun de 2020. Disponível em: <<https://www.youtube.com/channel/UCbqXqMe8Et2GtVnyUwnbrOw/>>. Acesso em: 07 jun 2020.

RIBEIRO, G.; OLIVEIRA, I. C.; SILVA, M. L. P. É possível romper com a frieza do ensino de anatomia humana? **Experiências em Ensino de Ciências**, v. 6, n. 3, p. 45-53, 2011.

RIBEIRO, G.; COELHO DA SILVA, J. Discutindo o Processo de Criação Científica por meio de uma Abordagem Histórica da Anatomia Humana em um Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, v. 19, p. 67-94, 2019.

SCHEUNEMANN, C.; ALMEIDA, C.; LOPES, P. Tecnologias Digitais no Ensino e na Aprendizagem de Anatomia Humana: análise das percepções de acadêmicos do Ensino Superior. **Acta Scientiae**, v. 21, n. 1, p. 20-38, 2019.

SISTEMA INTEGRADO DE GESTÃO DE ATIVIDADES ACADÊMICAS (SIGAA). **Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**. Disponível em: <<https://sistemas.ufrb.edu.br/sigaa>>. Acesso em 01/06/2020.

SUGAND, K.; ABRAHAMS, P.; KHURANA, A. The Anatomy of Anatomy: A Review for Its Modernization. **Anatomical Science Education**, v. 3, n. 2, p. 83-93, 2010.

YOUTUBE. *YouTube para a imprensa*. YouTube About, 2020. Disponível em: <<https://www.youtube.com/intl/pt-BR/about/press/>>. Acesso em: 31 mai. 2020.

ZABALA, A. **A prática educativa**: como ensinar. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul Ltda., 1998.

ZEICHNER, K. Uma análise crítica sobre a “reflexão” como conceito estruturante na formação docente. **Educação & Sociedade**, v. 29, n. 103, p. 535-554, 2008.

Sobre os autores

Adreani Araujo da Conceição

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestre em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Área de atuação: Ecologia de ecossistemas dulcícolas, com ênfase no estudo de comunidades de invertebrados bentônicos como ferramenta no monitoramento ambiental. E-mail: adreaniaraujo@outlook.com

Airan dos Santos Protázio

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Mestrado em Zoologia e Especialização em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Especialização em Ensino de Ciências e Matemática pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Docente do Instituto Federal da Bahia (IFBA). Áreas de atuação: Herpetologia e Ensino de Ciências e Biologia. E-mail: airanprotazio@yahoo.com.br

Alessandra Nasser Caiafa

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Mestrado em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Fisionomia e estrutura de comunidades vegetais associadas ao bioma Mata Atlântica, estudos de metadados, espécies raras e restauração ecológica. E-mail: ancaiafa@ufrb.edu.br

Alisson de Souza Matos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestrado em Sistemas Aquáticos Tropicais (PPGSAT) pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais pelo Instituto

de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR - UFC). Área de atuação: Ecologia (ecologia bentônica, reprodução e fisiologia de moluscos). E-mail: alimatos1@gmail.com

Amanda Oliveira Silva

Graduanda em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Biologia Molecular. E-mail: amandaosilva2311@gmail.com

Ana Karina da Silva Cavalcante

Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia (UFRBA). Especialização em Marketing e Agronegócio, Mestrado e Doutorado em Reprodução Animal pela Universidade de São Paulo (USP). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: extensão nas áreas de Saúde Animal, Fisiopatologia da Reprodução, Doenças Infecciosas e produção de organismos aquáticos de interesse comercial. E-mail: karina@ufrb.edu.br

Andréia dos Santos Nascimento

Graduação em Agronomia e Mestrado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Doutorado em Entomologia pela Universidade de São Paulo (ESALQ/USP). Área de atuação: Manejo integrado de pragas, controle biológico, ecologia e comportamento de insetos, apicultura, meliponicultura, melissopalínologia e uso de abelhas e produtos da colmeia como bioindicadores de qualidade ambiental. E-mail: asndea@gmail.com

Arielson dos Santos Protázio

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia) pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Especialização em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e em Ensino de Ciências e Matemática pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Herpetologia e Ensino de Ciências e Biologia. E-mail: arielsonprotazio@ufrb.edu.br

Breno de Jesus Brito

Técnico em Agropecuária pelo Instituto Federal Baiano (IFBaiano/campus Valença) e Graduando em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: parasitologia. E-mail: breno-brito1@hotmail.com

Bruna Leite Vieira do Nascimento

Graduação em Biologia Bacharelado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestranda em Biologia Molecular e Genética pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Área de atuação: Biologia Molecular. E-mail: brunaleite08@hotmail.com

Caio Eloi dos Santos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Ilustração científica, manejo de serpentes (Herpetologia) e análise de qualidade de água por bioindicadores. E-mail: eloikaio@gmail.com

Camila de Jesus Luz

Graduação em Engenharia Florestal pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestranda em Ecologia e Biomonitoramento pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Áreas de atuação: Ecologia e Conservação dos Manguezais, Estrutura de Comunidades Arbóreas, Restauração Ecológica e Extensão Rural. E-mail: camiladejl@gmail.com

Camila Nogueira Pestana Caldas

Graduação em Bacharelado em Biologia e Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Área de atuação: Melhoramento genético e marcadores moleculares. E-mail: cammilabio@yahoo.com.br

Carla Macedo Fernandes

Graduação em Ciências Biológicas e Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Doutorado em Aquicultura de Águas Continentais

pela Universidade Estadual Paulista (UNESP) e Pós-Doutorado em Botânica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (Museu Nacional, Laboratório de Ficologia). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Aquicultura, com ênfase em Ecologia Aquática. E-mail: cfmacedo@ufrb.edu.br

Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Graduação em Agronomia, Especialização em Educação Superior e Mestrado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Doutorado em Entomologia pela Universidade de São Paulo (ESALQ-USP). Docente Titular da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e Membro Titular da Academia de Ciências da Bahia (ACB). Área de atuação: Entomologia Agrícola, manejo, saúde e estudos populacionais e de comunidades, bionomia e bioecologia de abelhas, flora apícola e meliponícola, polinização entomófila, palinologia, caracterização físico-química-microbiológica-sensorial dos produtos da apicultura e meliponicultura. E-mail: calfredo@ufrb.edu.br

Caroline Muniz de Abreu Santos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Ecotoxicologia aquática, biomonitoramento animal, inventário de fauna, plano de resgate e afugentamento de fauna e desenvolvimento de projetos na área de educação e gestão ambiental. E-mail: carollineabreus@gmail.com

Cassiéle Gonçalves Santana

Graduanda em Bacharelado em Bióloga na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Taxonomia vegetal. E-mail: ksl_gs@hotmail.com

Daiane Rodrigues dos Santos

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Especialista em Biologia Celular e Mestre em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Docente das Faculdades AGES de

Medicina. Área de atuação: Ecologia, Genética e Produtos naturais. E-mail: daibio@hotmail.com.br

Daniel Rocha de Santana

Graduando em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Biologia Molecular. E-mail: daniel.santana1705@gmail.com

Daniela Santos Martins Silva

Graduação em Licenciatura e Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Especialização em Gestão Ambiental pela Faculdade Católica de Uberlândia. Mestrado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e Doutorado em Entomologia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Área de atuação: identificação de insetos, taxonomia, sistemática, diversidade de ortópteros neotropicais e grupos recentes (especialmente Copiocerinae e Tetrigidae). E-mail: danielasantos.biology@gmail.com

Deise Ferreira Cazumbá dos Santos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestrado em Sistemas Aquáticos Tropicais (PPGSAT) pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Área de atuação: Biomonitoramento de qualidade de água, com ênfase em insetos aquáticos. E-mail: deisefcazumba@gmail.com

Diego Luís Guedes de Souza

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Técnico em Aquicultura pelo CEFET (atual IFBA). Áreas de atuação: Aquicultura, Limnologia e Zoologia (produção de camarão marinho, cultivo de microalgas, recursos hídricos, qualidade da água, variáveis físico-químicas, ecologia e reprodução de camarão de água doce). E-mail: diegoluisbio@gmail.com

Edna Lobo Machado

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Mestrado em Biologia Celular

e Estrutural pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Doutorado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Biologia Molecular Vegetal (expressão gênica e marcadores moleculares). E-mail: ednalobo@ufrb.edu.br

Eduardo Nogueira Souza Santos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Taxonomia e Ecologia de *Caelifera* (Orthoptera). E-mail: dudu_nss@hotmail.com

Elaine Araújo de Carvalho

Graduação em Nutrição pela Universidade Salvador (UNIFACS) e Mestrado em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). E-mail: elaine_carvalho@hotmail.com

Elinsmar Vitória Adorno (*in memoriam*)

Graduação em Ciências Biológicas e Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento pela Universidade Federal da Bahia (UFRB). Foi docente do curso de Bacharelado em Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Ecologia, com ênfase em Ecologia Aplicada.

Elissandra Ulbricht Winkaler

Graduação em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestrado e Doutorado em Aquicultura na Universidade Estadual Paulista (UNESP/Jaboticabal). Pós-doutorado na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Organismos aquáticos, biomarcadores, biomonitoramento ambiental, ecotoxicologia e nanopartícula. E-mail: elis@ufrb.edu.br

Everton Hilo de Souza

Graduação em Engenharia Agrônoma e mestrado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB).

Doutor em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura - Biologia na Agricultura e no Ambiente) pela Universidade de São Paulo (USP), com período sanduíche na Universidade da Georgia. Pós-doutorando na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura. Áreas de atuação: Botânica e Biodiversidade (floricultura e fruticultura). E-mail: hilosouza@gmail.com

Fabiano Machado Martins

Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Mestrado em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Doutorado em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Áreas de atuação: Botânica (anatomia vegetal, estruturas secretoras, histoquímica, historesina e anatomia aplicada). E-mail: fmartins@ufrb.edu.br

Gabriel Ribeiro

Graduação em Fisioterapia pela Universidade Católica do Salvador. Especialização em Fisioterapia pela Universidade de Ribeirão Preto. Mestrado em Morfologia e Medicina Experimental pela Universidade de São Paulo e doutorado em Ciências da Educação pela Universidade do Minho (Portugal). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Áreas de atuação: Inovações pedagógicas no ensino do corpo humano, sexualidade e educação científica, abordagem contextual no ensino da Morfofunção Humana. E-mail: fta_gabrielribeiro@ufrb.edu.br

Geni da Silva Sodré

Graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Mestrado e Doutorado em Entomologia pela Universidade de São Paulo (USP). Pós-Doutorado na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Docente da UFRB Área de atuação: Entomologia com ênfase em insetos úteis, produtos dos insetos, manejo de insetos e agricultura familiar. E-mail: geni@ufrb.edu.br

Graziele Silva da Cruz

Graduanda em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Estagiária de Laboratório de Ecologia Vegetal e Restauração Ecológica (LEVRE) com o tema Restauração Ecológica. E-mail: graziele.1403@hotmail.com

Guilherme de Oliveira

Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, Mestrado e Doutorado em Ecologia e Evolução pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Ecologia, com ênfase em Ecologia Teórica, Macroecologia e Biogeografia da Conservação. E-mail: guilhermeoliveira@ufrb.edu.br

Iara Fonseca Souza

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Microbiologia de Alimentos. E-mail: iara.souza01@hotmail.com

Ivoneia de Sousa Oliveira

Graduação em Bacharelado de Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Estudante de especialização em Metodologia em Ensino em Ciências Biológicas no Centro Universitário Leonardo da Vinci (UNIASSELVI). Áreas de atuação: Taxonomia Vegetal e Fitossociologia. E-mail: ivoneia.sousa@hotmail.com

Jamile Lima Fernandes

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Mestrado em Biologia Vegetal pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Doutorado em Botânica pela Universidade Estadual de Feira de Santana (URFS). Docente no Centro Estadual de Educação Profissional em Saúde e Tecnologia da Informação Carlos Corrêa de Menezes Sant'Anna. Áreas de atuação: Botânica, com ênfase em Anatomia Vegetal (micromorfologia e ontogenia). E-mail: jamilefelima@gmail.com

Jéssica Mourato da Silva

Técnica em Agropecuária pelo Centro Territorial de Educação Profissional de Irecê (CETEP). Bacharelada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Reprodução animal com ruminantes e endoparasitoses em pequenos ruminantes. E-mail: jessica-mourato@hotmail.com

Joadson dos Santos Reis

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. (UFRB). Mestrando em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Área de atuação: Microbiologia, com ênfase em diagnóstico de doenças infecciosas, produção de antígenos, análises microbiológicas em alimentos e resistência bacteriana. E-mail: joadson-reis@hotmail.com

João Paulo Morselli

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Sagrado Coração. Mestrado e Doutorado em Zoologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP/Botucatu). Pós-doutorado pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Docente da Faculdade de Presidente Prudente (FAPEPE/SP). Áreas de atuação: Entomologia, sistemática e taxonomia de Orthoptera. E-mail: jpmorselli@hotmail.com

Joanna Karine Gomes de Oliveira

Graduanda em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Técnica em Agropecuária pelo Instituto Federal Baiano (Campus Santa Inês) (IFBaiano). Área de atuação: Ecologia de anfíbios, com ênfase em girinos. E-mail: joannakarine17@gmail.com

Keylla Souza dos Santos

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestrado e Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Áreas de atuação: Biologia Molecular, Marcadores Moleculares e Citogenética Vegetal. E-mail: keyllasouzargv@gmail.com

Larisse Freitas Silva

Graduação em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário de Caratinga. Mestrado em Biologia Celular e Estrutural, Doutorado em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Estación Experimental del Zaidín (CSIC/Espanha) e Pós-doutorado em Botânica pela UFV. Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Áreas de atuação: Botânica, Anatomia Vegetal e Ecofisiologia Vegetal. E-mail: larisse.freitas@ufrb.edu.br

Leila de Lourdes Longo

Graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado) pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto (USP). Mestrado e Doutorado em Ciências (Zoologia) pelo Instituto de Biociências da USP. Pós-doutorados em Filogeografia (IBUSP) e (ENBT/JBRJ). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Taxonomia e ecologia de bentos marinho. E-mail: leila.longo@ufrb.edu.br

Lilia Ferreira Souza Queiroz

Graduação em Bacharelado e Licenciatura em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Mestrado e Doutorado em Ensino, Filosofia e História das Ciências pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Áreas de atuação: Ensino de Biologia e na área de Zoologia de Invertebrados (levantamento e biologia reprodutiva de crustáceos). E-mail: lsouzaqueiroz@gmail.com

Liza Nadine dos Santos Falcão

Técnica em Agropecuária pela Fundação Bradesco e Graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais. E-mail: lizafalcao18@gmail.com

Manoela de Jesus Moreira

Graduanda em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Estagiária no

Laboratório de Algas e Plâncton com estudos de “Desenvolvimento embrionário e crescimento larval de *Danio rerio*” e “Ocorrência de cianobactérias e análise da comunidade fitoplanctônica na região da foz do rio Paraguaçu”. E-mail: manoelamoreira@live.com

Manuela Oliveira Pereira

Graduação em Bacharelado em Biológicas pela Universidade do Recôncavo da Bahia (UFRB). Pós-graduanda em Biologia Celular (especialização *lato sensu*) na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Áreas de atuação: microbiologia, com ênfase em isolamento e identificação de fungos endofíticos, microbiologia de alimentos e biologia molecular. E-mail: olimannu@hotmail.com

Marcia Luciana Cazetta

Graduação em Ciências Biológicas e Mestrado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista (UNESP/Rio Claro). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Microbiologia com ênfase em bioprospecção microbiana e processos fermentativos. E-mail: malulz@ufrb.edu.br

Marcio Lacerda Martins

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Mestrado em Botânica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Doutorado em Botânica pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Taxonomia do gênero *Manihot* (Euphorbiaceae) e florística de ecossistemas do Recôncavo Baiano. E-mail: marciollm@ufrb.edu.br

Marcos Gonçalves Lhano

Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP/Rio Claro). Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade pela Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e Doutorado em

Ciências Biológicas pela Universidad de La República (Uruguai). Pós-doutorado no Programa em Entomologia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Docente da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar/campus Lagoa do Sino). Áreas de atuação: taxonomia, sistemática, ecologia, biogeografia, comportamento e evolução de Orthoptera. E-mail: marcosgl@ufscar.br

Maria Gardenny Ribeiro Pimenta

Graduação em Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Ceará (UECE). Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais pela Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC) e Doutorado em Biotecnologia pela UECE. Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Microbiologia geral com ênfase em alimentos, controle de qualidade e métodos de detecção de contaminantes em amostras clínicas, ambientais e de alimentos. E-mail: gardenny.pimenta@ufrb.edu.br

Marta Maria Barros de Jesus Santos

Graduanda em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: etnobiologia e análise da água da Baía do Iguape, Santiago do Iguape (Laboratório de Análise Molecular-Lamol e no Laboratório de Qualidade de Água). E-mail: martabarros91@gmail.com

Marilene Barbara dos Santos

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) e em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Pitágoras (UNOPAR). Área de atuação: Biomarcadores, biomonitoramento, ecotoxicologia. E-mail: marilenebarbara_mbs.@hotmail.com

Mariza Alves Ferreira

Graduação em Engenharia Agrônoma, Mestrado em Microbiologia Agrícola e Doutorado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Segurança

alimentar, microbiologia ambiental e resistência antimicrobiana.
E-mail: marizaufrb@yahoo.com.br

Moacyr Serafim Júnior

Graduação em Biologia pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná e Mestrado e Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Docente do curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Limnologia, Gestão Ambiental e Aquicultura. E-mail: moa.ufrb@gmail.com

Norma Suely Evangelista-Barreto

Graduação em Engenharia de Pesca e Mestrado em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará (UFC) e Doutorado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Docente na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Tecnologia do Pescado e Microbiologia de Alimentos. E-mail: nsevangalista@ufrb.edu.br

Olga Beatriz Alves de Sousa Ferreira

Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Parasitologia e doenças parasitárias (GPPDP) e pequenos animais. E-mail: olgabeatrizvet@gmail.com

Patrícia Luz Ribeiro

Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas, Mestrado e Doutorado em Botânica pela Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Área de atuação: Sistemática vegetal, genética de populações, filogenia molecular e biogeografia. E-mail: patriciaribeiro@ufrb.edu.br

Pedro Rege Moura da Conceição

Graduando em Bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Estrutura de Comunidades Vegetais e Restauração Ecológica.
E-mail: rege.moura@hotmail.com

Ramon Lima Soares Junior

Graduando em Bacharelado Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo do Bahia (UFRB). Área de atuação: Anatomia vegetal, com ênfase em anatomia e histoquímica de galhas foliares.

E-mail: ramonlima1@outlook.com

Ricardo Vieira Alexandrino

Graduação em Bacharelado em Biologia e Mestrado em Solos e Qualidade de Ecossistemas pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Licenciado em Biologia pela Faculdade Regional de Filosofia, Ciências e Letras (FAC). Áreas de atuação: Ecologia, Gestão Ambiental, Ciências do Solo e Geoprocessamento.

E-mail: alexandrino.doc@gmail.com

Robson Cerqueira Bahia

Graduação em Medicina Veterinária, Mestrado e Doutorado em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). Pós-doutorado pela Universidade de Dublin, Irlanda (UCD). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Doenças infecciosas, saúde única e biossegurança, com ênfase em Imunologia aplicada e microbiologia.

E-mail: robsonba@ufrb.edu.br

Rogério Ferreira Ribas

Graduação em Ciências Biológicas, Mestrado em Botânica, Doutorado e Pós-Doutorado em Fisiologia Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Botânica, com ênfase em Ecofisiologia Vegetal (fotoinibição, fotossíntese e fluorescência de clorofila). E-mail: ribas@ufrb.edu.br

Rogério Marcos de Oliveira Alves

Graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade Federal da Bahia (UFBA) e Licenciatura Plena pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Especialização em Tecnologias de Convivência no Semiárido pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mestrado em Agronomia pela Universidade Federal

da Bahia (UFBA). Doutorado e Pós-Doutorado em Ciências Agrárias Doutorado pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Docente Titular do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano (IFBA). Área de atuação: Manejo de Abelhas sem Ferrão (Meliponíneos) e cultivo de orquídeas. E-mail: eiratama@gmail.com

Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva

Graduação em Agronomia, Mestrado em Ciência Animal, Doutorado e Pós-Doutorado em Ciências Agrárias pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Compostos bioativos e processos fermentativos. E-mail: samiracavalcantesilva18@gmail.com

Sérgio Schwarz da Rocha

Graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP/ Rio Claro). Mestrado e Doutorado em Zoologia pela Universidade de São Paulo (USP). Professor da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Zoologia (sistemática, ecologia populacional e biologia reprodutiva de crustáceos Decapoda). E-mail: ssrocha@ufrb.edu.br

Simone Alves Silva

Graduação em Agronomia pela Universidade Federal da Bahia (UFRBA). Mestrado em Fitomelhoramento, Doutorado em Melhoramento Genético e Pós-doutorado pela Universidade Federal de Pelotas (UFP). Docente da Universidade Federal da Bahia-UFBA (2004 a 2006) e docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: Agronomia, com ênfase em Melhoramento Vegetal e Biotecnologia. E-mail: sas@ufrb.edu.br

Suelen Oliveira França

Graduação em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Microbiologia, análises físico-química dos méis de abelhas africanizadas e saúde das abelhas (molecular). E-mail: suelem_franca01@hotmail.com

Talita Lopes Honorato

Graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará (UFC) e Doutorado em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Pós-Doutorado em Engenharia Química na UNICAMP e na UFC. Docente da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Fermentação submersa e em estado sólido, produção de enzimas e oligossacarídeos, bioensaios. E-mail: talitahonorato@ufrb.edu.br

Thais Arrais Mota

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB e em Licenciatura em Biologia pela Instituição de Ensino Superior Claretiano. Mestrado em Ciência Animal (PPGCA) pela UFRB. Possui experiência em Ecotoxicologia aquática e Biomonitoramento de ecossistemas dulcícolas e de manguezais. E-mail: thai_motta@hotmail.com

Thayane Pereira Macedo

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB e em Licenciatura em Biologia pela Instituição de Ensino Superior Claretiano. Mestrado em Botânica pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Área de atuação: Extensão em comunidades produtoras de plantas medicinais e Anatomia vegetal (órgãos vegetativos e ênfase em estruturas secretoras, histoquímica), bem como na área de Educação básica no ensino fundamental e médio. E-mail: thayanemacedo@gmail.com

Theila dos Santos Santana

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Especialização em Análises Clínicas e Gestão Laboratorial na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Áreas de atuação: Biomonitoramento, biomarcadores bioquímicos e análises clínicas. E-mail: theilaribeirosantana@gmail.com

Tiago Santos Freitas

Graduação em Bacharelado em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Especialização em Educação

Ambiental pela Faculdade de Educação São Luís (FSL). Coordenador de Educação Ambiental no Instituto Fundo Limpo (gerenciamento de resíduos sólidos e seus impactos ambientais). Professor da Formação Técnica em Saúde (FORTES), onde leciona disciplinas correlatas às áreas de Biologia. E-mail: tiago.tsf@gmail.com

Vivian Gama Barreto

Graduanda em Licenciatura em Biologia pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Área de atuação: Zoologia, com ênfase em anfíbios e répteis. E-mail: viviangamabw@gmail.com

Wendell Marcelo de Souza Perinotto

Graduação em Medicina Veterinária, Mestrado e Doutorado em Ciências Veterinárias (área de concentração em Parasitologia) pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Docente na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Áreas de atuação: controle microbiano e fitoterápico de artrópodes e helmintos; ensaios bioquímicos da relação parasito-hospedeiro e testes de formulações fúngicas. E-mail: wendell@ufrb.edu.br

Um curso de Bacharelado em Biologia traz em sua essência desafios que transcendem a formação específica e passam pela formação da consciência do seu estudante, sobre sua responsabilidade individual no todo ambiental e social. Despertar o interesse dos profissionais desta área, pelos diferentes aspectos dos processos biológicos, envolve estimular os sentimentos de empatia e solidariedade, de forma que o biólogo se enxergue como parte responsável de sua sociedade e de um universo de ecossistemas. A obra que apresentamos revela uma história de conquistas, que vem sendo construída por todos que fizeram e fazem parte deste curso, na formação de profissionais comprometidos, como preconiza o juramento do Biólogo. Que esta história possa encantar a cada leitor, como encanta a quem a constrói! Boa leitura!

ISBN: 978-65-87743-22-6

