
SITIENTIBUS

Série Ciências Biológicas

VOLUME 9 - NÚMERO 1, JANEIRO-MARÇO DE 2009



Capa: Detalhe da Inflorescência. (Pág. 33).

Sitientibus Série Ciências Biológicas é uma publicação da Universidade Estadual de Feira de Santana, editorada sob a responsabilidade do Departamento de Ciências Biológicas.

SUMÁRIO

PARASITOLOGIA

- BRUNO S. DE ARAÚJO, JOÃO FRANCISCO DOS SANTOS, TAHISE DA S. NEIVA, ROBERTO R. DE MAGALHÃES FILHO & DANIEL DA SILVA RIOS – Associação das parasitoses intestinais com anemia e eosinofilia em escolares do povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Bahia, Brasil.....3

BOTÂNICA

- VANUSA TUBBS DE SOUZA & GILSON ROBERTO DE SOUZA – Composição florística da trilha ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil.....8
- KÁTIA ROSE SILVA MARIANO, SOLANGE MARIA COSTA AMORIM, CARLOS ALBERTO SANTIAGO MARIANO JÚNIOR & KILMA KELLY ALMEIDA SILVA – Estimativa de área foliar através de método não destrutivo em *Coccoloba rosea* Meisn. e *Coccoloba ramosissima* Wedd. (Polygonaceae).....19
- JOSEANE BRANDÃO PIRES, FLÁVIO FRANÇA & ANTÔNIO DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO NETO – Avaliação da homogeneidade em populações de Lemnoideae (Araceae).....24
- MARIA DAS GRAÇAS LAPA WANDERLEY & RAFAEL BATISTA LOUZADA – Delimitação morfológica e reconhecimento de *Orthophytum amoenum* (Ule) L.B. Sm. (Bromeliaceae).....30

MICOLOGIA

- MARÍLIA LORDÉLO CARDOSO, HILANA SALETE SILVA OLIVEIRA, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO & HÉLIO MITOSHI KAMIDA – Biodegradação de celulose e lignina por fungos: uma breve revisão.....35
- RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA, ARISTÓTELES GÓES-NETO, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO, CARLOS AUGUSTO ROSA & SANDRA APARECIDA DE ASSIS – Produção de pectinases por leveduras: uma revisão.....41
- RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA, ARISTÓTELES GÓES-NETO, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO, CARLOS AUGUSTO ROSA & SANDRA APARECIDA DE ASSIS – Potencial biotecnológico de leveduras carotenogênicas: uma breve revisão.....48
- GERUZA DE OLIVEIRA CEITA, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO & HÉLIO MITOSHI KAMIDA – Emprego de substratos convencionais e alternativos para produção de cogumelos comestíveis: uma breve revisão.....52
- VIVIAN UMBELINO MIRANDA MACEDO, MANOELITO COELHO DOS SANTOS JÚNIOR, ALEX GUTTERRES TARANTO, CATIANE DO SACRAMENTO SOUZA, RAFAELA SANTOS GALANTE, BRUNO S. ANDRADE, SANDRA APARECIDA DE ASSIS & ARISTÓTELES GÓES-NETO – Aspectos gerais do *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora, o agente etiológico da vassoura-de-bruxa.....57

ZOOLOGIA

- IVONNE LANDERO-TORRES, HÉCTOR OLIVA-RIVERA, JULIETA RAMOS-ELORDUY, MARÍA ELENA GALINDO TOVAR, HILDA LEE-ESPINOSA & JOAQUÍN MURGUÍA-GONZÁLEZ – Uso de la diversidad vegetal por *Atta cephalotes* L. 1758 en San Rafael Piña, municipio de Zentla, Veracruz, México.....66

NOTAS E COMENTÁRIOS

- HITOSHI NOMURA – Eurico Santos e a divulgação científica no Brasil.....71

SUMMARY

PARASITOLOGY

- BRUNO S. DE ARAÚJO, JOÃO FRANCISCO DOS SANTOS, TAHISE DA S. NEIVA, ROBERTO R. DE MAGALHÃES FILHO & DANIEL DA SILVA RIOS – Association of intestinal parasitosis with anemia and eosinophilia in students from the village of Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Bahia, Brazil.....3

BOTANY

- VANUSA TUBBS DE SOUZA & GILSON ROBERTO DE SOUZA – Floristic composition in the ecological trail of the Municipal Natural Park Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil.....8
- KÁTIA ROSE SILVA MARIANO, SOLANGE MARIA COSTA AMORIM, CAROS ALBERTO SANTIAGO MARIANO JÚNIOR & KILMA KELLY ALMEIDA SILVA – Leaf area estimation using a non-destructive method in *Coccoloba rosea* Meisn. and *Coccoloba ramosissima* Wedd. (Polygonaceae).....19
- JOSEANE BRANDÃO PIRES, FLÁVIO FRANÇA & ANTÔNIO DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO NETO – Evaluation of homogeneity in Lemoideae (Araceae) populations.....24
- MARIA DAS GRAÇAS LAPA WANDERLEY & RAFAEL BATISTA LOUZADA – Morphological delimitation and recognition of *Orhophytum amoenum* (Ule) L.B. Sm. (Bromeliaceae).....30

MICOLOGY

- MARÍLIA LORDÉLO CARDOSO, HILANA SALETE SILVA OLIVEIRA, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO & HÉLIO MITOSHI KAMIDA – Biodegradation of cellulose and lignin by fungi: a brief review.....35
- RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA, ARISTÓTELES GÓES-NETO, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO, CARLOS AUGUSTO ROSA & SANDRA APARECIDA DE ASSIS – Production of pectinases by yeasts: a review.....41
- RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA, ARISTÓTELES GÓES-NETO, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO, CARLOS AUGUSTO ROSA & SANDRA APARECIDA DE ASSIS – Yeasts with biotechnological potential to produce carotenoids: A brief review.....48
- GERUZA DE OLIVEIRA CEITA, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO & HÉLIO MITOSHI KAMIDA – Conventional and alternative substrates for cultivation of edible mushrooms: a brief review.....52
- VIVIAN UMBELINO MIRANDA MACEDO, MANOELITO COELHO DOS SANTOS JÚNIOR, ALEX GUTTERRES TARANTO, CATIANE DO SACRAMENTO SOUZA, RAFAELA SANTOS GALANTE, BRUNO S. ANDRADE, SANDRA APARECIDA DE ASSIS & ARISTÓTELES GÓES-NETO – Geral aspects of *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora, the etiologic agent of witches' broom.....57

ZOOLOGY

- IVONNE LANDERO-TORRES, HÉCTOR OLIVA-RIVERA, JULIETA RAMOS-ELORDUY, MARÍA ELENA GALINDO TOVAR, HILDA LEE-ESPINOSA & JOAQUÍN MURGUÍA-GONZÁLEZ – Use of the vegetal diversity by *Atta cephalotes* L. 1758 in San Rafael Piña, municipality of Zentla, Veracruz, Mexico.....66

NOTES AND COMMENTARIES

- HITOSHI NOMURA – Eurico Santos and the scientific divulgation in Brazil.....71

ASSOCIAÇÃO DAS PARASIToses INTESTINAIS COM ANEMIA E EOSINOFILIA EM ESCOLARES DO POVOADO DE MATINHA DOS PRETOS, FEIRA DE SANTANA, BAHIA, BRASIL

BRUNO S. DE ARAÚJO^{1*}, JOÃO FRANCISCO DOS SANTOS², TAHISE DA S. NEIVA³, ROBERTO R. DE MAGALHÃES FILHO⁴
& DANIEL DA SILVA RIOS⁴

¹Bolsista Extensão/PROEX-UEFS e Graduando do Curso de Ciências Farmacêuticas

²Prof. Titular da Disciplina Parasitologia Humana, Coordenador do Laboratório de Análises Clínicas do Departamento de Ciências Biológicas

³Bióloga Técnica do Laboratório de Análises Clínicas do Depto. de Ciências Biológicas

⁴Bolsista Acadêmico/UNDEC-UEFS e Graduando do Curso de Ciências Farmacêuticas

*Author for correspondence: Laboratório de Análises Clínicas, Departamento de Ciências Biológicas/UEFS, Km 03, BR 116, Campus, 44031-660, Feira de Santana, Bahia, Brasil (bruno_pharma@yahoo.com.br)

(Associação das parasitoses intestinais com anemia e eosinofilia em escolares do povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Bahia, Brasil) – Os enteroparasitos são capazes de desenvolver nos seus hospedeiros uma série de alterações fisiopatológicas responsáveis pelo desencadeamento da anemia e eosinofilia sanguínea em indivíduos parasitados. Diante do elevado índice de parasitoses intestinais observado em estudos anteriores no povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana-BA, o presente trabalho teve o intuito de avaliar a associação das enteroparasitoses com a presença de anemia e eosinofilia em escolares da referida localidade. Para isto, foram coletadas as amostras de sangue e de fezes dos alunos para a realização das análises parasitológicas e hematológicas. Das 137 amostras estudadas, 53% (73) continham parasitos intestinais, com uma ou mais espécies diferentes, sendo os Ancilostomídeos ou sua associação com outras espécies parasitárias os enteroparasitos mais frequentes; 10,24% (14) apresentaram anemia e 44,53% (61) demonstraram eosinofilia. No entanto, apesar da associação das enteroparasitoses com a presença de anemia e eosinofilia em algumas amostras analisadas, esta não foi significativa nos testes estatísticos. Desta forma, o alto índice de parasitoses intestinais e a presença de anemia e eosinofilia representam um problema de saúde pública, os quais podem comprometer o desenvolvimento e o rendimento dos escolares no referido povoado.

Palavras-chave: Enteroparasitoses, anemia, eosinofilia, alterações hematológicas, saúde pública.

(Intestinal parasitosis associated with anemia and eosinophilia in students from the village of Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Bahia, Brazil) – Enteroparasites are able to develop on their hosts a number of pathophysiological changes responsible for triggering of anemia and blood eosinophilia in parasitized individuals. Given the high rate of intestinal parasitosis observed in previous studies in the village of Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Brazil, this study was an effort to evaluate the association of enteroparasitosis with the presence of anemia and eosinophilia in students from that village. Samples were collected from students' blood and feces for carrying out parasitological and hematological analyses. Of the 137 samples studied, 53% (73) had intestinal parasites, with one or more different species, and the hookworms or their association with other parasite species were the enteroparasites most frequent. Overall, 10.24% (14) of the students had anemia and 44.53% (61) showed eosinophilia. However, despite the association of enteroparasitosis with the presence of anemia and eosinophilia in some samples, this was not significant in statistical tests. Thus, the high rate of intestinal parasites and the presence of anemia and eosinophilia represent a problem of public health, which may implicate the development and performance of the students in that village.

Key words: Enteroparasitosis, anemia, eosinophilia, hematologic changes, public health.

INTRODUÇÃO

Os parasitos intestinais podem desenvolver várias ações nos seres humanos, as quais podem levar os indivíduos a um quadro anêmico, bem como às alterações na quantidade de leucócitos, em especial eosinófilos, no sangue periférico. A fisiopatologia da anemia é comum em muitos casos de infecção por enteroparasitos, uma vez que muitos deles são capazes de absorver os nutrientes, ou até mesmo sangue, da mucosa intestinal do hospedeiro, o que pode ser perceptível pela diminuição na taxa de hemoglobina no sangue, caracterizada pela Organização Mundial de Saúde como um quadro de anemia.

Segundo CERQUEIRA *et al.* (2001), a presença de

anemia associada às enteroparasitoses deve ser resultante da subnutrição (*Ascaris lumbricoides*), da ação hematofágica (*Ancylostoma* sp.) e da ulceração das mucosas intestinais (*Entamoeba histolytica*), que pode originar pequenas, mas constantes, perdas sanguíneas no indivíduo. Entretanto, o agravamento do quadro patológico depende diretamente da carga parasitária, da idade, do estado nutricional e fisiológico do organismo, bem como da associação com outras espécies parasitárias patogênicas (CANTOS *et al.*, 2004).

Os parasitos intestinais podem estar relacionados com a diminuição do número de glóbulos vermelhos e da taxa de hemoglobina, bem como ao aumento absoluto de eosinófilos no sangue periférico. O aumento das células da

linhagem branca, em especial dos eosinófilos, pode ser indicativo de infecções parasitárias e/ou alérgicas no ser humano.

O estudo da associação entre enteroparasitoses, anemia e eosinofilia em crianças com idade escolar torna-se importante, pois elas são mais susceptíveis às parasitoses intestinais e como as necessidades nutricionais são aumentadas durante esta fase de desenvolvimento, deve-se ter uma maior atenção nestes indivíduos para o desenvolvimento das anemias carênciais. Além disso, a anemia compromete o comportamento destes indivíduos, principalmente quanto à capacidade de atenção e rendimento escolar, diminuindo a habilidade para o aprendizado (CAPRILES, 1963 *apud* GARCIA *et al.*, 1998), ao mesmo tempo proporcionando repetência, idade inadequada da criança na série e evasão escolar.

Assim, diante dos elevados índices de positividade das parasitoses intestinais retratados em estudos anteriores no referido povoado (CERQUEIRA *et al.*, 2001; ARAÚJO *et al.*, 2007), o presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência das enteroparasitoses em alunos do povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana – BA, relacionando-a com distúrbios hematológicos, como a presença de anemia e eosinofilia nestes indivíduos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho trata-se de um estudo descritivo, observacional, de corte transversal, realizado no período de maio de 2006 a agosto de 2007 em 137 escolares de 7 a 14 anos de idade, devidamente matriculados no Colégio Anísio Pereira Bernardes, Povoado de Matinha dos Prestos, Feira de Santana/BA. Este projeto obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Feira de Santana (CEP-UEFS), sob o número CAAE-0102.0.059.000-05, o qual observou os corretos procedimentos éticos das diretrizes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Para a concretização deste trabalho foram distribuídos gratuitamente no referido Colégio os coletores específicos para a realização do exame parasitológico de fezes. Além disso, foi feita a coleta de sangue dos alunos para identificar os indivíduos portadores de anemia e eosinofilia. O material coletado foi transportado para o Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (BA), onde foram realizadas as análises parasitológicas e hematológicas.

Para o exame parasitológico de fezes, a técnica adotada foi a Sedimentação Espontânea (LUTZ, 1919, HOFFMAN *et al.*, 1934), a fim de determinar os cistos de protozoários e ovos e larvas de helmintos. Para análise e diagnóstico das amostras foi utilizada a solução de lugol para a coloração das espécies e o Atlas Parasitológico de CIMERMAN & FRANCO (2006) para auxiliar na identificação das espécies parasitárias.

Já para a detecção da anemia, foram realizados o

hematócrito (centrifugação do sangue em tubos capilares), a dosagem de hemoglobina (pelo método de Cianometahemoglobina, com padrão artificial de calibração) e a observação da morfologia das hemácias, através do esfregaço sanguíneo em microscópio óptico. Para a contagem total de leucócitos foi usado a Câmara de Newbawer, enquanto para a contagem diferencial destas células foram feitas as análises dos esfregaços sanguíneos em microscópio óptico. Os casos de eosinofilia foram registrados para os indivíduos que possuíam níveis superiores a 500 eosinófilos / mm³ (LICHTMAN, 2005) e de anemia, com níveis de hemoglobina inferiores a 12g/Dl (STEFANINI *et al.*, 1995).

A avaliação dos resultados foi através da frequência relativa (%), do intervalo de confiança (I.C.) e do teste do qui-quadrado (χ^2) com nível de significância de 95 %, calculados no programa SPSS (versão 9.0) e Statistica (versão 6.0), com auxílio do Microsoft Office Excel 2003.

Os resultados foram entregues a todos que participaram da pesquisa orientando, conseqüentemente, um acompanhamento médico dos profissionais do Posto de Saúde ou do Programa de Saúde Familiar (PSF) da localidade, o que foi auxiliado pelos agentes comunitários de saúde do povoado que estavam comprometidos com a pesquisa.

Durante o desenvolvimento do projeto foram feitas palestras educativas, adaptadas às faixas etárias das crianças no referido Colégio, assim como para seus pais, com o intuito de abordar as formas de contaminação e profilaxia das parasitoses intestinais, bem como alguns de seus sintomas, para sensibilizar os indivíduos participantes da pesquisa, buscando sempre a minimização desta problemática no referido colégio e, por conseguinte, no povoado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As parasitoses intestinais são capazes de desenvolver nos seus hospedeiros uma série de alterações hematológicas que podem ser perceptíveis a partir dos exames laboratoriais. Diante do estudo realizado, foi constatada uma elevada frequência de parasitos intestinais na população estudada. Entre as 137 amostras analisadas dos escolares do Colégio Anísio Pereira Bernardes do povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana-BA, observou-se que 53,29% (n = 73) destas foram positivas para os parasitos intestinais, sendo que em 46,57% (n = 34)

Tabela 1. Frequência de parasitoses intestinais em 137 escolares do Colégio Anísio Pereira Bernardes, povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana/BA.

Escolares analisados		
Infectados - 73 (53,29%*)		Negativos
Monoparasitismo 39 (53,43*)	Poliparasitismo 34 (46,57%**)	64 (47,71%*)

*I.C. \pm 8,36%; $p < 0,05$; $\chi^2 = 0,003$; $p < 0,05$.

evidenciou-se um poliparasitismo com três ou mais espécies diferentes (Tabela 1).

Este resultado reflete a manutenção das precárias condições de saneamento básico e de higiene, ainda vigentes no povoado, além da relação direta com a forma de transmissão parasitária, que permitem a proliferação desta enfermidade. Essa informação é condizente com estudos anteriores, que demonstram um elevado índice de contaminação entre os habitantes do povoado, sendo eles iguais a 68,52% em 2000 (CERQUEIRA *et al.*, 2001) e 62,52% em 2007 (ARAÚJO *et al.*, 2007).

A mesma idéia reforçada por SANTOS *et al.* (1999) retrata a transmissão e a alta prevalência das enteroparasitoses entre as populações, principalmente de baixo nível econômico, como sendo resultantes das precárias condições sanitárias e pela falta de educação e higiene da população.

Segundo MARINHO e colaboradores (2002 *apud* ROCHA *et al.*, 2004), a alta prevalência de enteroparasitoses em crianças deve-se ao fato delas estarem mais susceptíveis ao contato com as formas infectantes, ao mesmo tempo pela imunidade deficiente para eliminação dos parasitos. Para LUDWIG *et al.* (1999), essa contaminação se deve ao desconhecimento dos princípios básicos de higiene e a maior exposição a partir do contato com o solo, possivelmente contaminado por ovos e larvas dos parasitos, onde se desenvolve as atividades de lazer da maioria da população.

De acordo com CERQUEIRA *et al.* (2001), a presença dos parasitos no hospedeiro pode desenvolver uma série de ações fisiopatológicas como resultante dessa associação. ROCHA e colaboradores (2004) retratam que esta associação constitui um tema ainda crescente no âmbito da saúde pública, principalmente em crianças com idade escolar, pois a presença de alguns parasitos costuma determinar o aparecimento da anemia, especialmente a ferropriva, nos seus hospedeiros.

Os resultados encontrados para a anemia neste estudo foram de 10,22% (n = 14), enquanto que 89,78% (n = 123) não foram identificadas anormalidades no diagnóstico laboratorial desta enfermidade. Entre os 14 indivíduos positivos para a anemia, observou-se que 64,29% (n = 9) destes eram portadores de parasitos intestinais, sendo os Ancilostomídeos e sua associação com outras espécies parasitárias, o parasito com maior percentual nas amostras estudadas (Tabelas 2 e 3).

Tabela 2. Frequência de indivíduos anêmicos em 137 escolares do Colégio Anísio Pereira Bernardes, povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana/BA.

Indivíduos analisados		
A anêmicos - 14 (10,22%*)		Negativos 123 (89,78%*)
Com enteroparasitoses 9 (64,29%*)	Sem enteroparasitoses 5 (35,71%*)	

*I.C. ± 5,1%; p<0,05; $\chi^2 = 0,003$; p<0,05.

Tabela 3. Frequência de parasitoses intestinais em nove escolares portadores de anemia do Colégio Anísio Pereira Bernardes, povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana/BA.

Parasitas Intestinais	Número de de escolares
<i>E. coli</i>	1 (11,11%)
Ancilostomídeos	1 (11,11%)
<i>A. lumbricoides</i>	1 (11,11%)
Ancilostomídeos + <i>E. coli</i>	3 (33,34%)
<i>G. lamblia</i> + <i>I. butschilii</i>	1 (11,11%)
<i>E. coli</i> + <i>E. histolytica</i>	1 (11,11%)
Ancilostomídeos + <i>T. trichiura</i> + <i>E. nana</i>	1 (11,11%)
TOTAL	9 (100%)

As enteroparasitoses mais comumente verificadas em alguns estudos responsáveis pela anemia são ancilostomose, tricuriase, ascariíase, dentre outras, o que não difere deste trabalho (MAPES & TAMIGAKI, 1979; BRITO *et al.*, 2003; CANTOS *et al.*, 2004; ROCHA *et al.*, 2004). A anemia oriunda dos Ancilostomídeos, principalmente a ferropriva, pode ser resultado do intenso hematofagismo exercido pelos vermes adultos (*Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*) que promovem a perda de sangue no seu local de fixação. Já *Trichuris trichiura* ao danificar a mucosa do intestino delgado pode provocar a perda sanguínea e, conseqüentemente de hemoglobina em infecções maciças. No caso do *A. lumbricoides*, a anemia é ocasionada pela hemorragia secundária resultante do traumatismo mecânico causado pelo congestionamento de larvas nos vasos sanguíneos (LEITE, 2001; SILVA, 2001; REY, 1991).

Apesar de não serem tão intensos quando comparados com os helmintos, os protozoários intestinais podem promover complicações gastrointestinais, que têm efeitos severos nas crianças. No caso da *Giardia lamblia*, a má absorção de ferro gerada pela diminuição das vilosidades intestinais pode ser um dos fatores capazes de desenvolver a anemia nas mesmas. Ao contrário, a anemia resultante da *E. histolytica* deve-se, possivelmente, às hemorragias geradas pelas formas patogênicas, provocando perdas de ferro circulante. Entretanto, embora os resultados deste trabalho apresentem indivíduos anêmicos portadores de protozoários comensais, estes organismos não estão associados com o quadro fisiopatológico da anemia, pois os mesmos se alimentam de detritos e bactérias na luz do intestino não causando mal ao hospedeiro.

Além da anemia, as parasitoses intestinais são capazes de desenvolver outras alterações hematológicas como resultado da resposta imunológica contra a invasão destes agentes parasitários. No caso da eosinofilia, observou-se que estava presente em 44,53% (n = 61) das amostras estudadas. Dos 61 casos de eosinofilia encontrados, 60,66% (n = 37) continham parasitos intestinais, enquanto que em 39,34% (n = 24) das amostras não foram visualizadas formas infectantes (Tabela 4). Assim,

como ocorreu nos casos de anemia, dentre as espécies parasitárias, os Ancilostomídeos ou a associação deste com outras espécies parasitárias, foram os helmintos mais prevalentes entre os portadores eosinofílicos que continham enteroparasitoses (Tabela 5).

Segundo COSTA *et al.* (1960), a eosinofilia causada por parasitos intestinais pode ser resultado de um fenômeno alérgico. A elucidação deste fato poderia ser devido à ação de alguns produtos originários dos agentes infestantes, que desencadeiam mecanismos de defesa e, por sua vez, estimulam a produção de maior número de eosinófilos no sangue. Para MEDEIROS *et al.* (2006), é normalmente na fase aguda da resposta imune e alérgica às parasitoses, o momento em que há o desenvolvimento de uma resposta específica ao parasito, caracterizada pelos altos níveis de IgE e de eosinófilo no sangue periférico, sendo esta célula também presente nos tecidos na tentativa de destruir ou imobilizar o parasito.

É bom salientar que nem todos os parasitos intestinais são capazes de promover a eosinofilia no indivíduo parasitado, sendo esta mais proeminente nos casos de infecção com invasão tecidual (MELO-REIS *et al.*, 2007). Isto pode ser contundente com o presente estudo,

pois foram observados escolares portadores de Ancilostomídeos com diferentes alterações hematológicas diante da infecção do parasito. Entre os 34 escolares positivos para os Ancilostomídeos foi observado que 64,71% (n = 22) eram apenas eosinofílicos, 5,88% (n = 2) apresentavam ambas as alterações hematológicas (anemia e eosinofilia) e 29,41% (n = 10) não apresentavam nenhuma destas anormalidades sanguíneas.

As diferentes formas de manifestação a uma infecção parasitária podem ocorrer devido a vários fatores associados ao hospedeiro, como: aspecto nutricional, incidência parasitária, estado imunológico e período de contato com o parasito, entre outros. Os principais enteroparasitos encontrados na literatura que induzem a eosinofilia sanguínea são o *Schistosoma mansoni* (REY, 1991), o *A. lumbricoides* (SILVA, 2001) e os Ancilostomídeos (LEITE, 2001), estando de acordo com os resultados encontrados neste trabalho. Contudo, há pouca literatura que aborda a relação entre protozoários e eosinofilia, sendo que quando abordada, o parasito referido é a *Giardia lamblia* (MELO-REIS, 2007).

Apesar da anemia e da eosinofilia, associado às parasitoses, serem extensamente abordados na literatura, a análise estatística do cruzamento dos dados não verificou a existência desta inter-relação no presente trabalho ($\chi^2 = 0,003$; $p < 0,05$). LEE (1998 *apud* ROCHA *et al.*, 2004) reporta que, além das enteroparasitoses, o estabelecimento da anemia pode ocorrer pela presença de outros fatores, como uma dieta inadequada ou deficiente de ferro. Esta idéia é reforçada por MONTEIRO e colaboradores (2000 *apud* FERREIRA *et al.*, 2002) que relata a ocorrência de anemia ferropriva na infância proveniente da combinação de necessidades elevadas de ferro impostas pelo crescimento e as dietas pobres desse mineral, além da alta prevalência das parasitoses intestinais.

Vale salientar que as deficiências nutricionais, não só de ferro como também de ácido fólico e vitamina B12 nos alimentos, podem ser uma das causas da anemia verificada no presente estudo. Daí, o aparecimento de 35,71% (n = 5) de indivíduos anêmicos não portadores de parasitoses intestinais (Tabela 2). Da mesma forma como acontece na anemia, outros fatores podem ser responsáveis pelo desencadeamento da eosinofilia nos indivíduos deste trabalho. As reações alérgicas a poeira, medicamentos, insetos, grãos de pólen, entre outros, provocam um aumento do número de eosinófilos na corrente sanguínea. Entretanto, para confirmação desta hipótese faz-se necessário a realização de exames mais criteriosos para a elucidação desta alteração hematológica.

As parasitoses intestinais e suas complicações hematológicas constituem um problema de saúde pública, pois sua presença está atrelada às condições sociais e econômicas das classes de renda mais baixa, mediante alimentação quantitativa e qualitativamente inadequada, bem como a precariedade de saneamento ambiental ou indicadores que direta ou indiretamente poderiam estar

Tabela 4. Freqüência de indivíduos eosinofílicos em 137 escolares do Colégio Anísio Pereira Bernardes, povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana/BA.

Total de Indivíduos		
Eosinofílicos - 61 (44,53% *)		
Com Enteroparasitoses 37 (60,66% *)	Sem Enteroparasitoses 24 (39,34% *)	Negativos 76 (55,47% *)

*I.C. \pm 8,36%; $p < 0,05$; $\chi^2 = 0,003$; $p < 0,05$.

Tabela 5. Prevalência de parasitoses intestinais nos 37 escolares portadores de eosinofilia do Colégio Anísio Pereira Bernardes, povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana/BA.

Parasitas intestinais	Número de escolares
<i>E. coli</i>	3 (8,11%)
Ancilostomídeos	12 (32,43%)
<i>T. trichiura</i>	3 (8,11%)
<i>E. vermiculares</i>	1 (2,71%)
<i>E. nana</i>	1 (2,71%)
Ancilostomídeos + <i>E. coli</i>	5 (13,50%)
<i>E. histolytica</i> + <i>E. coli</i> + <i>E. nana</i>	2 (5,40%)
Outras associações*	10 (27,03%)
TOTAL	37 (100%)

* *E. coli* + *E. butchilii* + *G. lamblia*; Ancilostomídeos + *E. coli* + *E. nana*; Ancilostomídeos + *E. histolytica* + *E. coli*; Ancilostomídeos + *T. trichiura* + *E. coli* + *G. lamblia* + *E. nana*; *E. coli* + *E. nana* + *G. lamblia*; Ancilostomídeos + *T. trichiura* + *E. nana*; Ancilostomídeos + *T. trichiura*; *A. lumbricoides* + *E. vermiculares* + *E. coli* + *E. nana*; Ancilostomídeos + *G. lamblia*; *E. coli* + *E. nana*.

contribuindo para a sua elevada prevalência (Osório, 2002).

Diante disso, a problemática das enteroparasitoses merece destaque por parte dos governantes pelos prejuízos que podem trazer a saúde dos seres humanos, sendo por isso imprescindível o desenvolvimento de programas capazes de combaterem e/ou erradicarem essas enfermidades, uma vez que estas podem alterar o comportamento e o rendimento das crianças nas escolas.

Assim, o diagnóstico das parasitoses intestinais, pelo exame parasitológico, e a identificação dos casos de anemia e eosinofilia, pelos exames hematológicos, representa uma ferramenta indispensável para a avaliação de alterações clínico-laboratoriais, constituindo um método menos trabalhoso e oneroso para diagnose destas enfermidades.

CONCLUSÃO

A manutenção dos altos índices de parasitoses intestinais no povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana-BA deve estar relacionada à manutenção das

péssimas condições de vida e de higiene ainda vigente na localidade. Entretanto, as infecções parasitárias não demonstraram associação com as alterações hematológicas estudadas neste trabalho (anemia e eosinofilia). Estudos complementares deverão ser realizados para elucidar as causas do desenvolvimento da anemia e da eosinofilia verificados nos resultados dos indivíduos examinados, merecendo uma atenção especial por parte das autoridades governamentais a estas enfermidades, uma vez que estas podem comprometer o rendimento escolar dos escolares estudados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Pró-Reitoria de Extensão/UEFS pelo apoio e concessão de bolsas, aos Agentes Comunitários de Saúde do Povoado de Matinha dos Pretos, à Regina Lúcia Souza Oliveira, Diretora do Colégio Anísio Pereira Bernardes, pelo comprometimento e colaboração, ao Professor de Bioestatística, Antônio de Oliveira Costa Neto, pela análise estatística dos dados, à Coordenação e funcionários do Laboratório de Análises Clínicas da UEFS, pelo apoio na realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO BS DE, JF DOS SANTOS, AS OLIVEIRA & TS NEIVA. 2007. Análise comparativa dos índices de parasitoses intestinais, avaliada em duas etapas diferentes, no povoado de Matinha dos Pretos, Feira de Santana, Bahia, Brasil. **Sítientibus, ser. Ci. Biol.** 7(1): 10-14.
- BRITO LL, LM BARRETO, RCR SILVA, AMO ASSIS, GM REIS, I PARRAGA & RE BLANTON. 2003. Fatores de risco para a anemia por deficiência de ferro em crianças e adolescentes parasitados por helmintos intestinais. **Revista Pan-americana de Saúde Pública** 14(6): 422-431.
- CANTOS GA, RL DUTRA & JPK KOERICH. 2004. Ocorrência de anemia ferropriva em pacientes com enteroparasitoses. **Saúde em Revista** 5(10): 43-48.
- CERQUEIRA EM, JF SANTOS, JML BRINGEL, JE CORREIA, LA CRUZ LUZ, AO SANTOS, EM GONÇALVES & GP JESUS. 2001. Identificação de anemia e parasitoses em um povoado de Feira de Santana-Ba (Matinha dos Pretos) no período de maio de 1999 a abril de 2000. **Revista Brasileira de Análises Clínicas** 3: 53-55.
- CIMERMAN B & MA FRANCO. 2006. **Atlas de parasitologia**. Rio de Janeiro: Atheneu.
- COSTA OR, ES SILVA, N BRITO, O FORTE & L LINS. 1960. Eosinofilia sangüínea. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública** 11(1): 197-206.
- FERREIRA SH, ML DE ASSUNÇÃO, VS DE VASCONCELOS, FP DE MELO, CG DE OLIVEIRA & TO SANTOS. 2002. Saúde de populações marginalizadas: desnutrição, anemia e enteroparasitoses e crianças de uma favela do "Movimento dos Sem Teto", Maceió, Alagoas. **Revista Brasileira Materno Infantil** 2(2): 177-185.
- GARCIA LYC, ACA MOTA, VO FILHO & FAC VAZ. 1998. Anemias e carências na infância. **Revista Revisões e Ensaios** 20(2): 112-125.
- HOFFMANN WA, JA PONS & JL JANER. 1934. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health Tropical Medicine** 9: 283-293.
- LEITE ACR. 2001. Ancylostomidae, p. 234-243. In: DP NEVES, AL DE MELO, O GENARO & MP LINARDI (eds). **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu.
- LICHTMAN M & WJ WILLIAMS. 2005. **Manual de hematologia de Williams**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed.
- LUDWIG KM, F FREI, F ÁLVARES FILHO & JT RIBEIRO-PAES. 1999. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 32(5): 547-555.
- LUTZ A. 1919. *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis observed in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 11: 121-125.
- MAPES V & M TAMIGAKI. 1979. Importância da reabsorção do ferro da hemorragia intestinal provocada pela ação dos vermes na progressão da anemia. **Revista Saúde Pública** 13: 357-365.
- MEDEIROS D, AR SILVA, JA RIZZO, ME MOTTA, FHB DE OLIVEIRA & ESC SARINHO. 2006. Total IgE level in respiratory allergy: study of patients at high risk for helminthic infection. **Jornal de Pediatria** 82(4):
- MELO-REIS PR DE, JAF DINIZ-FILHO, KGB DIAS-PENNA, SHN COSTA, MM DE MESQUITA, JB DA SILVA, FS CASTRO & LC CHEN. 2007. Correlação entre eosinofilia e protoparasitose por *Giardia lamblia* em crianças. **Revista Brasileira de Análises Clínicas** 39(3): 237-239.
- OSÓRIO MM. 2002. Fatores determinantes da anemia em crianças. **Jornal de Pediatria** 78(4): 269-278.
- REY L. 1991. **Parasitologia**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- ROCHA GKAM, JAP CAVALCANTE, PF DOS SANTOS, GJA DA ROCHA & TMD MEDEIROS. 2004. Prevalência de anemia em crianças e adolescentes portadores de enteroparasitoses. **Revista Newslab** 65: 172-188.
- SILVA AVM DA. 2001. *Ascaris lumbricoides*, p. 228-233. In: DP NEVES, AL DE MELO, O GENARO & MP LINARDI (eds). **Parasitologia humana**. São Paulo: Atheneu.
- SANTOS JF, JE CORREIA, SSBS GOMES, PC DA SILVA & FA BORGES. 1999. Estudos das parasitoses intestinais na comunidade carente dos bairros periféricos do Município de Feira de Santana - BA, 1993-1997. **Sítientibus** 20: 55-67.
- STEFANINI MLR, C COLL, BR LERNER, DLM LEI, SP CHAVES, MS DI PIETRO, AAM OLIVEIRA & SC SZARFARC. 1995. Anemia e desnutrição em escolares da rede pública do município de Osasco, São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Pública** 11(3): 439-447.

COMPOSIÇÃO FLORÍSTICA DA TRILHA ECOLÓGICA DO PARQUE NATURAL MUNICIPAL FAZENDA SANTA CECÍLIA DO INGÁ, VOLTA REDONDA, RIO DE JANEIRO, BRASIL¹

VANUSA TUBBS DE SOUZA² & GILSON ROBERTO DE SOUZA^{3*}

²Graduanda na Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro Universitário Geraldo Di Biase
(vavatubbs@yahoo.com.br)

³Docente no Centro Universitário Geraldo Di Biase (UGB), Departamento de Ciências Biológicas da UGB, Rua
Deputado Geraldo Di Biase, n 81, Atarrado, 27293-080, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil

*Author for correspondence: (souzabotanica@uol.com.br)

(Composição florística da trilha ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brasil) – O Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, área de estudo deste trabalho, está localizado no Município de Volta Redonda, estado do Rio de Janeiro, sob as coordenadas latitude 22°27'34''S e longitude 44°4'51''W. Compreende 211 ha e sua vegetação é composta por Mata Atlântica em sucessão secundária. Este trabalho teve como objetivo contribuir para o conhecimento da flora na trilha ecológica e servir de subsídios para projetos de Educação Ambiental, para que se estabeleça a formação de trilhas interpretativas para proporcionar à população visitante, o entendimento dos aspectos de proteção dos recursos naturais. Utilizou-se 10 parcelas de 200m x 2,5m, totalizando 0,5 ha. As parcelas foram distribuídas ao longo das margens da trilha em ambos os lados. Foi considerado DAP (Diâmetro da altura do peito) superior a 5,0 somente para indivíduos arbóreos em estado reprodutivo ou vegetativo. As espécies herbáceas somente foram amostradas em estado reprodutivo. Foram amostrados 586 indivíduos, distribuídos em 47 famílias, 105 gêneros e 119 espécies de angiospermas. As famílias com maior representatividade de espécies foram Fabaceae (18), Asteraceae (18), Malvaceae (8), Euphorbiaceae (4), Melastomataceae (4), Solanaceae (4), Lamiaceae (4), Verbenaceae (3), Lauraceae (3) e Nyctaginaceae (2). As espécies com maior representatividade em número de indivíduos foram *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard (50), *Cecropia glaziovi* Snethlage (25), *Nectandra oppositifolia* Nees (21), *Miconia discolor* DC. (18) e *Allophylus edulis* (St. Hil.) (13). Pela análise dos dados amostrados, pode-se considerar que a área de estudo é adequada e propícia para utilização em projetos de Educação Ambiental, aliado ao fato de ser uma das poucas áreas de remanescentes de Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: florística, trilha ecológica, educação ambiental, Mata Atlântica

(Floristic composition in the ecological trail of the Municipal Natural Park Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil) – The Municipal Natural Park Fazenda Santa Cecília do Ingá, is situated in Volta Redonda, Rio de Janeiro State, Brazil. Its global coordinates are 22°27'34''S latitude and 44°4'51''W longitude. It presents 211ha and its vegetation is consisted of Atlantic forest trying to find some equilibrium. The objective of this work was to contribute to the knowledge about the ecological trail flora, and it can be used for environmental educational projects in order to establish some formation of interpretative trails offering to visitors the understanding or the natural resources protection aspects. It was used 10 plots of 200m x 2.5m, resulting in 0.5ha. These plots were distributed along the trail borders in their both sides. It was considered a DBH (Diameter at Breast Height) higher than 5.0 only for arborous individuals on reproductive or vegetative conditions. Herbaceous species were only sampled by means of their reproductive condition. A total of 586 individuals were sampled, which are distributed in 47 families, 105 genera and 119 species of angiosperms. The families with more representative species were Fabaceae (18), Asteraceae (18), Malvaceae (8), Euphorbiaceae (4), Melastomataceae (4), Solanaceae (4), Lamiaceae (4), Verbenaceae (3), Lauraceae (3), and Nyctaginaceae (2). The most important species in number of specimens were *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard (50), *Cecropia glaziovi* Snethlage (25), *Nectandra oppositifolia* Nees (21), *Miconia discolor* DC. (18), and *Allophylus edulis* (St. Hil.) (13). Through the analyzed data, it could be concluded that the studied area is suitable for the development of environmental educational projects, besides it is one of the few areas of Atlantic native forest in the state of Rio de Janeiro.

Key words: Floristic, ecological trail, environmental educational, Atlantic Forest.

INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é considerada a floresta tropical mais ameaçada do planeta, possuindo atualmente apenas 5,05% da sua cobertura original, o que pode levar rapidamente ao seu desaparecimento. Poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de desenvolver programas

de conservação e recuperação da Mata Atlântica, inclusive em relação ao conhecimento e usos que as pessoas fazem dos recursos ainda encontrados nos remanescentes florestais (SILVA & ANDRADE, 2005). As áreas de Mata Atlântica ainda hoje bem preservadas estão localizadas basicamente em escarpas muito íngremes ou em altitudes elevadas, onde a prática agrícola ou madeireira se torna inviável, além de outras poucas áreas de preservação ambiental. Os desmatamentos têm ocorrido de forma mais intensa na região compreendida entre o norte do estado do

¹Projeto de Iniciação Científica do primeiro autor no Curso de Graduação em Ciências Biológicas.

Rio de Janeiro e o sul da Bahia. No caso do estado do Rio de Janeiro, a maioria das áreas foi ou têm sido utilizada para o plantio de café, cana-de-açúcar e pastagens.

A composição florística e estrutura das florestas tropicais em gradiente altitudinal estão relacionadas a fatores ambientais como temperatura, precipitação pluviométrica, umidade, velocidade dos ventos e outros. A topografia também influencia os distúrbios no sistema, por apresentar um aumento na susceptibilidade dos sítios, determinando problemas, como deslizamentos (MORENO *et al.*, 2003). Diversos tipos de distúrbios naturais ou antrópicos podem alterar a dinâmica da vegetação e desenvolver o processo de sucessão secundária, como clareiras naturais por quedas de árvores, deslizamentos de terras, ataques de insetos e incêndios florestais, influenciando a sucessão vegetal, a composição e estrutura florestal (MARTINS *et al.*, 2002).

As trilhas ecológicas interpretativas se enquadram dentro dos percursos interpretativos orientados metodologicamente e, não devem ser confundidas como meras picadas abertas na mata. Como meio de interpretação ambiental, visam não somente a transmissão de conhecimentos, mas também propiciam atividades que revelam os significados e as características do ambiente por meio dos elementos originais, por experiência direta e por meios ilustrativos, sendo assim instrumento básico de programas de educação ambiental ao ar livre (PADUA & TABANEZ, 1997).

Segundo PÁDUA (1997b) a interpretação nas trilhas pode incluir atividades dinâmicas e participativas, em que o público recebe informações sobre recursos naturais, exploração racional, conservação, aspectos culturais, históricos, econômicos, arqueológicos e outros. As trilhas são guiadas e durante o percurso o monitor interpreta o ambiente utilizando as placas e o material de apoio, estimulando sempre a participação do grupo-alvo e despertando o interesse do mesmo. Assim, o grupo deixa de ser passivo para ser ativo “descobridor” do meio natural. As trilhas devem ser avaliadas quanto à sua eficácia, em um processo contínuo e diversificado, pois a avaliação permite alterações e novas práticas. Tudo tem que ser avaliado, inclusive a mudança de comportamento no grupo-alvo. Podem ser usados como instrumento questionários pré e pós-visita com perguntas subjetivas e/ou objetivas.

O presente trabalho visou contribuir para o conhecimento da composição florística e estrutura da vegetação da trilha ecológica, servindo desta forma como subsídio para projetos de Educação Ambiental, desenvolvidos no Parque no município de Volta Redonda.

HISTÓRICO DO MUNICÍPIO DE VOLTA REDONDA

A presença do homem dito civilizado nas antigas terras dos índios Puris-Coroados, onde hoje é Volta Redonda, remonta a meados do século XVIII (1750) e prendia-se, fundamentalmente, à procura de ouro e pedras

preciosas. Ao final daquele século se registrava uma agricultura de subsistência desenvolvida pelos povoadores pioneiros vindos da região de Senhora da Conceição do Campo Alegre de Paraíba Nova, atual Resende. Porém, somente no século seguinte (anos 1800) a região foi ocupada pela lavoura de café. Assim, as terras de Volta Redonda, ao longo de todo século XIX, participaram ativamente do “Ciclo do Café” que envolveu todo Vale do rio Paraíba do Sul, e que ocorreu não só para a consolidação da independência da nação brasileira, como constituiu-se no sustentáculo econômico e político do Império do Brasil. Ao ciclo do café sucedeu a pecuária leiteira, economicamente uma alternativa importante, que chegou a ser a maior bacia leiteira do Brasil, sendo substituída pelo aço com a construção da Siderúrgica Nacional - 1941 a 1946. Em 17 de julho de 1954 após emancipação, o então distrito de Barra Mansa, conseguiu através da Lei N 2.185, a autonomia político-administrativa. Nascia o município de Volta Redonda, cristalizando um passado de grandes realizações, em nível nacional, tanto no império como na república, ancorado no café, no leite e no aço (LIMA, 2004).

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O município de Volta Redonda encontra-se situado no Sul do Estado do Rio de Janeiro, no trecho inferior do médio vale do Rio Paraíba do Sul, entre as serras do Mar e da Mantiqueira. Esta região é bastante favorecida pelo triângulo formado pelas cidades do Rio de Janeiro, São Paulo e Belo Horizonte. Compreende 182,8 km² e 350 a 707m de altitude, sob as coordenadas latitude 22°29'00''S e longitude 44°05'00''W. A estrutura hidrográfica da região caracteriza-se pela grande quantidade de riachos e córregos perpendiculares ao Rio Paraíba do Sul. Os morros apresentam alturas que variam de 50 a 200 metros de declividades.

A Fazenda Santa Cecília do Ingá está localizada no bairro Santa Cruz, na zona norte do município, sob as coordenadas latitude 22°27'34''S e longitude 44°4'51''W. Compreende 211 hectares e constitui-se no maior remanescente de Mata Atlântica do município. Foi adquirida pela prefeitura em 1955 e em 1988 foi transformada em Área de Proteção Ambiental, passando a Parque Natural Municipal através do Decreto-Lei N 10440, de 26 de setembro de 2005. Dados confirmados pela Assessoria de Comunicação Social de Volta Redonda RJ (ACS).

Levantamento florístico

O estudo foi iniciado no mês de março de 2006 e término em setembro de 2007. As espécies inventariadas foram amostradas em 10 parcelas de 200m de comprimento por 2,5m de largura totalizando 0,5 ha, demarcada alternadamente ao longo das margens da trilha em ambos os lados, utilizando para medição das parcelas trena de 100m, corda plástica e um bastão de bambu. Foram aferidos

indivíduos arbóreos e arbustivos com DAP (Diâmetro da altura do peito) superior a 5cm. Foram marcados com plaquetas de alumínio afixadas com prego de cobre e etiquetas plásticas numeradas seqüencialmente.

Foram também incluídos na amostragem todos os indivíduos herbáceos floridos e/ou frutificados ocorrentes dentro das parcelas, e tiveram seus dados registrados, além da caracterização do ambiente. Além dos indivíduos amostrados nas parcelas, foram realizadas coletas de exemplares férteis que se encontravam fora das parcelas. A coleta de material botânico foi feita com tesoura de poda ou alta poda, e os espécimes-testemunhos foram colocados em sacos de ráfia, para posterior prensagem e herborização.

A herborização foi realizada no laboratório de Biologia da Universidade Geraldo Di Biase (UGB), seguindo-se protocolos recomendados em GUEDES-BRUNI *et al.* (2002). As amostras foram incorporadas ao acervo do Herbário (VOLRE) da Universidade Geraldo Di Biase (UGB), com duplicatas no Centro de Monitoramento do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, para a montagem da coleção didática.

A identificação do material botânico foi através de comparação com exsicatas previamente identificadas dos Herbários da Universidade Geraldo Di Biase (VOLRE), da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (BRADEANUM) e do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB), e utilizou-se também de bibliografias pertinentes ao estudo. As espécies foram classificadas nas famílias reconhecidas pelo "Angiosperm Phylogeny Group II" (APG, 2003).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram amostrados 586 indivíduos, distribuídos em 47 famílias, 105 gêneros e 119 espécies de angiospermas (Tabela 1) totalizando um percentual de amostragem de 57% arbóreas, 19% herbáceas, 11% subarbustos, 8% arbustos e 5% trepadeiras (Fig. 1). Alguns indivíduos foram coletados fora da área dos pontos de amostragem da trilha ecológica e são representados por *Dombeya wallichii* Lindl. Benth. (Malvaceae); *Rodriguezia venusta* Rchb.f. (Orchidaceae); *Erythrina verna* Vell. (Fabaceae) e *Hippeastrum reginae* L. Herb. (Amaranthaceae). No período de coletas de dados, das plantas coletadas férteis tanto arbóreas quanto herbáceas, 88% apresentaram flores e 12% apresentaram frutos. Alguns grupos taxonômicos não puderam ter todos os seus táxons identificados com segurança devido à dificuldade de obtenção de material fértil ou má condição do material botânico, representando assim 7,16% de espécimes indefinidos.

As famílias mais ricas em espécies foram: Fabaceae e Asteraceae (18 cada), Malvaceae (8), Euphorbiaceae, Melastomataceae, Lamiaceae e Solanaceae (4 cada) (Fig. 2). Os cinco gêneros com maior número de espécies foram: *Caesalpinia*, *Solanum* e *Vernonia* (3), seguidos de *Lantana* e *Nectandra* (2) (Fig. 3). As espécies mais representativas em número de indivíduos foram *Clitoria fairchildiana* R.A.

Howard (50); *Cecropia glaziovii* Snelthage (25); *Nectandra oppositifolia* Nees. (21); *Leandra reversa* Cogn. (20); *Miconia discolor* DC. (18); *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J. F. Macbr. (17); *Inga edulis* Mart. (15); *Albizia polycephala* (Benth.) Killip. ex Record (15); *Mimosa artemisiana* Heringer & Paula (14) e *Allophylus edulis* (St. Hil.) Radlk. (13) (Fig. 4). As espécies representadas por somente um indivíduo foram *Croton urucurana* Baill.; *Xilopia aromatica* Lam. (Mart); *Espathodea campanulata* P. Beauv e *Leocaena leucocephala* Lam.

Algumas espécies amostradas, como *Piper amalago* L., *Solanum diflorum* Vell., *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray., *Amaranthus lividus* L., *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke. e *Hibiscus rosa-sinensis* L., apresentaram grande número de indivíduos na área de estudo. A ocorrência de *Hedychium coronarium* Benth. e *Impatiens walleriana* Hook.f. tem sido registrada no componente de todas as parcelas com alta densidade e são espécies exóticas invasoras, cuja população vem crescendo muito nos últimos anos e impedindo a germinação de sementes e o desenvolvimento de plântulas de espécies nativas no ecossistema. Estas espécies têm uma ocupação acelerada, são favorecidas pelo sombreamento e umidade das matas de beira de rios. Estas espécies, como *Impatiens walleriana*, produzem muitos frutos e suas sementes, crescem rápido e são beneficiadas pelos diferentes tipos de dispersão, e uma vez introduzidas no novo ambiente adaptam-se muito bem, entrando em competição com espécies nativas.

Trema micrantha (L.) Blume e *Ricinus communis* L. apareceram em quase todas as parcelas de amostragem, e *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard foi encontrada em maior número de indivíduos entre as arbóreas. Esta última é muito utilizada em reflorestamento heterogêneo na região do Vale do Paraíba, sendo destinada à reconstrução da vegetação e recuperação de áreas degradadas. As espécies da família Melastomataceae (gêneros *Leandra* e *Miconia*) foram encontradas formando densos agrupamentos na área, principalmente em clareiras, demonstrando serem plantas adaptadas a áreas abertas, comumente encontradas ao longo da trilha. Por outro lado, o gênero *Tibouchina* apareceu com poucos indivíduos.

As famílias Fabaceae e Asteraceae, de maior riqueza neste estudo, também foram observadas na região do entorno do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro no município de Araponga, MG (SOARES *et al.*, 2006); nos fragmentos de floresta em Camaragibe, PE (SANTOS *et al.*, 2006); no Parque Nacional da Chapada Diamantina, BA (NEVES & CONCEIÇÃO, 2007); na Floresta da Cicuta, município de Volta Redonda e Barra Mansa, RJ (SOUZA *et al.*, 2007), comprovando sua grande importância na composição florística da Mata Atlântica.

Apesar da diversidade de formações vegetais existentes, algumas famílias e gêneros encontrados neste estudo foram também encontrados em outros remanescentes citados para o Parque Estadual Intervalles

Tabela 1. Lista de espécies em ordem alfabética de famílias, amostradas na Trilha Ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, RJ. Legendas: hábitos - Arbórea (Arb), Herbácea (Herb), Trepadeira (Trep) e Subarbusto (Subarb); Flor (Fl); Fruto (Fr); número de coleta (NC).

Família	Espécie	Hábitus	Fl	Fr	NC
Acanthaceae					
	<i>Ruellia brevifolia</i> (Pohl) C.Ezcurra.	Herb	x	-	367
	<i>Thunbergia alata</i> Bojer ex Sims.	Trep	x	-	104
	<i>Thunbergia</i> sp.	Trep	x	-	537
Amaranthaceae					
	<i>Altenanthera brasiliana</i> (L.) O. Kuntze	Herb	x	-	379
	<i>Amaranthus lividus</i> L.	Herb	x	-	289
Amaryllidaceae					
	<i>Hippeastrum reginae</i> (L.) Herb.	Herb	x	-	325
Anacardiaceae					
	<i>Schinus terebintifolius</i> Raddi.	Arb	-	x	428
Annonaceae					
	<i>Xilopia aromática</i> (Lam.) Mart.	Arb	-	x	144
Apocynaceae					
	<i>Allamanda laevis</i> Markgr.	Arb	x	-	470
	<i>Peschieria fuchiaefolia</i> (A. DC.) Miers.	Arb	-	-	351
	<i>Asclepias curassavica</i> L.	Herb	x	-	199
Asteraceae					
	<i>Ageratum conyzoides</i> L.	Herb	x	-	111
	<i>Aspilia montevidensis</i> (Spreng.) Kuntze	Herb	x	-	327
	<i>Bidens alba</i> (L.) DC.	Herb	x	-	329
	<i>Centratherum punctatum</i> Cass.	Herb	x	-	165
	<i>Chaptalia nutans</i> (L.) Pol.	Herb	x	-	294
	<i>Crepis japonica</i> (L.) Benth.	Herb	x	-	221
	<i>Elvira biflora</i> (L.) DC.	Herb	x	-	219
	<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC.	Herb	x	-	177
	<i>Erechtites valerianaefolia</i> (Wolf.) DC.	Herb	x	-	366
	<i>Eupatorium laevigatum</i> Lam.	Arb	-	-	378
	<i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willd.	Trep	x	-	130
	<i>Pterocaulon virgatum</i> (L.) DC.	Herb	x	-	361
	<i>Sphagneticola trilobata</i> (L.) Pruski	Herb	x	-	246
	<i>Sonchus oleraceus</i> L.	Herb	x	-	362
	<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray.	Subarb	x	-	444
	<i>Vernonia chamaedrys</i> Less.	Subarb	x	-	154
	<i>Vernonia scorpioides</i> (Lam.) Pers.	Subarb	x	-	380
	<i>Vernonia polyanthes</i> Less.	Arb	-	-	118

Cont.

Família	Espécie	Hábitus	Fl	Fr	NC
Balsaminaceae					
	<i>Impatiens walleriana</i> Hook.f.	Herb	x	-	397
Bignoniaceae					
	<i>Pyrostegia venusta</i> (Ker Gawl.) Miers	Trep	x	-	200
	<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv.	Arb	x	-	530
	<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss.ex Kunth	Subarb	x	-	415
Boraginaceae					
	<i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) Roem. & Schult.	Arb	x	-	583
Cannabaceae					
	<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	Arb	x	-	161
Combretaceae					
	Indet.	Arb	-	-	525
Commelineaceae					
	<i>Commelina erecta</i> L.	Herb	x	-	292
Convolvulaceae					
	<i>Ipomoea</i> sp.	Trep	-	-	226
Costaceae					
	<i>Costus especiosus</i> L.	Herb	x	-	384
Chrysobalanaceae					
	Indet.	Arb	-	-	127
Cucurbitaceae					
	<i>Momordica charantia</i> L.	Trep	x	-	169
Dilleniaceae					
	<i>Curatella americana</i> L.	Arb	-	-	153
	<i>Davilla elliptica</i> A.St.-Hil.	Trep	x	-	151
Euphorbiaceae					
	<i>Chamaesyce hirta</i> (L.) Millsp.	Herb	x	-	363
	<i>Croton urucurana</i> Baill.	Arb	-	-	160
	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	Herb	x	-	328
	<i>Ricinus communis</i> L.	Herb	x	-	300
Fabaceae					
	<i>Acacia plumosa</i> Lowe	Subarb	x	-	487
	<i>Albizia polycephala</i> (Benth.) Killip ex Record	Arb	x	-	427
	<i>Bauhinia forficata</i> Link.	Arb	-	-	172
	<i>Caesalpinia peltophoroides</i> Benth.	Arb	x	-	513
	<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Arb	-	-	250
	<i>Caesalpinia echinata</i> Lam.	Arb	x	-	538
	<i>Cassia</i> sp.	Arb	-	-	181
	<i>Calliandra brevipes</i> Benth.	Arb	x	-	503

Cont.

Família	Espécie	Hábitus	Fl	Fr	NC
	<i>Clitoria fairchildiana</i> R.A. Howard	Arb	x	-	458
	<i>Crotalaria incana</i> L.	Subarb	-	-	183
	<i>Desmodium incanum</i> DC.	Herb	x	-	359
	<i>Erythrina verna</i> Vell.	Arb	-	-	188
	<i>Inga edulis</i> Mart.	Arb	-	-	147
	<i>Leucaena leucocephala</i> Lam.	Arb	-	-	212
	<i>Mimosa artemisiana</i> Heringer & Paula	Arb	-	-	110
	<i>Mimosa pudica</i> L.	Herb	x	-	358
	<i>Piptadenia gonoacantha</i> (Mart.) J.F. Macbr.	Arb	x	-	438
	<i>Senna</i> sp.	Arb	x	-	418
Lauraceae					
	<i>Nectandra oppositifolia</i> Nees	Arb	-	-	124
	<i>Nectandra membranacea</i> (Sw.) Griseb.	Arb	-	-	336
	<i>Persea</i> sp.	Arb	-	-	483
Lythraceae					
	<i>Cuphea carthagenensis</i> (Jacq.) J.F. Macbr.	Herb	x	-	371
Lamiaceae					
	<i>Aegiphila sellowiana</i> Cham.	Arb	-	-	126
	<i>Leonotis nepetifolia</i> (L.) W. T. Aiton.	Herb	x	-	213
	<i>Leonurus sibiricus</i> L.	Herb	x	-	218
	<i>Salvia splendens</i> Sellow ex Roem & Schult.	Herb	x	-	355
Magnoliaceae					
	<i>Talauma ovata</i> A. St.-Hil.	Arb	-	-	511
Malvaceae					
	<i>Chorisia speciosa</i> St.-Hil.	Arb	x	-	479
	<i>Dombeya wallichii</i> (Lindl.) Benth.	Arb	x	-	166
	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	Arb	x	-	102
	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke.	Subarb	-	-	297
	<i>Malvaviscus arboreus</i> Cav.	Subarb	x	-	282
	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb.	Arb	-	-	280
	<i>Sida rhombifolia</i> L.	Subarb	-	-	480
	<i>Triunfetta bartramia</i> L.	Subarb	-	-	127
Melastomataceae					
	<i>Cambessedesia membranacea</i> Gardner.	Arb	x	-	311
	<i>Leandra reversa</i> (DC.) Cogn.	Arb	x	-	159
	<i>Miconia discolor</i> DC.	Arb	x	-	131
	<i>Tibouchina granulosa</i> (Desr.) Cong.	Arb	-	-	211

Cont.

Família	Espécie	Hábitus	Fl	Fr	NC
Meliaceae					
	<i>Guarea macrophylla</i> Vahl.	Arb	-	-	202
Moraceae					
	<i>Morus nigra</i> L.	Arb	-	-	178
Myrtaceae					
	<i>Eugenia</i> sp.	Arb	-	-	513
	<i>Myrcia rostrata</i> DC.	Arb	-	-	173
	<i>Psidium guajava</i> L.	Arb	-	x	109
Musaceae					
	<i>Heliconia bihai</i> (L.) L. Lobster Claw.	Arb	x	-	215
	<i>Heliconia richardiana</i> Miq.	Arb	x	-	224
Nyctaginaceae					
	<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy var. <i>graciliflora</i> Heimerl	Arb	x	-	265
	<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd.	Arb	x	-	546
Orchidaceae					
	<i>Rodriguezia venusta</i> Rchb.f.	Herb	x	-	451
Oxalidaceae					
	<i>Oxalis latifolia</i> Kunth.	Herb	x	-	247
Phyllanthaceae					
	<i>Hyeronima alchorneoides</i> Allemão	Arb	x	-	381
Piperaceae					
	<i>Piper amalago</i> L.	Subarb	-	x	139
Plantaginaceae					
	<i>Plantago tomentosa</i> Lam.	Herb	x	-	353
Portulacaceae					
	<i>Talinum paniculatum</i> (Jacq.) Gaertn.	Herb	x	-	217
Proteaceae					
	<i>Roupala longipetiolata</i> Pohl.	Herb	x	-	234
Rhaminaceae					
	Indet.	Subarb	-	-	288
Rubiaceae					
	<i>Diodia</i> sp.	Arb	-	-	455
	<i>Manettia cordifolia</i> Mart.	Arb	-	-	307
Rutaceae					
	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam.	Arb	-	-	123
Sapindaceae					
	<i>Allophylus edulis</i> (A. St.-Hil.) Radlk.	Arb	-	-	502
	<i>Cardiospermum halicacabum</i> L.	Trep	x	-	349

Cont.

Família	Espécie	Hábitus	Fl	Fr	NC
	<i>Cupania oblongifolia</i> Mart.	Arb	-	-	145
Siparunaceae					
	<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Arb	-	x	125
Solanaceae					
	<i>Brugmansia suaveolens</i> (Willd.) Bercht. & C.Presl	Arb	x	-	155
	<i>Solanum americanum</i> Mill.	Herb	x	-	482
	<i>Solanum diflorum</i> Vell.	Subarb	x	-	541
	<i>Vassobia breviflora</i> (Sendtn.) Hunz.	Arb	x	-	103
Urticaceae					
	<i>Cecropia glaziovi</i> Snelthage	Arb	-	-	134
Verbeneaceae					
	<i>Lantana camara</i> L.	Subarb	x	-	256
	<i>Lantana fucata</i> Lindl.	Subarb	x	-	180
	<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Rich.) Vahl.	Subarb	x	-	373
Zingiberaceae					
	<i>Hedychium coronarium</i> Benth.	Herb	x	-	114

Base Saibadela, SP (ZIPPARO *et al.*, 2005), estando assim representados: Myrtaceae (55), Rubiaceae (32), Melastomataceae (23), Lauraceae e Solanaceae (14), para a floresta da Usina Serra Grande em Alagoas (OLIVEIRA & TABARELLI, 2005): Rubiaceae (38), Euphorbiaceae (30), Asteraceae (24), Melastomataceae (19) Sapindaceae (16) e para a Floresta da Cicuta, RJ (SOUZA *et al.*, 2007): Fabaceae (23), Myrtaceae (21), Rubiaceae (19), Lauraceae (13) e Euphorbiaceae (13). Comparando a riqueza de família por número de espécies, nota-se que das nove famílias acima referidas, cinco estão entre as mais representativas neste estudo (Fig. 2). Isto se explica pelo fato de serem famílias que apresentam espécies típicas de Floresta Atlântica.

Para comparação do número de táxons, somente Asteraceae e Fabaceae aparecem bastante distintas em termos quantitativos, em relação aos outros remanescentes acima referidos (Tabela 1). Analisando os dados, pode-se observar que o a trilha ecológica abriga um menor número de espécies por família, em destaque para a Floresta da Cicuta

(SOUZA *et al.*, 2007) representada por uma área de preservação ambiental, localizada relativamente muito próxima ao Parque do Ingá, que representa um parque municipal de visitação pública. Acredita-se que esta diferença possa estar relacionada ao fato da vegetação do Parque apresentar uma floresta em sucessão secundária inicial, apresentar população humana usando recursos naturais e por esta vegetação ter sofrido anteriormente alteração antrópica.

Os gêneros mais representativos neste estudo, *Solanum* e *Vernonia*, foram citados para o componente arbóreo-arbustivo em áreas de encosta, nas trilhas do Parque Estadual Intervales (ZIPPARO *et al.*, 2005). No componente arbóreo, destacam-se principalmente *Bauhinia forficata* (Fabaceae), estando representada por árvores de grande porte, com copas amplas, ultrapassando alturas de 30m (OLIVEIRA, 2008). Outros gêneros ocorrentes neste estudo também merecem destaque: *Albizia*, *Erythrina*, *Ingá* e *Piptadenia*, são gêneros nativos e de grande importância na Floresta Atlântica (SOUZA & LORENZI, 2005), que abriga uma diversidade em lianas e cipós, e estas plantas apóiam-se em outras que, em busca de raios solares, vão até as copas de *Thunbergia alata* (Acanthaceae) e *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), apresentando uma característica marcante no local.

Algumas espécies amostradas neste estudo apresentam grande importância medicinal, como *Bauhinia forficata* L. (Fabaceae); *Morus nigra* L. (Moraceae) e *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) sendo empregadas na medicina caseira pelos moradores e visitantes do Parque. Portanto, são relevantes informações referentes às propriedades terapêuticas de algumas espécies amostradas neste estudo, como *B. forficata* conhecida pelos moradores e visitantes do Parque como pata de vaca, sendo muito utilizada nos tratamentos de diabetes, podendo-se utilizar suas folhas e a casca da árvore para preparos de chás. *Morus nigra* é uma planta popularmente conhecida como amoreira-preta, muito utilizada pela comunidade local, não somente

pelos valores nutritivos de seus frutos, mas também por conter vários compostos com ação terapêutica. O fruto da amoreira tem sido empregado para as inflamações e hemorragias, a casca para as dores de dentes e as folhas para as mordidas de cobra e como antídoto de envenenamento por acônito. *Ageratum conyzoides*, conhecida como menstrato, é uma erva anual e aromática comum nas áreas úmidas, sendo-lhe atribuída propriedade terapêutica contra inapetência, cólicas intestinais e menstruais e no tratamento caseiro do reumatismo. Dados

que se confirmam pesquisando os autores (MATOS, 200 & BIAZZI, 2004). Os preceitos do etnoconhecimento, incluído neste trabalho, pressupõem uma sensibilidade para compreender que em comunidades e populações humanas, as diferentes informações perpassam transgeracionalmente, e que seus membros detêm um conhecimento fundamental acerca do ambiente do qual fazem parte, e não são distanciados da realidade e do cotidiano dos espaços de ocupação e manejo dos recursos disponíveis.

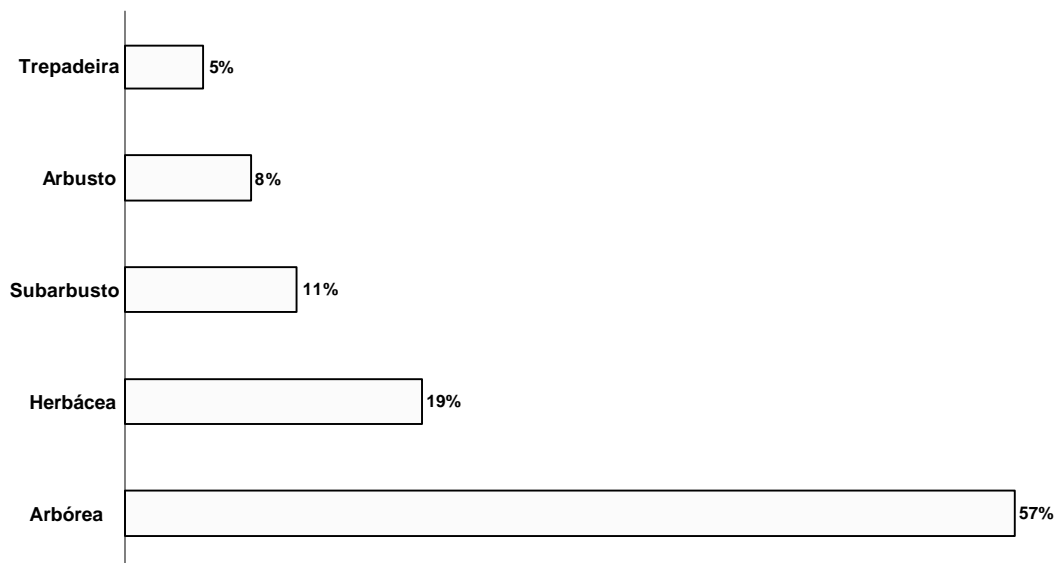


Fig. 1. Distribuição do hábito das espécies mais representativas na Trilha Ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro.

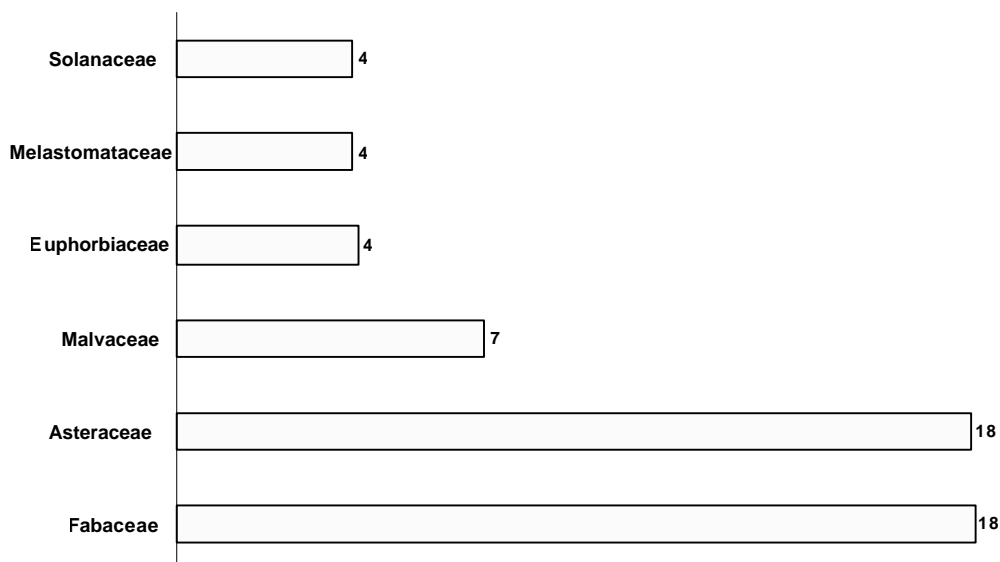


Fig. 2. Distribuição do número de famílias mais representativas na Trilha Ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro.

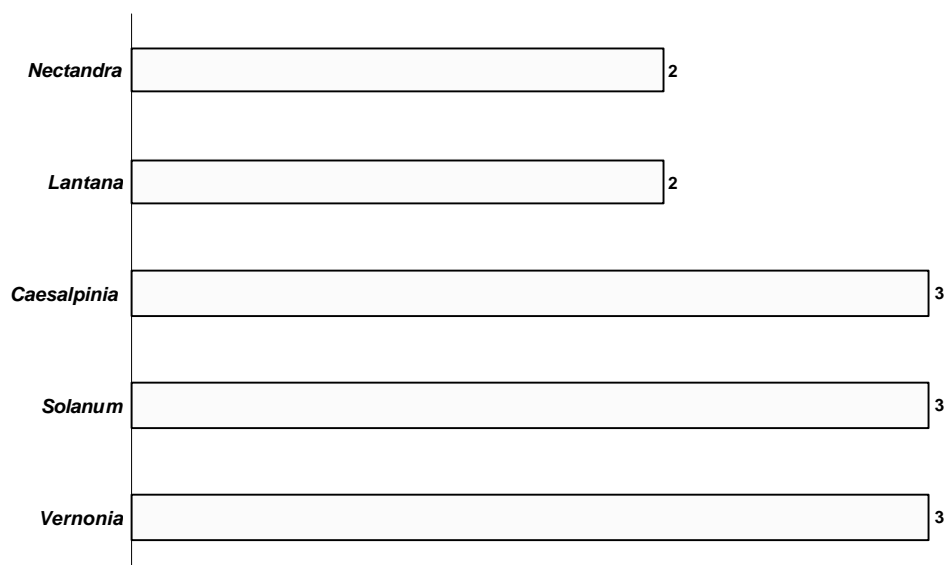


Fig. 3. Distribuição do número de gêneros mais representativos na Trilha Ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro.

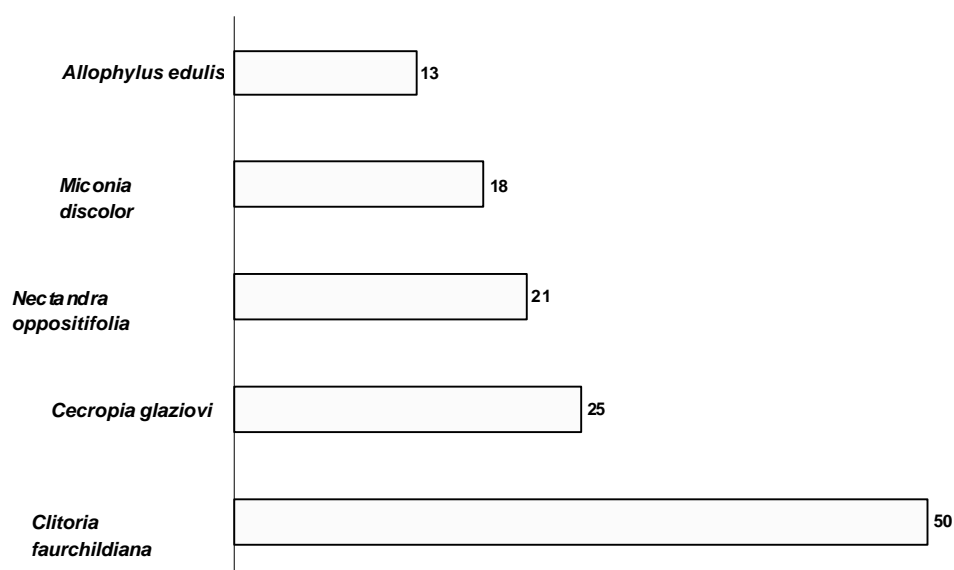


Fig. 4. Distribuição do número de espécies com maior número de indivíduos na Trilha Ecológica do Parque Natural Municipal Fazenda Santa Cecília do Ingá, Volta Redonda, Rio de Janeiro.

CONCLUSÃO

A importância ecológica e beleza cênica que a trilha do Parque representa para o município de Volta Redonda são de extrema relevância para subsidiar ações e projetos que visem práticas de Educação Ambiental, manejo e preservação dessa formação, aliado ao fato de ser uma das poucas áreas de remanescentes de Mata Atlântica no Estado do Rio de Janeiro.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Universitário Geraldo Di Biase (UGB); à COORDEMA e PMVR pela licença de coleta; aos herbários VOLRE - VOLTA REDONDA; HB - BRADEANUM e RB JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO; ao professor e amigo Dimitri Ramos Alves pela amizade e incentivo nas horas de desânimo, a minha amiga Renata Oliveira Lima da Silva pela ajuda na elaboração do texto, e a todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- APG. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- BRUMMITT RK & CE POWELL. 1992. *Authors of plants names*. Kew: Royal Botanic Gardens.
- BIAZZI E. 2004. *O maravilhoso poder das plantas*. Tatuí. SP: Casa Publicadora Brasileira.
- CHÁ E CIA. 2008. *Ervas medicinais para chá*. Disponível em <<http://www.chaecia.com.br>>.
- LIMA SRG. 2004. *Volta Redonda do café e do leite: 140 anos de história*. Volta Redonda: Nogueira.
- MATOS FJA. 2000. *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. Fortaleza: Imprensa Universitária.
- MARTINS SV, GA Ribeiro, WMS Junior & ME Nappo. 2002. Regeneração pós-fogo em um fragmento de floresta estacional semidecidual no Município de Viçosa, MG. *Ciência Florestal* 12(1): 11-19.
- MORENO MR, MT NASCIMENTO & BC KURTZ. 2003. Estrutura e composição florística do estrato arbóreo em duas zonas altitudinais na Mata Atlântica de encosta da região do Imbé, RJ. *Acta Bot. Bras.* 17(3): 371-386.
- NEVES SPS & AA CONCEIÇÃO. 2007. Vegetação em reflorestamentos rochosos na Serra do Sincorá, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 7(1): 36-45.
- OLIVEIRA MA. 2008. *Levantamento florístico dos fragmentos florestais da Usina Serra Grande, Alagoas*. (Relatório Técnico). Disponível em <www.cepan.org.br>. Acesso jun. 2008.
- PÁDUA SM. 1997. *Cerrado casa nossa: um projeto de educação ambiental do Jardim Botânico de Brasília*. Brasília: UNICEF.
- PÁDUA SM & MF TABANEZ. 1997. *Educação ambiental: caminhos trilhados no Brasil*. Brasília: Instituto de Pesquisas Ecológicas.
- POSSAS IM. 1999. *Programa GUNMA: integrando parques ecológicos e comunidade no Município de Santa Bárbara do Pará*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará.
- SILVA AJR & LHC ANDRADE. 2005. Etnobotânica nordestina: estudo comparativo da relação entre comunidades vegetação na zona do litoral - Mata do Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 19 (1): 45-60.
- SOUZA VC & H LORENZI. 2005. *Botânica sistemática*. São Paulo: Instituto Plantarum.
- SOARES MP, AWS JUNIOR, JAAMN NETO, AF SILVA & AL SOUZA. 2006. Composição florística do estrato arbóreo de Floresta Atlântica Interiorana em Araponga, Minas Gerais. *Rev. Árvore* 30(5): 859-870.
- SOUZA GR, AL PEIXOTO, MJB FARIA & AS ZAÚ. 2007. Composição florística e aspectos estruturais do estrato arbustivo-arbóreo de um trecho de Floresta Atlântica no médio Vale do Rio Paraíba do Sul, Rio de Janeiro, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 7(4): 398-409.
- ZIPARRO VB, FAG GUILHERME, RJ ALMEIDA-SCABBIA & LPC MORELLATO. 2005. *Levantamento florístico de floresta Atlântica no Sul do Estado de São Paulo, Parque Estadual Intervales, Base Saibadela*. Disponível em <<http://www.biotaneotropica.org.br>>.

ESTIMATIVA DE ÁREA FOLIAR ATRAVÉS DE MÉTODO NÃO-DESTRUTIVO EM *COCCOLOBA ROSEA* MEISN. E *COCCOLOBA RAMOSISSIMA* WEDD. (POLYGONACEAE)¹

KÁTIA ROSE SILVA MARIANO^{2*}, SOLANGE MARIA COSTA AMORIM², CARLOS ALBERTO SANTIAGO MARIANO JÚNIOR³ & KILMA KELLY ALMEIDA SILVA⁴

²Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, BR 16, Km 03, 44031-460, Feira de Santana, Bahia, Brasil

³Faculdade de Tecnologia e Ciências, Rua Artêmia Pires Freitas, s/n, SIM, 44100-000, Feira de Santana, Bahia, Brasil

⁴Universidade Estadual da Bahia, Av. Edgard Chastinet Guimarães, s/n, 48905-680, Juazeiro, Bahia, Brasil

*Author for correspondence: (katiarosesilva@yahoo.com.br)

(Estimativa de área foliar através de método não destrutivo em *Coccoloba rosea* Meisn. e *Coccoloba ramosissima* Wedd. (Polygonaceae)) – O presente estudo teve como objetivo estabelecer uma equação matemática baseada nas relações entre a área foliar real e as medidas lineares do limbo, comprimento e largura, para estimar a área foliar de *Coccoloba rosea* e *C. ramosissima* (Polygonaceae). De cada espécie, foram coletadas aleatoriamente 50 folhas de dez indivíduos diferentes. Foram registradas as medidas de maior comprimento e largura do limbo. Em seguida, a área foliar individual foi lida com um medidor de área foliar e então foram aplicadas as seguintes análises de regressão: linear simples, geométrica, exponencial, polinomial e logarítmica. Os critérios utilizados para a seleção da melhor equação foram maior coeficiente de determinação (R^2), maior coesão dos pontos e maior praticidade. As equações que se mostraram mais adequadas para a estimativa da área foliar de *C. rosea* e *C. ramosissima* foram $y=0,7705CL$ ($R^2=0,98$) e $y=0,7416CL$ ($R^2=0,91$), respectivamente.

Palavras-chave: Estimativa de área foliar, medidas lineares, *Coccoloba*.

(Leaf area estimation using a non-destructive method in *Coccoloba rosea* Meisn. and *Coccoloba ramosissima* Wedd. (Polygonaceae)) – The objective of this study was to determine a mathematical equation based on relations between the real area of the leaf and the linear measurements of its margin – length and width – in order to estimate the leaf area of *Coccoloba rosea* and *C. ramosissima* (Polygonaceae). Of each species 50 leaves of ten different individuals were collected. The leaves were measured in their length and width. Individual leaf area was measured in an area meter and then the following regression analyses were applied: simple linear, geometrical, exponential, polynomial, and logarithmic. The criteria used to select the best equation were higher determination coefficient (R^2), higher cohesion of points, and higher practicality. The equations that summed to be the most appropriate to estimate the leaf area of *C. rosea* and *C. ramosissima* were $y=0.7705CL$ ($R^2=0.98$) and $y=0.7416CL$ ($R^2=0.91$), respectively.

Key words: Leaf area, lineal measures, *Coccoloba*.

INTRODUÇÃO

A área foliar representa a medida da superfície das lâminas foliares, órgãos responsáveis pelo processo fotossintético. Considerada um importante parâmetro na avaliação do crescimento vegetal, a determinação da área foliar é fundamental para estudos que envolvam aspectos fisiológicos relacionados a padrões de crescimento e desenvolvimento (DA FONSECA & CONDÉ, 1994; TAVARES-JÚNIOR *et al.*, 2002).

A estimativa da área foliar em plantas anuais ou perenes pode ser feita através de vários métodos, os quais, na maioria das vezes, proporcionam estimativas bastante precisas (BENINCASA, 2003). Tais métodos podem ser classificados em destrutivos e não-destrutivos (MIELKE *et al.*, 1995), diretos ou indiretos

(MARSHALL, 1968; COELHO FILHO *et al.*, 2005). A

escolha do método a ser utilizado para estimar a área foliar deve estar de acordo com o objetivo do trabalho, do grau de precisão desejado, do hábito da planta, da morfologia das folhas, dos equipamentos e verba disponíveis.

Apesar de serem considerados os mais precisos (COELHO FILHO *et al.*, 2005), os métodos destrutivos não podem ser utilizados no local onde as plantas se encontram e requerem destruição da planta, impossibilitando a continuidade de estudos com os mesmos indivíduos. Já os métodos não-destrutivos permitem a réplica de medidas durante o período de crescimento, reduzindo algumas variações experimentais associadas a procedimentos de amostragens destrutivas (NEMITH, 1992). Entre os métodos não-destrutivos, destaca-se o de modelos matemáticos (MIELKE *et al.*, 1995; CHIRINOS *et al.*, 1997; BIANCO *et al.*, 2004), que utiliza equações de regressão entre a área foliar real e medidas lineares da lâmina foliar (comprimento e largura).

Existem vários estudos sobre a utilização de métodos não-destrutivos para estimar a área foliar relacionando-a com as medidas lineares da folha,

¹Trabalho extraído da dissertação de mestrado da primeira autora, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana.

comprimento e largura. A maioria refere-se a plantas cultivadas ou de interesse comercial, como *Peper nigrum* L. (KANDIANNAN *et al.*, 2002), *Phaseolus vulgaris* L. (QUEIROGA, 2003), *Vitis Labrusca* L. (WILLIAMS III & MARTINSON, 2003), *Zinnia elegans* Jacq. (PINTO *et al.*, 2004), bem como em plantas daninhas, como *Solanum americanum* Mill. (TOFOLI *et al.*, 1998b), *Cissampelos glaberrima* L. (BIANCO *et al.*, 2002) e *Tridax procumbens* L. (BIANCO *et al.*, 2004). Porém, este método também pode ser muito útil em estudos com plantas nativas na sua área de ocorrência, como é o caso de *Coccoloba rosea* Meisn. e *Coccoloba ramosissima* Wedd. (Polygonaceae), selecionadas para o estudo.

C. rosea possui hábito arbóreo com 4-9m de altura, ocorrendo somente na costa litorânea nos Estados Bahia, Alagoas, Espírito Santo e Sergipe, enquanto *C. ramosissima* possui hábito arbustivo e pode ser indicada como marcador fitogeográfico para as restingas da costa litorânea brasileira (MELO, 2003). Ambas as espécies são exclusivas do Brasil e por possuírem a capacidade de rebrotar, após distúrbios, são consideradas importantes para a recomposição de áreas degradadas de restinga (ASSUMÇÃO & NASCIMENTO, 2000).

Considerando-se sua importância ecológica e a existência de poucos estudos relacionados com estas duas espécies, a avaliação do desenvolvimento da área foliar constitui-se uma ferramenta para determinação de alguns índices fisiológicos, como razão de área foliar, taxa assimilatória líquida e taxa de crescimento foliar relativo (DA FONSECA & CONDÉ, 1994; BENINCASA, 2003). A área foliar pode também ser usada para investigar a adaptação ecológica a novos ambientes, a competição com outras espécies e os efeitos do manejo destas plantas para uso em programas de recuperação de áreas degradadas de restinga. Além disso, a utilização de um método não-destrutivo torna-se fundamental na investigação de diversos aspectos de plantas em ambientes degradados e de difícil regeneração como as restingas, sem comprometer ainda mais tais ambientes.

Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi obter uma equação matemática baseada nas relações entre a área foliar real e as medidas lineares do limbo, comprimento (C) e largura (L), para estimar a área foliar de *C. rosea* e *C. ramosissima*, como proposta de método não-destrutivo para realização de pesquisas futuras.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A área de estudo localiza-se no município de Alagoinhas, que integra a região econômica do Litoral Norte da Bahia, sendo definida pelas coordenadas 12°17'S e 38°35'W. O clima é do tipo quente e semi-úmido (IBGE, 2002), a precipitação média anual é de 1.234 mm, sendo a temperatura média anual de 23,9°C e a umidade relativa de 80,4% (INMET, 2004). Existe uma sazonalidade marcada por duas estações bem definidas. A estação seca ocorre de setembro a fevereiro e a úmida, de março a agosto.

A vegetação da área consiste em um fragmento de mata de restinga marcado por forte influência antrópica, como a extração de madeira e uso de tratores para abertura de trilhas.

Determinação da área foliar

Para determinação da área foliar, foram selecionadas cinco plantas adultas de cada espécie, das quais foram coletadas aleatoriamente 10 folhas de cada planta, totalizando 50 folhas por espécie. Estas foram numeradas e com uma régua milimetrada foram registradas as medidas de maior comprimento (distância entre o ponto de inserção do pecíolo e a extremidade oposta) e maior largura do limbo (maior dimensão perpendicular à nervura principal). Em seguida, as áreas foliares individuais foram lidas com um medidor de área foliar portátil (*Portable Area Meter MK2*).

Posteriormente, foram aplicadas análises de regressão linear simples, linear pela origem, geométrica, exponencial, polinomial e logarítmica. Tal método foi escolhido para a realização desse trabalho por apresentar as vantagens de ser relativamente rápido, de fácil utilização em condições de campo e não exigir a destruição das plantas. Além disso, pode ser feito com um mínimo de recursos (REIS & MÜLLER, 1978; GAMIELY *et al.*, 1991). Os modelos de regressões adotados consideraram a área foliar como variável dependente (y), e o comprimento, a largura e o produto do comprimento com a largura como variáveis independentes (x). Os critérios utilizados para a seleção da melhor equação foram: maior coeficiente de determinação (R²), maior coesão dos pontos e maior praticidade. O modelo de regressão interceptando a origem também foi avaliado. Este é considerado o mais recomendado para estimar a área foliar, uma vez que apresenta coeficiente de ajuste significativo e bases geométricas aceitáveis (LAKITAN, 1989).

A área foliar das folhas coletadas no campo foi estimada a partir do modelo matemático escolhido. Foram realizadas correlações, considerando o intercepto na origem, entre os valores de área foliar estimados pelo modelo escolhido e os obtidos pelo aparelho, a fim de confirmar a precisão do método não-destrutivo.

As espécies estudadas são decíduas e perdem todas as suas folhas entre os meses de outubro a dezembro (MELO, 2003). Por isso, optou-se por realizar o estudo em junho de 2005, quando as folhas apresentavam-se completamente desenvolvidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos valores do comprimento e largura das folhas é possível observar que *C. rosea* possui folhas significativamente maiores que *C. ramosissima*. Em ambas as espécies a média da área foliar real foi muito próxima da média da área foliar estimada, demonstrando a eficiência do modelo matemático utilizado (Tabela 1).

As equações de regressão obtidas apresentaram altos valores de coeficiente de determinação (R²) para as relações AF x C, AF x L e AF x CL nas duas espécies

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio-padrão) para as características comprimento e largura do limbo, comprimento x largura, área foliar real e área foliar estimada para as espécies *Coccoloba rosea* e *Coccoloba ramosissima*.

Espécies	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Comp.x Larg. (cm ²)	Área foliar real (cm ²)	Área foliar estimada (cm ²)
<i>Coccoloba rosea</i>	11,24 \pm 1,22	9,17 \pm 1,05	104,16 \pm 21,91	80,19 \pm 17,34	81,59 \pm 17,16
<i>Coccoloba ramosissima</i>	4,27 \pm 0,42	2,97 \pm 0,45	12,84 \pm 3,09	9,52 \pm 2,38	9,44 \pm 2,27

Tabela 2. Equações de regressão e coeficientes de determinação (R²) para estimativa da área foliar (AF) das espécies *C. rosea* e *C. ramosissima* em função do comprimento (C), largura (L) e Comprimento x Largura (CL).

Tipo de equação	Espécie	AF x C	R ²	AF x L	R ²	AF x CL	R ²
Linear	<i>C. rosea</i>	14,71x-85,14	0,90	15,92x-65,86	0,94	0,78x-1,40	0,98
	<i>C. ramosissima</i>	5,00x-11,84	0,80	4,61x-4,19	0,78	0,73x+0,08	0,91
Linear (0,0)	<i>C. rosea</i>	0,7705x	0,98
	<i>C. ramosissima</i>	0,7416x	0,91
Polinomial	<i>C. rosea</i>	0,33x ² +7,03x-41,72	0,90	0,99x ² -2,49x+18,02	0,95	-0,0006x ² +0,91x-8,15	0,98
	<i>C. ramosissima</i>	0,81x ² -2,10x+3,55	0,81	1,83x ² -6,37x+11,91	0,82	0,0004x ² +0,73x	0,91
Potência	<i>C. rosea</i>	0,52 x ^{2,07}	0,90	1,43 x ^{1,81}	0,94	0,69x ^{1,02}	0,97
	<i>C. ramosissima</i>	0,38x ^{2,199}	0,78	2,146x ^{1,35}	0,74	0,798x ^{0,969}	0,87
Logarítmica	<i>C. rosea</i>	165,61Ln(x)-319,72	0,89	143,33Ln(x)-236,55	0,92	81,18Ln(x)-295,29	0,96
	<i>C. ramosissima</i>	21,49Ln(x)-21,56	0,79	13,11Ln(x)-4,61	0,74	9,42Ln(x)-14,268	0,87
Exponencial	<i>C. rosea</i>	10,07e ^{0,182x}	0,89	12,61e ^{0,199x}	0,94	28,6e ^{0,009x}	0,96
	<i>C. ramosissima</i>	1,057e ^{0,508x}	0,78	2,26e ^{0,47x}	0,78	3,55e ^{0,075x}	0,88

estudadas, demonstrando que o comprimento, a largura e o produto do comprimento pela largura estiveram correlacionados positivamente com a área foliar. No entanto, foi observado que os maiores valores de R² foram obtidos para as equações de regressão linear e polinomial entre a área foliar e o produto do comprimento pela largura das folhas tanto em *C. rosea* (R²=0,98) como em *C. ramosissima* (R²=0,91) (Tabela 2). Tais valores sugerem que 98% da variação total da área foliar de *C. rosea* e 91% da variação total da área foliar de *C. ramosissima* são explicadas pelas referidas equações (BIANCO *et al.*, 2002, 2004; QUEIROGA *et*

al., 2003), indicando que elas permitem obter estimativas bastante precisas da área foliar das espécies em questão.

A estimativa de área foliar através de equações de regressão vem sendo realizada em diversas espécies, mostrando-se uma alternativa confiável para estudos que envolvam tal característica. Na maioria destes estudos, o coeficiente de determinação (R²) é utilizado como parâmetro na escolha dos modelos de estimativa de área foliar. Os valores de R² obtidos neste trabalho para *C. rosea* e *C. ramosissima* estão dentro da média dos obtidos com outras espécies (DA FONSECA & CONDÉ, 1994; TOFOLI *et al.*, 1998b;

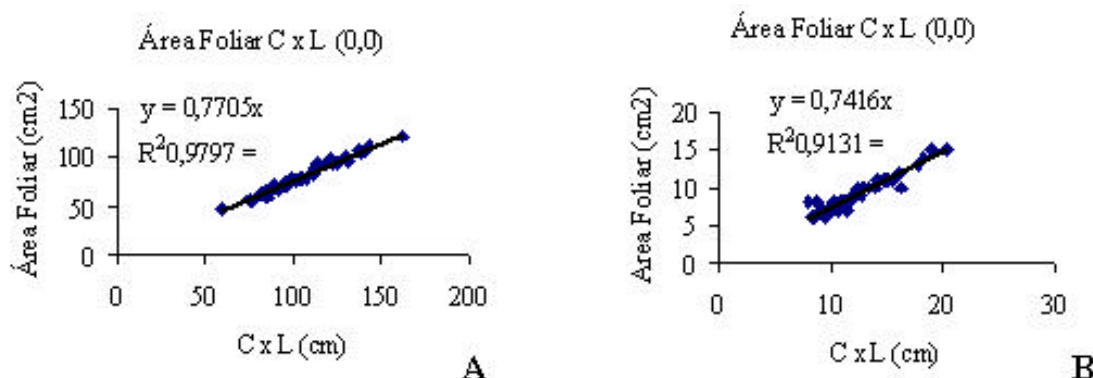


Fig. 1. Representação gráfica da área foliar de *Coccoloba rosea* (A) e *Coccoloba ramosissima* (B) e da equação de regressão indicada para a estimativa da área foliar, em função do comprimento (C) pela largura (L) do limbo foliar.

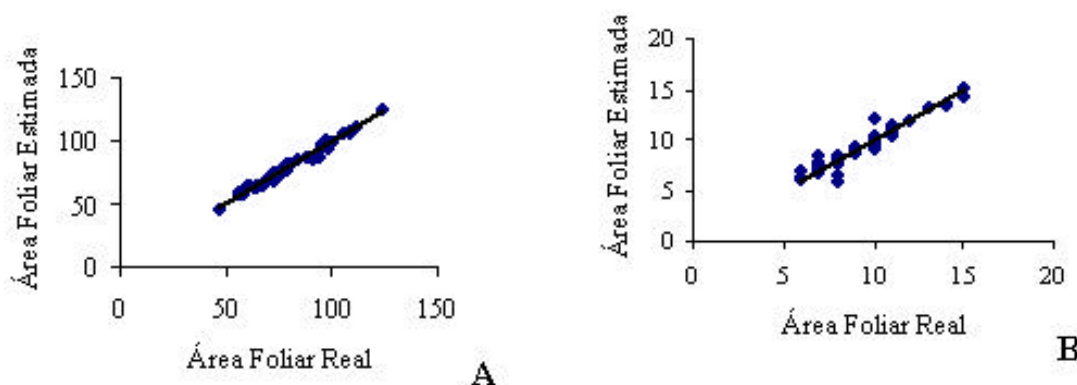


Fig. 2. Análise de correlação entre a área foliar real (cm²) (obtida pelo medidor de área foliar) e a área foliar estimada (cm²) pelo modelo linear para *Coccoleba rosea* (A) e *Coccoleba ramosissima* (B).

QUEIROGA *et al.*, 2003; BIANCO *et al.*, 2004).

Vários autores sugerem que a equação linear com intercepto na origem gera melhores resultados que a linear e por ser simplificada, torna as estimativas mais fáceis e mais rápidas (LAKITAN, 1989; QUEIROGA *et al.*, 2003; BIANCO *et al.*, 2004). Com base nesta informação, utilizou-se o modelo com intercepto na origem para as relações entre a área foliar e o produto do comprimento pela largura, obtendo-se valores de R² semelhantes ao da equação linear inicialmente determinada, apresentando também uma ótima coesão de pontos. Por ser uma equação mais simples e fácil de ser utilizada, a equação linear com intercepto na origem foi a escolhida para estimação da área foliar nas espécies estudadas.

Desta forma, a equação selecionada para se estimar a área foliar de *C. rosea* foi $y=0,7705CL$, que corresponde a 77,05% do produto entre o comprimento e a largura máxima da folha com R²=0,979 (Fig. 1a). A equação selecionada para *C. ramosissima* foi $y=0,7416CL$, que corresponde a 74,16% da área dada pelo comprimento x largura com R²=0,913 (Fig. 1b).

A correlação entre os valores de área foliar real (obtidos pelo medidor de área foliar) e os estimados pelas equações escolhidas apresenta coeficientes angulares próximos de 1 (= 0,9) e coeficientes de correlação iguais a 0,98 e 0,95 para *C. rosea* e *C. ramosissima*, respectivamente (Figs. 2a e 2b). Estes coeficientes confirmam que os valores

da área foliar real correspondem aos valores da área foliar estimada pelo modelo.

É importante salientar que *C. rosea* apresenta polimorfismo foliar durante o seu crescimento. Os indivíduos jovens possuem folhas significativamente maiores que as plantas adultas. O mesmo não ocorre com as folhas de *C. ramosissima*, que em geral não variam muito de tamanho nos diferentes estágios de crescimento da planta. Portanto neste estudo, as equações propostas para as estimativas da área foliar de *C. rosea* e *C. ramosissima* referem-se a indivíduos adultos, não devendo ser usadas em plantas jovens.

CONCLUSÕES

As estimativas de área foliar das espécies investigadas podem ser feitas através de um método não destrutivo utilizando equações de regressão baseadas no comprimento e na largura do limbo. As equações selecionadas para estimar a área foliar de *C. rosea* e *C. ramosissima* são $AF=0,7705CL$ e $AF=0,7416CL$, respectivamente.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela bolsa concedida à primeira autora durante o mestrado.

REFERÊNCIAS

- ASSUMPÇÃO J & MT NASCIMENTO. 2000. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 14(3): 301-315.
- BENINCASA MMP. 2003. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. 2ª ed. Jaboticabal: FUNEP.
- BIANCO S, RA PITELLI & LB CARVALHO. 2002. Estimativa da área foliar de *Cissampelos glaberrima* L. usando dimensões lineares do limbo foliar. *Planta Daninha* 21(2): 257-261.
- BIANCO S, RA PITELLI & LB CARVALHO. 2004. Estimativa da área foliar de *Tridax Procumbens* usando dimensões lineares do limbo foliar. *Planta Daninha* 22(2): 247-250.
- CHIRINOS DT, L CHIRINOS-TORRES, F GERAUD-POUEY, O CASTEJÓN, RE FERNÁNDEZ, JÁ VERGARA, LE MÁRMOL, D CHIRINOS-TORRES. 1997. Modelos para estimar el área foliar de melón híbrido Durango. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 14: 163-171.

- COELHO FILHO MA, LR ANGELOCCI, MRB VASCONCELOS & EF COELHO. 2005. Estimativa da área foliar de plantas de Lima ácida 'Tahiti' usando métodos não-destrutivos. **Rev. Bras. Frutic.** 27(1): 163-167.
- DA FONSECA CEL & RCC CONDÉ. 1994. Estimativa da Área Foliar em mudas de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gom.). **Pesq. Agrop. Bras.** 29(4): 593-599.
- GAMIELY S, WN RANDLE, HA MILIS & DA SMITTLE. 1991. A rapid and nondestructive method for estimating leaf area of onions. **HortScience** 26: 206-207.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2002. **Mapa de climas do Brasil**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/default_prod.shtm#MAPAS>. Acesso em 10 de mar. 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. 2004. **Normais climatológicas**. Série 1961/1990.
- KANDIANNAN K, C KAILASAM, KK CHANDARAGIRI & N SANKARAN. 2002. Allometric model for leaf area estimation in black pepper (*Peper nigrum* L.). **Journal of Agronomy and Crop Science** 188: 138-140.
- LAKTAN B. 1989. Empirical model for estimating leaf area in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative** 32: 19-21.
- MARSHALL JK. 1968. Methods of leaf area measurement of large and small leaf samples. **Photosynthetica** 2: 41-47.
- MELO E. 2003. **Revisão das espécies do gênero *Coccoloba* P. Browne nom. cons. (Polygonaceae) do Brasil**. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MIELKE MS, A HOFFMANN, L ENDRES & JC FACHINELLO. 1995. Comparação de métodos de laboratório e de campo para a estimativa da área foliar em fruteiras silvestres. **Sci. Agric.** 52(1): 82-88.
- NESMITH DS. 1992. Estimating summer squash leaf area nondestructively. **HortScience** 27: 77.
- PINTO ACR, T DE JD RODRIGUES, JC BARBOSA & IC LEITE. 2004. Leaf area prediction models for *Zinnia haageana* Regel and 'profusion cherry'. **Scientia Agricola** 61(1): 47-52.
- QUEIROGA JL, EDU ROMANO, JRP SOUZA & E MIGLIORANZA. 2003. Estimativa da área foliar do feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. **Hortic. Bras.** 21(1): 64-68.
- REIS GG & MW MULLER. 1978. **Análise de crescimento de plantas na mensuração do crescimento**. Belém: CPATU.
- TAVARES-JÚNIOR JE, JL FAVARIN, D DOURADO-NETO, AHN MAIA, LC FAZUOLI & MS BERNARDES. 2002. Análise comparativa de métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. **Bragantia** 61(2): 199-203.
- TOFOLI GR, S BIANCO & MCMD PAVANI. 1998b. Estimativa da área foliar de *Solanum americanum* Milll. **Planta Daninha** 16(2): 149-152.
- WILLIAMS III L & TE MARTINSON. 2003. Nondestructive leaf area estimation of 'Niagara' and 'De Chaunac' grapevines. **Scientia Horticulturae** 1913: 1-6.

AVALIAÇÃO DA HOMOGENEIDADE EM POPULAÇÕES DE LEMNOIDEAE (ARACEAE)

JOSEANE BRANDÃO PIRES^{1*}, FLÁVIO FRANÇA² & ANTÔNIO DE OLIVEIRA CONCEIÇÃO NETO²

¹Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Exatas, Campus Universitário, Km 3, BR 116, Novo Horizonte, Feira de Santana, Bahia

²Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas

*Autor para correspondência: (joseanebrandao@yahoo.com.br)

(Avaliação da homogeneidade em populações de Lemnoideae (Araceae)) – As lentilhas d'água formam grupo monofilético em Araceae, a principal característica dele é a redução morfológica. Seus representantes ocupam grandes áreas nas lagoas do semi-árido. A amostragem destas populações apresenta caráter não paramétrico. O objetivo deste trabalho foi testar significância da variação do número de indivíduos entre amostras de populações de Lemnoideae, comparando os resultados de testes não paramétricos e avaliando a metodologia de amostragem. Foi selecionada uma lagoa com população significativa de Lemnoideae que foi amostrada de forma quantificável. As espécies encontradas foram *Lemna aequinoctialis* Welwisch, *Lemna valdiviana* Phil., *Wolffiella welwitschii* (Hegelm.) Monod e *Wolffia brasiliensis* Weddell. A densidade média foi de $178,6 \times 10^5$ a $719,4 \times 10^5$ indivíduos/m². As populações de *Lemna aequinoctialis* distribuíram-se de forma heterogênea, enquanto que as de *Lemna valdiviana*, *Wolffia brasiliensis* e *Wolffiella welwitschii* de forma homogênea. Sugere-se que um maior número de amostras é necessário para se ter uma boa descrição das populações de *L. valdiviana*, enquanto que uma amostragem não muito grande de populações de *Wolffia* e *Wolffiella* já permite uma boa aproximação da realidade. A metodologia utilizada mostrou-se sensível para demonstrar a heterogeneidade da população.

Palavras-chave: Lemnoideae, Araceae, Semi-árido, estatística não-paramétrica, lentilha-d'água.

(Evaluation of homogeneity in Lemoideae (Araceae) populations) – The duckweeds are a monophyletic group in Araceae, their main characteristic is the morphological reduction of the vegetative body. Representatives of this group take up large areas in the semi-arid lakes. The sampling of these populations is non-parametric. The objective of this paper is to test the significance of the individual number variation among samples of Lemnoideae populations, comparing the results of non-parametric tests and evaluating the sampling method. A lake with significant population of Lemnoideae was selected, that was collected making use of a measurable method. *Lemna aequinoctialis* Welwisch, *L. valdiviana* Phil., *Wolffia brasiliensis* Weddell, and *Wolffiella welwitschii* (Hegelm.) Monod were the species found. The average density was 178.6×10^5 to 719.4×10^5 individuals/m². The *L. aequinoctialis* populations have heterogeneous distribution, while those of *L. valdiviana*, *Wolffia brasiliensis* and *Wolffiella welwitschii* are homogeneous. This suggests that a larger number of samples is necessary to have a good description of *L. valdiviana* populations, while a not so large sampling of *Wolffia brasiliensis* and *Wolffiella welwitschii* populations allow good inference on real numbers. The method used was sensitive enough to show the population heterogeneity.

Key words: Lemnoideae, Araceae, Semi-arid, non-parametric statistics, duckweed.

INTRODUÇÃO

As lentilhas-d'água integram um grupo monofilético dentro de Araceae (ROTHWELL *et al.*, 2004). A principal característica deste grupo de plantas está na sua redução morfológica, estando o corpo vegetal reduzido a um fronde fotossintetizante, sendo que raízes podem estar presentes ou não (LANDOLT, 1986), este grupo ocupa, nos períodos favoráveis, grandes áreas nas lagoas do semi-árido, sendo que a amostragem quantificada destas populações ainda não tinha sido realizada.

Este grupo de plantas é registrado nos principais estudos realizados nos mais importantes ambientes aquáticos do Brasil, como para o Pantanal Matogrossense (POTT, 1993). Para o Bioma da Caatinga (VELLOSO *et al.*, 2002) existem poucos registros publicados desta subfamília. O primeiro registro deste grupo de plantas para este Bioma foi feito por BEZERRA & FRANÇA (1999).

Os representantes desta subfamília apresentam uma grande importância ecológica, pois são utilizados como

alimento de mamíferos, aves, répteis, peixes, crustáceos, gastrópodos e artrópodos. Foram registradas relações mutualísticas (*e.g.* com bactérias fixadoras de nitrogênio), relações comensalistas, como o epifitismo de diversas espécies de algas em representantes de *Lemna* e *Wolffiella*, e relações amensalistas, como o efeito inibidor de crescimento de larvas de insetos (LANDOLT, 1986).

As Lemnoideae podem ser utilizadas para bioensaios fitofisiológicos, para detecção de substâncias tóxicas, como fonte protéica para animais, para remover substâncias (inclusive metais pesados) da água, produção de energia e de substâncias químicas, além de regular ecossistemas aquáticos (LANDOLT & KANDELER, 1987).

O grande problema enfrentado na amostragem quantificada destas populações seria seu caráter não-paramétrico, pois muitos destes métodos de amostragem acabam revelando que a distribuição dos dados não é Normal, impedindo o uso da maioria dos testes estatísticos (HEATH, 1981). Uma prova estatística não-paramétrica é aquela cujo modelo não especifica condições sobre os

parâmetros da população da qual se extraiu amostra, há certas suposições básicas associadas à maioria das provas não-paramétricas, mas são em menor número e menos rígidas que as paramétricas. As afirmações probabilísticas decorrentes da maior parte das estatísticas não-paramétricas são probabilidades exatas independentemente da forma da distribuição da população da qual se extraiu a amostra aleatória (SIEGEL, 1975).

O objetivo deste trabalho foi testar a significância da variação do número de indivíduos entre amostras de populações de Lemnoideae, comparando os resultados da Prova da Mediana, da Prova de Mann-Whitney (Prova U) e do Teste Kruskal-Wallis, e avaliando a metodologia proposta para amostragem de populações de Lemnoideae.

O teste de Kruskal-Wallis é uma prova que mostra se existe ou não diferença entre as amostras, mas não especifica onde está essa diferença. Ela é considerada mais eficiente que a Prova da Mediana porque usa mais informações contidas nas observações e converte os escores em pontos, ao invés de dicotomizá-los em “acima” e “abaixo” como faz a Prova da Mediana. De forma geral, o teste de Kruskal-Wallis é considerado o mais eficiente dos testes não-paramétricos para N amostras independentes (SIEGEL, 1975)

A Prova da Mediana exige no mínimo uma mensuração ordinal da variável em estudo, ela nos diz se dois grupos provêm de populações com a mesma mediana. A Prova de Mann-Whitney mostra se existem diferenças entre as amostras e onde está esta diferença (SIEGEL, 1975).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi selecionada uma lagoa com população significativa de Lemnoideae, localizada na Fazenda Poço da Volta, nas coordenadas 12°9'54,0"S e 39°12'37,5"W, altitude 195 m.s.n.m., no município de Anguera, Estado da Bahia (Fig. 1).

Foram amostrados, na mesma lagoa, quatro quadrados distribuídos na comunidade de Lemnoideae de forma aleatória por sorteio. As massas de Lemnoideae foram coletadas de forma quantificada, usando um quadrado de tubo de PVC de 50 x 50 cm, dividido em quadrículas de 10 x 10 cm, cinco quadrículas eram sorteadas para amostragem, quando todo o conteúdo da mesma era retirado com uma peneira (malha: 0,1 x 0,1 cm) e transferido para um frasco de vidro e fixado em álcool 70%.

As cinco amostras de cada quadrado foram levadas para o laboratório. Após diluição em 300 ml, foi realizada a contagem dos indivíduos (considerou-se como indivíduo o conjunto de frondes ligados entre si) de cada morfo-espécie (a partir de cinco subamostras de 10 ml do total que fora diluído) sob microscópio estereoscópico, sendo o resultado uma média aritmética da soma destas subamostras.

As morfo-espécies foram identificadas com base na literatura específica (POTT, 1993; LANDOLT, 1987), como também por comparação com amostras identificadas

anteriormente por Vali Pott.

A significância da variação entre o número de indivíduos das amostras de populações de Lemnoideae foi obtida a partir dos seguintes testes não-paramétricos:

- Prova de Mann-Whitney (CALLEGARI-JACQUES, 2006);
- Prova da Mediana (SIEGEL, 1975);
- Teste de Kruskal-Wallis (CALLEGARI-JACQUES, 2006).

O programa SAEG 9.0(2000) foi utilizado para testar a normalidade e o programa SPSS (1999) foi utilizado para o Teste de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies de Lemnoideae (em português conhecida como lentilha-d'água e em inglês como duckweed) encontradas foram: *Lemna aequinoctialis* Welwisch, *Lemna valdiviana* Phil., *Wolffiella welwitschii* (Hegelm.) Monod e *Wolffia brasiliensis* Weddell.

POTT (1993), em seu trabalho no Pantanal, encontrou oito espécies das 34 até então reconhecidas (pois atualmente registram-se 38 espécies (ARMSTRONG 2007) que compunham as Lemnoideae, são elas: *Spirodela intermedia* W. Koch, *Lemna aequinoctialis*, *L. valdiviana*, *Wolffiella welwitschii*, *W. lingulata* (Hegelm.) Hegelm., *W. oblonga* (Phil.) Hegelm., *Wolffia brasiliensis* e *W. columbiana* Karsten. Já no trabalho de FRANÇA *et al.* (2003), realizado em seis açudes do semi-árido da Bahia, foram encontradas quatro espécies: *L. aequinoctialis*, *L. valdiviana*, *Wolffia brasiliensis* e *Wolffiella welwitschii*.

A primeira coleta realizada no mês de setembro do ano de 2006 revelou uma densidade média de 719,4x10⁵ indivíduos/m² (Tabela 1). Dentre eles, 705,42x10⁵ indivíduos/m² (98,06%) foram *Lemna aequinoctialis*, 4,23 x10⁵ indivíduos/m² (0,6%) foram *L. valdiviana*, 9,48 x10⁵ indivíduos/m² (1,3%) foram *Wolffia brasiliensis* e 0,27 x10⁵ indivíduos/m² (0,04%) foram *Wolffiella welwitschii*. Nesta primeira coleta, os resultados obtidos ao aplicar o Teste de Kruskal-Wallis mostram que as populações de *L. aequinoctialis* se distribuem de forma heterogênea na área de estudos, enquanto que as populações de *L. valdiviana*, *W. brasiliensis* e *W. welwitschii* comportam-se de forma homogênea. Apenas em um quadrado as populações de *L. valdiviana* e *W. welwitschii* mostraram-se heterogêneas, porém, considerando a soma geral de todos os quatro quadrados amostrados, observa-se que *L. valdiviana* também apresenta uma distribuição heterogênea.

Considerando-se o grupo de Lemnoideae como um todo, observa-se que as populações apresentam distribuição heterogênea, tanto nos quadrados entre si com N=25 (Quadrado 1: 0,2%; Quadrado 2: 0,4%; Quadrado 3: 1%; Quadrado 4: 0,4%), como na soma geral dos quadrados com N=100 (com 100% de confiança).

Na segunda coleta, realizada no mesmo local em março de 2007, a amostragem revelou uma densidade média de 178,6 x10⁵ indivíduos/m² (Tabela 1). Dentre eles, 178,5 x10⁵ indivíduos/m² (99,94%) foram *L. aequinoctialis*, 0,06

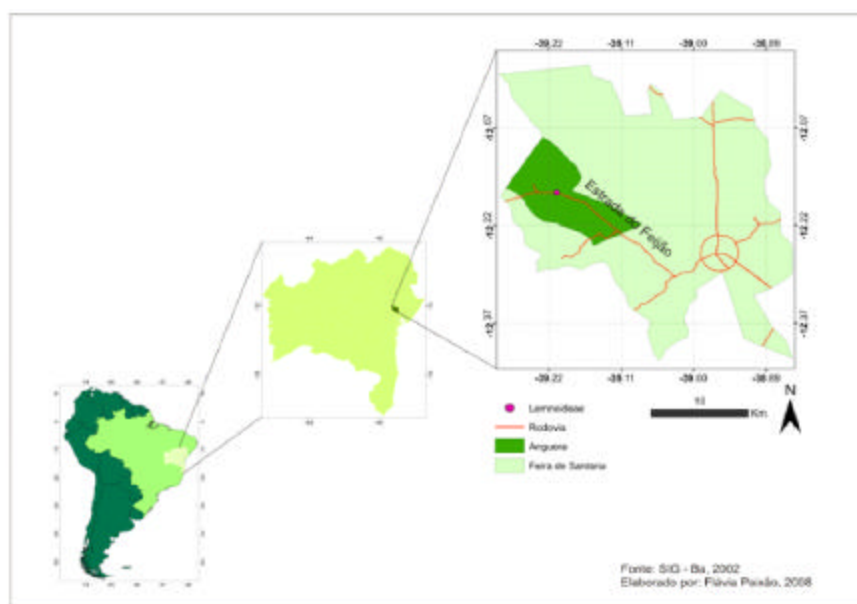


Fig. 1. Localização da área de estudo.

Tabela 1. Resultado da quantificação das espécies nas duas coletas (número médio de indivíduos em 10⁵ indivíduos/m²).

Amostras	Lemnoideae		<i>Lemna aequinoctialis</i>		<i>Lemna valdiviana</i>		<i>Wolffia brasiliensis</i>		<i>Wolffiella welwitschii</i>	
	1ª coleta	2ª coleta	1ª coleta	2ª coleta	1ª coleta	2ª coleta	1ª coleta	2ª coleta	1ª coleta	2ª coleta
1	4,848	1,536	4,65	1,536	0,084	0	0,114	0	0	0
2	5,178	1,776	5,04	1,776	0,054	0	0,084	0	0	0
3	6,252	1,452	6,042	1,452	0,066	0	0,138	0	0,006	0
4	3,348	2,364	3,21	2,364	0,078	0	0,06	0	0	0
5	4,74	2,04	4,638	2,034	0,048	0	0,054	0,006	0	0
6	3,972	2,208	3,804	2,202	0,06	0	0,108	0	0	0
7	4,584	1,632	4,446	1,632	0,054	0	0,078	0	0,006	0
8	4,536	1,578	4,356	1,578	0,06	0	0,108	0	0,012	0
9	8,142	2,076	7,908	2,07	0,114	0	0,12	0,006	0	0
10	4,098	1,14	3,972	1,14	0,036	0	0,09	0	0	0,006
11	8,436	2,082	8,334	2,082	0,012	0	0,09	0	0	0
12	9,6	1,482	9,504	1,482	0,006	0	0,09	0	0	0
13	9,672	1,596	9,492	1,59	0,006	0	0,168	0	0,006	0,006
14	7,614	1,422	7,488	1,422	0,102	0	0,024	0	0	0
15	6,738	1,668	6,642	1,668	0,024	0	0,066	0	0,006	0
16	13,776	1,854	13,65	1,854	0,006	0	0,114	0	0,006	0
17	9,096	1,914	9	1,914	0,012	0	0,084	0	0	0
18	8,244	1,932	8,166	1,932	0,012	0	0,054	0	0,012	0
19	10,17	1,62	10,026	1,62	0	0	0,144	0	0	0
20	10,836	2,352	10,716	2,352	0,012	0	0,108	0	0	0
Média	719,4	178,6	705,42	178,5	4,23	0	9,48	0,06	0,27	0,06
Desvio Padrão	2,810	0,330	2,820	0,329	0,035	0	0,036	0,002	0,004	0,002

Tabela 2. (1ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae na área delimitada (50 x 50 cm), utilizando o Teste Kruskal-Wallis (analisa cada espécie separadamente). Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e maiores, homogênea.

Espécies	Quadrado 1	Quadrado 2	Quadrado 3	Quadrado 4	Cuadrado (1+2+3+4)
<i>Lemna aequinoctialis</i>	0,2%	0,3%	1,2%	0,3%	0,0%
<i>Lemna valdiviana</i>	89,9%	13,7%	1,3%	62,0%	0,0%
<i>Wolffia brasiliensis</i>	6,4%	95,6%	1,4%	8%	79,1%
<i>Wolffiella oblonga</i>	40,6	21,3%	53,6%	21%	72,2%

Tabela 3. (1ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae entre os quatro quadrados sorteados e quantificados (10 x 10 cm), utilizando a Prova de Mann-Whitney (analisa a família Lemnoideae). Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e maiores, homogênea.

	Quadrado 2	Quadrado 3	Quadrado 4
Quadrado 1	50%	2,4%	0,39%
Quadrado 2	...	9,9%	2,4%
Quadrado 3	50%

$\times 10^5$ indivíduos/m² (0,02%) foram *W. brasiliensis*, $0,06 \times 10^5$ indivíduos/m² (0,04%) foram *W. wolwitschii*; *L. valdiviana* não apresentou nenhum indivíduo.

L. aequinoctialis ocorre principalmente em áreas com influência antrópica, em lagoas rasas, próximo à sede de fazendas (POTT, 1993). Esta é uma das justificativas para o fato da população coletada neste trabalho apresentar quantidades tão significativas da espécie (98,06% na primeira coleta e 99,94% na segunda coleta).

Segundo POTT (1993), *L. valdiviana* dificilmente é encontrada com *L. aequinoctialis*. Isso foi observado na primeira coleta deste trabalho, onde *L. valdiviana* apresentou 0,6% indivíduos do total de espécies, e na segunda coleta onde a mesma não foi encontrada.

Assim como no Pantanal (POTT, 1993), *Wolffiella wolwitschii* foi uma espécie não frequente.

Aplicando a Prova de Mann Whitney para os dados

Tabela 4. (1ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae entre as cinco amostras retiradas em cada quadrado sorteado (10 x 10 cm) (total de 20 amostras), utilizando a Prova de Mann-Whitney. Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e maiores, homogênea.

Quadrado		Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
I	Amostra 1	27,4%	1,6%	0,8%	42,10%
	Amostra 2	...	4,5%	0,4%	5%
	Amostra 3	0,4%	0,4%
	Amostra 4	0,4%
II	Amostra 1	28,6%	7,5%	0,4%	50%
	Amostra 2	...	50%	0,4%	15,5%
	Amostra 3	0,4%	7,5%
	Amostra 4	0,4%
III	Amostra 1	11,1%	11,1%	15,5%	2,8%
	Amostra 2	...	42,1%	4,8%	0,4%
	Amostra 3	1,6%	0,4%
	Amostra 4	15,5%
IV	Amostra 1	0,4%	0,4%	0,4%	0,8%
	Amostra 2	...	11,1%	11,1%	11,1%
	Amostra 3	7,5%	0,4%
	Amostra 4	27,4%

Tabela 5 (2ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae na área delimitada (50 x 50 cm), utilizando o Teste Kruskal-Wallis (analisa cada espécie separadamente). Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e maiores, homogênea.

Espécies	Quadrado 1	Quadrado 2	Quadrado 3	Quadrado 4	Quadrado (1+2+3+4)
<i>Lemna aequinoctialis</i>	1,2%	40,6%	40,6%	15,1%	15,1%
<i>Lemna valdiviana</i>	100%	100%	100%	100%	100%
<i>Wolffia brasiliensis</i>	40,6%	40,6%	100%	100%	56,8%
<i>Wolffiella oblonga</i>	40,6%	40,6%	40,6%	100%	56,8%

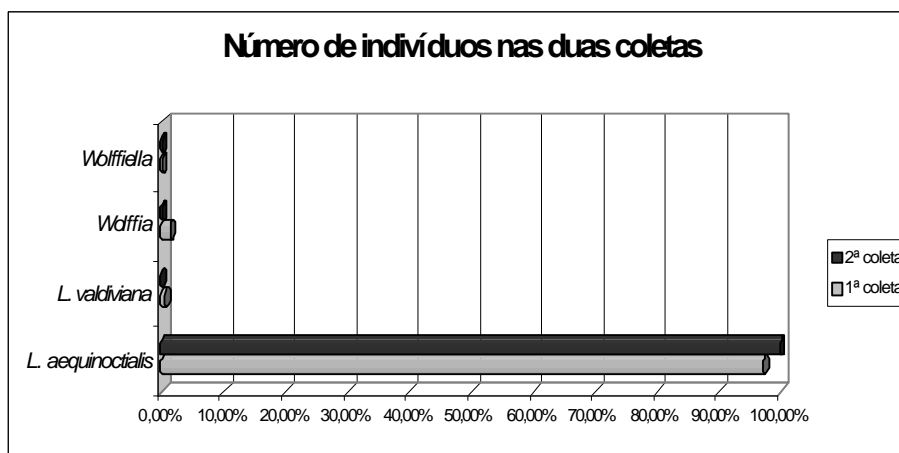


Fig. 2. Comparação entre os resultados das duas coletas.

Tabela 6. (2ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae entre os quatro quadrados sorteados e quantificados (10 x 10 cm), utilizando a Prova de Mann-Whitney (análise a família Lemnoideae). Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e valores maiores mostram distribuição homogênea.

	Quadrado 2	Quadrado 3	Quadrado 4
Quadrado 1	50%	27,4%	34,5%
Quadrado 2	...	34,5%	27,4%
Quadrado 3	1,6%

Tabela 7. (2ª coleta) Avaliação da heterogeneidade de populações de Lemnoideae entre as cinco amostras retiradas em cada quadrado sorteado (10 x 10 cm) (total de 20 amostras), utilizando a Prova de Man-Whitney. Valores menores que 5% mostram distribuição heterogênea e valores maiores mostram distribuição homogênea.

		Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5
Quadrado I	Amostra 1	15,5%	50%	0,4%	1,6%
	Amostra 2	...	15,5%	7,5%	15,5%
	Amostra 3	0,4%	0,8%
	Amostra 4	2,8%
Quadrado II	Amostra 1	0,4%	0,4%	27,4%	0,4%
	Amostra 2	...	27,4%	2,8%	1,6%
	Amostra 3	0,8%	0,8%
	Amostra 4	0,4%
Quadrado III	Amostra 1	4,8%	1,6%	0,4%	11,1%
	Amostra 2	...	34,5%	27,4%	21,0%
	Amostra 3	2,8%	11,1%
	Amostra 4	1,6%
Quadrado IV	Amostra 1	42,1%	21,0%	42,1%	7,5%
	Amostra 2	...	42,1%	27,4%	11,1%
	Amostra 3	15,5%	4,8%
	Amostra 4	0,4%

da primeira coleta e comparando as amostras dentro de cada quadrado (Tabela 4), confirma-se a heterogeneidade da população estudada, pois no Quadrado I observa-se que 70% dos pares possíveis de comparação entre as amostras (total dez pares) mostraram-se heterogêneos, enquanto que no Quadrado II apenas 40% dos pares resultou em

heterogeneidade. No Quadrado III 50% das amostras comportam-se de forma heterogênea e no Quadrado IV temos 60% de heterogeneidade. Ao aplicar a Prova de Mann-Whitney para comparação entre quadrados (Tabela 3), esta heterogeneidade é confirmada. Na Prova da Mediana o resultado foi 50% de homogeneidade e 50% de

heterogeneidade, portanto heterogênea.

A Prova de Mann-Whitney aplicada aos dados da segunda coleta apresentou também uma heterogeneidade tanto na comparação dos quadrados entre si (Tabela 6) como na comparação entre as amostras (Tabela 7). O mesmo foi verificado no Teste de Kruskal-Wallis (Tabela 5).

As Lemnoideae formam um grupo pequeno com propagação em geral vegetativa e tamanho minúsculo, isto faz dela uma subfamília de difícil delimitação dos taxa, muitas vezes tendo que apelar para sua distribuição geográfica (POTT, 1993). Após a aplicação dos testes e provas estatísticas, a amostragem em estudo apresentou resultados que comprovam a distribuição heterogênea das espécies na comunidade de Lemnoideae presente na área de estudo, bem como a ausência de algumas espécies, em períodos diferentes.

Com relação ao método de amostragem, os resultados sugerem que um maior número de amostras é necessário para se ter uma boa descrição das populações de *L. valdiviana*, enquanto que uma amostragem não muito grande de populações de *Wolffia* e *Wolffiella* já permite uma boa aproximação da realidade.

É possível que as populações de *Wolffia* e *Wolffiella* tenham se comportado homogeneamente devido ao fato de estarem em número muito pequeno ou talvez algum fator ambiental esteja interferindo negativamente no seu desenvolvimento, uma vez que em populações de Lemnoideae do Pantanal observou-se um comportamento antagônico entre populações de *L. valdiviana* e *L. aequinoctialis*, sendo que *L. valdiviana* geralmente não ocorre ou ocorre em número reduzido quando na presença de *L. aequinoctialis*. Neste caso, seria interessante uma amostragem maior para verificar se um fenômeno similar esteja ocorrendo com *Wolffia* e *Wolffiella*.

A metodologia utilizada na amostragem mostrou-se sensível o suficiente para demonstrar a heterogeneidade da população, sendo um método de coleta recomendável para avaliação de variações nas populações de Lemnoideae, podendo ser utilizado para estudar influências de fatores bióticos ou abióticos nas comunidades destes organismos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela concessão da bolsa que permitiu realizar este trabalho. À Cláudia Cunha, pela revisão do *Abstract*.

REFERÊNCIAS

- ARMSTRONG WP. 2007. **The Wayne's Word**. Disponível on line em <http://waynesword.palomar.edu>. Acesso em 16 jul. 2007.
- BEZERRA M & F FRANÇA. 1999. *Arales* de lagoas em uma área do semi-árido Baiano. *Sitientibus* 20:45-54.
- CALLEGARI-JACQUES SM. 2006 **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed.
- FRANÇA F, E MELO, A GOÉS, D ARAÚJO, M BEZERRA, H RAMOS, I CASTRO & D GOMES. 2003. Flora vascular de açudes de uma região do semi-árido da Bahia, Brasil. *Acta bot. bras.* 17(4): 549-559.
- HEATH O. 1981. **A estatística na pesquisa científica**. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária
- LANDOLT E. 1986. The family *Lemnaceae*- a monographic study. Vol. 1: Morphology; karyology; ecology; geographic distribution; systematic position; nomenclature; descriptions. In: E LANDOLT (ed.). **Biosystematic Investigations in the family of Duckweeds (Lemnaceae), Vol. 2**. Zürich: Veröffentlichungen des geobotanischen Institutes ETH, Stiftung Rübel.
- LANDOLT E & R KANDELER. 1987. The family *Lemnaceae*- a monographic study. Vol. 2: phytochemistry, physiology; application; bibliography. In: E LANDOLT (ed.). **Biosystematic Investigations in the family of Duckweeds (Lemnaceae), Vol. 4**. Zürich: Veröffentlichungen des geobotanischen Institutes ETH, Stiftung Rübel.
- POTT VJ. 1993. **A família Lemnaceae S. F. Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasil**. Dissertação de Mestrado. Curitiba, Universidade Federal do Paraná.
- ROTHWELL G, M VAN ATTA, M BALLARD JR & R STOCKEY. 2004. Molecular phylogenetic relationships among *Lemnoideae* and *Araceae*, using trnL – trnF intergenic spacer. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 378-385.
- SAEG. 2000. **Sistema de análise estatística e genética**. Versão 9.0. Viçosa: UFV.
- SIEGEL S. 1975. **Estatística não-paramétrica**. São Paulo: McGraw Hill.
- SPSS. 1999. **Statistical Package for the Social Sciences. Base 7.1 User's Guide**. Chicago: SPSS.
- VELLOSO A, E SAMPAIO & F PAREYN. 2002. **Ecorregiões propostas para o Bioma Caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste; Instituto de Conservação Ambiental The Nature Conservancy do Brasil.

**DELIMITAÇÃO MORFOLÓGICA E RECONHECIMENTO DE *ORTHOPHYTUM AMOENUM* (ULE)
L.B. SM. (BROMELIACEAE)**

MARIA DAS GRAÇAS LAPA WANDERLEY^{1,2} & RAFAEL BATISTA LOUZADA¹

¹Instituto de Botânica, Seção de Curadoria do Herbário, Avenida Miguel Estéfano 3687,
Água Funda, 11020-003, São Paulo-SP, Brasil

²Autor para correspondência: (gracaw@terra.com.br)

(Delimitação morfológica e reconhecimento de *Orthophytum amoenum* (Ule) L.B. Sm. (Bromeliaceae)) – *Orthophytum amoenum* é uma espécie rupícola endêmica da Chapada Diamantina, na Bahia. Seu protólogo apresenta descrição incompleta e as coleções de herbário são, em geral, escassas ou pouco representativas, tornando pouco clara a identidade dessa espécie. Na busca do reconhecimento dessa espécie foram efetuadas expedições nas localidades de sua ocorrência, assim como o exame do material-tipo depositado no Herbário do Museu Botânico de Berlim (B). Após o estudo detalhado de populações dessa espécie no campo, onde foi verificada ampla variabilidade morfológica da espécie, e o exame do holótipo da espécie, foi possível evidenciar a real identidade de *O. amoenum*, sendo aqui detalhadamente descrita e ilustrada, com novos dados de sua distribuição geográfica.

Palavras-chave: Bahia, Bromelioideae, Chapada Diamantina, *Orthophytum*.

(Morphological delimitation and recognition of *Orthophytum amoenum* (Ule) L.B. Sm. (Bromeliaceae)) – *Orthophytum amoenum* is a rupicolous species, endemic of Chapada Diamantina, Bahia. Its protologue presents an incomplete description and herbarium collections are generally scarce or poorly representative, making unclear the identity of that species. In search of recognition of that species, field trips were made in localities of their occurrence, as well as the examination of the material-type deposited in the Herbarium of the Botanical Museum in Berlin (B). After detailed study of populations of this species in the field in which it was observed the wide variability of morphological species, and examination of holotype of the species, it was possible to highlight the true identity of *O. amoenum*, with detailed description and illustration, as well as new data of their geographical distribution.

Key words: Bahia, Bromelioideae, Chapada Diamantina, *Orthophytum*.

INTRODUÇÃO

Orthophytum Beer é um gênero endêmico do Brasil, com grande concentração de espécies na Cadeia do Espinhaço da Bahia e de Minas Gerais, onde vegetam como terrícolas ou rupícolas nos campos rupestres e na caatinga nordestina (WANDERLEY, 1990; WANDERLEY & CONCEIÇÃO, 2006). O gênero é constituído por 43 espécies e sete variedades (LUTHER, 2006), entretanto, estudos atuais revelam a ocorrência de 53 espécies e sete variedades (LOUZADA 2008).

As espécies de *Orthophytum* estão reunidas em dois grupos informais, sendo um facilmente reconhecido pela presença de escapo desenvolvido, e o outro pela inflorescência séssil (WANDERLEY & CONCEIÇÃO, 2006). Nesse segundo grupo, inclui-se *O. amoenum*, espécie endêmica da porção baiana da Cadeia do Espinhaço.

O protólogo contendo uma descrição incompleta da espécie e a pouca representatividade da mesma nos herbários, onde suas coleções são, em geral, escassas ou incompletas, resultaram no difícil reconhecimento de *O. amoenum*, não sendo raro encontrá-la erroneamente identificada sob diferentes nomes.

Com o objetivo de esclarecer a identidade de *O. amoenum*, foi realizada uma programação de coleta em diferentes regiões da Chapada Diamantina, na Bahia, atividade esta que faz parte da revisão taxonômica de

Orthophytum, gênero que carece de estudos mais aprofundados e de novas coletas, uma vez que as coleções de herbário são, em geral, pouco representativas, tendo algumas espécies apenas o material-tipo.

Na realização do presente estudo foi possível reconhecer *O. amoenum*, compreender sua variabilidade morfológica, assim como distinguir esta espécie de outras afins, como *O. navioides* L.B.Sm., uma das espécies mais confundidas com *O. amoenum*.

O trabalho apresenta uma descrição detalhada, ilustrações do hábito e das estruturas florais, evidenciando os caracteres diagnósticos, assim como comentários taxonômicos e dados novos sobre a distribuição geográfica da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Considerando a localidade do material tipo de *O. amoenum* pouco precisa, tendo sido referida como Serra do Sincorá, denominação conhecida também para representar a Chapada Diamantina, foram realizadas expedições botânicas procurando abranger várias áreas da Chapada Diamantina. Foram feitas observações das populações *in situ* pelo período de três anos e mantidas coleções vivas de indivíduos desse táxon, na coleção do bromeliário do Instituto de Botânica de São Paulo, servindo de base para estudos morfológicos em diferentes áreas da botânica, como

citogenética e filogenia molecular.

As coleções que foram analisadas são provenientes dos Herbários ALCB, CEPEC, HUEFS, R, RB e SP. Foram acrescentadas coleções recentes, obtidas durante o desenvolvimento do presente estudo.

RESULTADOS

Orthophytum amoenum (Ule) L.B. Sm., Smithsonian Misc. Collect. 126(1): 33, 179. 1955.

Figs. 1 A-J, 2 A-D.

Sincorea amoena Ule, Bot. Jahrb. Syst. 42: 191. 1908.

Tipo: Brasil. Bahia: Serra do Sincorá, Ule 7106. Nov. 1906, (HOLÓTIPO: B!).

Ervas rupícolas de pequeno a médio porte, estoloníferas; caule curto, 2-3,7 x 2-2,5 cm. Folhas numerosas, densamente imbricadas, arqueadas, 5,3-17,5 cm compr.; bainha verde, oval, 0,6-1,5 x 0,7-2,5 cm, face abaxial lepidota e adaxial esparsamente lepidota, margens espinescentes, espinhos 0,5-1 mm compr., maiores para o ápice; lâmina coriácea, levemente côncava, rósea a vermelha na base, passando a vinácea em direção ao ápice, às vezes completamente vinácea, lúcida, linear-triangular a estreitamente triangular, 4,7-17,3 x 0,5-1 cm, face adaxial esparsamente lepidota ou com escamas esparsas, face abaxial densamente lepidota, margens espinescentes, espinhos retos ou antrorsos, 1,5-3 mm compr., ápice atenuado e mucronado. Inflorescência séssil, multiflora, composta, ramificada na porção periférica, ramos portando três, ou mais raramente duas flores sem ramificações na região central; brácteas primárias foliáceas, róseas a vermelhas, triangulares a estreitamente triangulares, 3,3-6,5 x 1,4-1,5 cm, esparsamente lepidotas, margens espinescentes, ápice mucronulado; perfilo presente. Brácteas florais subcoriáceas, róseas ou vermelhas, assimétricas, carenadas, triangulares, ca. 1,8 x 1 cm, margens serrilhadas, glabras, ápice mucronado, múcron às vezes inflexo. Sépalas róseas ou vermelhas, assimétricas, carenadas, elípticas a lanceoladas, 1,1-1,2 x 0,3 cm, glabras, margens inteiras, ápice agudo. Pétalas alvas, espatuladas, 1,5-1,6 x 0,4-0,5 cm, ápice obtuso, apêndices petalíneos saciformes, lacerados, a 3-4 mm da base das pétalas, calosidades pouco evidentes. Estames do primeiro verticilo adnatos às pétalas na porção basal, porção livre dos filetes 2,5-3 mm compr.; os do segundo verticilo livres, formando um anel na base do cálice, ca. 8 mm compr., antera 3,2-3,5 mm compr., ápice apiculado. Tubo epígino ca. 2 mm compr. Ovário trígono, estilete ca. 1,2 cm compr., estigma simples ereto, ca. 20 óvulos por placenta. Frutos trígonos, sementes não observadas.

Distribuição e habitat: BRASIL. Bahia: Lençóis e Palmeiras. Cresce sobre afloramentos rochosos em campos rupestres, sempre em ambientes xéricos, exposta a grande intensidade de luz. Floresce durante quase todo ano, com pico de floração de outubro a fevereiro.

Material examinado: BRASIL, Bahia: Lençóis, BR 242, 9.Nov.1988, M.G.L. Wanderley et al. 1598 (SP); Chapadinha, 23.Fev.2003, A. Rapini & P. Fiaschi s.n. (SP 364464, HUEFS 70197). Palmeiras, Morro da Mãe Inácia, 14.Jan.2006, M.G.L. Wanderley et al. 2521, 2522, 2528 (SP); Morro do Pai Inácio, 29.Fev.1980, S.A. Mori 13293 (CEPEC); 16.Jan.1983, G. Martinelli et al. 9793 (RB); 19.Fev.1983, L.R. Noblick & A. Pinto 2822 (CEPEC, RB, SP); 21.Jul.1981, J.R. Pirani et al. CFCR 1620 (RB); Jun.1986, N.N.A. Santos s.n. (HUEFS 10067) 8.Nov.1997, Guedes et al. 5514 (ALCB); 26.Out.2004, A.M. Carvalho et al. PCD 1023 (ALCB, SP); 15.Abr.2005, D. Cardoso et al. 428 (HUEFS).

DISCUSSÃO

Durante o estudo da revisão taxonômica das espécies de inflorescência séssil do gênero *Orthophytum*, foi verificada uma grande carência de boas coleções de herbário, sendo elas em geral escassas ou pouco representativas. Além desse fato, outro aspecto que dificulta o reconhecimento de alguns táxons desse gênero é a falta de informações importantes nas etiquetas de herbário, como dados sobre as cores das sépalas e das brácteas. A espécie é encontrada com identificações errôneas, sendo algumas vezes confundida com *O. navioides* L.B.Sm., espécie que apresenta certa semelhança morfológica.

O grupo de espécies de *Orthophytum* de inflorescência séssil, que inclui *O. amoenum*, apresenta em geral inflorescência robusta que sofre fragmentação pelo processo de herborização, além de algumas vezes conterem pouca ou nenhuma flor, tornando difícil a compreensão da arquitetura dessa estrutura. A observação de exemplares vivos realizada no presente trabalho possibilitou reconhecer a presença de inflorescência composta em *O. amoenum*, o que a distingue de *O. mucugense* Wand. & Conceição, espécie muito relacionada que apresenta inflorescência simples. O padrão de inflorescência no gênero *Orthophytum*, apesar de ser uma característica pouco utilizada nas descrições das espécies desse gênero, tem se revelado de valor diagnóstico, sendo fundamental o aprofundamento do estudo dessa estrutura.

Analisando diferentes populações de *O. amoenum*, observou-se a grande variabilidade do tamanho da planta e de coloração das folhas e das brácteas primárias. Plantas de folhas menores semelhantes ao material-tipo como a coleção M.G.L. Wanderley et al. 1598 (SP) até folhas muito longas atingindo 17 cm como a coleção L.R. Noblick 2822 (SP). Apesar da grande variabilidade das dimensões das folhas nessa espécie, seu reconhecimento em relação a *O. navioides* é facilitado pelo comprimento dos espinhos marginais das folhas, sendo menores nessa espécie (1-1,5 vs. 1,5-3 mm compr. em *O. amoenum*).

As folhas em *O. amoenum* também variam de coloração, com um gradiente de cores das folhas na antese, desde completamente vináceas ou com a base vermelha a rósea, formando um halo vistoso na base da roseta e circundando a inflorescência (Fig. 3), sendo mais raramente completamente verdes. A lâmina foliar nessa espécie é caracteristicamente brilhante, mais coriácea, em geral mais

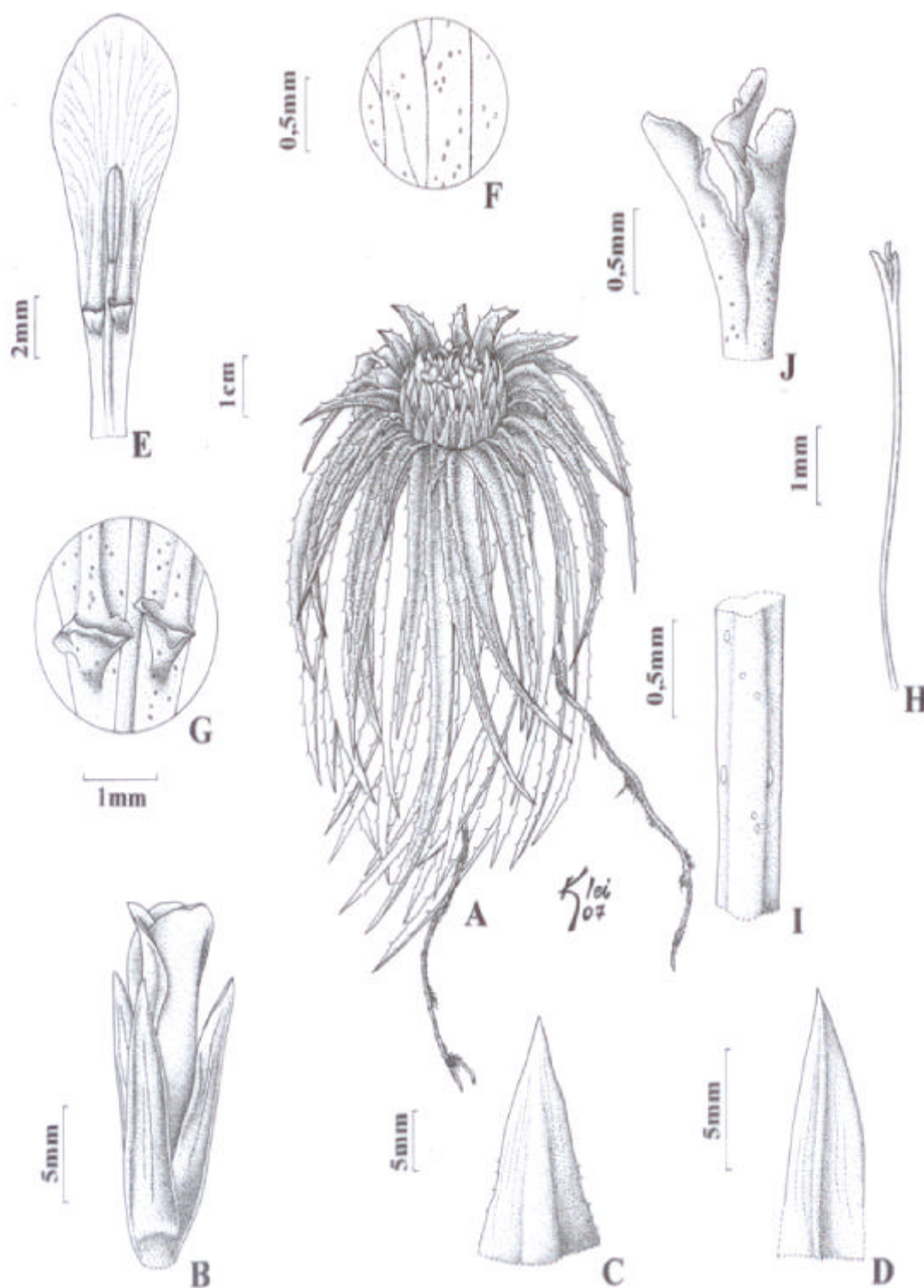


Fig. 1 A-J. *Orthophytum amoenum*. A. Hábito. B. Flor. C. Bráctea floral. D. Sépala. E. Pétala com estame, mostrando apêndices petalíneos saciformes e calosidades laterais aos estames. F. Detalhe do lobo da pétala com pontuações cristalinas. G. Apêndices petalíneos saciformes com margens laceradas. H. Estilete e estigma. I. Detalhe do estilete tricostado com pontuações cristalinas. J. Detalhe do estigma.

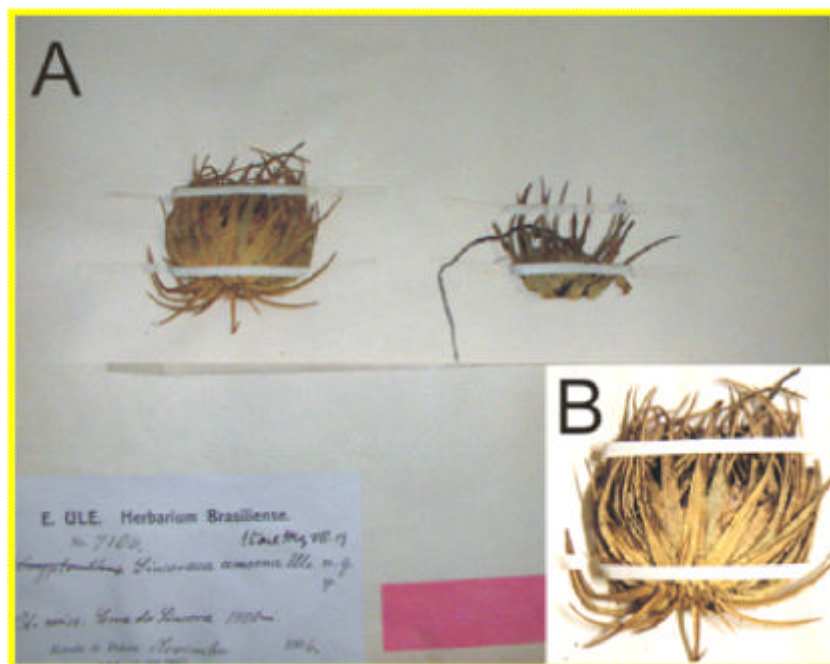


Fig. 2 A-B. *Orthophytum amoenum*. A. material-tipo. B. Detalhe de uma roseta do material-tipo.

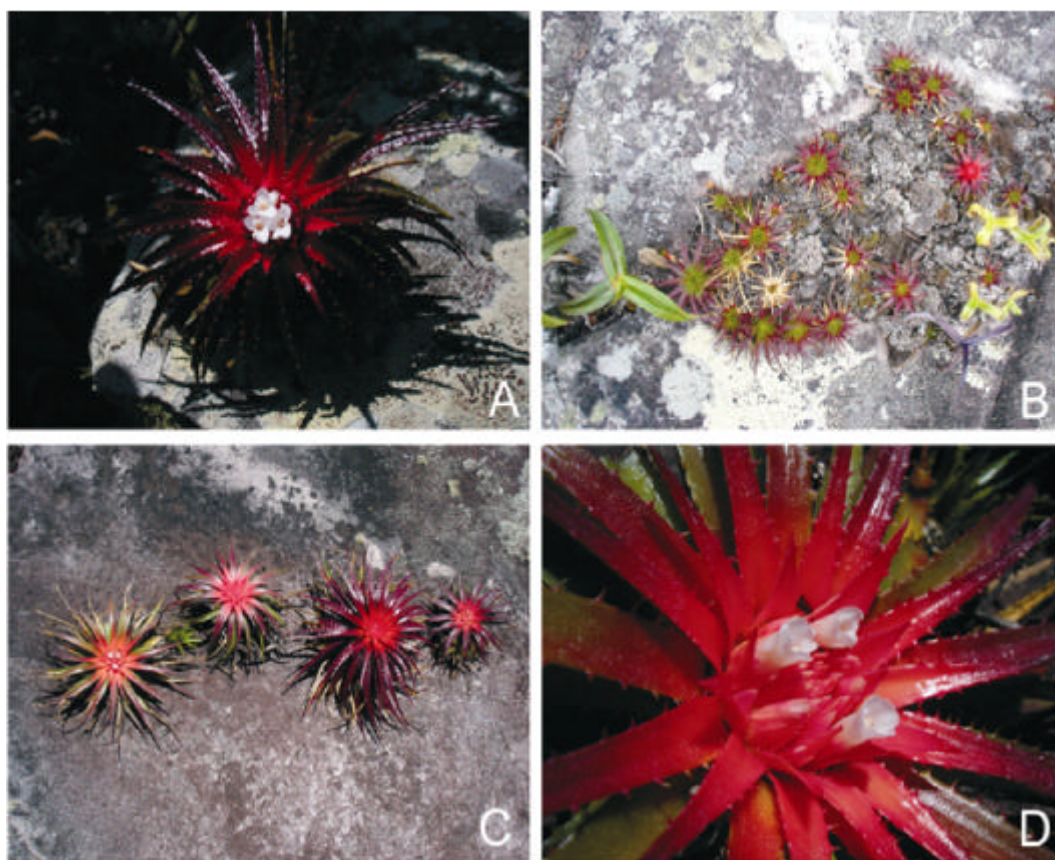


Fig. 3. A-D. *Orthophytum amoenum*. A. Indivíduo fértil. B. População sobre substrato formado por musgos e líquens sobre rochas. C. Indivíduos férteis com botões florais. D. Detalhe da inflorescência. (Fotos: Abel Augusto Conceição).

larga e com espinhos esparsos e conspícuos nas margens. Por outro lado, *O. navioides*, espécie com a qual é frequentemente confundida nas identificações de herbários, apresenta lâmina foliar com apenas a base avermelhada, delimitando bem a inflorescência pelo contraste com o restante da roseta verde. As margens foliares possuem espinhos diminutos e mais congestos.

Pelas características florais, estas duas espécies também são facilmente reconhecidas, sendo as brácteas florais e sépalas vermelhas e as pétalas espatuladas em *O. amoenum*, enquanto que em *O. navioides* as brácteas florais e sépalas são verdes e as pétalas são linear-espatuladas e maiores (2,5-3 vs. 1,5-1,6 cm compr.). As duas espécies também se distinguem quanto ao habitat, verificando-se a ocorrência de *O. navioides* em locais mais sombreados, sobre rochas à beira de rios encachoeirados. Por outro lado, *O. amoenum* é heliófila, habitando ambientes típicos dos campos rupestres, sobre rochas ou em solo pedregoso, formando touceiras com menor número de indivíduos, diferindo de *O. navioides* que forma densas touceiras.

O estudo taxonômico de *O. amoenum* demandou grande atenção por não se ter até o presente trabalho sua identidade bem definida, conhecida até o momento pela coleção-tipo, apesar da existência de outras coleções, mas que não eram seguramente identificadas. O material-tipo

dessa espécie é procedente da Serra do Sincorá, sendo, entretanto, uma referência de localidade pouco precisa, uma vez que a designação Serra do Sincorá pode ser considerada no sentido mais amplo para a Chapada Diamantina. Novos registros são apresentados para a espécie, como a ocorrência de várias populações nos Morros do Pai Inácio e Mãe Inácia, localizada no município de Palmeiras na Bahia.

A melhor caracterização morfológica de *O. amoenum* e de suas diferenças em relação às espécies a ela relacionadas (*O. mucugense* e *O. navioides*), com base no intenso estudo das populações no campo e de coleções vivas mantidas em cultivo, além da análise do holótipo dessas espécies, permitiram a definição da circunscrição e a real identidade de *O. amoenum*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Abel Conceição e à Biol. Suzana E. Martins pelo auxílio no trabalho de campo. À FAPESP pela concessão da bolsa de mestrado a Rafael Batista Louzada e pelo financiamento da viagem ao Museu Botânico de Berlim, realizada pela Pesquisadora Maria das Graças Lapa Wanderley, o que propiciou o exame do holótipo da espécie estudada. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa, concedida à pesquisadora Maria das Graças Wanderley.

REFERÊNCIAS

- LOUZADA RB. 2008. **Taxonomia e citogenética das espécies de inflorescência sésil do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae)**. Instituto de Botânica, M.Sc. diss.
- LUTHER HE. 2006. **An alphabetical list of bromeliad binomials**. 10ª ed. Sarasota: The Bromeliad Society International.
- SMITH LB. 1955. The Bromeliaceae of Brazil. **Smithsonian Misc. Collect.** 126(1): 1-290.
- SMITH LB & RJ DOWNS. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). **Fl. Neotrop. Monogr.** 14(3): 1493-2141.
- ÜLE E. 1909. Beitrage zur flora von Bahia.I. Unter Mitwirkung eniger Autoren. **Bot. Jahrb. Syst.** 42: 191-193.
- WANDERLEY MGL. 1990. Diversidade e distribuição geográfica das espécies de *Orthophytum* (Bromeliaceae). **Acta bot. bras.** 4(1): 169-175.
- WANDERLEY MGL & AA CONCEIÇÃO. 2006. Notas taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina. **Sitientibus Ser. Ci. Biol.** 6(1): 3-8.

ÍNDICE DE ESPÉCIMES EXAMINADOS

D. Cardoso et al. 428
A.M. Carvalho et al. 1023
Guedes et al. 5514
G. Martinelli et al. 9793
S.A. Mori 13293

Noblick & A. Pinto 2822
J.R. Pirani et al. CFCR 1620
A. Rapini & P. Fiaschi HUEFS 70197, SP 364464
N.N.A. Santos HUEFS 10067
Wanderley et al. 1598,
Wanderley et al. 2521, 2522, 2528

BIODEGRADAÇÃO DE CELULOSE E LIGNINA POR FUNGOS: UMA BREVE REVISÃO

MARÍLIA LORDÉLO CARDOSO¹, HILANA SALETE SILVA OLIVEIRA², ANA PAULA TROVATTI UETANABARO³
& HÉLIO MITOSHI KAMIDA^{4,*}

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais/UEFS (lilaengal@yahoo.com.br)

²Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia/UEFS (hilanaoliveira@gmail.com)

³Professora Assistente, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Km 16 Rodovia Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, Bahia (uetanabaro@yahoo.com)

⁴Pesquisador PRODOC/FAPESB/UEFS, Departamento de Ciências Biológicas, UEFS, Km 03, BR 116, 44031-460, Feira de Santana, Bahia (hmkamida@terra.com.br)

*Autor para correspondência

(Biodegradação de celulose e lignina por fungos: uma breve revisão) – A bioconversão de compostos ligninocelulósicos é catalisada por um grupo de enzimas ligninocelulolíticas, dentre as quais estão endo e exo-glicanases, β -glicosidases, lignina peroxidases, manganês peroxidases e laccases. Essas enzimas são produzidas por uma grande variedade de fungos, como *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia radiata*, *Trametes versicolor*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*. A produção enzimática é influenciada pelo tipo de substrato e pelas condições de cultivo. Essa revisão considera alguns aspectos envolvidos na biodegradação de lignina e celulose por fungos.

Palavras-chaves: Ligninocelulose, fungos, enzimas.

(Biodegradation of cellulose and lignin by fungi: a brief review) – The bioconversion of lignocellulosics compounds is catalyzed by a group of lignocellulolytic enzymes such as endo and exo-gluconase, β -glucosidase, lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase. These enzymes are produced by a large variety of fungi, like *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia radiata*, *Trametes versicolor*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*. The enzymatic production is influenced by the substrate and culture conditions. This review considers some aspects of the lignin and cellulose biodegradation by fungi.

Key words: Lignocellulose, fungi, enzymes.

INTRODUÇÃO

Biodegradação é o processo de redução de compostos químicos complexos catalisados biologicamente. No caso de compostos orgânicos, a biodegradação, freqüentemente, porém, não necessariamente proporciona a conversão de C, N, P, S e outros elementos do composto original a produtos inorgânicos (ALEXANDER, 1999). A conversão de moléculas orgânicas, na forma de compostos tóxicos, em biomassa celular e produtos de catabolismo, como dióxido de carbono e água, por microorganismos é denominada mineralização (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

A biodegradação de materiais ligninocelulósicos constitui um dos mais importantes ciclos de carbono na natureza e o entendimento desse processo representa contribuição significativa às ciências naturais (KIRK & CULLEN, 1998).

É fundamental que os processos de biodegradação sejam avaliados previamente, considerando-se que algumas biotransformações podem produzir compostos mais tóxicos e recalcitrantes do que os próprios substratos iniciais (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

FUNGOS

Os fungos podem ocupar diversos nichos

ecológicos, parasitando tecidos vivos ou de forma sapróbia (alimentando-se de uma grande diversidade de substâncias orgânicas não-vivas). O crescimento e as atividades metabólicas dos organismos são respostas às condições físico-químicas do ambiente que os rodeiam. Em caso de um meio impróprio para o crescimento, os fungos, como todos os organismos vivos, podem modificar seu ambiente tornando-o habitável e propício para o seu crescimento normal sendo necessária, para tanto, a disposição dos elementos essenciais como alguns açúcares, aminoácidos, vitaminas, etc.

As atividades metabólicas celulares são mediadas por enzimas, sendo a capacidade enzimática uma característica intrínseca a cada espécime. A ausência de enzimas específicas pode fazer fracassar o crescimento de um fungo em um determinado substrato, talvez por ser incapaz de digeri-lo. As enzimas necessárias para o crescimento do fungo (enzimas constitutivas) já estão presentes, mas a presença do substrato é necessária para induzir a síntese ou a atividade da enzima para a degradação do substrato, sendo conhecidas como enzimas induzíveis. Além disso, os fungos podem também produzir enzimas adaptativas na presença de algum substrato que, normalmente, não utiliza (LOGUERCIO & ESPOSITO, 2004).

Fisiologicamente, os fungos adaptam-se a sobrecargas mais severas do que a maioria dos microorganismos, como, por exemplo: (1) crescimento em

substratos com concentrações de açúcares intoleráveis para as bactérias, uma vez que não são tão sensíveis às altas pressões osmóticas e variações no valor do pH (algumas espécies suportam variações de pH de 2 a 9) (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004); (2) manutenção de seu metabolismo até mesmo em ambientes desidratados, produzindo esporos ou entrando em estado de vida latente. Os fungos, em sua maioria, são aeróbicos, necessitam da presença de oxigênio para seu crescimento e desenvolvem-se em uma ampla faixa de temperatura; algumas espécies são capazes de crescer até mesmo a temperaturas extremas, 0°C e 62°C (PELCZAR *et al.*, 2004).

Para o crescimento e desenvolvimento metabólico dos fungos, a principal fonte de carbono é a glicose, porém, outros açúcares também são utilizados, como a sacarose e a maltose, assim como outras macromoléculas, como amido e celulose, são importantes fontes de energia para os fungos. O nitrogênio orgânico e inorgânico, sob a forma de sais de amônio ou de nitratos, pode ser utilizado por algumas espécies. Diversos oligo-elementos, como ferro, fósforo, potássio, zinco, cobre, manganês, molibdênio, e vitaminas são necessários para o crescimento dos fungos (LOGUERCIO & ESPOSITO, 2004; PELCZAR *et al.*, 2004).

BIODEGRADAÇÃO DA CELULOSE

Celulose

A celulose, dentre os materiais naturais, é o biopolímero renovável mais abundante do mundo. Trata-se de uma estrutura extremamente estável, condensada, linear (parte amorfa e parte cristalina) formada exclusivamente de moléculas de anidro-glicose unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. Estritamente falando, a celulose é composta por unidades diméricas denominadas celobiose que se repetem sempre apresentando o oxigênio que liga os anéis glicosídicos na posição equatorial (Fig. 1) (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004). O acoplamento de cadeias de celulose adjacentes por pontes de hidrogênio e forças de van der Waals resulta em um alinhamento paralelo e uma estrutura cristalina com fibras estáveis, retas, de grande força tensoativa e baixa acessibilidade (KRASSIG, 1993; DEMAINE *et al.*, 2005).

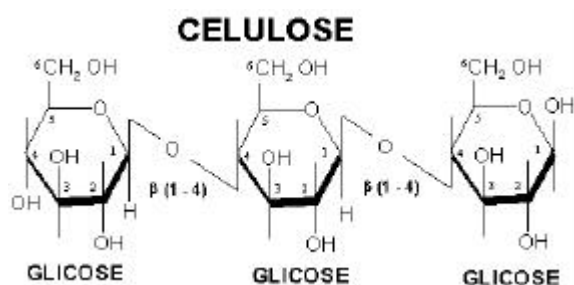


Fig. 1. Fórmula estrutural da celulose.

Fonte: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Launchpad/9071/celulose.gif>

A celulose tem sido utilizada pelo homem há séculos, mas seu enorme potencial como uma fonte renovável de energia foi reconhecido somente após a identificação das enzimas degradadoras de celulose.

Enzimas celulolíticas e fungos produtores

As enzimas que catalisam a bioconversão de celulose a açúcares solúveis e glicose são denominadas celulasas (BHAT, 1997). Uma grande variedade de microorganismos, incluindo bactérias e fungos, aeróbios e anaeróbios, mesofílicos e termofílicos (COUGHLAN & LJUNGDAHL, 1988) produzem principalmente três tipos de celulasas: EC 3.2.1.4. (endo-1,4- β -D-glicanase), EC 3.2.1.91. (exo-1,4- β -D-glicanase) e EC 3.2.1.21. (β -glicosidase) – cada uma separadamente ou na forma de um complexo (BHAT, 1997). Apesar disso, apenas alguns microorganismos são conhecidos como verdadeiros celulolíticos, isto é, são capazes de degradar celulose natural (AHAMED & VERMETTE, 2007). Em geral, os fungos que decompõem substâncias celulósicas ocorrem no solo, colonizando vegetais, suas raízes e resíduos, com importante função de reciclagem de nutrientes (RUEGGER & TAU-KORNISIELO, 2003).

Os estudos, em sua maioria, têm sido baseados no sistema de celulase de fungos aeróbios, destacando-se *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Fusarium solani*, *Talaromyces emersoni* e *Trichoderma koningu*. Só recentemente outros microorganismos têm sido reconhecidos como produtores de celulasas, tais como fungos aeróbios termofílicos, fungos anaeróbios mesofílicos, bactérias aeróbias mesofílicas e termofílicas, bactérias anaeróbias mesofílicas e termofílicas (BHAT, 1997). Entre os microorganismos citados acima, os termofílicos celulolíticos são de interesse particular devido à habilidade de produzir celulasas termostáveis, geralmente estáveis sob uma variedade de condições severas incluindo valores de pH fortemente ácidos ou alcalinos, bem como temperaturas acima de 90°C (LAMED & BAYER, 1988). Dentre os microorganismos celulolíticos termofílicos encontram-se *Clostridium thermocellum*, *Thermomonospora fusca*, *Thermoascus aurantiacus*, *Sporotrichum thermophile*, *Hemicola insolens* e *Chaetomium thermophile* (BHAT & MAHESHWARI, 1987; LAMED & BAYER, 1988; BHAT *et al.*, 1993).

Os sistemas de celulase mais bem caracterizados são aqueles dos fungos aeróbios, *Phanerochaete chrysosporium*, *F. solani*, *P. funiculosus/pinophilum*, *Talaromyces emersoni*, *Trichoderma Koningu* e *T. reesei* (BHAT, 1997). Os sistemas de celulasas destes fungos consistem de endo-1,4- β -D-glicanase [1,4- β -D-glicanoglicanohidrolase], exo-1,4- β -D-glicanase [1,4- β -D-glicanocelobiohidrolase (CBH)] e β -glicosidase [celobiose ou β -D-glicosidase glicohidrolase] (WOOD, 1985, 1992).

A biodegradação de celulose ocorre pela ação de três grupos de celulasas que atuam sinergicamente. As endoglicanases rompem a molécula de celulose ao acaso, através da hidrólise das ligações β -1,4-glicosídicas, e liberam

oligossacarídeos que servem de substrato para as exo-glicanases. As exo-glicanases hidrolisam, a partir da extremidade, os fragmentos de menor massa molecular para liberar celobiose ou glicose. As α -glicosidases hidrolisam a celobiose até glicose (ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Celulase é um sistema enzimático induzível (KUBICEK, 1992, 1993). Diversos substratos são conhecidos por facilitar a produção do sistema celulase, completo ou incompleto, tais como lactose, celobiose e palmitatos (WOOD, 1985). Entretanto, a celulose é considerada a melhor fonte de carbono para a produção de altos níveis de celulases por microorganismos (STEWART & LEATHERWOOD, 1976; RYU & MANDELS, 1980). Todos os microorganismos estudados até o momento produziram mais altos níveis de celulase quando crescidos em celulose (STEWART & LEATHERWOOD, 1976; RYU & MANDELS, 1980; WOOD, 1985).

Celulase produzida pelo fungo filamentosso *Trichoderma reesei* é o mais eficiente sistema enzimático para a completa hidrólise de substratos celulósicos em seu componente monomérico glicose (AHAMED & VERMETTE, 2007).

BIODEGRADAÇÃO DA LIGNINA

Na natureza, lignina e celulose formam a parede celular dos vegetais e junto com hemicelulose constituem uma estrutura conhecida como ligninocelulose. Os polímeros de carboidratos são fortemente ligados à lignina principalmente por ligações de hidrogênio, mas também por algumas ligações covalentes. A ligninocelulose compõe cerca de 60% da biomassa da Terra (TENGERDY & SZAKACS, 2003; LEE, 2007).

A biodegradação da lignina é o passo chave para a reciclagem de carbono nos ecossistemas terrestres, pois a degradação desse polímero recalcitrante possibilita a utilização da celulose pelas populações microbianas (MARTÍNEZ, 2002; VARGAS-GARCÍA *et al.*, 2007).

Lignina

A lignina (Fig. 2) é um polímero aromático, tridimensional e hidrofóbico altamente resistente à degradação química e biológica, formado por unidades de hidroxifenilpropanóides conectadas por ligações C – C e C – O – C (MARTÍNEZ *et al.*, 2005; LEE, 2007; VALÁSKOVÁ *et al.*, 2007). A lignina é formada por três álcoois precursores: álcool *p*-hidroxicinamil (coumaril), que dá origem às unidades *p*-hidroxifenil no polímero; álcool 4-hidroxi-3-metoxicinamil (coniferil), que compõe as unidades guaiacil; e álcool 3-5-dimetoxi-4-hidroxicinamil (sinaptil), que forma as unidades siringil. As características estruturais da lignina tornam difícil o estudo de sua biodegradação (LEE, 2007). Compostos modelo de lignina são difíceis de serem obtidos e há poucos estudos disponíveis sobre biodegradação (BUSWELL & ODIER, 1987).

Enzimas ligninolíticas e fungos produtores

Os fungos de podridão branca, que pertencem em sua maioria à classe Basidiomycota, são os organismos mais efetivos na degradação de materiais ligninocelulósicos porque possuem grande habilidade em degradar ou modificar a lignina (TENGERDY *et al.*, 2003; ESPOSITO & AZEVEDO, 2004; CHRISTIAN *et al.*, 2005; MARTÍNEZ *et al.*, 2005; PALMIERE *et al.*, 2005).

Os fungos de podridão branca parecem ser únicos na sua habilidade de degradar lignina e são bem conhecidos por produzir as enzimas oxidativas extracelulares envolvidas na degradação de substratos ligninocelulósicos naturais (CHRISTIAN *et al.*, 2005; PALMIERE *et al.*, 2005). A degradação de lignina por esses fungos é mais rápida do que a de qualquer outro organismo e eles são os responsáveis pela maioria da decomposição de lignina na natureza (BUSWELL & ODIER, 1987; KIRK & FARELL, 1987; BLANCHETTE, 1995).

A delignificação por fungos de podridão branca pode ocorrer de uma maneira seletiva ou não seletiva. Na delignificação seletiva, lignina é removida sem nenhuma perda marcante de celulose e na delignificação não seletiva todos os componentes da parede celular são degradados. Os fungos de podridão branca normalmente atacam de uma das duas formas, porém, alguns deles são capazes de realizar degradação seletiva e não seletiva, como acontece com *Heterobasidium annosum* (ERIKSON *et al.*, 1990; BLANCHETTE, 1995).

Entre os principais fungos de podridão branca, os mais estudados são *Phanerochaete chrysosporium*, *Phlebia radiata*, que degradam lignina seletivamente, e *Trametes versicolor*, que age não seletivamente (HATAKKA, 1994).

As principais enzimas associadas com a habilidade dos fungos basidiomicetos de podridão branca para degradar lignina são: lignina peroxidase (EC 1.11.1.14 - LiP), manganês peroxidase (EC 1.11.1.13 - MnP) e lacases (EC 1.10.3.2). Alguns fungos produzem todas elas enquanto outros produzem apenas uma ou duas delas (ELISASHVILI *et al.*, 2007). *Phanerochaete chrysosporium* foi o primeiro fungo identificado como produtor de LiP (KAPICH *et al.*, 2004). O tipo e a composição dos substratos ligninocelulósicos parecem determinar a quantidade de enzimas produzidas por basidiomicetos (SONGULASHVILI *et al.*, 2007).

Diferentes fungos de podridão branca produzem diferentes combinações de enzimas: há fungos produzindo LiP e MnP, fungos produzindo MnP e lacase, fungos produzindo LiP e lacase e fungos que não produzem nem LiP nem MnP, mas lacase e aril álcool oxidase (AAO). Muitos fungos pertencentes ao grupo LiP – MnP são efetivos degradadores da lignina, enquanto a capacidade de degradação de fungos pertencentes ao grupo LiP – lacase é muito mais baixa (HATAKKA, 1994).

As lacases e peroxidases ligninolíticas oxidam o

como uma forma de metabolismo secundário (KIRK & FARRELL, 1987; BROWN, 1995). Como a síntese de ligninases em vários microrganismos ocorre via metabolismo secundário, elas são produzidas em pequenas quantidades e essa é a principal limitação da utilização das enzimas ligninolíticas (LEE, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da demanda por enzimas ligninocelulolíticas tem intensificado a pesquisa para obter

microorganismos que tenham altos níveis de atividade dessas enzimas e melhorar os processos de fermentação de sua produção (LOPEZ *et al.*, 2007). Contudo, ainda existe uma necessidade de explorar mais microrganismos e substratos ligninocelulósicos com diferentes composições para avaliar o verdadeiro potencial da produção de enzimas ligninocelulolíticas e selecionar os melhores fungos produtores, bem como a aplicação biotecnológica das enzimas produzidas (MARTÍNEZ, 2005; ELISASHVILI *et al.*, 2007; SONGULASHVILI *et al.*, 2007).

REFERÊNCIAS

- AHAMED A & P VERMETTE. 2008. Culture-based strategies to enhance cellulose enzyme production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in bioreactor culture conditions. **Biochem. Eng. J.** doi:10.1016/j.bej.2007.11.030.
- ALEXANDER M. 1999. **Biodegradation and bioremediation**. San Diego: Academic Press.
- BHAT MK & S BHAT. 1997. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. **Biotechnology Advances** 15: 583-620.
- BHAT KM & R MAHESHWARI. 1987. *Sporotrichum thermophile*: Growth, cellulose degradation and cellulose activity. **Appl. Environ. Microbiol.** 53: 2175-2182.
- BHAT KM, JS GAIKWAD & R MAHESHWARI. 1993. Purification and Characterization of an extracellular β -glucosidase from the thermophilic fungus *Sporotrichum thermophile* and its influence on cellulose activity. **J. Gen. Microbiol.** 139: 2825-2832.
- BLANCHETTE RA. 1995. Degradation of lignocellulose complex in wood. **Can. J. Bot.** 73: S999-S1010.
- BÖRJESSON J, R PETERSON & F TJERNELD. 2007. Enhanced enzymatic conversion of softwood lignocellulose by poly (ethylene glycol) addition. **Enzyme and Microbial Technology** 40: 754-762.
- BROWN A. 1985. Review of lignin in biomass. **J. Appl. Biochem.** 7: 371-387.
- BUSWELL JA & E ODIER. 1987. Lignin biodegradation. **CRC Crit. Rev. Biotechnol.** 6: 1-60.
- CHRISTIAN V *et al.* 2005. Mediator role of veratryl alcohol in the lignin peroxidase-catalyzed oxidative decolorization of Remazol brilliant blue R. **Enzyme and Microbial Technology** 36: 426-431.
- COUGHLAN MP & LG LJUNDAHL. 1988. Biochemistry and genetics of cellulose degradation, FEMS Symp. 43, p. 11-30. *In*: J-P AUBERT, P BEGUIN & J MILLET (eds). **Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems**. Londres: ACADEMIC Press.
- DEMAIN AL, M NEWCOMB & JHD WU. 2005. Cellulase, clostridia, and ethanol. **Microbiol Mol Biol Rev.** 69: 124-54.
- DEZOTTI M, LH INNOCENTINI-MEI & N DURAN. 1995. Silica-immobilized enzyme catalyzed removal of chlorolignins from Eucalyptus-Kraft effluent. **Journal of Biotechnology** 43: 161-167.
- ELISASHVILI V *et al.* 2007. *Lentinus edodes* and *Pleurotus* species lignocellulolytic enzymes activity in submerged and solid-state fermentation of lignocellulosic wastes of different composition. **Bioresource Technology** 99(3): 457-462.
- ERIKSSON KEL, RA BLANCHETE & P ANDER. 1990. **Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components**. Berlin: Springer.
- ESPOSITO E & JL AZEVEDO. 2004. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Editora EDUCS.
- GOLUEKE CG. 1991. **Principles of composting**, p. 14-27. Pennsylvania: The JG Press Inc.
- GRITZALI M & JRD BROWN. 1979. The cellulose system of *Trichoderma*. The relationship between purified extracellular enzymes from induced or cellulose grown cells. **Adv. Chem. Ser.** 181: 237-269.
- HATAKA A. 1994. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. **FEMS microbial. Rev.** 13: 125-135.
- KAPICH AN *et al.* 2004. Effect of lignocellulose-containing substrates on production of ligninolytic peroxidases in submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium* ME-446. **Enzyme and Microbial Technology** 34: 187-195.
- KIRK TK & RL FARRELL. 1987. Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. **Ann. Rev. Microbiol.**
- KIRK TK & D CULLEN. 1998. Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi, p. 273-308. *In*: **Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry**. New York: John Wiley & Sons.
- KRASSIG HA. 1993. **Cellulose: structure, accessibility, and reactivity**. Yverdon, Switzerland: Gordon and Breach Sci. Publishers.
- KUBICEK CP. 1992. The cellulose proteins of *T. reesei*: structure, multiplicity, mode of action and regulation of formation. **Adv. Biochem. Eng.** 45: 1-27.
- KUNICEK CP, R MESSNER, F GRUBER, RL MACH & EM KUBICEK-PRANZ. 1993. The *Trichoderma reesei* cellulose regulatory puzzle from the interior life of a secretory fungus. **Enzyme Microb. Technol.** 15: 90-99.
- LAMED R & EA BAYER. 1988. The cellulosome of *Clostridium thermocellum*. **Adv. Appl. Microbiol.** 33: 1-46.
- LEE J. 2007. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. **Journal of Biotechnology** 56: 1-24.
- LOPEZ MJ *et al.* 2007. Lignocellulose-degrading enzymes produced by the ascomycete *Coniochaeta ligniaria* and related species: application for a lignocellulosic substrate treatment. **Enzyme and Microbial Technology** 40: 794-800.
- LOGUERCIO CL & E ESPOSITO. 2004. Fungos: estrutura e ultra-estrutura. *In*: E ESPOSITO & JL AZEVEDO (eds.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS.
- MARTÍNEZ AT *et al.* 2005. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. **International Microbiology** 8: 195-204.
- PALMIERE G, G GENNAMO & G SANNIA. 2005. Remazol Brilliant Blue R decolourisation by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system. **Enzyme and Microbial Technology** 36: 17-24.
- PELCZAR MJJ, ECS CHAN & NR KRIEG. 2004. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2ª ed. São Paulo: Makron Books.

- RUEGGER MJS & SM TAU-K-TORNISIELO. 2004. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Rev Bras. Bot.** 27(2): 205-211.
- RYU DDY & M MANDELS. 1980. Cellulases: biosynthesis and applications. **Enzyme Microb. Technol.** 2: 91-102.
- SONGULASHVILI G *et al.* 2007. Basidiomycetes laccase and manganese peroxidase activity in submerged fermentation of food industry wastes. **Enzyme and Microbial Technology** 41: 57-61.
- STEWART BJ & JM LEATHERWOOD. 1976. Depressed synthesis of cellulose by *Cellulomonas*. **J. Bacteriol.** 128: 609-615.
- TENGERDY RP & G SZAKACS. 2003. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation. **Biochemical Engineering Journal** 13: 169-179.
- VALÁSKOVÁ V *et al.* 2007. Production of lignocellulose-degrading enzymes and degradation of leaf litter by saprotrophic basidiomycetes isolated from a *Quercus petraea* forest. **Soil Biology and Biochemistry** 39: 2651-2660.
- VARGAS-GARCÍA MC *et al.* 2007. In vitro studies on lignocellulose degradation by microbial strains isolated from composting processes. Intern. **Biodeterioration & Biodegradation** 59: 322-328.
- WOOD TM. 1985. Properties of cellulolytic enzyme systems. **Biochem. Soc. Trans.** 13: 407-410.
- WOOD TM. 1992. Fungal cellulases. **Biochem. Soc. Trans.** 20: 45-53.

PRODUÇÃO DE PECTINASES POR LEVEDURAS: UMA REVISÃO

RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA¹, ARISTÓTELES GÓES-NETO², ANA PAULA TROVATTI UETANABARO³,
CARLOS AUGUSTO ROSA⁴ & SANDRA APARECIDA DE ASSIS⁵

¹Mestre em Biotecnologia (UEFS), Doutorando em Ciências/Biotecnologia (UEFS),

²Prof. Titular do DCBIO/UEFS, Doutor em Botânica (UFRGS)

³Profa. Assistente do DSAU/UEFS. Doutora em Ciência de Alimentos (UNICAMP)

⁴Prof. Adjunto do Departamento de Microbiologia (UFMG). Pós-Doutor (UWO, Canadá)

⁵Profa. Assistente do DSAU/UEFS. Doutora em Biotecnologia (UNESP) (sandraassis@uefs.br)

Universidade Estadual de Feira de Santana, Depto. Saúde, BR 116, KM 03, 44031-460, Feira de Santana, Bahia

(Produção de pectinases por leveduras: uma revisão) – O potencial biotecnológico das enzimas pectinolíticas vem chamando a atenção de vários pesquisadores em todo o mundo, devido à sua importância como catalisadores biológicos em uma variedade de processos industriais. A obtenção de enzimas extracelulares a partir de leveduras é interessante do ponto de vista econômico e industrial, devido à capacidade desses microrganismos de utilizarem substratos de baixo custo para crescimento e a possibilidade de controlar as condições de cultivo para garantir maior produção da enzima. Assim, esta revisão tem o objetivo de divulgar o potencial industrial e biotecnológico das leveduras, buscando incentivar programas de seleção e triagem dos recursos microbianos, que poderiam levar ao surgimento de novos processos ou produtos biotecnológicos.

Palavras-chave: leveduras; pectinases; catalisadores biológicos.

(Production of pectinases by yeasts: a review) – The biotechnological potential of pectinolytic enzymes has drawn the attention of several researchers around the world due to their importance as biological catalysts in several industrial processes. Under economic and industrial points of view, the extracellular enzymes from yeasts are preferable among the others pectinases sources, since they can grow from low-cost substrates and high production of these enzymes can be ensured under controlled conditions. Thus, this review has the goal of divulge the economical and industrial potential of yeasts, aiming to stimulate programs of selection and screening of microbial resources, in a wide program of scientific, technological, economic and environmental development that could aid to create new processes or biotechnological products.

Key words: yeasts; pectinases; biological catalysts.

INTRODUÇÃO

Desde a década de 30, as pectinases são utilizadas em aplicação comercial no processamento de frutas e vegetais (KASHYAP *et al.*, 2001). Seu uso tem aumentado consideravelmente, especialmente na produção de vinho, na indústria têxtil, na extração de óleo, na fermentação do café, chá e cacau, em ração animal, em purificação de vírus de plantas, em tratamento de águas residuárias da indústria, e na indústria de papel e celulose (HOONDAL *et al.*, 2002; JAYANI *et al.*, 2005).

Apesar de células vegetais e animais serem também fontes de enzimas, do ponto de vista econômico e industrial, as enzimas extracelulares de microrganismos são preferíveis devido ao menor custo de sua extração, isolamento e purificação (SAID & PIETRO, 2002).

As pectinases de origem microbiana correspondem a 25% do total de enzimas utilizadas na indústria alimentícia, sendo empregadas tradicionalmente na extração e clarificação de suco de frutas em razão de sua especificidade e do seu potencial catalítico, melhorando o processo e qualidade do produto (JAYANI *et al.*, 2005). Existe ainda uma tendência de aumento do consumo dessas enzimas pela incorporação ao mercado tanto de novos produtos quanto

de pequenos produtores, os quais pouco a pouco vêm se especializando (CANTO & MENEZES, 1995).

As preparações comerciais de pectinases são normalmente de origem fúngica, principalmente a partir do fungo filamentoso *Aspergillus niger* (BLANCO *et al.*, 1999).

Outros microrganismos também são capazes de produzir estas enzimas, tais como as leveduras dos gêneros *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Stephanosascus*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Pseudozyma*, *Cryptococcus*, *Leucosporidium*, *Metschnikowia*, *Rhodotorula*, *Torulasporea*, *Trichosporon*, *Kloeckera*, *Ambrosiozyma*, *Bullera*, *Geotrichum*, *Rhodospiridium*, *Saccharomycopsis*, *Trichosporonoides* sp. e *Ustilago*, além do fungo semelhante à levedura *Aureobasidium* e de leveduras pretas (BIELY & SLÁVIKOVÁ, 1994; STRAUSS *et al.*, 2001; TRINDADE *et al.*, 2002; BUZZINI & MARTINI, 2002; SILVA *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; OLIVEIRA, 2007).

As leveduras despertam grande interesse para a produção de pectinases em larga escala, apresentando vantagens quando comparadas aos fungos filamentosos: são unicelulares, o crescimento é mais rápido e o meio do crescimento não requer um indutor (SILVA *et al.*, 2005).

Assim, esta revisão tem o objetivo de divulgar o

potencial industrial e biotecnológico das leveduras, tendo em vista que um aumento da exploração deste potencial pode trazer melhoria em processos já existentes ou ainda pode levar ao surgimento de novos processos ou produtos.

AS SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS

Substância péctica é o nome genérico usado para um grupo complexo de polissacarídeos coloidais de elevada massa molecular, que ocorre principalmente na lamela média e nas paredes celulares de vegetais superiores associadas à celulose e à hemicelulose, contribuindo na firmeza e estrutura dos seus tecidos (GUMMADI & PANDA, 2003; JAYANI *et al.*, 2005).

A cadeia principal dos polissacarídeos pécticos é constituída de resíduos de α -1,4-D-galacturônico unidos por ligações α -1,4, intercalados ou não por resíduos de ramnose, e cadeias laterais contendo principalmente arabinose, galactose e xilose (ALKORTA *et al.*, 1997; KASHYAP *et al.*, 2001). Os grupos carboxílicos do ácido galacturônico podem estar parcialmente esterificados por grupos metil e parcial ou completamente neutralizados por íons sódio, potássio ou amônio (KASHYAP *et al.*, 2001).

A Sociedade Americana de Química classificou as substâncias pécticas em: protopectina, a forma nativa unida com outros constituintes das células vegetais, insolúvel em água e totalmente metoxilada; ácido péctico, composto de resíduos de ácido poligalacturônico coloidal sem a presença de metoxilas; pectina; e, ácido pectínico. Esses últimos possuem um grau variável de metoxilação e, em condições adequadas, são capazes de formar géis com ácidos e açúcares (SAKAI *et al.*, 1993; HOONDAL *et al.*, 2002).

AS PECTINASES

Enzimas pécticas, pectinases ou enzimas

pectinolíticas são um grupo heterogêneo de enzimas relacionadas que catalisam a degradação das substâncias pécticas nos vegetais (BLANCO *et al.*, 1999; JAYANI *et al.*, 2005).

As enzimas pectinolíticas são produzidas pelos vegetais, tendo importância na maturação dos frutos, crescimento, abscisão e desenvolvimento do pólen (BLANCO *et al.*, 1999). Por outro lado, também são produzidas por bactérias, fungos filamentosos, leveduras, insetos, nematóides e protozoários (HOONDAL *et al.*, 2002).

As pectinases podem ser classificadas em três grupos: pectina esterases, que catalisam a desesterificação do grupo metoxílico da pectina, produzindo álcool metílico e ácido péctico; enzimas despolimerizantes, as quais rompem as ligações glicosídicas α -1,4 entre os monômeros galacturônicos das substâncias pécticas (ácido péctico e pectina), podendo atuar por hidrólise (hidrolases, por exemplo, a poligalacturonase, PG) ou por transeliminação (liases, por exemplo, a pectina liase, PL), e protopectinases, que solubilizam protopectina, formando pectina solúvel altamente polimerizada (SAKAI *et al.*, 1993; ALKORTA *et al.*, 1997; KASHYAP *et al.*, 2001; JAYANI *et al.*, 2005).

LEVEDURAS

Os fungos são seres eucariontes, de nutrição quimio-heterotrófica absorvitiva, predominantemente aeróbios, com temperatura ótima de crescimento entre 25 a 30° C e pH de 4 a 7, podendo apresentar-se sob a forma leveduriforme ou filamentosa (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996).

As leveduras são formadas por células únicas, caracteristicamente esféricas ou ovais, que se reproduzem assexuadamente por brotamento ou fissão. No entanto, algumas leveduras produzem brotos que não se separam, formando pseudomicélio. Além disso, alguns fungos exibem dimorfismo, ou seja, podem crescer tanto na forma de fungo

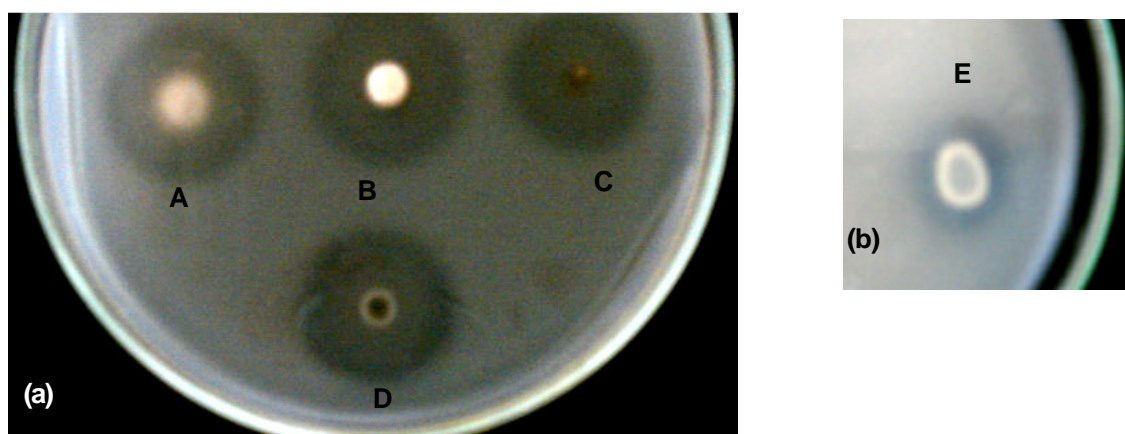


Fig. 1. (a) Halo de hidrólise do ácido poligalacturônico, visualizado após adição de hexadecil trimetil amônio brometo 1% (p/v), originado por microrganismos leveduriformes isolado do Semi-árido baiano, crescidos a 28°C por 48 h em meio MP-5: (A) *Aureobasidium pullulans* CCMB 312, (B) *Trichosporonoides* sp. CCMB 298, (C) *Pseudozyma* sp. CCMB 300 e (D) *Pseudozyma* sp. CCMB 299. (b) Halo de degradação da pectina, visualizado após adição de hexadecil trimetil amônio brometo 1% (p/v), originado por microrganismo leveduriforme isolado do Semi-árido baiano, crescido a 28°C por 48 h em meio MP-7; (E) *Aureobasidium pullulans* CCMB 316. Fonte: OLIVEIRA (2007).

filamentoso quanto na forma de levedura (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996; LOGUERCIO-LEITE & ESPOSITO, 2004).

Na natureza as leveduras podem ocupar vários nichos ecológicos, já que são capazes de utilizar diversos substratos para sua nutrição absorviva. Essa característica permite que as leveduras secretem enzimas extracelulares que são liberadas para o meio, sendo capazes de degradar macromoléculas a moléculas menores que então podem ser incorporadas e utilizadas nutricionalmente. Contudo, esses microrganismos não são tipicamente degradadores de polímeros, preferindo habitats onde abundam os açúcares solúveis, tais como nectário das flores e a superfície de frutas (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996; SANTOS *et al.*, 1996; GALVAGNO & FORCHIASSIN, 2004).

As leveduras são tradicionalmente identificadas através de técnicas convencionais, baseadas em características morfológicas (macro e micro) e fisiológicas, entre as quais: fermentação de diferentes fontes de carbono; assimilação de diferentes fontes de carbono e nitrogênio; crescimento em diferentes temperaturas; crescimento em diferentes concentrações de glicose e cloreto de sódio; tolerância ao ácido acético; produção extracelular de compostos amilóides; coloração com diazônio azul B e resistência à cicloexamida (YARROW, 1998).

Segundo ALEXOPOULOS *et al.* (1996), as leveduras podem ser classificadas como ascomicetos, basidiomicetos ou fungos mitospóricos.

Nos últimos anos, com a introdução de novas técnicas biotecnológicas grandes progressos na taxonomia de leveduras vêm ocorrendo (ORBERA-RATON, 2004).

Para VALENTE *et al.* (1999), o DNA ribossômico (rDNA) é muito empregado em estudos taxonômicos devido à presença de regiões que evoluem em diferentes taxas, servindo como base para análise das relações evolucionárias.

As seqüências do domínio D1/D2 da subunidade maior (26S) do rDNA, que são entre as regiões as mais variáveis dentro do gene inteiro, estão disponíveis para todas as espécies conhecidas de leveduras ascomicéticas (KURTZMAN & ROBNETT, 1995, 1997, 1998). Estes dados estão disponíveis também para leveduras basidiomicéticas, embora em alguns casos seja necessário sequenciar mais de uma região do DNA para se obter uma identificação precisa (FELL *et al.*, 2000). Neste caso, têm-se escolhido as regiões internas não codificadoras (ITS1 e ITS2) e as regiões não codificadoras intergênicas (IGS1 e IGS2) (FELL & BLATT, 1999; SCORZETTI *et al.*, 2002).

Das já conhecidas, a abordagem baseada em uma combinação de métodos clássicos (fenotípicas) e moleculares (genotípicas), tem resultado na descoberta de novas espécies e em rearranjos taxonômicos das já conhecidas (MANFIO, 2000; JESPERSEN *et al.*, 2005; LOPANDIC *et al.*, 2006; LEAW *et al.*, 2006).

Sem as leveduras não existiriam bebidas fermentadas como cervejas e vinhos, e outros alimentos nos quais esses microrganismos têm papel de destaque em

sua produção, como por exemplo, na produção de pão e queijo. Deve-se mencionar ainda que as leveduras são responsáveis pela produção de enzimas de interesse industrial e de valor econômico, destacando-se as pectinases (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996; ESPOSITO & AZEVEDO, 2004).

Atualmente, há um grande interesse industrial e biotecnológico e, na verdade, um sentido de urgência sobre a documentação da biodiversidade das leveduras no Brasil, onde, invariavelmente, uma porcentagem das espécies encontradas é ainda desconhecida para a ciência (SANTOS *et al.*, 1996; MANFIO, 2000; BUZZINI & MARTINI, 2002; FUENTEFRÍA, 2004; MORAES *et al.*, 2005; RUIVO *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2005). HAWKSWORTH (2001) estima a existência de 1,5 milhões de espécies de fungos no planeta, e menciona que apenas 5% da diversidade são conhecidos.

OCORRÊNCIA DE PECTINASE EM LEVEDURAS

A partir da observação de que os trabalhos discordavam sobre a produção de pectinases por leveduras, os pesquisadores LUH & PHAFF (1951), realizaram um estudo qualitativo com vista a evidenciar a produção de poligalacturonase por esses microrganismos. Os referidos autores testaram um grande número de espécies e linhagens de leveduras em meio líquido contendo pectina cítrica como substrato. No entanto, somente seis culturas foram capazes de degradar a pectina do meio, clarificando-o, sendo identificadas como *Saccharomyces fragilis* e sua forma anamórfica *Candida pseudotropicalis*, todas oriundas da *Division of Food Technology*, Universidade da Califórnia, Estados Unidos.

Após a pesquisa de LUH & PHAFF (1951), outros pesquisadores passaram a investigar a produção de pectinase extracelular por leveduras.

SANCHEZ *et al.* (1984), estudaram a atividade pectinolítica de leveduras isoladas na Costa do Marfim durante a fermentação do cacau, além de outras linhagens obtidas na *Ecole Nationale Supérieure de Agronomie*, França. Conforme foi verificado por estudos viscosimétricos, as leveduras *Torulopsis candida*, *Candida norvegensis*, *Kluyveromyces fragilis* e *Saccharomyces chevalieri* degradaram a pectina do meio de cultura, sendo as quatro positivas para poligalacturonase. No entanto, leveduras positivas para a pectina liase não foram encontradas nesse estudo.

Outro método para detecção de levedura produtora de poligalacturonase foi descrito por MCKAY (1988). Segundo esse método, após o crescimento da cultura em placa de agarose com ácido poligalacturônico como substrato, recobre-se a superfície da placa com solução de vermelho de rutênio. Sem a degradação da poligalacturonase, o vermelho de rutênio não penetra no meio, sendo facilmente lavado. Nesse caso, a degradação do ácido poligalacturônico é detectada pela formação de halo vermelho intenso ao redor da colônia. Ainda, segundo esse

trabalho, as leveduras produtoras de poligalacturonase foram: *Cryptococcus macerans* NCYC 578, *Candida toressi* NCYC 786, *Kluyveromyces marxianus* NCYC 587 e *Candida pseudotropicalis* NCYC 744, todas elas obtidas da *National Collection of Yeast Cultures*, Inglaterra.

Em 1994, BIELY & SLÁVIKOVÁ, propuseram um método similar para seleção de leveduras pectinolíticas em meio sólido. Entretanto, este método consiste na precipitação da pectina cítrica não degradada em meio sólido, após a adição de brometo de cetil trimetil de amônio; onde as linhagens positivas mostram áreas transparentes em torno das colônias. Dentre os gêneros de leveduras que exibiram halo de degradação nesse trabalho, têm-se: *Ambrosiozyma*, *Aureobasidium*, *Bullera*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Georrichum*, *Kluyveromyces*, *Leucosporidium*, *Rhodospiridium*, *Saccharomycopsis*, *Strephanoascus*, *Trichosporon* e *Ustilago*, todas elas provenientes da *Culture Collection of Yeasts* (CCY), Eslováquia.

No Brasil, em 1997, SCHWAN, COOPER & WHEALS, isolaram, identificaram e depositaram na Coleção de Culturas Tropicais da Fundação Tropical “André Tosello” (CCT), as linhagens de leveduras oriundas da fermentação do cacau. No mesmo trabalho, as linhagens *Kluyveromyces marxianus* (CCT 3172), *K. thermotolerans* (CCT 1701), *Saccharomyces cerevisiae* var. *chevalieri* (CCT 1698) e *Candida rugopelliculose* (CCT 1702) foram hábeis na secreção de poligalacturonase em meio líquido contendo pectina.

STRAUSS *et al.* (2001), pesquisaram a produção de enzimas extracelulares de 245 leveduras não *Saccharomyces*, isoladas de vinhedos da África do Sul, tendo em vista o seu uso como catalisadores durante a fermentação do vinho. Dentre outras enzimas, a pectinase foi estudada por esses pesquisadores, sendo utilizado o meio sólido contendo ácido poligalacturônico para detecção da produção da enzima. Entre as leveduras pectinolíticas, foram encontradas duas linhagens de *Candida stellata*, uma de *C. oleophila*, uma de *C. pulcherrima*, uma de *C. valida* e quatro de *Kloeckera apiculata*.

Por sua vez, TRINDADE *et al.* (2002), investigaram tanto a biodiversidade de leveduras em frutas maduras e em polpa de fruta congelada coletadas no Brasil, quanto à produção de enzimas por estas, incluindo pectinase, tendo em vista sua aplicação industrial. Assim, entre as 381 linhagens pesquisadas nesse trabalho, somente 16 produziram pectinases extracelulares, em meio sólido contendo ácido poligalacturônico, conforme listadas a seguir: levedura preta, *Candida azyma*, levedura semelhante a *C. bombicola*, *C. krusei*, *Leucosporidium scotii*, *Metschnikowia* spp., *Pichia membranifaciens*, *P. antarctica*, levedura semelhante a *P. fusiformata*, *Rhodotorula graminis*, *R. marina*, levedura semelhante a *Torulaspora delbrueckii*, *Trichosporon* spp., fungo semelhante a levedura e duas linhagens de *Cryptococcus* spp.

BUZZINI & MARTINI (2002) pesquisaram a produção de pectinase extracelular por leveduras e fungos semelhantes a leveduras. Neste trabalho, os 394 microrganismos testados para diferentes enzimas, foram isolados de solo, água, inseto e plantas coletadas em florestas do Brasil. Os citados autores relataram à produção de pectinase, em meio sólido com pectina, pelas linhagens *Candida sake*, *Pichia guilliermondii*, *P. spartinae*, correspondendo 1,5% do total de linhagens positivas dos ascomicetos; *Pseudozymas antarctica*, correspondendo a 18,7% do total de linhagens positivas dos basidiomicetos; *Aureobasidium pullulans*, correspondendo a 21,7% do total de linhagens positivas dos fungo semelhante a levedura. Este estudo demonstrou o potencial de microrganismos isolados de ambiente tropical, como fontes de enzimas de interesse industrial e biotecnológico.

No trabalho de NAKAGAWA *et al.* (2004), leveduras psicrófilas foram isoladas do solo, em Abashiri no Japão, e testadas quanto à produção de enzimas pectinolíticas em baixas temperaturas, usando meio sólido contendo pectina. Nesse trabalho, foram encontradas três espécies de leveduras psicrófilas pectinolíticas, que podem ser utilizadas na indústria de alimentos, são elas: *Cryptococcus cylindricus*, *Mrakia frigida* e *Cystofilobasidium capitatum*.

No trabalho de SILVA *et al.* (2005), de um total de 300 leveduras isoladas de frutas frescas e polpas de frutas tropicais do Brasil e da Colômbia, 21 foram positivas para poligalacturonase, usando como substrato em meio sólido o ácido poligalacturônico. Essas 21 foram: *Kluyveromyces wickerhamii* (3), *Stephanoascus smithiae* (5), *Debaryomyces hansenii* (2), *D. polymorphus* (1), *Candida intermedia* (1), *C. pseudoglaebosa* (1), *C. krusei* (1), *Zygosaccharomyces fermentati* (1), *Z. cidri* (1), *Pichia guilliermondii* (2), *P. angusta* (1), *P. anomala* (1), *Pichia* sp. (1). As leveduras *S. smithiae* (isolados FT-01, 168, 36 e 147), *Pichia* sp. (FT-28), *P. anomala* (SL-125) e *K. wickerhamii* (185), também foram capazes de secretar pectina liase, no entanto, em meio contendo pectina como substrato.

OLIVEIRA *et al.* (2006) analisaram 201 isolados da levedura *Saccharomyces cerevisiae* quanto à atividade pectinolítica de poligalacturonase e pectinase em meio sólido, utilizando ácido poligalacturônico e pectina como substrato, respectivamente. Todos esses isolados foram provenientes de amostras do “leite de leveduras” coletadas em uma fábrica de etanol cítrico no Brasil. Neste trabalho os autores encontraram 107 isolados que apresentaram secreção da poligalacturonase e 97 da pectinase.

Deve-se ainda mencionar o trabalho de UENOJO & PASTORE (2006), no qual esses pesquisadores isolaram 104 leveduras, de resíduos de agroindústrias, e as testaram quanto à produção de pectinase em meio sólido contendo pectina cítrica, as quais 18 foram consideradas positivas.

A aparente contradição entre os resultados encontrados por LUH & PHAFF (1951), e dos pesquisadores

mais recentes, pode ser devido ao método empregado em cada caso (BLANCO *et al.*, 1999). Nos trabalhos recentes, os pesquisadores passaram a aferir a produção de pectinase extracelular pelas leveduras através da formação de halo de degradação do substrato em meio sólido (Fig. 1).

O uso de meio sólido, ao contrário do meio líquido, permite a triagem de uma grande quantidade de microorganismos, possibilitando uma rápida detecção de enzimas específicas, além da determinação de variantes fisiológicas (BIELY & SLÁVIKOVÁ, 1994; STRAUSS *et al.*, 2001; TRINDADE *et al.*, 2002; BUZZINI & MARTINI, 2002; FUENTEFRÍA, 2004; SILVA *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2006; UENOJO & PASTORE, 2006).

Existem poucos trabalhos sobre prospecção de leveduras provenientes de ambientes com condições drásticas, tais como o semi-árido baiano. Recentemente, OLIVEIRA (2007) isolou 250 microrganismos leveduriformes de flores, frutos, tecido vegetal necrosado, insetos e solos da região Semi-árida baiana, sendo selecionados 33 pectinolíticos em meio sólido seletivo, utilizando ácido poligalacturônico e pectina como substrato (Fig. 1). Estes microrganismos selecionados foram identificados molecularmente e depositados na Coleção de Cultura de Microrganismos (CCMB) da UEFS, Brasil. Entre os 33 isolados pectinolíticos, 23 foram ascomicetos [*Aureobasidium pullulans* (18), *Candida boidinii* (1), *Trichosporonoides* sp. (3) e *Kluyveromyces marxianus* (1)] e cinco basidiomicetos [*Cryptococcus liquefaciens* (1) e *Pseudozyma* sp. (4)]. Entretanto cinco dos 33 microrganismos leveduriformes pectinolíticos, foram identificados apenas como Fungal endophyte.

Cabe comentar que *Kluyveromyces marxianus* é uma levedura anteriormente designada por *K. fragilis* ou *Saccharomyces fragilis* (ROSE & HARRISON, 1969 *apud* PEREIRA, 2005).

PRODUÇÃO DE PECTINASES POR LEVEDURAS

O estudo regulatório de síntese e excreção de enzimas por microrganismos é um aspecto do metabolismo celular de grande interesse para a indústria produtora de enzimas, sendo dependente da linhagem selecionada, da forma de condução do processo fermentativo e das características do meio de cultivo (SCHMIDELL, 2001).

Segundo SAID & PIETRO (2002), as enzimas produzidas pelos microrganismos podem estar localizadas dentro da célula (enzimas intracelulares), ou podem ser sintetizadas e posteriormente excretadas no meio (enzimas extracelulares); sendo esta produção influenciada pela fonte de carbono, tensão de oxigênio, pH do meio de cultivo, tempo de incubação e tamanho do inóculo.

Conforme GALVAGNO & FORCHLIASSIN (2004), muitas vezes, as enzimas necessárias para viabilizar o metabolismo básico de um fungo estão sempre presentes e são enzimas constitutivas; em outros casos, é necessária a presença do

substrato para induzir a síntese ou a atividade da enzima para sua degradação, são as enzimas induzíveis. Além do mais, para os citados autores, os fungos podem produzir enzimas adaptativas na presença de um substrato que, normalmente não utilizam.

No trabalho de MCKAY (1988), as leveduras *Kluyveromyces marxianus* NCYC 587 e a *Candida pseudotropicalis* NCYC 744, produziram a poligalacturonase em meio contendo glicose como substrato, nesse caso a enzima foi constitutiva. Por outro lado, no mesmo trabalho, as leveduras *Cryptococcus macerans* NCYC 578 e a *Candida toressi* NCYC 786, produziram poligalacturonase quando foi utilizado o ácido poligalacturônico como única fonte de carbono e de energia, indicando que a secreção da enzima foi induzida.

Entretanto, o trabalho de SCHWAN & ROSE (1994) demonstrou que a produção de poligalacturonase sob condições anaeróbicas acontece somente durante a fase de crescimento da levedura *Kluyveromyces marxianus* (CCT 3172, isolada da fermentação do cacau), sendo uma capacidade constitutiva, porque pectina, ácido poligalacturônico e ácido galacturônico, não foram requeridos para induzir a síntese desta enzima. Além do mais, uma fonte de carbono e de energia facilmente metabolizável, como a glicose 1% (p/v), foi requerida para regular a atividade pectinolítica, não ocorrendo o processo de repressão catabólica nesta concentração de açúcar.

SAID & PIETRO (2002) chamam de repressão catabólica o processo pelo qual a síntese de determinadas enzimas, em uma seqüência metabólica, é suprimida quando uma fonte de carbono facilmente metabolizável está presente.

Já o trabalho de MOYO *et al.* (2003), que apresenta a otimização das condições de crescimento e da atividade pectinolítica da levedura *Kluyveromyces wickerhamii* pela metodologia de superfície de resposta, aponta que a produção de poligalacturonase extracelular por essa linhagem foi parcialmente constitutiva; pois, a presença de pectina 1% (p/v) no meio contendo glicose 1% (p/v) aumentou em aproximadamente 50% a atividade pectinolítica. Além disso, as melhores condições estimadas para a atividade foram na combinação das seguintes variáveis independentes: pH 5,0, temperatura 32° C e 91 horas de incubação. Esse trabalho indicou ainda que o extrato bruto com a enzima foi termoestável em várias temperaturas quando na presença de íons Ca²⁺, sendo inibido pelos íons Mg²⁺, Zn²⁺, Co²⁺, Mn²⁺ e Na⁺.

Em sentido amplo, SAID & PIETRO (2002) consideram que a produção de pectinases extracelulares pelos microrganismos requer muitas vezes um indutor, por exemplo, a pectina. Devendo-se ainda destacar que em alguns casos, a principal fonte de carbono pode também servir como indutor. Da mesma forma, HOONDAL *et al.* (2002) em artigo de revisão relatam que as enzimas pectinolíticas microbianas são induzidas.

Com base nas considerações de BLANCO *et al.* (1999), dois tipos de leveduras podem ser discernidos quanto à produção de enzimas. Um grupo compreende aquelas incapazes de usar a pectina, o pectato ou seus produtos da hidrólise (ácido galacturônico) como fonte de carbono. O outro grupo abrange as leveduras que, assim como fungos semelhantes a leveduras, têm habilidade de crescer usando substâncias pécicas com a única fonte de carbono, sugerindo um sistema enzimático mais complexo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leveduras são muito promissoras do ponto de vista industrial e biotecnológico, e existem ainda poucos trabalhos de prospecção em ambientes inóspitos, como o semi-árido baiano. Deste modo, a exploração do potencial desses microrganismos precisa incentivada através de programas de seleção e triagem de microrganismos do ambiente, tendo vista que o surgimento de novos processos ou produtos pode trazer benefícios econômicos ao país.

REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS CJ, C MIMS & M BLACKWELL. 1996. **Introductory mcology**. 4ª ed. New York: John Wiley & Sons.
- ALKORTA I, C GARBISU, MJ LLAMA & JL SERRA. 1997. **Industrial applications of pectic enzymes: a review**. *Process Biochem* 33(1): 21-28.
- BIELY P & E SLÁVIKOVÁ. 1994. New search for pectolytic yeasts. *Folia Microbiol.* 39(6): 485-488.
- BLANCO P, C SIEIRO & TG VILLA. 1999. Production of pectic enzymes in yeasts: minireview. *FEMS Microbiol Lett.* 175: 1-9.
- BUZZINI P & A MARTINI. 2002. Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *J. Appl. Microbiol.* 93: 1020-1025.
- CANTO WL & TJB MENEZES. 1995. **Produção, usos e mercado de enzimas. Estudos econômicos-alimentos processados**. ITAL Campinas: ITAL, n. 29.
- ESPOSITO E & JL AZEVEDO. 2004. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: EDUCS.
- FELL JW & GM BLATT. 1999. Separation of strains of the yeasts *Xanthophyllomyces dendrorhousand* and *Phaffia rhodozyma* based on rDNA IGS and ITS sequence analysis. *J Ind Microbiol and Biot.* 23(1): 677-681.
- FELL JW, T BOEKHOUT, A FONSECA, G SCORZETTI & A STATZELTALLMAN. 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *Int J Syst Evol Micr.* 50: 1351-71.
- FUENTEFRÍA AM. 2004. **Identificação e avaliação do potencial biotecnológico de leveduras e fungos semelhantes a leveduras isolados de filoplano do *Hibiscus rosa-sinensis***. Univ. Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, M.Sc. diss.
- GALVAGNO MA & F FORCHIASIN. 2004. Fisiologia dos fungos: nutrição e metabolismo, p.125-169. *In: E ESPOSITO & JL AZEVEDO (Orgs.). Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: EDUCS.*
- GUMMADI SN & T PANDA. 2003. Purification and biochemical properties of microbial pectinases: a review. *Process Biochem.* 38: 987-996.
- HAWKSWORTH DL. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol Res.* 105(12): 1422-1432.
- HOONDAL GS, RP TIWARI, R TEWARI, N DAHIYA & QK BEG. 2002. Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. *Appl Microbiol Biot.* 59: 409-418.
- JAYANI RS, S SAXENA & R GUPTA. 2005. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochem.* 40: 2931-2944.
- JESPERSEN L, DS NIELSEN, S HONHOLT & M JAKOBSEN. 2005. Occurrence and diversity of yeasts involved in fermentation of West African cocoa beans. *FEMS Yeast Res.* 5(4-5): 441-453.
- KASHYAP DR, PK VOHRA, S CHOPRA & R TEWARI. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technol.* 77: 215-227.
- KURTZMAN CP & CJ ROBNETT. 1997. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subunit (26S) ribosomal DNA gene. *J Clin Microbiol.* 35(5): 1216-1223.
- KURTZMAN CP & CJ ROBNETT. 1995. Molecular relationships among hyphal ascomycetous yeasts and yeastlike taxa. *Can J Botany.* 73(suppl. 1): S824-S830.
- KURTZMAN CP & CJ ROBNETT. 1998. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 73(4): 331-71.
- LEAW SN, HC CHANG, HF SUN, R BARTON, JP BOUCHARA & TC CHANG. 2006. Identification of medically important yeast species by sequence analysis of the internal transcribed spacer regions. *J. Clin. Microbiol.* 44(3): 693-9.
- LOGUERCIO-LEITE C & E ESPOSITO. 2004. Fungos: estrutura e ultra-estrutura, p. 15-44. *In: E ESPOSITO & JL AZEVEDO (Orgs.). Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia*. Caxias do Sul: EDUCS.
- LOPANDIC K, S ZELGER, LK BANSZKY & H PRILLINGER. 2006. Identification of yeasts associated with milk products using traditional and molecular techniques. *Food Microbiol.* 23(4): 341-50.
- LUH BS & HJ PHAFF. 1951. Studies on polygalacturonase of certain yeasts. *Arch Biochem.* 33(2): 212-27.
- MANFIO GP. 2000. **Avaliação do estado atual do conhecimento sobre a diversidade microbiana no Brasil - Relatório final**. Campinas.
- McKAY AM. 1988. A plate assay method for the detection of fungal polygalacturonase secretion. *FEMS Microbiol Lett.* 56(3): 355-358.
- MORAES EM, CA ROSA & FM SENE. 2005. Preliminary notes on yeasts associated with necrotic cactus stems from different localities in Brazil. *Braz J Biology.* 65(2): 299-304.
- MOYO S, BA GASHE, EK COLLISON & S MPUCHANE. 2003. Optimising growth conditions for the pectinolytic activity of *Kluyveromyces wickerhamii* by using response surface methodology. *Int J Food Microbiol.* 85(1-2): 87-100.
- NAKAGAWA T, T NAGAOKA, S TANIGUCHI, T MIYAJI & N TOMIZUKA. 2004. Isolation and characterization of psychrophilic yeasts producing cold-adapted pectinolytic enzymes. *Lett Appl Microbiol.* 38: 383-387.
- OLIVEIRA RQ. 2007. **Bioprospecção de microrganismos leveduriformes produtores de pectinases extracelulares isolados do Semi-árido baiano**. Univ. Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, M.Sc. diss.
- OLIVEIRA KF, L MALAVOLTA, CS SOUZA, EJ VICENTE & C LALUCE. 2006. Pectinolytic activity secreted by yeasts isolated from fermented citrus molasses. *J Appl Microbiol.* 100(4): 633-640.
- ORBERA-RATON T. 2004. Molecular identification methods of yeasts of biotechnological interest. *Rev. Iberoam. Micol.* 21(1):15-9.
- PEREIRA MSA. 2005. **Purificação de uma endopoligalacturonase, produzida por *Kluyveromyces marxianus*, utilizando sistema de duas fases aquosa**. Univ. de Minho, Braga, Tese.

- ROSA CA, PB MORAIS, SR SANTOS, PR PERES NETO, LC MENDONÇA-HAGLER & AN HAGLER. 1995. Yeast communities associated with different plant resources in sandy coastal plains of southeastern Brazil. **Mycol Res.** 99(9): 1047-1054.
- RUIVO CCC, M-A LACHANCE, CA ROSA, JRM BACCI & FC PAGNOCCA. 2006. *Candida heliconiae* sp. nov., *Candida picinguabensis* sp. nov. and *Candida saopaulonensis* sp. nov., three ascomycetous yeasts from *Heliconia velloziana* (Heliconiaceae). **Int J Syst Evol Micr.** 56(5): 1147-1151.
- SAID S & RCLR PIETRO. 2002. **Enzimas de interesse industrial e biotecnológico.** 1ª ed. Rio de Janeiro: Eventos.
- SAKAI T, JT SAKAMOTO & EJ VANDAMME. 1993. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties, and applications. **Adv Appl Microbiol.** 39: 213-94.
- SANCHEZ J, JP GUIRAUD & P GALZY. 1984. A study of the polygalacturonase activity of several yeast strains isolated from cocoa. **Appl Microbiol Biot.** 20: 262-267.
- SANTOS EA, RB OLIVEIRA, LC MENDONÇA-HAGLER & AN HAGLER. 1996. Yeasts associated with flowers and fruits from a Semi-arid Region of Northeastern Brazil. **Rev. Microbiol.** 27(1): 33-40.
- SCHMIDELL W. 2001. Microrganismos e meios de cultura para utilização industrial, p. 5-18. In: W SCHMIDELL, UA LIMA, E AQUARONE & W BORZANI (Orgs.). **Biotecnologia Industrial.** V. 2. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda.
- SCHWAN RF & AH ROSE. 1994. Polygalacturonase production by *Kluyveromyces marxianus*: effect of medium composition. **J Appl Bacteriology.** 76: 62-67.
- SCHWAN RF, RM COOPER & AE WHEALS. 1997. Endopolygalacturonase secretion by *Kluyveromyces marxianus* and other cocoa pulp-degrading yeasts. **Enzyme Microb Tech.** 21: 234-244.
- SCORZETTI G, JW FELL, A FONSECA, A STATZELL-TALLMAN. 2002. Systematics of basidiomycetous yeasts: a comparison of large subunit D1/D2 and internal transcribed spacer rDNA regions. **FEMS Yeast Res.** 2(4): 495-517.
- SILVA EG, MF BORGES, C MEDINA, RH PICCOLI & RF SCHWAN. 2005. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Res.** 5: 859-865.
- STRAUSS MLA, NP JOLLY, MG LAMBRECHTS & P VAN RENSBURG. 2001. Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-*Saccharomyces* wine yeasts. **J Appl Microbiol.** 91: 182-190.
- TRINDADE RC, MA RESENDE, CM SILVA & CA ROSA. 2002. Yeasts associated with fresh and frozen pulps of Brazilian tropical fruits. **System Appl Microbiol.** 25: 294-300.
- UENOJO M & GM PASTORE. 2006. Isolamento e seleção de microrganismos pectinolíticos a partir de resíduos provenientes de agroindústrias para produção de aromas frutais. **Ciênc Tecnol Aliment.** 26(3): 509-515.
- VALENTE P, JP RAMOS & O LEONCINI. 1999. Sequencing as a tool in yeast molecular taxonomy. **Can J Microbiol.** 45: 949-958.
- YARROW, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance, and identification of yeasts, p. 77-100. In: CP KURTZMAN & JW FELL (ed.). **The yeasts. A taxonomic study.** Amsterdam: Elsevier Science.

POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS CAROTENOGÊNICAS: UMA BREVE REVISÃO

RODRIGO DE QUEIROZ OLIVEIRA¹, ARISTÓTELES GÓES-NETO², ANA PAULA TROVATTI UETANABARO³, CARLOS AUGUSTO ROSA⁴ & SANDRA APARECIDA DE ASSIS^{5*}

¹Mestre em Biotecnologia (UEFS), Doutorando em Ciências/Biotecnologia (UEFS)

²Prof. Titular do DCBIO/UEFS, Doutor em Botânica (UFRGS)

³Profa. Assistente do DSAU/UEFS, Doutora em Ciência de Alimentos (UNICAMP)

⁴Prof. Adjunto do Departamento de Microbiologia (UFMG), Pós-Doutor (UWO, Canadá)

⁵Profa. Adjunta do DSAU/UEFS, Doutora em Biotecnologia (UNESP)

*Author for correspondence: Universidade Estadual de Feira de Santana, Dep. de Saúde, BR 116, KM 03, Campus, 44031-460, Feira de Santana, Bahia, Brasil (sandraassis@uefs.br)

(Potencial biotecnológico de leveduras carotenogênicas: uma breve revisão) – Os carotenóides são corantes naturais, biossintetizados exclusivamente por vegetais e microrganismos. Alguns são precursores de vitamina A e, recentemente, a estes compostos tem sido atribuído um importante papel na diminuição do risco de várias doenças degenerativas. Os carotenóides em formulações comerciais são de dois tipos: obtidos de extratos vegetais ou sintéticos. Os carotenóides obtidos a partir de microrganismos podem apresentar menores flutuações na composição, em relação aos obtidos a partir de extratos de plantas e podem ser mais baratos que os carotenóides sintéticos. A produção de carotenóides por meio de microrganismos constitui ainda uma alternativa interessante devido à possibilidade da obtenção de pigmentos naturais em escala industrial. As aplicações industriais dos carotenóides envolvem seu uso como suplementação alimentar e como corantes de alimentos e de ração. Assim, esta breve revisão tem por objetivo a divulgação do potencial industrial e biotecnológico de leveduras carotenogênicas.

Palavras-chave: Corantes naturais, carotenóides, leveduras, biotecnologia.

(Yeasts with biotechnological potential to produce carotenoids: A brief review) – Carotenoids are natural colorants produced primarily by plants and microorganisms. Some of them are precursors of vitamin A and, recently, these compounds have been assigned an important role in reducing the risk of various degenerative diseases. Carotenoids in commercial formulations are of two types: vegetable extracts and synthetic. Those carotenoids obtained from microorganisms may make minor fluctuations in the composition, in relation to those obtained from extracts of plants and can be cheaper than the synthetic ones. However, the production of carotenoids by microorganisms is now an interesting alternative because of the possibility of obtaining natural pigments in industrial scale. The industrial applications of carotenoids relate to their use as supplemental food and coloring of food and diet. Thus, this review has the objective to disseminate the industrial production of natural carotenoids through microbial fermentations for biotechnological purposes.

Key words: Natural colorants, carotenoids, yeasts, biotechnology.

INTRODUÇÃO

Os carotenóides são pigmentos lipofílicos de cor amarela, laranja ou vermelha, sendo biossintetizados exclusivamente por vegetais (plantas superiores e algas) e microrganismos (bactérias, fungos filamentosos e leveduras), onde desempenham papel importante na fotossíntese e na foto-proteção, respectivamente (PFANDER, 1992; BHOSALE & BERNSTEIN, 2005). Os animais são incapazes de biossintetizar estes pigmentos, podendo, entretanto obtê-los através da dieta (TEE, 1992).

Comercialmente os carotenóides são utilizados como corantes alimentícios, e em termos de saúde humana como suplementos nutricionais, desempenhando importante papel fisiológico, sendo convertido em vitamina-A (retinol) e ácido retinóico (FRASER & BRAMLEY, 2004).

Nos últimos anos, pesquisas com estes pigmentos evidenciaram efeitos benéficos na diminuição de riscos de doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares; estimulando intensa investigação sobre seu papel como

agente antioxidante e como regulador do sistema imunológico (DELGADO-VARGAS *et al.*, 2000; KRINSKY & JOHNSON, 2005).

Os carotenóides usados em formulações comerciais são obtidos por via química ou extração de plantas ou algas (AUSICH, 1997). Entretanto, os extratos vegetais estão sujeitos a flutuações na composição devido à região de cultivo e às condições pós-colheita (SILVA, 2004). Além disso, a tecnologia para produção de carotenóides sintéticos é complexa e cara (AUSICH, 1997; SILVA, 2004).

Alguns microrganismos vêm sendo pesquisados para a produção de carotenóides em escala industrial, tais como bactérias dos gêneros *Flavobacterium* e *Micrococcus* (NELIS & DE ENHEER, 1991), microalgas do gênero *Dunaliella* (PHADWAL & SINGH, 2003), o fungo filamentoso *Blakeslea trispora* (MANTZOURIDOU *et al.*, 2002) e leveduras pigmentadas dos gêneros *Phaffia*, *Rhodotorula* e *Sporobolomyces* (DAVOLI & WEBER, 2002; LIU & WU, 2007; MALDONADE *et al.*, 2007).

Dentre esses microrganismos, as leveduras têm as

seguintes vantagens: (1) natureza unicelular e eucarionte; (2) capacidade de utilizar substratos de baixo custo para o seu crescimento; (3) elevada taxa de crescimento; (4) existe a possibilidade de controlar as condições de cultivo para garantir a produção de carotenóide de maior importância (SILVA, 2004; TINOI *et al.*, 2005).

CAROTENÓIDES

Estruturalmente, os carotenóides são em geral, tetraterpenóides de quarenta carbonos, constituído de oito unidades de isoprenóides de cinco carbonos, ligadas de tal forma que a molécula é linear e simétrica, com ordem invertida no centro (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Ciclização, hidrogenação, desidrogenação, migração de uma dupla ligação, diminuição ou extensão da cadeia, rearranjo, isomerização, introdução de substituintes com oxigênio, ou a combinação destes processos resultam na diversidade de estruturas dos carotenóides, como representado na Figura 1 (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Eles são classificados como carotenos, se sua estrutura contiver somente átomos de carbono e hidrogênio; ou xantofilas, se apresentar grupos substituintes com oxigênio. Na natureza, mais de 600 carotenóides diferentes já foram identificados (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999; PFANDER, 1992).

O sistema de duplas ligações conjugadas serve como cromóforo que absorve luz, sendo responsável pela coloração destes compostos. Além disso, este sistema também confere aos carotenóides alta reatividade química, podendo ser facilmente isomerizados e oxidados (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Rotineiramente, a determinação do conteúdo total dos carotenóides em uma cultura de leveduras é feita em espectrofotômetro e a análise analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (RODRIGUEZ-AMAYA 1999; SU *et al.*, 2002). Por sua vez, os passos para determinação dos carotenóides são: ruptura das células, extração, separação e quantificação (KAISER *et al.*, 2007).

CAROTENÓIDES EM LEVEDURAS

As leveduras são seres eucariontes, formadas por células únicas, de nutrição quimio-heterotrófica absorvitiva,

sendo identificadas através de técnicas convencionais e moleculares como pertencente aos ascomicetos, basidiomicetos ou fungos mitospóricos (ALEXOPOULOS *et al.*, 1996).

Entre as leveduras conhecidas, as basidiomicéticas pertencentes aos gêneros *Rhodotorula* e *Sporobolomyces*, e seus teleomórficos *Rhodospidium* e *Sporidiobolus*, são conhecidas pela produção de carotenóides como o β -caroteno, α -caroteno, toruleno e torularrodina (JOHNSON & SCHROEDER, 1995).

As espécies do gênero *Rhodotorula*, como *R. graminis*, *R. glutinis* e *R. mucilaginoso*, produzem β -caroteno, α -caroteno, toruleno e torularrodina em diferentes proporções (BUZZINI *et al.*, 2005; MALDONADE *et al.*, 2008).

A levedura *Sporobolomyces roseus* é produtora de carotenóides do tipo β -caroteno, toruleno e torularrodina (DAVOLI & WEBER, 2002; MALDONADE *et al.*, 2008).

Entretanto, a levedura basidiomicética *Phaffia rhodozyma* (renomeada como *Xanthophyllomyces dendrorhous*) destaca-se pela síntese do carotenóide astaxantina, o qual varia de 40% a 95% do total de carotenóides acumulado, dependendo da linhagem e das condições do processo fermentativo (JOHNSON & AN, 1991; FANG & WANG, 2002; LIU & WU, 2007).

Em leveduras, os carotenóides têm sido considerados como um metabólito secundário (KAISER *et al.*, 2007), atuando principalmente contra os danos oxidativos causados pela luz (SAKAKI *et al.*, 2001); danos estes que podem afetar o seu crescimento e sobrevivência no ambiente (SAKAKI *et al.*, 2001; KAISER *et al.*, 2007).

Vários pesquisadores vêm tentando minimizar os custos, além de direcionar a biossíntese para a obtenção de carotenóides de maior interesse em leveduras (AN *et al.*, 1996; MISAWA & SHIMADA, 1998; BHOSALE & GADRE, 2002; AKSU & EREN, 2005, 2007; LIU & WU, 2007). Deste modo, a otimização dos processos para a produção está baseada em três aspectos principais: (1) alterações nas condições de cultivo, como temperatura, aeração, pH, iluminação e agitação; (2) otimização da composição de cultivo, com aplicação de fontes de carbono e de nitrogênio de baixo custo, além de agentes químicos e (3) aplicação da engenharia genética, com clonagem de genes carotenogênicos.

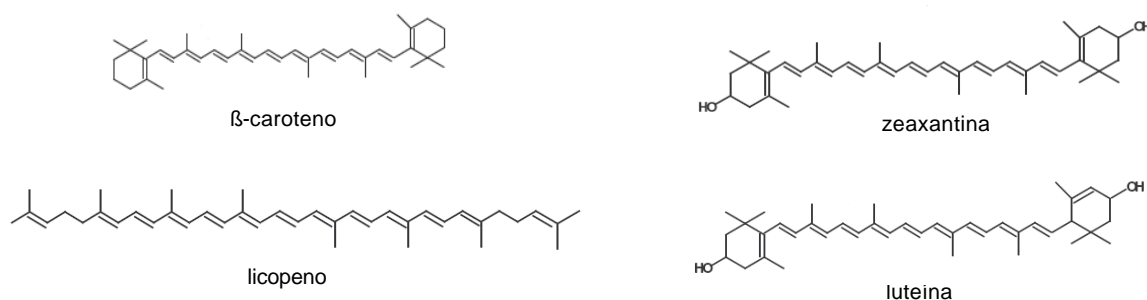


Fig. 1. Estrutura química dos carotenóides mais comumente encontrados nos alimentos vegetais. Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA (1999).

APLICAÇÃO INDUSTRIAL E BIOTECNOLÓGICA DE CAROTENÓIDES

O mercado de carotenóides encontra-se em ascensão, e há previsão de ultrapassar a barreira de um bilhão de dólares em 2009, o que tem aumentado o interesse de pesquisadores na produção biotecnológica destes pigmentos (OLIVEIRA & JUNQUEIRA, 2006).

A via microbiológica de produção de carotenóides de interesse comercial, quando comparada à de síntese química, vem alcançando progressiva aceitação expressa por uma duplicação do porte de mercado a cada quinquênio (FONTANA *et al.*, 2000).

As aplicações industriais dos carotenóides envolvem seu uso como suplementos alimentares (atividade pró-vitamínica) e como corantes de alimentos e de ração (SILVA, 2004).

Em se tratando de nutrição humana, β -caroteno é utilizado como precursor de vitamina A, sendo que essa conversão ocorre naturalmente no fígado. Esse precursor tem a vantagem adicional de não ser convertido em vitamina A quando o corpo humano não necessita, evitando assim, potencial toxicidade causada por vitamina A em excesso (SILVA, 2004).

A utilização de carotenóides como corante natural para alimentos preencherá um quesito de valor na motivação do consumidor que é a sensação de cor dos alimentos (OLIVEIRA & JUNQUEIRA, 2006). Deste modo, a aplicação mais comum da astaxantina é na piscicultura, para pigmentação de crustáceos e peixes, como o salmão (JOHNSON & SCHROEDER, 1995). Na avicultura, alimentos ricos em β -caroteno, têm sido empregados na dieta de galinhas

poedeiras para melhorar a intensidade da pigmentação da gema do ovo (CARVALHO *et al.*, 2006).

De acordo com revisão feita por RAO & RAO (2007), também são atribuídas aos carotenóides, ações que promovem à saúde como diminuição do risco ao câncer e à formação de catarata, eficiência do sistema imunológico, bloqueio da degeneração macular e prevenção de doença cardiovascular.

O SEMI-ÁRIDO BRASILEIRO COMO LOCAL POTENCIAL NA OBTENÇÃO DE CAROTENÓIDES

As atividades de pesquisas em diversidade microbiana e, conseqüentemente, a exploração tecnológica dos recursos microbianos, são ainda bastante limitadas no Brasil e inexpressíveis na região Semi-Árida (OLIVEIRA, 2007). Esta região ocupa uma área de aproximadamente 8% do território nacional, onde predomina o Bioma Caatinga (PPBio, 2007).

FELL *et al.* (2000), estimaram que somente 1% de todas as leveduras basidiomicéticas (compreendendo as pigmentadas e não-pigmentadas) já foram descobertas e descritas, indicando uma vasta biodiversidade a ser explorada, como fonte natural de novos carotenóides.

Para OLIVEIRA (2007), a região Semi-Árida brasileira consiste em um local potencial na obtenção de leveduras carotenogênicas, com possíveis microrganismos endêmicos devido às características desta região geográfica. No entanto, a exploração microbiana será melhor desenvolvida e aproveitada dentro de um programa de desenvolvimento científico, tecnológico, econômico e ambiental para esta região.

REFERÊNCIAS

- AKSU Z & AT EREN. 2005. Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: use of agricultural wastes as a carbon source. **Process Biochemistry** 40: 2985-2991.
- AKSU Z & AT EREN. 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*. **Biochemical Engineering Journal** 35: 107-113.
- ALEXOPOULOS CJ, C MIMS & M BLACKWELL. 1996. **Introductory mycology**. 4^a ed. New York: John Wiley & Sons.
- AN G-H, C-H KIM, E-S CHOI, RHEE. 1996. Medium optimization for cultivation of carotenoid hyperproducing *Phaffia rhodozyma* Mutant HT-5FO1C. **Journal Fermentation Bioengineering** 82(5): 515-518.
- AUSICH RL. 1997. Commercial opportunities for carotenoid production by biotechnology. **Pure Applied Chemistry** 69: 2169-2173.
- BHOSALE P & PS BERNSTEIN. 2005. Microbial xanthophylls. **Applied Microbiology Biotechnology** 68(4): 445-455.
- BHOSALE P & RV GADRE. 2002. Manipulation of temperature and illumination conditions for enhanced β -carotene production by *Rhodotorula glutinis*. **Letters Applied Microbiology** 34: 349-353.
- BUZZINI P, A MARTINI, MGB TURCHETTI, UM PAGNONI, P DAVOLI. 2005. Optimization of carotenoid production by *Rhodotorula graminis* DBVPG 7021 as a function of trace element concentration by means of response surface analysis. **Enzyme and Microbial Technology** 36: 687-692.
- CARVALHO PR, MCG PITA, E PIBER-NETO, RMS MIRANDOLA & CX MENDONÇA-JÚNIOR. 2006. Influência da adição de fontes marinhas de carotenóides à dieta de galinhas poedeiras na pigmentação da gema do ovo. **Brazilian Journal Veterinary Research animal Science** 43(5): 654-663.
- DAVOLI P & RWS WEBER. 2002. Carotenoid pigments from the red mirror yeast, *Sporobolomyces roseus*. **Mycologist** 16: 102-108.
- DELGADO-VARGAS F, AR JIMÉNEZ & O PAREDES-LÓPEZ. 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains. Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Review Food Science Nutrition** 40(3): 173-289.
- FANG TJ & J-M WANG. 2002. Extractability of astaxanthin in mixed culture of carotenoid over-producing mutant of *Xanthophyllomyces dendrorhous* and *Bacillus circulans* in two-stage fermentation. **Process Biochemistry** 37: 1235-1245.
- FELL JW, T BOEKHOUT, A FONSECA, G SCORZETTI & A STATZELL-TALLMAN. 2000. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large subunit rD1/D2 domain sequence analysis. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 50: 1351-

- 1371.
- FONTANA JD, SV MENDES, DS PERSIKE, LF PERACETTA & M PASSOS. 2000. Carotenóides: cores atraentes e ação biológica. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 3: 40-45.
- FRASER PD & PM BRAMLEY. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog. Lipid Res.* 43: 228-265.
- JOHNSON EA & G-H AN. 1991. Astaxanthin from microbial sources. *Critical Reviews in Biotechnology* 11(4): 297-326.
- JOHNSON EA & WA SCHROEDER. 1995. Microbial carotenoids production. *Advances Biochemistry Engineering* 53: 119-178.
- KAISER P, P SURMANN, G VALLENTIN & H FUHRMANN. 2007. A small-scale method for quantitation of carotenoids in bacteria and yeasts. *Journal Microbiol. Methods* 70: 142-149.
- KRINSKY NI & EJ JOHNSON. 2005. Carotenoid action and their relation to health and disease. *Molecular Aspects Med.*, 26(6): 459-516.
- LIU YS & JY WU. 2007. Optimization of cell growth and carotenoid production of *Xanthophyllomyces dendrorhous* through statistical experiment design. *Biochemical Engineering Journal* 36: 182-189.
- MALDONADE IR, DB RODRÍGUEZ-AMAYA & ARP SCAMPARINI. 2008. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem. *Food Chemistry* 107: 145-150.
- MALDONADE IR, ARP SCAMPARINI & DB RODRÍGUEZ-AMAYA. 2007. Selection and characterization of carotenoid-producing yeasts from Campinas region, Brazil. *Brazilian Journal Microbiology* 38: 65-70.
- MANTZOURIDOU F, T ROUKAS & P KOTZEKIDOU. 2002. Effect of the aeration rate and agitation speed on b-carotene production and morphology of *Blakeslea trispora* in a stirred tank reactor: mathematical modeling. *Biochemistry Engineering Journal* 10: 123-135.
- MISAWA N & H SHIMADA. 1998. Metabolic engineering for the production of carotenoids in non-carotenogenic bacteria and yeasts – Minireview. *Journal Biotechnology* 59: 169-181.
- NELIS H & AP DE ENHEER. 1991. Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. *Journal of Applied Bacteriology* 70: 181-191.
- OLIVEIRA RQ. 2007. **Bioprospecção de microrganismos leveduriformes produtores de pectinases extracelulares isolados do Semi-árido baiano.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- OLIVEIRA RQ & VC JUNQUEIRA. 2006. **Plano de negócios: Microteno.** Feira de Santana.
- PFANDER H. 1992. Carotenoids: an overview. *Methods Enzymology* 213: 3-13.
- PHADWAL K & PK SINGH. 2003. Effect of nutrient depletion on β -carotene and glycerol accumulation in two strains of *Dunaliella* sp. *Bioresource Technology* 90: 55-58.
- PROGRAMA DE PESQUISA EM BIODIVERSIDADE DO SEMI-ÁRIDO. 2007. Disponível em: <<http://www.uefs.br/ppbio/home.htm>>. Acesso em: 22 dez. 2007.
- RAO AV & LG RAO. 2007. Carotenoids and human health - Invited review. *Pharmacology Research* 55:207-216.
- RODRÍGUEZ-AMAYA DB. 1999. **A guide to carotenoids analysis in foods.** Washington, D.C.: International Life Science Institute.
- SAKAKI H, T NAKANISHI, A TADA, W MIKI & S KOMEMUSHI. 2001. Activation of torularhodin production by *Rhodotorula glutinis* using weak white light irradiation. *Journal Bioscience Bioengineering* 92: 294-297.
- SILVA MC. 2004. **Alterações na biossíntese de carotenóides em leveduras induzidas por agentes químicos.** Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- SU O, KG ROWLEY & NDH BALAZS. 2002. Carotenoids: separation methods applicable to biological samples. Review. *Journal of Chromatography B*, 781: 393-418.
- TEE ES. 1992. Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Critical Review Food Science and Nutrition* 31(1/2): 103-163.
- TINOI J, N RAKARIYATHAM & RL DEMING. 2005. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate. *Process Biochemistry* 40: 2551-2557.

EMPREGO DE SUBSTRATOS CONVENCIONAIS E ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE COGUMELOS COMESTÍVEIS: UMA BREVE REVISÃO

GERUZA DE OLIVEIRA CEITA¹, ANA PAULA TROVATTI UETANABARO² & HÉLIO MITOSHI KAMIDA³

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia/UEFS (geruzaceita@uol.com.br)

²Professora Assistente, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Km 16 Rodovia Ilhéus-Itabuna, 45662-000, Ilhéus, Bahia (uetanabaro@yahoo.com)

³Pesquisador PRODOC/FAPESB/UEFS, Departamento de Ciências Biológicas, Km 03, BR 116, 44031-460, Feira de Santana, Bahia (hmkamida@terra.com.br)

(Emprego de substratos convencionais e alternativos para produção de cogumelos comestíveis: uma breve revisão)

– Os cogumelos comestíveis são largamente apreciados mundialmente devido ao seu sabor característico, acentuado valor nutricional e potencial medicinal. Dentre eles, destacam-se *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes* e *Agaricus bisporus*. No Brasil, o cultivo de cogumelos comestíveis vem crescendo ao longo dos anos devido ao aumento nos níveis de consumo. Diante desta nova realidade, torna-se necessário o desenvolvimento de alternativas mais viáveis para o cultivo destes fungos. Palha de cereais, resíduos de cana-de-açúcar e algodão estão entre os muitos resíduos agrícolas que têm sido utilizados para o cultivo destas espécies. Adicionalmente, substratos alternativos, tais como fibras de casca de coco, borras de café e bagaço de mandioca, entre outros resíduos próprios de cada região do país, têm sido avaliados. Os resultados são significativos e mostram uma alta produtividade aliada ao baixo custo. A utilização destas novas estratégias de cultivo potencializa este mercado promissor.

Palavras-chave: Fungos, cogumelos, resíduos agroindustriais.

(Conventional and alternative substrates for cultivation of edible mushrooms: a brief review) – Edible mushrooms are world-widely appreciated due to their characteristic flavor, nutritional and medical potential. Among them, *Lentinula edodes*, *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* are distinguished. The cultivation of edible mushrooms in Brazil has been growing in the last years in response to the increase in the consumption levels. In face of this new reality, the development of more feasible alternatives for the cultivation of these fungi becomes necessary. Cereals straw, sugar cane and cotton are some of the agro-industrial wastes that have been used to cultivate these species. More recently, alternative substrates such coconut fiber, coffee grounds and cassava pulp, and other wastes specific from every region of Brazil, have been evaluated. The results are remarkable and show high productivity within a low cost production. The use of these new cultivation strategies improves this promising market.

Key words: Fungi, mushrooms, agro-industrial wastes.

INTRODUÇÃO

Os cogumelos comestíveis são alimentos muito apreciados desde a idade antiga por seu elevado valor nutritivo e potencial medicinal, além de serem classificados como uma especiaria nobre em pratos culinários (FURLANI & GODOY, 2007a). São conhecidas aproximadamente 2.000 espécies de cogumelos comestíveis e cerca de 25 destas são cultivadas comercialmente (COUTINHO, 2008). Os cogumelos comestíveis comprovadamente apresentam um importante efeito à saúde da população e no tratamento de doenças. Eles contêm caracteristicamente muitos compostos com atividade biológica e o teor destes compostos depende de como o cogumelo é cultivado e consumido (CHANG, 1996). Por serem considerados alimentos nutracêuticos, apresentam excelente eficácia quando consumidos como suplementos dietéticos e podem ser utilizados como fármacos através da extração dos seus princípios ativos (FORTES & NOVAES, 2006). Diante disso, vários estudos têm sido realizados no que se referem à avaliação da qualidade do produto a ser consumido (CHEUNG, 1997; FURLANI & GODOY, 2007a).

O consumo de cogumelos tem aumentado bastante na cultura ocidental, envolvendo um grande número de espécies (MATILLA *et al.*, 2001). Três se destacam por serem comumente cultivadas e consumidas mundialmente: *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Pilát, conhecido como champignon de Paris; *Lentinula edodes* (Berk) Pegler, conhecido como shiitake; e *Pleurotus* spp. (Fr.) P. Kumm, conhecido como shimeji ou hiratake (URBEN *et al.*, 2001).

Nota-se que no Brasil está havendo um crescimento no consumo dos cogumelos e, conseqüentemente, na sua produção e comercialização. Esse fato deve-se à maior divulgação de seu valor nutritivo e medicinal para a população e porque o preço está se tornando mais acessível em algumas partes do país (DIAS *et al.*, 2003; URBEN *et al.*, 2001). Além disso, o desenvolvimento deste mercado também indica que o Brasil possui um grande potencial na comercialização deste produto e que a redução dos custos para o produtor com a utilização de substratos mais baratos pode ser um dos pontos que irá contribuir para ascensão deste produto no mercado brasileiro.

CULTIVO DE *PLEUROTUS* SPP.

Dentre as cerca de 39 espécies do gênero *Pleurotus*, destacam-se as espécies comestíveis *P. sajor-caju* (Fr.) Singer, *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., *P. ostreatoroseus* Singer e *P. pulmonarius* (Fr.) Quéél. *Pleurotus ostreatus* é o principal cogumelo comestível; sendo originário da Ásia, vem sendo consumido desde a Antiguidade em diversas regiões da Europa e comercializado a partir do final da Segunda Guerra Mundial (DIAS *et al.*, 2003; JOB, 2004). Seu nome científico se deve ao formato semicircular do basidioma, que lembra o de uma ostra. Possui sabor acentuado e é o quarto cogumelo mais consumido no mundo. *P. ostreatus*, assim como outros fungos, em função dos teores de proteínas, fibras, carboidratos e minerais que contém, constitui uma importante alternativa alimentar.

Espécies de *Pleurotus* normalmente crescem em madeiras e troncos em decomposição, podendo ser encontradas nas matas brasileiras e cultivadas tanto no Norte quanto no Sul do país. O crescimento da sua produção tem contribuído para o incremento da produção mundial de cogumelos comestíveis, apresentando produtividade até três vezes maior que o gênero *Agaricus*, devido principalmente à sua resistência a doenças, tais como bolha seca e bolha úmida (COLAUTO *et al.*, 1998). A bolha seca se caracteriza como uma doença causada por espécies do gênero *Verticillium*, que leva os cogumelos a se tornarem secos, enrugados e inadequados ao consumo. A bolha úmida é causada por fungos do gênero *Mycogone*, que inviabiliza o desenvolvimento normal do cogumelo, afetando a diferenciação entre a estipe e o píleo.

Muitos resíduos agrícolas têm sido utilizados para o cultivo de *Pleurotus* spp., tais como palha de vários cereais, resíduos de cana-de-açúcar, resíduos de algodão, bagaço de mandioca entre outros (MIZUNO & ZHUANG, 1995; PANDEY *et al.*, 2000a). O cultivo de espécies de *Pleurotus* é relativamente fácil, podendo-se utilizar resíduos umedecidos e pasteurizados (ELLIOT, 1997). Dentre os resíduos utilizados, o bagaço de cana-de-açúcar permite a produção de um produto de alto valor nutricional, com conteúdo protéico de mais de 40% em matéria seca (RAJARATHNAM & BANO, 1989).

No Brasil, os cogumelos do gênero *Pleurotus* são cultivados tradicionalmente em bagaço de cana-de-açúcar após uma compostagem rápida, seguida de um processo de pasteurização (BONONI *et al.*, 1995; MODA *et al.*, 2005). O bagaço de cana-de-açúcar é um dos mais completos resíduos agroindustriais, consistindo de aproximadamente 50% de celulose, 25% de hemicelulose e 25% de lignina (PANDEY *et al.*, 2000a). O bagaço químico de cana-de-açúcar chega a conter 2,4% de cinzas, o que oferece inúmeras vantagens em comparação com os resíduos de outras culturas, como os de arroz e trigo, que possuem respectivamente 17,5% e 11% de cinzas utilizadas para os processos de bioconversão em cultivos de microrganismos (PANDEY *et al.*, 2000a).

Apesar da grande eficácia apresentada pela utilização do bagaço de cana-de-açúcar, torna-se cada vez mais necessária a busca de substratos alternativos para o cultivo de cogumelos no Brasil devido à escassez eminente da cana-de-açúcar por conta da sua utilização como combustível para as usinas e para produção de variados cogumelos comestíveis, especialmente no Sudeste do país (DIAS *et al.*, 2003). A adaptação das espécies de *Pleurotus* a novos resíduos suscita maiores conhecimentos sobre a composição do substrato, principalmente no que se refere à variação no teor e qualidade protéica e na presença e quantidade de minerais nesses cogumelos (LUCAZECHI *et al.*, 2000).

O primeiro método industrial de cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre a palha de trigo foi descrito pela primeira vez no ano de 1945 (JOB, 2004). Experimentos demonstraram que a palha e grãos de trigo e resíduos de algodão podem ser utilizados para o crescimento de *P. ostreatus* com obtenção de resultados promissores (ROSADO *et al.*, 2002; SAINOS *et al.*, 2006). O resíduo de algodão é mais resistente à estocagem e está menos sujeito à contaminação, o que resulta em redução de custos (ROSADO *et al.*, 2002).

ZHANG *et al.* (2002) testaram o cultivo de *P. sajor-caju* em diferentes substratos, como palha de trigo e palha de arroz, e analisaram fatores como eficiência da bioconversão, eficiência biológica e degradação do substrato. Os resultados demonstraram que o cultivo em palha de arroz apresentou eficiência 10% superior quando comparado ao cultivo em palha de milho. Tratando-se da análise do cultivo de diferentes espécies de *Pleurotus*, *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedjin, *P. ostreatus* e *P. pulmonarius* em polpa de café, palha de milho e trigo, SALMONES *et al.* (2005) demonstraram que uma maior atividade metabólica pôde ser observada nas amostras crescidas em palha de trigo.

Também têm sido realizados estudos utilizando borra de café como substrato de base para o cultivo de diferentes espécies do gênero *Pleurotus*, sendo observado que existem diferenças entre as espécies do mesmo gênero com relação à capacidade de degradar cafeína quando cultivadas sobre borra de café. JOB (2004) pôde constatar que em *P. ostreatus* não há incorporação da cafeína, indicando que esta foi completamente degradada, e em *P. sajor-caju* este mesmo autor observou que houve incorporação de cafeína nos basidiomas. Existe, portanto, variação no comportamento fisiológico de espécies do mesmo gênero (JOB, 2004; JEANETTE *et al.*, 2007).

DIAS *et al.* (2003) analisaram diferentes resíduos agrícolas quanto à melhor produção de cogumelos na região Sul de Minas Gerais. Dentre os substratos testados, a palha de feijão foi considerada melhor para a produção de *P. sajor-caju*, por apresentar melhor eficiência biológica sem necessidade de enriquecimento.

A suplementação do substrato é muito utilizada para a produção de *Pleurotus* visando incremento da produtividade, o que vem demonstrando eficiência em muitos estudos. Dentre os substratos suplementados

utilizados para o cultivo de *Pleurotus*, destacam-se a casca de arroz misturada com resíduos de algodão para a produção de *P. sajor-caju*, folha de banana misturada com bagaço de cana-de-açúcar ou espiga de milho para produção de *Pleurotus* sp., e resíduos de mandioca para produção de *P. ostreatus* (CHANG *et al.*, 1981; STURION & OETTERE, 1995; FELINTO, 1999).

CULTIVO DE *LENTINULA EDODES*

Lentinula edodes (shiitake), também conhecido como cogumelo-japonês ou cogumelo-chinês, é uma espécie saprófita que coloniza madeiras mortas de várias espécies de plantas. Esta espécie produz basidiomas sob condições de elevada umidade e baixa temperatura. O cultivo do shiitake originou-se na China, durante a dinastia Sung, estendendo-se então para o Japão, onde foi aperfeiçoado. O shiitake é o segundo cogumelo mais cultivado em todo o mundo, perdendo apenas para o *Agaricus bisporus* (CHANG, 1999).

Alguns dos grandes atrativos do shiitake são as suas propriedades nutricionais comprovadas, tais como baixo índice de calorias, baixo teor de gorduras e riqueza de vitaminas, sais minerais e fibras, tornando-se também um excelente alimento para dietas (FURLANI & GODOY, 2007a). Ele não é apenas importante pelo seu sabor e valor nutricional, mas também pelo seu uso potencial em aplicações medicinais. Devido a essas características, a produção em larga escala do micélio de *Lentinula edodes* tem se tornado muito importante para a indústria médica e química (KALMIS & KALYOMCU, 2006).

Trata-se de um fungo ligninolítico, produzindo assim uma série de enzimas hidrolíticas e oxidativas que estão envolvidas no processo de degradação da madeira e de outros materiais ligninocelulósicos. A otimização da produção e a eficiência biológica desse tipo de cogumelo conduzem a uma degradação mais efetiva dos polímeros da madeira e a uma valorização dos resíduos ligninocelulósicos. A utilização de diversos tipos de substratos por este fungo depende da sua capacidade de secretar celulasas, hemicelulasas e ligninasas, que irão agir no substrato liberando nutrientes para o seu crescimento (REFATTI *et al.*, 2007).

No Brasil, o cultivo comercial do shiitake começou a ser desenvolvido em toras de eucalipto a partir dos anos 1990 e vem crescendo significativamente, devido ao bom retorno econômico, à possibilidade de ser cultivado em pequenas áreas e ao baixo investimento inicial (ROSSI, 1999). A tradicional produção de shiitake em toras de eucalipto é um processo de cultivo relativamente simples (LEVANON *et al.*, 1993). O princípio deste cultivo consiste em cortar as toras em tamanho padrão, furar os pontos de inoculação, inocular todos os furos com inóculo feito a base de serragem e tampar os furos inoculados com parafina derretida. Depois de inoculadas, as toras devem ser empilhadas em um local adequado para que o micélio colonize toda a tora, devendo

esta ser irrigada todo dia para evitar o ressecamento. Depois de incubadas, as toras são mergulhadas em água fria e mantidas em outro local para proceder-se o crescimento e a colheita dos cogumelos. O choque térmico em água fria ocasiona o aparecimento dos primórdios dos cogumelos sob a casca das toras, devido ao aumento do teor de umidade e diminuição da temperatura. Os cogumelos são então preparados de acordo com o destino de comercialização.

O cultivo axênico em substratos sintéticos à base de diversos resíduos agrícolas vem ganhando espaço na produção comercial deste cogumelo, uma vez que a colheita acontece mais rapidamente e a eficiência biológica do fungo é bastante elevada (LEVANON *et al.*, 1993). Por utilizar lignina, celulose e hemicelulose como fonte de carbono e nutrientes, o shiitake também pode ser cultivado em uma grande variedade de resíduos agrícolas, dentre eles o bagaço de cana (ROSSI, 1999; ROSSI *et al.*, 2001).

Alguns nutrientes adicionais, como o farelo de arroz, podem ser utilizados para suplementar o bagaço de cana (ROSSI, 1999). Alguns estudos indicam que a adição de farelo estimula o crescimento micelial de diversas espécies de cogumelos, promovendo a rápida colonização do substrato (ROYSE, 1985). No entanto, ROSSI *et al.* (2001) demonstraram que a adição crescente de farelo de arroz ao cultivo de *L. edodes* em bagaço de cana levou à redução da velocidade de miceliação. Isto pode ser justificado pela possível redução da aeração do substrato.

O cultivo de cogumelos em bagaço de mandioca também tem se mostrado bastante promissor. BEUX *et al.* (1995 *apud* PANDEY *et al.*, 2000b) compararam o cultivo de *L. edodes* em bagaço de mandioca e bagaço de cana individualmente e como uma mistura. Ambos os substratos se mostraram adequados à produção de cogumelos, mas os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou a mistura de bagaço de cana (80%) e bagaço de mandioca (20%).

Com a finalidade de avaliar a atividade de enzimas ligninolíticas de *L. edodes* em resíduos agrícolas, REGINA & BROETTO (2005) cultivaram diversas linhagens deste fungo em meio de cultura líquido a base de casca de arroz, serragem de eucalipto, bagaço de cana-de-açúcar e bagaço de mandioca, suplementados com 20% de farelo de arroz e 1% de Carbonato de Cálcio. Ficou claro neste trabalho que existe um crescente desenvolvimento de meios de cultura alternativos para o crescimento de *L. edodes* de maneira eficiente.

CULTIVO DE *AGARICUS* SPP.

Agaricus bisporus é o fungo comestível mais extensivamente cultivado, compreendendo quase 32% da produção mundial no ano de 1997 (CHANG, 1999), embora seja o que apresenta menor valor nutricional e medicinal. Esta foi a primeira espécie cultivada no Brasil, possuindo ainda hoje, principalmente na cidade de Mogi das Cruzes

em São Paulo, um cultivo bem rudimentar realizado por famílias chinesas que herdaram o conhecimento das técnicas dos seus ancestrais (COUTINHO, 2008; FURLANI & GODOY, 2007b). Sendo um fungo saprófito, *A. bisporus* é produzido em um substrato preparado por um processo de compostagem, a partir de esterco e resíduos vegetais de baixo valor comercial (WOOD & SMITH, 1987 *apud* PEIL *et al.*, 1996).

Neste gênero, deve-se também enfatizar *A. blazei*, cogumelo nativo do Brasil que se tornou mundialmente conhecido devido às suas propriedades farmacológicas e nutricionais. Esta espécie ficou conhecida popularmente no Brasil como “cogumelo-do-sol”, pelo fato de crescer em campo aberto, sendo conhecido também como cogumelo-piedade, cogumelo-medicinal, cogumelo-princesa, cogumelo-de-deus, cogumelo-da-vida ou cogumelo-dos-deuses. No Japão, é conhecido como “himematsutake” ou “kawariharatake” (MIZUNO, 1995).

O Brasil se destaca como o maior produtor mundial de *A. blazei*, por apresentar condições climáticas favoráveis ao seu cultivo. A produção nacional atinge 40 toneladas/ano de cogumelo desidratado, sendo 95% da produção destinados à exportação para o mercado japonês. Devido ao seu elevado preço no mercado internacional muitas empresas e produtores rurais passaram a buscar nesse cogumelo uma nova alternativa de renda (TOMIZAWA *et al.*, 2007). Sendo uma espécie de cultivo recente no Brasil, a sua produção ainda é praticada de forma empírica pela maioria dos produtores (BRAGA & EIRA, 1999), com base na tecnologia de produção do “champignon-de-Paris” (*A.*

bisporus), com a utilização de esterco e outros dejetos e/ou materiais fibrosos, tais como palhas (SILVA *et al.*, 2007). Na região de Pelotas, Rio Grande do Sul, muito a palha de arroz é usada como substrato de cultivo para espécies do gênero *Agaricus*, por se tratar de uma região orizícola (PEIL *et al.*, 1996).

A tecnologia de produção de *A. blazei* e *A. bisporus* envolve as seguintes etapas: preparo do substrato de cultivo (compostagem e pasteurização); inoculação; colonização do substrato; cobertura do substrato; produção e processamento (SILVA *et al.*, 2007). Tratando-se da camada de cobertura do substrato, têm sido muito utilizados outros materiais alternativos, tais como polpa de celulose, fibras de coco, resíduos de pinheiro e vermiculita (CARRIJO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da existência de substratos convencionais adequados ao cultivo dos cogumelos comestíveis, tais como bagaço de cana-de-açúcar, palha de trigo, palha de milho e esterco, torna-se necessário o desenvolvimento de substratos alternativos para o cultivo de cogumelos no Brasil visando ao aumento da produtividade e redução de custos, priorizando os resíduos próprios de cada região.

Os estudos apresentados neste trabalho vêm demonstrando a eficiência da utilização de substratos alternativos, tais como a fibra da casca do coco verde, borra de café, bagaço de mandioca e palha da bananeira na produção de uma variedade de cogumelos comestíveis com excelente sabor e valor nutricional.

REFERÊNCIAS

- BONONI VL, M CAPELARI & R MAZIERO. 1995. **Cultivo de cogumelos comestíveis**. São Paulo: Ícone.
- BRAGA GC & AF EIRA. 1999. Efeitos da camada de cobertura, da massa do substrato e do ambiente de cultivo na produtividade de *Agaricus blazei* Murril. *Energia na Agricultura* 14: 39-51.
- CARRIJO AO, RS LIZ & N MAKISHIMA. 2002. Fibra de casca de coco verde como substrato agrícola. *Horticultura Brasileira* 20: 533-535.
- CHANG R. 1996. Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition Reviews* 54(11): 91- 93.
- CHANG ST. 1999. World production of cultivated edible and medicinal mushrooms in 1997 with emphasis on *Lentinula edodes* in China. *International Journal of Medicinal Mushroom* 1: 291-300.
- CHANG ST, OW LAU & KY CHO. 1981. The cultivation and nutritional value of *Pleurotus sajor-caju*. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 12: 58-62.
- CHEUNG PCK. 1997. Dietary fiber content and composition of some edible fungi determined by two methods of analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 73: 255-260.
- COLAUTO NB, AF EIRA & MT MINHONI. 1998. Fatores físicos que afetam a produtividade do cogumelo comestível *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. *Científica* 26: 25-43.
- COUTINHO LN. 2008. **Cultivo de espécies de cogumelos comestíveis**. Disponível em <<http://www.geocities.com/esabio.geo/cogumelo/agaricus.htm>>. Acesso em: 21 de maio de 2008.
- DIAS ES, EM KOSHIKUMO, RF SCHAWAN & R SILVA. 2003. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. *Ciência e Agrotecnologia* 6: 1363-1369.
- ELLIOTT T. 1997. Mushrooms. *SGM Quartely* 24: 9-10.
- FELLINTO AS. 1999. **Cultivo de cogumelos comestíveis do gênero *Pleurotus* spp. em resíduos agroindustriais**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- FORTES RC & MRC NOVAES. 2006. Efeitos da suplementação dietética com cogumelos Agaricales e outros fungos medicinais na terapia contra o câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia* 52: 363-371.
- FURLANI RPZ & HT GODOY. 2007a. Valor nutricional de cogumelos comestíveis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 27(1).
- FURLANI RPZ & HT GODOY. 2007b. Teor de folatos em cogumelos comestíveis comercializados na cidade de Campinas, São Paulo, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 27(2): 278-280.
- JEANETTE NR, CC ANGARITA & HJ ZULUAGA. 2007. Incorporación de cafeína en el hongo *Pleurotus sajor-caju* cultivado sobre pulpa de café. *Revista Iberoamericana de Micología* 24: 72-74.
- JOB D. 2004. La utilización de la borra del café como substrato de

- base para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. **Revista Iberoamericana de Micología** 21: 195-197.
- KALMIS E & F KALYOMCU. 2006. Variations in the isolates obtained from basidiospores of commercial mushroom *Lentinula edodes* (shiitake). **International Journal of Science & Technology** 1(2): 99-103.
- LEVANON D, N ROTHSCHILD, O DANAI & S MASAPHY. 1993. Bulk treatment of substrate for the cultivation of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) on straw. **Bioresource Technology**, v. 45, p. 63-64, 1993.
- LUCAZECHI S, GC RANZANI & MTT REGINA. 2000. Composição em minerais de cogumelos comestíveis cultivados no Brasil – *Pleurotus* spp. e outras espécies desidratadas. **ALAN** 50: 102-108.
- MATILLA P, K KONKO, M EUROLA, JM PIHLAVA, J ASTOLA, L VAHTERISTO, V HIETANIEMI, J KUMPULAINEN, M VALTONEN & V PIIRONEN. 2001. Contents of vitamins, mineral elements and phenolic compounds in cultivated mushrooms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49(5): 2343-2348.
- MIZUNO T. 1995. Kawariharatake, *Agaricus blazei* Murill: A medicinal and dietary effects. **Food Reviews International** 11: 167-172.
- MIZUNO T & C ZHUANG. 1995. Houbitake, *Pleurotus sajor-caju* - antitumoractivity and utilization. **Food Reviews International** 11: 185-187.
- MODA EM, J HORIL & MHF SPOTO. 2005. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agricola** 62: 127-132.
- PANDEY A, CR SOCCOL, P NIGAM & VT SOCCOL. 2000a. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I. Sugarcane bagasse. Review paper. **Bioresource Technology** 74: 69-80.
- PANDEY A, CR SOCCOL, P NIGAM & VT SOCCOL, LPS VANDENBERGHE & R MOHAN. 2000b. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II. Sugarcane bagasse. Review paper. **Bioresource Technology** 74: 81-87.
- PEIL RM, EA ROSSETO, CR PIEROBOM & M ROCHA. 1996. Desinfestação de composto para cultivo de cogumelo *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. **Revista Brasileira de Agrociência** 2(3): 159-164.
- RAJARATHNAM S & Z BANO. 1989. *Pleurotus* mushrooms: Part III. Biotransformations of natural lignocellulosic wastes commercial applications and implications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 28: 31-113.
- REFFATTI PR, CM AGUIAR & MB RODRIGUES. 2007. Estudo da bioconversão de resíduos agroindustriais lignocelulósicos por *Lentinula edodes*: produção e caracterização de proteína. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial** 1: 1-8.
- REGINA M & F BROETTO. 2005. Atividade de enzimas oxidativas do *Lentinus edodes* em meio de cultura líquida de subprodutos energéticos. **Energia na Agricultura** 20: 47-61.
- ROYSE DJ. 1985. Effect of spawn run time and substrate nutrition on yield and a size of the shiitake mushroom. **Mycologia** 77(5): 756-762.
- ROSADO FR, C KEMMELMEIER & SM COSTA. 2002. Alternative method of inoculum and spawn producti for the cultivation of the edible brazilian mushroom *Pleurotus ostreatoroseus*. **Journal Basic Microbiology** 42: 37-44.
- ROSSI IH, AC MONTEIRO & J MACHADO. 2001. Mycelium production rate in *Lentinula edodes* as an effect of depth and supplementation of the substrate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 36(6): 887-891.
- ROSSI IH. 1999. **Suplementação de bagaço de cana para cultivo axênico do cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*)**. Dissertação de Mestrado, Jaboticabal, UNESP.
- SAINOS E, GC DIA, O LOERA, AM MONTEI & C SANCHEZ. 2006. Growth of *Pleurotus ostreatus* on wheat straw and wheat grain based media: Biochemical aspects and preparation of mushroom inoculum. **Applied Microbiology** 72: 812-815.
- SALMONES D, G MATA & KN WALISZEWSKI. 2005. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. **Bioresource Technology** 96(5): 537-544.
- SILVA VA, ES DIAS, RH VALE, R SILVA & GF MOREIRA. 2007. Isolation and identification of bacteria present in the casing layer utilized to the cultivation of the mushroom *Agaricus blazei* Murill. **Ciência e Agrotecnologia** 31(5).
- STURION GL & M OETTERER. 1995. Utilização da folha bananeira como substrato para cultivo de cogumelos comestíveis (*Pleurotus* spp.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos** 15: 194-200.
- TOMIZAWA MM, ES DIAS & LJ ASSIS. 2007. Variabilidade genética de isolados do cogumelo *Agaricus blazei* por meio de marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia** 31(4): 1242-1249.
- URBEN AF, HCB OLIVEIRA, W VIEIRA, MJ CORREIA & AH URIARTT. 2001. **Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada**. Brasília: Embrapa.
- ZHANG R, X LI & JG FADEL. 2002. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw. **Bioresource Technology** 83: 277-284.

ASPECTOS GERAIS DO *MONILIOPHTHORA PERNICIOSA* (STAHSEL) AIME & PHILLIPS-MORA, O AGENTE ETIOLÓGICO DA VASSOURA-DE-BRUXA

VIVIAN UMBELINO MIRANDA MACEDO¹, MANOELITO COELHO DOS SANTOS JÚNIOR^{1,3}, ALEX TARANTO^{1*}, CATIANE DO SACRAMENTO SOUZA^{3,4}, RAFAELA SANTOS GALANTE^{3,4}, BRUNO S. ANDRADE^{3,4}, SANDRA APARECIDA DE ASSIS² & ARISTÓTELES GÓES-NETO⁴

¹Departamento de Saúde da UEFS, Laboratório de Modelagem Molecular

²Departamento de Saúde, Laboratório de Enzimologia e Tecnologia das Fermentações

³Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Biotecnologia UEFS/ Fiocruz

⁴Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório Pesquisa Microbiológica (LAPEM)

¹⁻⁴Universidade Estadual de Feira de Santana, BR 116, Km 03, 44031-460, Feira de Santana, Bahia

*Author for correspondence: (taranto@uefs.br)

(Aspectos gerais do *Moniliophthora perniciosa* (Stahsel) Aime & Phillips-Mora, o agente etiológico da vassoura-de-bruxa) – Este artigo registra aspectos gerais do fungo *Moniliophthora perniciosa* no Estado da Bahia, como a ocorrência da praga, ciclo biológico, métodos de controle e uma descrição detalhada de três alvos moleculares da parede celular. O objetivo é fornecer informações que possam dar apoio aos pesquisadores que pretendem iniciar projetos que têm *M. perniciosa* como tema central.

Palavras-chave: *Moniliophthora perniciosa*, cacau, vassoura-de-bruxa, alvos moleculares

(General aspects of *Moniliophthora perniciosa* (Stahsel) Aime & Phillips-Mora, the etiologic agent of witches' broom) – This article records some general aspects of the fungus *Moniliophthora perniciosa* in the state of Bahia, such as the occurrence of the plague, its biological cycle, methods of control, and a detailed description of three molecular targets of cell wall. The objective is to provide information that can give support to researchers who intend to initiate projects having *M. perniciosa* as the central theme.

Key words: *Moniliophthora perniciosa*, cocoa, witches' broom disease, molecular targets.

INTRODUÇÃO

O cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma planta nativa da Amazônia, sendo uma espécie arbórea que tem como principal produto comercial suas amêndoas, as quais são utilizadas como matéria-prima do chocolate (SANTOS, 2005). No início do século 20, as maiores regiões produtoras de cacau do mundo eram o litoral do Equador e o estado da Bahia no Brasil (LASS, 1985), que na década de 70 estas regiões foram uma das principais fontes geradoras de divisas. Nesta época, cerca de 90% da produção cacauera era destinada a exportação, e deste total 80% era produzido na Bahia (BASTOS, 1987). No entanto, a partir de 1989 ocorreu um decréscimo na produção do cacau, o que em parte pode ser explicado pelo surgimento e desenvolvimento do fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stahsel) Aime & Phillips-Mora, que é responsável por uma doença conhecida como vassoura-de-bruxa do cacau (PEREIRA *et al.*, 1990).

No sul da Bahia a cacauicultura sofreu prejuízos econômicos de larga escala devido à propagação do fungo *M. perniciosa*. A produção baiana foi reduzida em cerca de 50% no ano de 2000 (FAO, 2002), retirando o Brasil do grupo dos países exportadores de cacau e trazendo, para as regiões produtoras, complexos problemas de caráter social, econômico e ecológico (BASTOS, 1988; ANDEBRHAN *et al.*, 1999).

Com o desenvolvimento desta doença ocorreram diversos impactos, em especial na área socioeconômica (COMPANHIA DAS DOCAS DO ESTADO DA BAHIA, 2002). Neste sentido, os governos e produtores vêm discutindo medidas para resolver ou atenuar o problema nas lavouras de cacau. Uma das recomendações da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) para a reabilitação de plantas suscetíveis à vassoura-de-bruxa é o uso de variedades clonais resistentes, por meio da enxertia, combinado com aplicação de fungicidas cúpricos, como o óxido cuproso, para o controle da doença (ROSA, 1998). No entanto, este método não apresenta resultados muito satisfatórios, pois estes fungicidas não protegem tecidos em crescimento, necessitando de inúmeras pulverizações (CRONSHAW, 1979). Adicionalmente, vários compostos químicos vêm sendo testados com o objetivo de prevenir ou erradicar a vassoura-de-bruxa, porém não foram obtidos bons resultados, pois o rápido crescimento da superfície dos frutos durante os dois ou três meses de desenvolvimento do fungo faz com que o fungicida tenha que ser aplicado freqüentemente, inclusive isto se torna difícil em árvores muito altas (SOBERANIS *et al.*, 2000).

O impacto social, econômico, e a falta de recursos de controle da praga incentivaram que fosse estruturada a Rede de Genômica do Estado da Bahia implantando o “Projeto Genoma do *M. perniciosa*, o fungo causador da

vassoura-de-bruxa”. A rede é estruturada com sete laboratórios (UESC, UEFS, UFBA, CEPLAC, EMBRAPA e UNICAMP) possuindo como objetivo final à elucidação de alvos moleculares (*targets*) que poderão levar ao desenvolvimento de diversas estratégias de controle da doença através do sequenciamento genético do fungo. Dentre dos diversos alvos moleculares que o fungo possa apresentar, as enzimas associadas ao metabolismo dos principais carboidratos da parede celular, quitina e glicanos, são atrativos alvos moleculares (PIROVANI *et al.*, 2005). De forma similar com o ocorrido com o desenvolvimento de antibióticos, compostos que atuam nesta via metabólica como vancomicina, β -lactâmicos, e cefalosporinas são de eficácia clínica comprovada (MOCHALKIN *et al.*, 2007). Conseqüentemente, a interferência nestes alvos promove a instabilidade da parede celular do fungo, levando à destruição das hifas. Como resultado, ocorre a inibição do crescimento do patógeno (GEORGOPAPADAKOU & TKACZ, 1995). Adicionalmente, pelo fato da célula humana não apresentar parede celular, espera-se que compostos que atuam nesta via sejam menos propensos a causar efeitos indesejados. No entanto, em relação a fungos, compostos que atuam nesta via metabólica não passaram da fase III, portanto, não alcançaram o mercado (GRIFFITH & TRACY, 2002).

A vassoura-de-bruxa é uma praga que após a sua instalação alterou a posição do Brasil de segundo maior exportador mundial de cacau para importador. A partir de então vários grupos de pesquisa se mobilizaram para

controlar o avanço da praga. Assim, o objetivo deste trabalho é fornecer um suporte aos pesquisadores sobre a literatura disponível em relação ao *M. perniciosa*, o fungo causador da vassoura-de-bruxa. Adicionalmente, relatamos os avanços iniciais do grupo obtido através do Projeto Genoma na caracterização de alvos moleculares da parede celular.

A VASSOURA-DE-BRUXA

A vassoura-de-bruxa foi observada inicialmente em 1700. No entanto, somente por volta de 1785 que a praga foi descrita pelo naturalista brasileiro Alexandre Rodrigues Ferreira. A investigação científica sobre a destruição que esta praga causa em plantações iniciou-se em 1890 por Gregor Stahel, que isolou e nomeou o fungo causador de *Marasmius perniciosa*. Este também foi detectado em diversos países, mas atualmente se distribui nas regiões da América do Sul e do Caribe podendo também ser encontrada no Panamá (PURDY, 2005).

A incidência da vassoura-de-bruxa na Bahia foi observada pela primeira vez em 1989. Neste período houve uma perda de 95% da produção do cacau (PEREIRA *et al.*, 1990; ISAAC *et al.*, 1993), e devido à alta densidade cacauceira, aliada à falta de um período seco, houve melhores condições para o estabelecimento e propagação desta praga, porém sabe-se que há algumas variedades resistentes à doença em seu habitat natural (PURDY & SCHMIDT, 1996). Em 1996, o

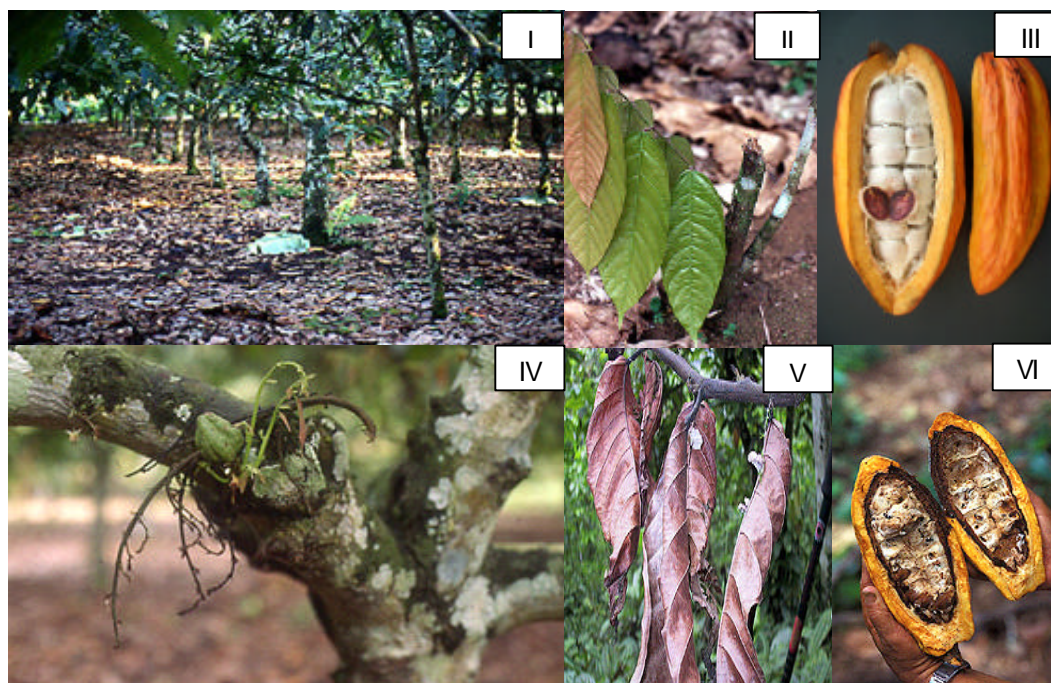


Fig. 1. Comparação entre partes do cacaueiro antes e após a infecção. Em I está mostrado uma plantação de cacau, em II folhas normais e III um fruto em perfeitas condições para consumo. IV evidencia a mudança no tronco da árvore após a infecção, assim como nas folhas e frutos, V e VI respectivamente.

Fonte: BOTANISCHER GARTEN (2007); NEW CROP (2007).

Estado da Bahia representava cerca de 84,5% da produção nacional e 15% da produção mundial de cacau.

A vassoura-de-bruxa provoca um superbrotamento das partes terminais do cacauzeiro, possuindo sintoma característico à formação dos brotos hipertrofiados de excessivo desenvolvimento, aparentando vassoura – caracterizando assim, o nome da doença (Fig. 1). De início, o desenvolvimento da doença nos brotos é rápido, porém depois de 5 a 6 semanas o broto começa a secar, podendo cair ou ficar aderente à árvore (PEREIRA *et al.*, 1990). As estruturas capazes de infectar o cacauzeiro em condições naturais são os basidiósporos uninucleados. A penetração dos basidiósporos no hospedeiro se dá por meio de estômatos de folhas maduras e imaturas, lesão nas superfícies adaxial e abaxial de *Theobroma cacao* L., tecidos lesados nas bases de tricomas (SREENIVASAN & DABYDEEN, 1989; PURDY & SCHMIDT, 1996; KILARU & HASENSTEIN, 2005; MEINHARDT *et al.*, 2006) e/ou diretamente nos tecidos (PURDY & SCHMIDT, 1996; ALVES, 2002). A infecção se inicia com o crescimento dos tubos germinativos dos basidiósporos em tecido meristemático da planta, como os brotos apicais, as flores e os frutos (MUSE *et al.*, 1996; ORCHARD *et al.*, 1994).

Desordens fisiológicas são freqüentemente encontradas em plantas infectadas por um fitopatógeno, liberando dentro da célula grande quantidade de compostos fenólicos, etileno, açúcares solúveis e tanino levando a célula à morte (ODJAKOVA & HADJUVANOVA, 2001; SCARPARI *et al.*, 2005), ou alterando o seu balanço hormonal. Como resultado, ocorre a hipertrofia e hiperplasia das células dos tecidos infectados. O brotamento de gemas laterais dos ramos é aumentado, dando o aspecto de uma vassoura, na qual os ramos são visivelmente mais espessos que o ramo original (LOPES, 2006).

Adicionalmente, estudos das vias de sinalização entre planta-patógeno mostraram que carboidratos possuem um papel importante na mudança da fase biotrófica para a fase saprofítica do fungo (SCARPARI *et al.*, 2005). Foi observado também que espessamento da parede celular pode provocar o adensamento da cutícula (SANTEN, 2007) e esta servir como sinalizador para o fungo reconhecer o hospedeiro.

O FUNGO *MONILIOPTHORA PERNICIOSA*

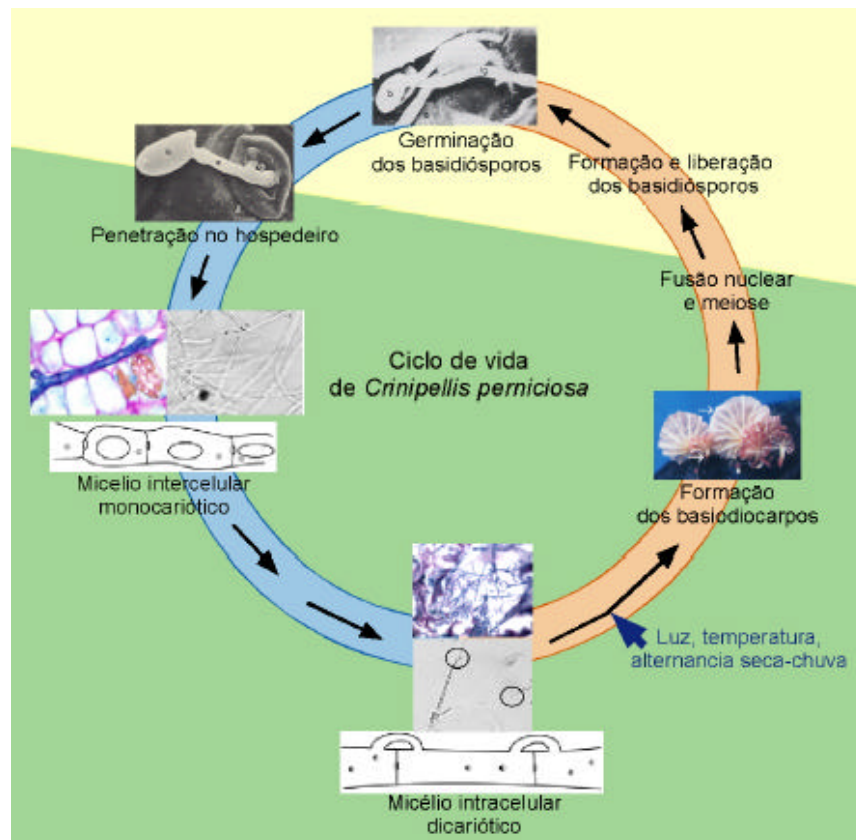


Fig. 2. Ciclo de vida do *M. pernicioso*. As partes em azul e laranja do ciclo correspondem às fases biotrófica e saprofítica, respectivamente; em verde está delimitada a parte do ciclo do fungo na sua interação com a planta do cacau; em amarelo está a parte do ciclo que ocorre fora do hospedeiro. Fonte: (LOPES, 2006).

O fungo *M. perniciosa* pertence à divisão Eumycota, subdivisão Basidimycotina, ordem Agaricales e família Tricholomataceae (BRANDEAU, 1992; LANA, 2000). Foi inicialmente descrito como *Marasmius perniciosa* Stahel. Após a revisão do gênero *Marasmius* por Singer, a espécie foi transferida para o gênero *Crinipellis* sobre o binômio *C. perniciosa* (Stahel) Singer (PURDY & SCHMIDT, 1996; GRIFFITH *et al.*, 2003), e atualmente, como resultado de estudos de filogenia molecular de representantes de Marasmiaceae realizados por AIME & PHILLIPS-MORA (2005), é validamente reconhecido como *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora.

Este fungo não é um parasita exclusivo do cacauzeiro, podendo ocorrer em outras plantas como Malvaceae, *T. grandiflorum* Schum. (cupuaçu) e *T. speciosum* Willd. (cacaú) (BASTOS & EVANS, 1985). Segundo a classificação de BASTOS (1988), a grande variabilidade de hospedeiros do *M. perniciosa* permite separá-lo em grupos de acordo com o gênero que infecta, denominados biótipos. O biótipo “C” afeta *T. cacao* e espécies filogeneticamente próximas, como espécies do gênero *Theobroma* (BASTOS & EVANS, 1985). Os biótipos “S” e “B” afetam, respectivamente, plantas das famílias Solanaceae e a espécie *Bixa orellana*, enquanto o biótipo “L” afeta plantas da família Bignoniaceae (principalmente *Arrabidaea verrucosa* (Standl.) A. H. Gentry), mas não causa os sintomas da praga. O biótipo “L” é heterotático (auto-estéril) e apresenta uma distribuição geográfica restrita (GRIFFITH & HEDGER, 1994).

M. perniciosa é um patógeno hemibiotrófico, cujos basidiósporos são as únicas estruturas do fungo em condições naturais capazes de infectar os tecidos meristemáticos do cacau e várias outras espécies do gênero *Theobroma* e *Herrania* (todos os membros da família Sterculiaceae). Estes são produzidos em lamelas na parte inferior do píleo do basidioma onde os dois núcleos dos compartimentos da hifa dicariótica, da camada do himênio, migram para dentro do basídio, onde ocorre a fusão nuclear (LOPES, 2006). Os basidiósporos penetram no hospedeiro ao atingirem os tecidos meristemáticos dos órgãos de plantas sadias e ocorre o desenvolvimento de hifas espessas, não fibuladas localizadas intercelularmente nos tecidos infectados que caracterizam o micélio primário ou biotrófico. A dicarionização do micélio ocorre após um período que varia de três a nove semanas, ocorrendo à formação de um micélio secundário, com hifas mais delgadas (1-3µm de diâmetro) e apresentando fíbulas (ansas ou grampos de conexão), que invade as células do tecido hospedeiro, levando à morte dos ramos (Fig. 2). Esta é a fase saprofítica da doença denominada “vassoura seca”.

As condições climáticas ideais para a liberação dos basidiósporos são a umidade do ar próximo à saturação e temperaturas em torno de 20 a 30°C (PURDY & SCHMIDT, 1996; GRIFFITH *et al.*, 2003). Estes são liberados à noite e sua dispersão se dá pela chuva e pelo vento. A altura em que os basidiósporos são produzidos é importante no desenvolvimento da praga (COSTAS, 1993). Na superfície do

solo as vassouras produzem poucos basidiomas, e há uma menor chance dos basidiósporos atingirem os órgãos suscetíveis. No entanto, nas áreas mais altas a disseminação atinge maiores distâncias (ANDEBRHAN *et al.*, 1993) de modo que as principais fontes de inóculo são as vassouras localizadas na copa (ANDEBRHAN, 1985; COSTAS, 1993). Em relação aos basidiósporos do *M. perniciosa*, estes não têm grande disseminação, porém devido à curta distância entre as árvores da plantação de cacau, a disseminação tornou-se mais devastadora (GRIFFITH *et al.*, 2003).

MÉTODOS DE CONTROLE DA DOENÇA

O controle adequado da vassoura-de-bruxa depende da remoção das partes infectadas, aplicação de fungicidas químicos e seleção de hospedeiros resistentes (WHEELER, 1985; RUDGARD, 1987; BASTOS, 2000). Este método de controle é de baixo custo e fácil manejo. No entanto, este se mostrou insuficientes para reduzir a disseminação do patógeno (ANDEBRHAN *et al.*, 1995), uma vez que o nível de infecção da planta determina a eficiência e o custo dessa prática (BASTOS, 1996). Adicionalmente, o método somente é efetivo quando a remoção das fontes de inóculo é realizada por todos os fazendeiros de uma determinada área (GRIFFITH *et al.*, 2003).

Diferentes compostos químicos têm sido testados na tentativa de prevenir ou erradicar a vassoura-de-bruxa, porém os resultados não são satisfatórios (MCQUILKEN *et al.*, 1998; SOBERANIS *et al.*, 2000), pois o rápido crescimento da superfície dos frutos durante os dois ou três meses de desenvolvimento faz com que o fungicida tenha de ser aplicado frequentemente, e isto é especialmente difícil em árvores muito altas (SOBERANIS *et al.*, 2000). Como alternativa, tem sido utilizado o controle biológico que envolve antagonistas capazes de suprimir a formação ou destruir os basidiomas de *M. perniciosa* em vassouras secas. Algumas espécies de *Trichoderma* sp. revelaram-se promissoras, não só no controle de fitopatógenos habitantes do solo (PAPAVIZAS, 1985) como também no controle daqueles que colonizam as partes aéreas de plantas (ELAD *et al.*, 1993). Adicionalmente, BASTOS (1996) demonstrou a eficiência de *T. viride* Pers. no controle de *M. perniciosa*, a qual houve a redução da incidência de frutos infectados em comparação com os tratamentos por poda fitossanitária.

Embora existam diversas alternativas no controle da vassoura-de-bruxa, estas ainda estão insipientes. Nenhuma forma de controle tanto químico como biológico ainda é capaz de restaurar a posição que o Brasil ocupava na produção de cacau. Este fato motiva a busca de novas alternativas de controle. Dentre elas, destaca-se a busca de novos alvos moleculares através do sequenciamento do gDNA e de cDNAs. Como resultado destas pesquisas, a estrutura tridimensional de enzimas pode ser elucidada por Modelagem Comparativa (SANTOS-FILHO & ALENCASTRO, 2003) fornecendo detalhes do sítio ativo, sobretudo da

interação ligante-receptor. De posse dessa informação, torna-se possível o desenvolvimento de compostos biologicamente ativos direcionados para atuar exclusivamente nos alvos moleculares do *M. perniciosa* levando ao controle da praga.

ALVOS MOLECULARES

Com objeto de criar novas formas de controle da doença, pesquisadores de várias instituições iniciaram o projeto genoma do *M. perniciosa*. Este projeto identifica genes muito importantes relacionados ao metabolismo do fungo, e/ou ao seu mecanismo de infecção. Muitos desses genes codificam enzimas e receptores essenciais para *M. perniciosa* e são considerados alvos moleculares para o desenvolvimento de fungicidas mais potentes e seletivos contra esse fungo. Adicionalmente, o entendimento do funcionamento do metabolismo do fitopatógeno a partir dos dados moleculares poderá levar ao desenvolvimento de diversas estratégias de controle da doença. Estudos iniciais demonstraram que as células fúngicas destituídas de parede celular somente sobrevivem em condições de laboratório, onde o suporte osmótico previne a sua lise. Estes dados sugerem a parede celular como um importante alvo na busca de uma defesa efetiva, justificada por ser essencial para os fungos e por não estar presente em mamíferos. Conseqüentemente, as rotas biossintéticas das moléculas que compõem a parede celular são alvos importantes para o desenvolvimento de agentes inibidores do crescimento destes patógenos (GEORGOPAPADAKOU & TKACZ, 1995; RONCERO, 2002). Conseqüentemente, diversos estudos vêm sendo feitos a partir do princípio que a parede celular dos fungos é um importante alvo para o desenvolvimento de potentes antifúngicos (GRIFFITH & TRACY, 2002).

Estes dados motivaram a determinação estrutural por Modelagem Comparativa (PATNY *et al.*, 2006) de enzimas

da via metabólica da síntese de quitina, o principal componente da parede celular fúngica (SOUZA, 2007). A quitina é um homopolímero insolúvel de N-acetilglicosamina (GlcNAc) unidos por ligações glicosídicas *b*-(1'4) (Fig. 3) (KRAMER & MUTHUKRISHNAN, 1997; HOWARD *et al.*, 2003; MERZENDORFER & ZIMOCH, 2003; ICHINOMIYA *et al.*, 2005; GOHEL *et al.*, 2006; DUO-CHAN, 2006) que formam espontaneamente estruturas cristalinas de microfibrilas (IMAI *et al.*, 2003; MERZENDORFER & ZIMOCH, 2003; MERZENDORFER, 2006) e medem aproximadamente 3,0 nm de diâmetro, sendo as cadeias de açúcares, dentro das microfibrilas, estabilizadas por ligações de hidrogênio entre os grupos amino e carbonil (MERZENDORFER & ZIMOCH, 2003; HOGENKAMP, 2006). Em fungos estas microfibrilas medem em torno de 20-400 cadeias de açúcares associadas às ligações de hidrogênio (RUIZ-HERRERA & MARTINEZ-ESPINOZA, 1999).

A quitina é sintetizada através de cinco passos consecutivos (Fig. 4): (i) conversão da frutose-6-fosfato em glicosamina-6-fosfato pela ação da frutose-6-fosfato aminotransferase (EC 2.6.1.16); (ii) acetilação da glicosamina-6-fosfato formando N-acetilglicosamina-6-fosfato catalizada pela glicose-6-fosfato acetiltransferase (EC 2.3.1.4); (iii) interconversão de N-acetilglicosamina-6-fosfato em N-acetilglicosamina-1-fosfato pela ação da N-acetilglicosamina fosfomutase (EC 5.4.2.3); (iv) uridinação da N-acetilglicosamina-1-fosfato em uridina difosfato-N-acetilglicosamina ativada (UDP-GlcNAc) catalisada pela ação da UDP-GlcNAc pirofosforilase (EC: 2.7.7.23); (v) conversão irreversível da UDP-N-acetilglicosamina em quitina através da sintase da quitina (EC: 2.4.1.16) (MIO *et al.*, 1998; YAMADA-OKABE *et al.*, 2001).

Dentre estes alvos, esforços foram direcionados para a elucidar a estrutura 3D de três enzimas: pirofosforilase, sintase da quitina, e quitinase por modelagem comparativa (SANTOS JÚNIOR, 2007; SOUZA, 2007; GALANTE, 2008).

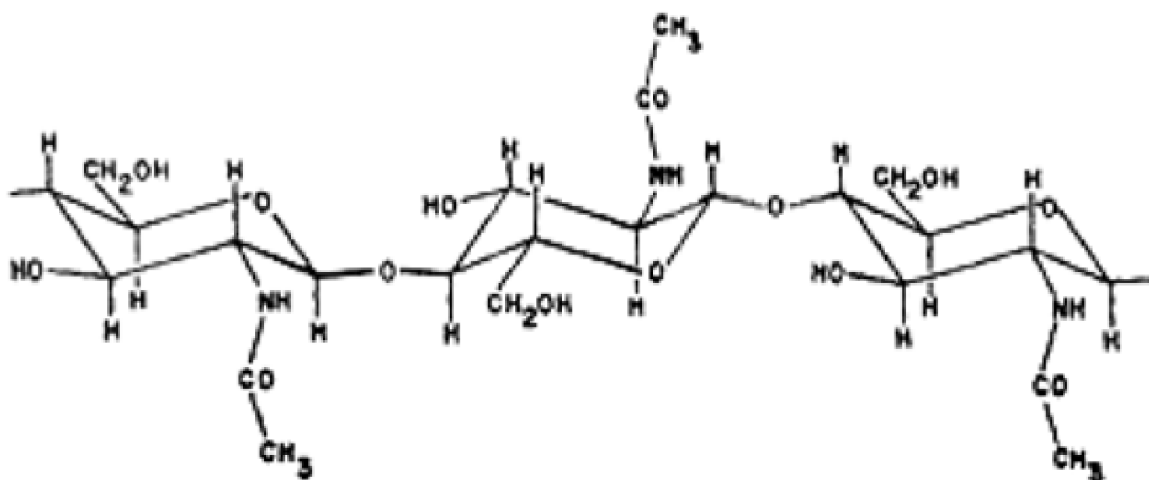


Fig. 3. Ilustração de um segmento da quitina. Fonte: TRINDADE (2005).

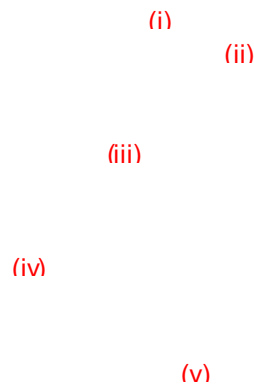


Fig. 4. Rota metabólica da quitina evidenciando as suas cinco etapas de formação. Fonte: LOPES (2006).

A enzima UDP-N-acetilglicosamina pirofosforilase (EC 2.7.7.23) é uma proteína da superfamília nucleotídeo-difosfo-açúcar transferase e família UDP-glicose pirofosforilase. Esta enzima é constituída de folhas beta paralela (beta/alfa/beta), segundo a *Structural Classification of Protein Database- SCOP* (RSCB, 2000). Sua purificação foi realizada a partir de cepas de *Staphylococcus aureus* cerca de 30 anos atrás. No entanto, a seqüência gênica que codifica esta enzima foi elucidada a partir de genes de *Escherichia coli*, somente em 1993 (DE LUCA *et al.*, 1996).

A sintase da quitina (EC 2.4.1.16) é uma enzima que desempenha importantes funções na diferenciação e morfogênese de fungos filamentosos, como *M. perniciosa*, que possuem a quitina como principal componente estrutural de sua parede celular (RUIZ-HERRERA *et al.*, 2002). Para sua atividade, essa enzima utiliza um cátion bivalente (Mn^{+2} ou Mg^{+2}) (MERZENDORFER, 2006) e o nucleotídeo UDP-GlcNAc como doador de açúcar. A sintase da quitina pertence à família multigênica das glicosiltransferases (MÜLLER *et al.*, 2002). Com base na similaridade da seqüência, a sintase da quitina pertence à família 2 (GTF2), que contém seqüências de fungos, bactérias, plantas e animais. Análises filogenéticas indicam que as enzimas da GTF2 derivam de um ancestral comum (MERZENDORFER, 2006). As glicosiltransferases desta família, segundo CAMPBELL *et al.* (1997), têm seu mecanismo catalítico nos resíduos de Asp e Glu das cadeias laterais, pois estes apresentam reatividade apropriada para agir como acceptor da ativação.

A degradação direta da quitina para promover a morfogênese e alongamento das hifas, diferenciação dos

esporos e origens de carbono, em condições de inanição de alguns fungos (FELSE & PANDA, 1999), ocorre pela subsequente hidrólise das ligações β -1,4 do homopolímero de quitina, por quitinases (EC 3.2.1.14), liberando resíduos de N-acetilglicosamina (HOWARD *et al.*, 2003; MERZENDORFER & ZIMMICH, 2003; ICHINOMIYA *et al.*, 2005; GOHEL, 2006; DUO-CHAN, 2006). As quitinases, endo e exoquitinases são enzimas essenciais para o metabolismo do fungo e estão inseridas na superfamília das glicosilhidrolases (DUO-CHAN, 2006). O mecanismo de retenção da configuração anomérica do substrato é comum entre as quitinases da Família 18, encontrados em fungos e em bactérias, sendo caracterizada pela protonação do oxigênio glicosídico formando um íon intermediário (o *oxazolinium íon intermediate*), com posterior adição de uma base nucleofílica (Glu ou Asp), e uma segunda adição de um nucleófilo, hidrolisando a quitina e mantendo o produto com a mesma configuração anomérica (DAVIES & HENRISSAT, 1995; DAHIYA *et al.*, 2006). O inibidor competitivo, alosamidina, se liga ao íon intermediário impedindo a continuidade do mecanismo de hidrólise. No entanto, a utilização deste inibidor de quitinase em fungicidas torna-se improvável pelo elevado custo comercial (DUO-CHAN, 2006).

Embora o enfoque do presente trabalho seja as enzimas da parede celular, recentemente foi descrito um outro importante alvo molecular, DNA e RNA polimerases. Estas enzimas estão envolvidas no envelhecimento do fungo, sendo, portanto um outro atrativo alvo molecular. Estas duas enzimas foram completamente seqüenciadas e seus modelos foram construídos também utilizando a Modelagem Comparativa. O sítio ativo de ambas foi caracterizado

mostrando que é possível desenvolver inibidores por *De novo design*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Grandes impactos na cultura cacaueteira na Bahia foram provocados pela vassoura-de-bruxa. Esta causou a queda de produção, aumento dos custos e gastos diretos em função do uso de medidas de controle, afetando diretamente o produtor, o preço do produto, e atingindo de forma indireta o consumidor. Além de impactos socioeconômico resultantes da menor produção de cacau, outras mudanças ocorreram na região produtora da Bahia, como: uso da terra, venda de propriedades, nível de emprego e danos ao meio ambiente.

Na busca de soluções para isto, esforços têm sido feitos para encontrar o melhor alvo molecular. Dentre eles, destacam-se enzimas, tais como a pirofosforilase, sintase

da quitina, e quitinase, todas da parede celular do fungo por ser essencial à sobrevivência de suas hifas em ambientes hostis, e por não estar presente no ser humano, sugerindo assim que este seja um atrativo alvo molecular e, conseqüentemente, uma oportunidade para o desenvolvimento racional de novos antifúngicos com a possível capacidade de controlar a vassoura-de-bruxa (ANDRADE *et al.*, 2008).

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Feira de Santana e ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia UEFS/FIOCRUZ-BA pelos incentivos dados para a construção deste trabalho. À Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelos incentivos estruturais e financeiros para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AIME MC & W PHILLIPS-MORA. 2005. The Causal agents of witches' broom and frosty pod of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycol.* 97(5): 1012-1022.
- ALVES SAM. 2002. **Epidemiologia da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahle) Singer) em cacaueteiros enxertados em Uruçuca**, BA. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ANDEBRHAN T. 1985. Studies on the epidemiology and control of witches' broom disease of cacao in the Brazilian Amazon. *In: INTERNATIONAL RESEARCH CONFERENCE*, 9. **Proceedings...** Lagos: Cocoa Producers Alliance. p. 395-402.
- ANDEBRHAN T, AC MADDISON, R ARIAS & LA MAFFIA. 1993. Disease gradients of *Crinipellis perniciosa*. p. 157-164. *In: SA RUDGARD, T ANDEBRHAN & AC MADDISON (eds.). Disease management in cocoa: comparative epidemiology of witches' broom disease*. London: Chapman & Hall.
- ANDEBRHAN T, JF HAMMERSTONE, LJ ROMANCZYK & DB FURTEK. 1995. Sensitivity of *Crinipellis perniciosa* of procyanidins from *Theobroma cacao* L. *Phys. Mol. Plant Pathol.* 46: 339-348.
- ANDEBRHAN T, A FIGUEIRA, MM YAMADA, J CASCARDO & DB FURTEK. 1999. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*C. perniciosa*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brasil. *Eur. J. Plant. Pathol.* 105: 167-175.
- ANDRADE BS, AG TARANTO, SCS ROESSELE, A GÓES NETO & MA AVERY. 2008. Comparative modeling of DNA and RNA polymerases from *Moniliophthora perniciosa* mitochondrial plasmid. *International J. Integrative Biology*. No prelo
- BASTOS C & HC EVANS. 1985. A new pathotype of *Crinipellis perniciosa* (witches' broom disease) on solanaceous hosts. *Plant Pathol.* 34: 306.
- BASTOS E. 1987. **Cacau: a riqueza agrícola da América**. São Paulo: Ícone.
- BASTOS CN. 1988. **Biologia do *Crinipellis perniciosa***. Belém: CEPLAC/CEPEA.
- BASTOS CN. 1996. Potencial de *Trichoderma viridae* no controle de vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacaueteiro. *Fitop. Bras.* 21(4).
- BASTOS CN. 2000. Retrospectiva e avanços no controle da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro. *Fitop. Bras.* 25: 305-036.
- BOTANISCHER GARTEN. 2007. *Theobroma cacao*. Disponível em <<http://www.botanik.uni-karlsruhe.de/garten/fotos-knoech/Theobroma%20cacao%20Echter%20Kakaobaum%207.jpg>>. Acesso em: 14 mar. 2007.
- BRANDEAU J. 1992. **El cacao**. Barcelona: Blume.
- CAMPBELL JA, JG DAVIES, V BULONE & BA HENRISSAT. 1997. A classification of nucleotide-diphospho-sugar glycosyltransferases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. Journal* 15: 929-939.
- COMPANHIA DAS DOCAS DO ESTADO DA BAHIA. 2002. **Apresenta em estatística os principais produtos movimentados**. Disponível em <<http://www.cobeda.com.br/portoileus>>. Acesso em: 25 jan. 2005.
- COSTAS JCB. 1993. **Progresso da vassoura-de-bruxa em órgãos vegetativos do cacaueteiro em Altamira e Tomé-Açu, PA**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Viçosa.
- CRONSHAW DK. 1979. Fungicide application together with cultural practices to control cocoa disease in Ecuador. *Trop. Agric.* 56(2): 165-171.
- DAHYA N, R TEWARI, RP TIWARI & GS HOONDAL. 2006. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. *Appl. Microb. Biotec.* 71: 773-782.
- DAVIES G & B HENRISSAT. 1995. Structures and mechanisms of glycosyl hidrolases. *Structure* 3(9): 853-859.
- DE LUCA C. *et al.* 1996. Overexpression, one-step purification and characterization of UDP-glucose dehydrogenase and UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase. *Bioorg. Med. Chem.* 4(1): 131-142.
- DUO-CHUAN L. 2006. Review of fungal chitinases. *Mycopathologia* 161: 345-360.
- FAO, 2002. **Production Yearbook**, v. 54, Rome.
- FELSE PA & T PANDA. 1999. Regulation and cloning of microbial chitinase genes. *Applied Microbiology Biotechnology* 51: 141-151.
- ELAD Y, DG ZIMAND, Y ZAQS, S ZURIEL & I CHET. 1993. Use of *Trichoderma harzianum* in combinations or alternation with fungicides to control cucumber grey mould (*Botrytis cinerea*) under commercial green-house conditions. *Plant Pathol.* 42: 324-332.

- GALANTE RS. 2008. **Estudos de quitinasas de *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora, fungo causador da vassoura-de-bruxa no cacauero: purificação, caracterização e modelagem comparativa**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- GEORGOPAPADAKOU NH & JS TKACZ. 1995. The fungal cell wall as a drug target. **Tren. Microbiol.** 3(3): 98-104.
- GOHEL V, A SINGH, M VIMAL, P ASHWINI & HS CHHATPAR. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. **Afric. J. Biotec.** 5(2): 54-72.
- GRIFFITH GW & JN HEDGER. 1994. Spatial distribution of mycelia of the liana (L) biotype of the agaric *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer in tropical forest. **New Phytol.** 127: 243-259.
- GRIFFITH R & T TRACY. 2002. Antifungal drugs. In: DA WILLIAMS & L LEMKE. **Foye's principles of medicinal chemistry**. 5ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 891-903.
- GRIFFITH GW. *et al.* 2003. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. **New Zeland J. Bot.** 41: 423-435.
- HOWARD MB, NA EKBORG, RM WEINER & SW HUTCHESON. 2003. Detection and characterization of chitinases and other chitin-modifying enzyme. **J. Ind. Microb. Biotec.** 30: 627-635.
- HOGENKAMP DG. 2006. Chitin metabolism in insects: **chitin synthases and beta-N-acetylglucosaminidases**. Dissertation (Doctor in Philosophy). Kansas State University. Manhattan, Kansas.
- ICHINOMIYA M, E YAMADA, S YAMASHITA, A OHTA & H HORIUCHI. 2005. Class I and class II chitin synthases are involved in septum formation in the filamentous fungus *aspergillus nidulans*. **Eukaryotic Cell.** p. 1125-1136.
- IMAI T, T WATANABE, T YUI & J SUGIYAMA. 2003. The directionality of chitin biosynthesis: a revisit. **Biochem. J.** 374: 755-760.
- ISAAC S, K HARDWICK & H COLLIN. 1993. Interactions between the pathogen *Crinipellis perniciosa* and cocoa tissue, p. 219-232. In: S ISAAC, JC FRANKLAND, R WATLING & AJS WHALLEY (eds.). **Aspects of tropical mycology**. Cambridge: Cambridge University Press.
- KILARU A & KH HASENSTEIN. 2005. Development and pathogenicity of the fungus *Crinipellis perniciosa* interaction with cacao leaves. **Biochem. Cell Biol.** 95(1): 101-107.
- KRAMER KJ & S MUTHUKRISHNAN. 1997. Insect chitinases: molecular biology and potential use as biopesticides. **Insect Biochem. Mol. Biol.** 27(11): 887-900.
- LANA TG. 2000. **Caracterização genética e fisiológica de *Crinipellis perniciosa***. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- LASS RA. 1985. Diseases, p. 265-365. In: GAR WOOD & RA LASS (eds.). **Cocoa**. 4ª ed. London: Longmans.
- LOPES MA. 2006. **Estudo molecular do sistema quitinolítico de *Crinipellis perniciosa***. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Estadual de Santa Cruz – Ilhéus.
- MEINHARDT LW, C DE MBELLATO, J RINCONES, RAAZEVEDO, JCM CARCARDO & GAG PEREIRA. 2006. *In vitro* production of biotrophic-like cultures of *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of *Theobroma cacao*. **Cur. Microb.** 52: 191-196.
- MERZENDORFER H & L ZIMICH. 2003. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **J. Exp. Biol.** 206: 4393-4412.
- MIO T, T YABE, M ARISAWA & H YAMADA-OKABE. 1998. The eukaryotic UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylases. **J. Biol. Chem.** 273(23): 14392-14397.
- MCQUILKEN, M. P. SUPRIADI, S., RUDGARD, S. A. 1998. Sencitivity of *Crinipellis perniciosa* to two triazole fungicides *in vitro* and their effect on development of the fungus in cocoa. **Plant Pathol.** 37: 499-506.
- MERZENDORFER H. 2006. Insect chitin synthases: a review. **J. Comp Physiol B.** 176: 1-15.
- MOCHALKIN I, S LIGHTLE, Y ZHU, JF OHREN, C SPESSARD, N CHIRGADZE, Y BONATAI, M MELNICK & L MCDOWELL. 2007. Characterization of substrate binding and catalysis in the potential antibacterial targets N-acetylglucosamine-1-phosphate uridyltransferase (GlmU). **Protein Science** 16: 2657-2666, 2007.
- MÜLLER C, CM HIORT, K HANSEN & J NIELSEN. 2002. Altering the expression of two chitin synthase genes differentially affects the growth and morfology of *Aspergillus oryzae*. **Microbiol.** 45: 4025-4033.
- MUSE R. *et al.* 1996. Effects of the fungus *Crinipellis perniciosa*, causal agent of witches' broom disease, on cell and tissue cultures of cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Plant Pathol.** 45: 145-154.
- NEW CROP. 2007. **Tropical Beverage Crops-Cacao**. Disponível em <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/tropical/lecture_18/lec_18.html>. Acesso em 14 mar. 2007.
- ODJAKOVA ME & C HADJUVANOVA. 2001. The complexity of pathogens defense in plants. **Bulg. J. Plant Physiol.** 27(1-2): 101-109, 2001.
- ORCHARD J *et al.* 1994. Changes in morphology and measurement of cytokinin levels development of witches' broom on cocoa. (*Theobroma cacao* L.). **Plant Pathol.** 43: 65-72.
- PAPAVIZAZ GC. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potencial for biocontrol. **Annu. Rev. Phyt.** 23: 23-54.
- PATNY A, P DESAI & MA AVERY. 2006. Homology modeling of G-protein-coupled receptors and implications in drug design. **Curr. Med. Chem.** 13: 1667-1691.
- PEREIRA JL, A RAM, JM FIGUEIREDO & LCC ALMEIDA. 1990. The first occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa growing region of Brazil. **Trop. Agric.** 67: 188-189.
- PIROVANI CP *et al.* 2005. Knowledge discovery in genome database: the chitin metabolic pathway in *Crinipellis perniciosa*. **Proceedings of International Symposium on Mathematical and Computacional Biology**.
- PURDY LH & RASCHMIDT. 1996. Status of caco witches' broom: biology, epidemiology and management. **Annu. Rev. Phytol.**, v. 34, p. 573-594, 1996.
- PURDY LH. 2005. **Fungal disease of cacao**. Disponível em: <<http://www.cabi-commodities.org/Acc/ACCrc/PDFFiles/W-BPD/Ch1.pdf>>. Acesso em 25 abr. 2007.
- ROSA IS. 1998. **Enxertia do cacauero**. Ilhéus: CEPALC/SUBES/CEPEC.
- RONCERO C. 2002. The genetic complexity of chitin synthesis in fungi. **Curr Genet.** 41: 367-378.
- RSCB. 2000. **RSCB Protein Data Bank**. Disponível em <<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1JV1>>. Acesso em 25 abr. 2007.
- RUDGARD SA. 1987. Witches' broom disease on cocoa in Rondônia, Brazil: Infection of vegetative flushes and flower cushions in relation to host phenology. **Plant Pathol.** 36: 523-530.
- RUIZ-HERRERA J, JM GONZÁLEZ-PRieto & R RUIZ-MEDRANO. 2002. Evolution and phylogenetic relationships of chitin synthases from yeast and fungi. **FEMS Yeast Res.** 1: 247-256.
- RUIZ-HERRERA J & AD MARTÍNEZ-ESPINOZA. 1999. Chitin biosynthesis and structural organization *in vivo*. **EXS.** 87: 39-53.
- SANTÉN K. 2007. **Pathogenesis-related proteins in Barley: localization and accumulation patterns in response to infection by *Bipolaris sorokiniana***. Tese. Swedish University of Agricultural Science, Alnarp.

- SANTOS-FILHO AO & RB DE ALENCASTRO. 2003. Modelagem de proteínas por Homologia. **Quím. Nov.** 26: 253-259.
- SANTOS JUNIOR MC. 2007. **Determinação estrutural da enzima pirofosforilase do fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stael) (Singer) Phillips-Mora por modelagem comparativa.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- SANTOS SC. 2005. **Caracterização de hidrofobinas do fungo *Crinipellis perniciosa* (Stael) Singer, causador da doença vassoura-de-bruxa no cacauero.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.
- SCARPARI LM, LW MEINHARDT, P MAZZAFERA, AWV POMELLA, MA SCHIAVINATO, JCM CASCARDO, GAC PEREIRA. 2005. Biochemical changes during the development of witches' broom: the most important disease of cocoa in Brazil caused by *Crinipellis perniciosa*. **Journal Experimental Bot.** p. 1-13.
- SOBERANIS W *et al.* 2000. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cocoa (*Theobroma cacao* L.) increases yield economically in eastern Peru. **Crop Protection** 18: 667-685.
- SOUZA CS. 2007. **Sintase da quitina de *Moniliophthora perniciosa* (Stael) (Singer) Phillips-Mora: caracterização gênica e modelagem do provável sítio catalítico.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- SREENIVASAN TN & S DABYDEEN. 1989. Modes of penetration of young cocoa leaves by *Crinipellis perniciosa*. **Plant Dis.** 73(6): 478-481.
- TRINDADE MB. 2005. **Purificação, caracterização e estudos estruturais de duas novas lectinas ligantes de quitina das sementes do gênero *Artocarpus*.** Tese (Doutorado em Ciências). Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- WHELLER BEJ. 1985. The growth of *Crinipellis perniciosa* in living and dead cocoa tissue, p. 103-116. *In:* D MOORE, LA CASSELTON, DA WOOD & JC FRANKLAND (eds.). **Developmental biology of higher fungi.** Cambridge: Cambridge University Press.
- YAMADA-OKABE T, Y SAKARNORIL, T MIO, H YAMADA-OKABE. 2001. Identification and characterization of the genes for N-Acetylglucosamine kinase and N-Acetylglucosamine-phosphate deacetylase in the pathogenic fungus *Candida albicans*. **Eur. J. Biochem.** 268: 2498-2505.

USO DE LA DIVERSIDAD VEGETAL POR *ATTA CEPHALOTES* L. 1758 EN SAN RAFAEL PIÑA, MUNICIPIO DE ZENTLA, VERACRUZ, MÉXICO

IVONNE LANDERO-TORRES¹, HÉCTOR OLIVA-RIVERA¹, JULIETA RAMOS-ELORDUY², MARÍA ELENA GALINDO TOVAR¹,
HILDA LEE-ESPINOSA¹ & JOAQUÍN MURGUÍA-GONZÁLEZ¹

¹Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana, Apdo. Postal 177, C.P. 45000, Córdoba, Veracruz (ilt62@hotmail.com) (hongoliva@hotmail.com) (megalindo@uv.mx) (kalapana@2004prodigy.net.mx) (jmurguia@uv.mx)

²Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-153, 04510, México, D.F. (relorduy@ibiologia.unam.mx)

(Uso de la diversidad vegetal por *Atta cephalotes* L. 1758 en San Rafael Piña, municipio de Zentla, Veracruz, México)

– Las hormigas ocupan un lugar importante en los ecosistemas de los bosques lluviosos tropicales y son herbívoros que se destacan en muchas comunidades neotropicales. Sin embargo, en muchos casos, como es el de *Atta cephalotes* L. 1758, la relación hormiga-planta ha sido poco estudiada. En este trabajo se determinaron las especies vegetales utilizadas por 16 colonias de *A. cephalotes* localizadas en tres localidades del municipio de Zentla, Veracruz, México. Aunque el número de especies vegetales utilizadas por colonia está relacionado con la diversidad del lugar, las hormigas son selectivas y atienden a necesidades de organización interna de sus nidos.

Palabras-clave: Diversidad vegetal, Hymenoptera, forrageo.

(Use of the vegetal diversity by *Atta cephalotes* L. 1758 in San Rafael Piña, municipality of Zentla, Veracruz, Mexico)

– Ants have an important role in the tropical rainy forest because they are prominent herbivores in many Neotropical communities. However, in many cases, as with *Atta cephalotes* L. 1758, the ant-plant relationships have not been enough studied. In this paper, plants used by *A. cephalotes* in 16 ant colonies at two localities in the Zentla municipality, in Veracruz, Mexico have been surveyed. It was found that the number of plant species used by ant colonies is related to the place diversity and that ants are selective and focus on the colony self-organization.

Key words: Plant diversity, Hymenoptera, forage.

INTRODUCCIÓN

Las relaciones ecológicas entre los animales y su medio natural se manifiestan en una gran gama de interrelaciones biológicas que van desde la dispersión de diásporas, de refugio o escondite, la reproducción y la alimentación (GRANADOS, 1994). Una interacción ecológica interesante es la desarrollada entre las hormigas y las plantas que se encuentran en su hábitat; interacción probablemente desarrollada desde el Cretáceo, dando lugar a un proceso coevolutivo independiente, en el que las hormigas desarrollaron diferentes conductas (DELABIE *et al.*, 2003). Actualmente, las hormigas son probablemente el grupo de insectos sociales más exitoso en la tierra, ya que representan del 10% al 15% de la biomasa animal en los ecosistemas terrestres (BRADY *et al.*, 2006). En América tropical, *Atta cephalotes* L. 1758 es una especie ampliamente distribuida que vive en diversas condiciones ecológicas y en diferentes tipos de vegetación. Se le encuentra ampliamente distribuida en el neotrópico, desde el sur de México hasta Colombia y Brasil. Los únicos países en los que no se ha reportado su presencia son Canadá y Chile (DIJAJADI, 1999).

A. cephalotes es una hormiga herbívora importante en los ecosistemas neotropicales. Aunque la interacción de diferentes tipos de hormigas con las plantas que viven en su hábitat ha sido estudiada, poco se conoce sobre la relación de esta especie y las plantas que se encuentran en su hábitat natural.

Según LANDERO-TORRES (1985), una colonia de *A. cephalotes*, en el municipio de Fortín de las Flores, en el Estado de Veracruz, México, vive más de 20 años y cuándo está madura puede contener hasta 100.000 individuos, de los cuales el 46% son cultivadoras de hongos, 20% son forrajeras y un 25% son soldados. Las hormigas del género *Atta*, al igual que otros animales en condiciones naturales, dependen de la vegetación para su alimentación. Comúnmente se les llama “cortadoras de hojas”, “arrieras”, “chicatanas” ó “chicatanas”. Son defoliadoras y dependen del corte de trozos pequeños de hojas frescas, aunque también pueden utilizar flores y frutos que poco a poco transportan, desde distancias hasta de 80 metros, al interior de sus nidos y los colocan en cámaras especiales (WETTERER, 1994).

Las diferentes especies de plantas que están disponibles en las regiones donde habitan las hormigas cortadoras de hojas son utilizadas para cultivar hongos, de los cuales se alimentan (SCHULTZ & BRADY, 2008). De acuerdo a ROCES (2002), las hormigas cortan, en el interior de sus nidos, las hojas en trozos más pequeños para que los hongos procesen el material, por lo que se espera que las hormigas seleccionen las plantas para promover el máximo crecimiento de los hongos, y ponen poca atención en los efectos directos de estas plantas sobre ellas.

El objetivo de este trabajo es conocer y determinar las especies de plantas que utiliza *A. cephalotes* en las localidades de San Rafael Piña, Mi Ranchito y Colonia Dos de Abril, en el

municipio de Zentla, Veracruz.

ÁREA DE ESTUDIO

El municipio de Zentla se encuentra en la parte central del Estado de Veracruz, en la zona montañosa de la Sierra Madre Oriental, por lo que el suelo es accidentado, recorrido por la barranca Quemada. Este municipio se encuentra ubicado en las coordenadas 19°07' latitud norte y 96°52' longitud oeste a una altitud de 940 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con el municipio de Comapa, al este con Soledad de Doblado y al sur con Tapatlaxco. Tiene una superficie de 241 Km² (INEGI, 2000).

El clima es semi-cálido con una temperatura promedio de 26°C. La precipitación pluvial media anual es de 1.650 mm. Actualmente, muy alterada y perturbada, la flora del municipio la componen relictos del bosque tropical caducifolio y encinares de mediana altitud; dominan los cultivos de café, mango, plátano y caña de azúcar.

El suelo es de tipo aluvial y coluvial y se caracteriza por su textura arcillosa-arenosa y franco arcillosa con tonalidades negro, gris muy oscuro, café oscuro y café rojizo (INEGI, 2000).

Este estudio se realizó en tres localidades: Mi Ranchito y San Rafael Piña que se ubican en la UMA Mi Ranchito, donde la vegetación corresponde a relictos de bosques de encino de mediana altitud y selvas bajas; y la Colonia Dos de Abril, que es un predio en el que se ha sembrado café; por lo que de la vegetación nativa sólo se dejaron algunos árboles para sombra de café.

Una característica importante de esta área es que los habitantes procuran aprovechar al máximo los recursos naturales, sin dañarlos para mantener una producción durante todo el año. Ejemplos de estas actividades son el cuidado de los nidos de la hormiga chibatana, la producción de trucha, puerco, aves de corral y el cuidado de diversos cultivos agrícolas.

METODOLOGÍA

Este trabajo se realizó en cuatro fases, durante los meses de abril a julio del año 2007:

Búsqueda y recopilación de información sobre la zona de estudio, para lo que se realizaron entrevistas directas con los habitantes de la zona y se recopilaron datos sobre las plantas que usa la especie *A. cephalotes*.

En la fase de campo, se realizaron cuatro salidas periódicas (una por mes) a las localidades de San Rafael Piña, Mi Pueblito y a la Colonia Dos de Abril. En esta fase se reconoció el terreno y se entrevistó a los dueños de los terrenos en estudio para localizar los nidos de la hormiga.

Caracterización de las colonias de *A. cephalotes*; para ello se midieron dos rectángulos de 200 x 200 metros (4 ha de superficie), en cada rectángulo se determinó la ubicación de los nidos de hormigas y se tomaron datos de latitud, longitud y altitud sobre el nivel del mar con un geoposicionador satelital

de campo. Además, para determinar la edad, se observó la presencia de hormigas soldados y se entrevistó a personas del lugar que utilizan las hormigas para preguntarles desde cuando han observado los nidos y cuando fue el primer vuelo nupcial. La determinación de las hormigas de cada nido se realizó de acuerdo a ALAYO (1974). Para corroborar la determinación de las hormigas y como material de respaldo, se obtuvieron muestras de hormigas de cada nido, mismos que se depositaron en la Colección Nacional de Insectos del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se hicieron entrevistas directas con los pobladores de las localidades (hombres y mujeres) para obtener información adicional sobre las plantas que usan las hormigas, los nombres comunes de las plantas y los daños que causan las hormigas. Posteriormente, se determinó la especie de cada planta y las colonias en que es utilizada, y de acuerdo a PINEDA-GARCÍA *et al.* (2007) se calculó el índice de Jaccard para analizar la similitud de las especies vegetales consumidas por los 16 nidos de *A. cephalotes*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el área de estudio se ubicaron 16 colonias de *A. cephalotes*. En el rectángulo de las localidades de Mi Ranchito y San Rafael Piña, se identificaron seis colonias y en el de la Colonia Dos de Abril se encontraron diez. La posición geográfica de todos los nidos se muestra en la Tabla 1.

La presencia de un mayor número de colonias de hormigas en la Colonia Dos de Abril parece ser favorecida, entre otras razones, por el hombre; ya que en el manejo del cafetal se cuida de conservar los nidos de las hormigas, pues su uso y aprovechamiento representa un ingreso extra. Además los nidos de las hormigas se encuentran ubicados cerca de la población humana.

Se identificaron 20 especies de plantas utilizadas por esta especie de hormiga; aunque no en todos los nidos, las hormigas no utilizan todas las plantas, ni las mismas plantas. Esto indica que en las tres áreas de estudio *A. cephalotes* es una hormiga selectiva en cuanto a las especies vegetales que lleva a sus nidos; pues no todas las especies vegetales que rodean sus nidos son utilizadas. Esto coincide con RAMÍREZ & CALLE (2003), quienes citan que aunque las hormigas cortadoras utilizan una gran diversidad de especies vegetales como alimento, se ha observado que muestran ciertas preferencias. Además, refieren que *A. cephalotes* consume la mitad de las especies que encuentra en el hábitat que la rodea. En la Tabla 2 se muestran las especies vegetales que se identificaron como útiles para *A. cephalotes* y en la Tabla 3 los nidos en los que son utilizadas.

Al comparar el número de especies vegetales utilizadas por cada colonia (Tabla 3) se observó que las hormigas de las colonias del cuadrante Mi Ranchito y San Rafael utilizan 15 especies de plantas y en la Colonia Dos de Abril utilizan 10; lo que indica que en los lugares en los que hay mayor variedad de especies (Mi Ranchito y San Rafael

Tabla 1. Características generales de los nidos de la hormiga *Atta cephalotes* encontrados en las localidades de Mi Ranchito*, San Rafael Piña** y Colonia Dos de Abril, durante los meses de abril a julio del año 2007.

Nido	Grados de Latitud Norte	Grados de Longitud Oeste	Altitud m.s.n.m.	Antigüedad del nido (años)	? de spp. de plantas usadas
1*	19°03.67'	96°49.57'	717	5	9
2*	19°03.59'	96°49.57'	762	4	8
3*	19°03.56'	96°49.58'	742	6	6
4*	19°03.59'	96°49.58'	727	5	4
5*	19°03.56'	96°49.58'	758	2	8
6**	19°03.56'	96°49.6'	758	5	5
7	19°02.95'	96°48.70'	746	4	2
8	19°2.97'	96°48.6'	741	6	2
9	19°2.95'	96°48.61'	738	5	2
10	19°2.96'	96°48.65'	730	6	5
11	19°2.98'	96°48.65'	737	5	3
12	19°02.97'	96°48.63'	731	5	4
13	19°2.94'	96°48.73'	742	5	4
14	19°2.95'	96°48.63'	728	4	5
15	19°2.96'	96°48.60'	729	4	7
16	19°2.9'	96°48.61'	738	5	6

Tabla 2. Especies vegetales utilizadas por *Atta cephalotes* en las localidades de San Rafael Piña, Mi Ranchito y Colonia dos de Abril en el Municipio de Zentla, Veracruz, México, durante los meses de abril a julio del año 2007. La lista se encuentra ordenada alfabéticamente por familia.

Familia	Especie	Nombre común
Agavaceae	<i>Yucca elephantipes</i>	Izote
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Mango
Araceae	<i>Xanthosoma robustum</i>	Mafafa
Bignoniaceae	<i>Spathodea campanulata</i>	Tulipan africano
Euphorbiaceae	<i>Alchornea latifolia</i>	Sopa de pan
	<i>Croton draco</i>	Sangregado
Guttiferae	<i>Vismia mexicana</i>	Huacalillo
Imaceae	<i>Trema micrantha</i>	Ixpepe
Leguminosae	<i>Acacia cornígera</i>	Cornezuelo
	<i>Inga spuria</i>	Vainillo
	<i>Inga jinicuil</i>	Jinicuil
Leguminosae	<i>Inga</i> sp.	...
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Nanche
Meliaceae	<i>Cedrela odorata</i>	Cedro rojo
Moraceae	<i>Ficus elastica</i>	Hule
	<i>Cecropia obtusifolia</i>	Guarumbo
Musaceae	<i>Musa paradisiaca</i>	Plátano
Palmae	<i>Acrocomia mexicana</i>	Palma de coyol
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	Café
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i>	Naranja malta

Piña), las hormigas tienen un espectro de utilización más amplio del que seleccionan una mayor variedad de plantas.

El nido que utiliza el mayor número de plantas se ubica en la localidad de Mi Ranchito. Las hormigas de este

nido utilizan nueve plantas diferentes; dos nidos utilizan ocho plantas y el resto de los nidos estudiados en este cuadrante utilizan entre seis y cuatro plantas diferentes.

Las diferencias en el número de plantas que consumen las hormigas en este cuadrante no parecen deberse a las condiciones del terreno, ni de la vegetación, ya que las diferencias no son evidentes. De acuerdo a PORTHAN *et al.* (2002), en ambientes homogéneos las hormigas pueden desarrollar asimetrías espaciales como resultado de estrategias que responden a las necesidades internas del nido, como la presencia de larvas. Estos autores observaron que las colonias con mayor número de larvas tienen una mayor movilización de hormigas forrajeras.

Otra explicación es la propuesta por ROCES (2002), quien reporta que debido a que los hongos cultivados por las hormigas procesan el material vegetal colectado antes de ser consumido por ellas, se espera que las hormigas coleccionen material que responda a las necesidades físicas y químicas que promuevan un mayor crecimiento de los hongos y que a la vez les permitan alimentar y hacer crecer la colonia (McGLYNN & KIRKSEY, 2000), una vez que las hormigas se alimentan del crecimiento micelial sobre la masa vegetal (ROMERO-PARISSI, 1987). Además, de acuerdo a CAZIN *et al.* (1989), como no todas las colonias cultivan los mismos hongos, es probable que las diferencias entre las especies vegetales colectadas por hormigas de diferentes colonias respondan a las necesidades de diferentes tipos de hongos.

En la Colonia Dos de Abril se encontró un mayor número de nidos; sin embargo, el número de especies utilizadas por cada colonia es menor a las utilizadas por las colonias del otro cuadrante. En este cuadrante, todas las colonias utilizan la planta de café, lo que se explica debido a que es la planta que

Tabla 3. Especies vegetales utilizadas por *Atta cephalotes* en las localidades de San Rafael Piña, Mi Ranchito y Colonia dos de Abril en el Municipio de Zentla, Veracruz, México, durante los meses de abril a julio del año 2007. Los seis primeros nidos corresponden a las colonias de San Rafael Piña, Mi Ranchito y los siguientes diez a la Colonia Dos de Abril.

Especie	Nidos															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>Yucca elephantipes</i>	X															
<i>Mangifera indica</i>	X		X	X	X	X										
<i>Xanthosoma robustum</i>	X															
<i>Spathodea campanulata</i>	X															
<i>Alchornea latifolia</i>		X	X	X	X	X				X		X	X			
<i>Croton draco</i>		X														
<i>Vismia mexicana</i>	X	X	X	X	X	X								X	X	X
<i>Trema micrantha</i>		X	X	X	X	X										
<i>Acacia cornúgera</i>														X	X	X
<i>Inga spuria</i>	X	X	X							X	X	X	X			
<i>Inga jinicuil</i>	X		X		X											
<i>Inga sp.</i>					X										X	
<i>Byrsonima crassifolia</i>														X	X	X
<i>Cedrela odorata</i>															X	X
<i>Ficus elastica</i>					X											
<i>Cecropia obtusifolia</i>		X						X		X	X	X	X	X	X	X
<i>Musa paradisiaca</i>	X															
<i>Acrocomia mexicana</i>		X				X										
<i>Coffea arabica</i>	X	X					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Citrus reticulata</i>					X		X		X	X						

se encuentra en mayor cantidad (Tabla 3).

Aunque la planta del café es utilizada por todas las colonias de hormigas de la Colonia Dos de Abril, datos obtenidos en las encuestas indican que las hormigas utilizan poco la planta de café para llevar material vegetal a sus nidos; y son defoliadoras principalmente de algunos árboles de sombra del cafetal y de plantas frutales que el hombre siembra en el mismo ambiente, que sólo ocasionalmente terminan por defoliar. Por esta razón, ni la producción cafetalera de la zona, ni el ambiente del mismo se ven afectados, y los habitantes de la zona no consideran a las hormigas como una plaga. Con respecto a las plantas utilizadas para sombra del café, se encontró, igual que para el otro cuadrante, que no todas las colonias utilizan las mismas especies.

De acuerdo al índice de similitud a nivel de especies vegetales, calculado con el índice de Jaccard, los microambientes vegetales que rodean los nidos de *A. cephalotes* se parecen poco entre sí; lo que explica porque las hormigas de los diferentes nidos aprovechan diferentes especies. Por ejemplo, en la Colonia Dos de Abril, en la que se ubica el mayor número de nidos de hormigas, sólo se encontró similitud de un 35% entre los vegetales consumidos por los nidos 15 y 16. Los nidos 3, 4 y 5 de Mi Ranchito y San Rafael Piña son diferentes con el 8 de la Colonia Dos de Abril y el nido 4 con el 8 y el 9; todos con valores de cero por ciento.

En las localidades de Mi Ranchito y San Rafael Piña

hay mayor diversidad vegetal y un menor número de colonias, lo que reduce la competencia. En cambio, en la localidad Dos de Abril el número de colonias es mayor y la vegetación menor, lo que propicia que la competencia sea mayor, reduciendo el número de especies utilizadas por colonia. Esto coincide con HÖLDOBLER & WILSON (1990), quienes reportan que la diferencia en el número de especies utilizadas en diferentes localidades puede ser debido a la competencia.

Las observaciones del ambiente biológico de los cafetales muestran heterogeneidad vegetal entre las plantas cultivadas y las silvestres que sirven de sombra a las plantas de café, por lo que las hormigas seleccionan las diferentes especies vegetales según sea la disponibilidad de las especies en los sitios que rodean a los nidos y a través del año, cuando aparecen diferentes plantas anuales en las diferentes estaciones del año. Esto coincide con lo citado por DELABIE *et al.* (2003) de que en los bosques tropicales la probabilidad de que las hormigas acaben con los árboles es muy reducida, ya que es común que busquen nuevas plantas para el consumo y además se han observado preferencias alimenticias de acuerdo a la estacionalidad.

Esta condición favorece que los dueños de los cafetales manejen sus cultivos procurando conservar los nidos de las hormigas, a los que dejan evolucionar de manera natural (sin manejo) para aprovechar y usar este recurso natural, que conservan como fuente de ingreso adicional. En la época de

cosecha de chichatanas (vuelo nupcial), cada nido grande les puede proporcionar hasta cuatro kilos de hormigas, cuya ganancia monetaria en el mercado representa cerca de 250 pesos ó más (un cuarto de kilo de chichatanas congeladas se llega a vender hasta en 100 pesos).

En la zona de estudio, *A. cephalotes* es la única especie de hormiga que es aprovechada como alimento, especialmente los individuos hembras adultos, de manera similar a lo consignado por COSTA-NETO & RAMOS-ELOURDY (2006) en Brasil y para otras hormigas, donde se consumen larvas y pupas tostadas al fuego y las consideran como un manjar muy apreciado y como un sustituto de la carne.

CONCLUSIONES

Se determinó *Atta cephalotes* como la única especie de hormiga que formó los nidos estudiados.

Se determinaron 20 especies de plantas utilizadas por esta hormiga. El hecho de que no todas las plantas son utilizadas en todas las colonias de hormigas indica que las hormigas son selectivas en el material vegetal que utilizan.

Además, se observó que la selección del material vegetal depende de la disponibilidad de diferentes especies, de la organización interna y necesidades de la colonia de hormigas.

Debido a que las hormigas son consideradas como un recurso natural aprovechable y representan una fuente de alimento y de ingreso económico para los habitantes de la región, sus nidos son conservados y se dejan crecer de manera natural, es decir, sin manejo.

El agroecosistema cafetalero de la región, que incluye árboles de sombra, proporciona un hábitat adecuado para el desarrollo de las colonias de *A. cephalotes*, lo que representa una opción para la diversificación de las actividades de subsistencia de los habitantes de la región.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la ayuda en campo a Blas García Altamirano, a su esposa Amelia Corona Cribelli, a Luis Cribelli Demenegui y Miguel Guillermo Sáinz Jaspeado.

REFERENCIAS

- ALAYO PD. 1974. Introducción al estudio de los himenópteros en Cuba. **Serie Biológica** 53: 1- 48.
- BRADY SG, TR S CHULTZ, BL FISHER & PS WARD. 2006. Evaluating alternative hypotheses for early evolution and diversification of ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 103: 18172-18177.
- CAZIN J JR, F DAVID, J WIEMER & J HOWARD. 1989. Isolation, growth characteristics, and long-term storage of fungi cultivated by Attine ants. **Applied Environmental Microbiology** 55: 1346 -1350.
- COSTA-NETO EM & J RAMOS-ELORDUY. 2006. Los insectos comestibles de Brasil: Etnicidad, diversidad e importancia en la alimentación. **Boletín SEA** 38: 423 - 442.
- DELABIE JHC, M OSPINA & G ZABALA. 2003. Relaciones entre hormigas y plantas: una introducción. In: F Fernández (ed.). **Introducción a las hormigas de la región neotropical**. Bogotá: Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.
- DJAJADI A. 1999. **The biogeography of leaf-cutter ants (*Atta cephalotes*)**. Disponible en. <<http://bss.sfsu.edu/holzman/courses/Fall99Projects/lcants.htm>>.
- GRANADOS SD. 1994. **Ecología y dispersión de plantas**. 1ª ed. México: Universidad Autónoma Chapingo.
- HÖLLDOBLER B & EO WILSON. 1990. **The ants**. Cambridge: Bellknap Press.
- INEGI. 2000. **Anuario estadístico del Estado de Veracruz**. Gobierno del Estado de Veracruz: Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- LANDERO-TORRES I. 1985. **Estructura y composición de la sociedad de un nido de *Atta cephalotes* L. (insecta-Hymenoptera-Formicidae) en Tlacotengo, Municipio de Fortín, estado de Veracruz, México**. Tesis de Licenciado en Biología. Universidad Veracruzana. Córdoba, Veracruz.
- MCGLYNN TP & SE KIRKSEY. 2000. The effects of food presentation and microhabitat upon resource monopoly in a ground foraging ant (Hymenoptera: Formicidae) community. **Revista de Biología Tropical** 48: 629 - 642.
- PINEDA-GARCÍA F, L ARREDONDO-AMEZCUA, G IBARRA-MANRIQUEZ. 2007. Riqueza y diversidad de especies leñosas del bosque tropical caducifolio El Tarimo, Cuenca del balsas, Guerrero. **Revista Mexicana de Biodiversidad** 78: 129 -139.
- PORRHA S, J-L DENEUBOURG & C DETRAIN. 2002. Self-organized asymmetries in ant foraging: a functional response to food type and colony needs. **Behavioral Ecology** 3: 776 -781.
- RAMÍREZ M & Z CALLE. 2003. Ecología de hormigas en sistemas silvopastoriles. In: CONFERENCIA ELECTRÓNICA, 2, 2001. **Memorias...** Disponible en <www.fao.org/006/Y44355/y4435s00.HTM>.
- ROCES F. 2002. Individual complexity and self-organization in foraging by leaf-cutting ants. **Biological Bulletin** 202: 306 -313.
- ROMERO-PARISSI D. 1987. **Primer registro de *Phialocladus zsolitii* Kreisel (Fungi: Deuteromycetes) y su relación con *Atta mexicana* Smith y *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera: Formicidae) en el centro del estado de Veracruz**. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Veracruzana, zona Xalapa.
- SCHULTZ TR & S BRADY. 2008. Major evolutionary transitions in ant agriculture. **Proceedings of the National Academy of Sciences. Early edition** 1 of 6.
- WETTERER JK. 1994. Ontogenic changes in forager polymorphism and foraging ecology in the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. **Oecologia** 98: 235-238.

EURICO SANTOS (1883-1968) E A DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA NO BRASIL

HITOSHI NOMURA

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
Universidade de São Paulo (nomura33@terra.com.br)

(Eurico Santos e a divulgação científica no Brasil) – Eurico Santos é um nome muito conhecido dos biólogos, veterinários, agrônomos etc., no Brasil e no exterior. Seu nome começou a surgir na imprensa especializada a partir de 1910, tanto em jornais quanto em revistas. Com a finalidade de mostrar aos interessados as suas atividades no meio jornalístico, apresentamos a lista dos seus inúmeros livros e quase a totalidade dos seus artigos de divulgação, de 1910 até 1968.

Palavras-chave: Eurico Santos, biografia, divulgação científica.

(Eurico Santos and the scientific divulgation in Brazil) – Eurico Santos is a name known to biologists, veterinarians, agronomists, etc., both in Brazil and foreign countries. His name started to be printed in newspapers and journals since 1910. This text aims at presenting his activities in the written media by showing the list of his several books and almost all of his articles of scientific divulgation from 1910 to 1968.

Key words: Eurico Santos, biography, scientific divulgation.

INTRODUÇÃO

Podemos dizer que a divulgação científica no Brasil teve início com Frei José Mariano da Conceição VELLOSO, em 1800, com as aves. Em 1860, surgiu o livro do historiador Francisco Adolpho de VARNHAGEN sobre os animais de caça (mamíferos e aves). A seguir, temos o opúsculo de José VERÍSSIMO (1893) sobre a pesca na Amazônia, tratando do pirarucu, peixe-boi e tartarugas.

As obras que influenciaram gerações de biólogos foram as de Emílio GOELDI sobre os mamíferos (1893), as aves (1894, 1900b), crocodilos (1900a), lagartos (1902), cobras (1903) e quelônios (1906); as de Rodolpho von IHERING com o *Atlas da Fauna do Brasil e Texto* (1907 – com novo título em 1934), outro sobre aves (1914a), *Dicionário da Fauna do Brasil* (1914b, com novo título em 1940), os contos de um naturalista (1924) e *biologia de peixes* (1929). Este último autor escreveu inúmeros artigos de divulgação, cuja lista se encontra em NOMURA (1983:113-142).

Henrique SILVA publicou sobre a caça no Brasil Central (1898, 1915a), tratando de mamíferos e aves, e sobre os peixes de Goiás (1905) e peixes de rios e lagos do interior (1915b).

Bento ARRUDA (1925) publicou um opúsculo sobre caça e caçadas (mamíferos e aves) por campos e matas.

Em 1931, surgiu uma bela monografia sobre os peixes fluviais brasileiros, devido à pena de Agenor Couto de MAGALHÃES (1939), que ainda nos brindou com um livro sobre a fauna brasileira.

Merece destaque especial a atuação do pioneiro da oceanografia paulista, João de Paiva CARVALHO (1903-1961), no campo da divulgação científica, sobretudo nas revistas *Caça e Pesca*, *Chácaras e Quintais* e *Seleções*

Agrícolas. A lista dos seus artigos se encontra em NOMURA (1961:1-24).

Sob a forma de artigos, Eurico Santos começou a sua atividade jornalística em 1910, e publicou seu primeiro livro tratando da origem, classificação das raças, reprodução, criação, alimentação, habitação, higiene, adestramento, moléstias e tratamento dos cães em 1927. Entretanto, suas obras de divulgação mais conhecidas começaram a ser publicadas a partir de 1938, abrangendo toda a zoologia brasileira, como veremos adiante.

MATERIAL

O material no qual se fundamenta este trabalho consta na biblioteca do autor no que se refere aos livros e folhetos, e os títulos dos artigos foram compilados nos periódicos de que dispusemos na biblioteca do Instituto Agrônomo de Campinas.

Em 1938, Santos iniciou a publicação, através dos Editores F. Brigueit & Cia., do Rio de Janeiro, a série *Zoologia Brasileira*, que vem sendo reeditada desde 1979 pela Editora Itatiaia, de Belo Horizonte. Através do Laboratório Roche, ele publicou folhetos sobre *Lepidópteros* e *Peixes de Aquário*, na década de 1940, hoje em dia bem raros.

Após cada título do livro e/ou folheto, damos um resumo do seu conteúdo.

QUEM FOI EURICO SANTOS

O mais conhecido divulgador das ciências zoológicas e botânicas do Brasil, Eurico de Oliveira Santos (Fig. 1) nasceu na cidade do Rio de Janeiro, em 28 de junho de 1883, tendo falecido no então Estado da Guanabara em 24 de fevereiro de 1968, aos 84 anos e 8 meses de idade.



Fig. 1. Eurico Santos (1883-1968).

Ele fez estudos humanísticos no Mosteiro de São Bento. Em nenhuma obra dele se encontra a sua formação acadêmica. Entretanto, Herman Lent (1979, 13:6117) informa que ele era agrônomo.

Durante décadas, ele se dedicou ao jornalismo, tendo colaborado na *Imprensa*, na *Gazeta de Notícias* e *O Jornal*. Neste último periódico, ele fundou a Seção Agrícola *Vida dos Campos* em 1920, junto com G. Hasselman, coluna que ele manteve por mais de 30 anos, o que é um recorde em se tratando de divulgação agrícola.

Eurico ainda fundou quatro revistas agrícolas: *A Fazenda* em 1910, *A Fazenda Moderna* em 1916, *O Campo* em 1930 (durou até 1945) e *Seleções Agrícolas* em 1946, todas do Rio de Janeiro. Durante muitos anos colaborou nas revistas *Chácaras e Quintais*, *Caça e Pesca*, *Fauna e Sítios e Fazendas*. Na década de 30, muitos pesquisadores brasileiros publicaram seus achados na revista *O Campo*, inclusive descrições de espécies novas de animais.

Na década de 50 praticamente todos os jornais brasileiros estampavam seus artigos, que eram distribuídos pelo Serviço de Informação Agrícola do Ministério da Agricultura.

Eurico é autor de mais de cinquenta livros e folhetos, todos eles vazados em estilo simples e muito agradável, alicerçados em trabalhos científicos. Ele sempre solicitava a opinião dos especialistas de cada assunto particular que abordava, daí o enorme sucesso dos seus livros.

Ele foi sócio do Clube Zoológico, da Sociedad Ornitológica del Plata, da Seção Brasileira do Comitê Internacional para a Proteção das Aves, da Sociedade

Nacional de Agricultura, da Sociedade Brasileira de Avicultura, da Sociedade Brasileira de Entomologia, da Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza e de muitas outras associações nacionais e estrangeiras.

Em fins de abril de 1959 o conhecemos no seu escritório montado no Serviço de Economia Rural do Ministério da Agricultura, onde ele havia ingressado quando tinha cerca de 50 anos de idade e se aposentou em 1953, quando completou 70 anos. Lá ele possuía um enorme armário com várias gavetas, onde colocava recortes de artigos que retirava de jornais e revistas especializados. No dia 2 de maio desse ano o visitamos no apartamento 405 - 4º andar, no edifício localizado à Avenida Nossa Senhora de Copacabana, 245 (capacho 2), telefone 2577136. Ele era de estatura baixa, prosador excelente e gourmet exigente. Foi uma satisfação trocar idéias com ele. Era tão bem conservado que não aparentava a idade real que tinha (na ocasião estava com 76 anos). Ele nos presenteou com um exemplar de *O Mundo dos Artrópodes*, que ele autografou (“Ao ilustre cientista Hitoshi Nomura, lembrança do Eurico Santos”) e outro dos *Animais Nocivos* (“A ilustre patrício Hitoshi Nomura, com um abraço do Eurico Santos”) e ambos fazem parte do acervo da nossa biblioteca.

A Confederação Rural Brasileira concedeu-lhe a Medalha do Mérito Agrícola em 1960, por tudo que havia feito pela divulgação zoológica e agrícola.

Eurico Santos é autor dos seguintes livros e folhetos:

1 – 1927: Manual do Amador de Cães – Origem, domesticação, classificação das raças, reprodução, criação, alimentação, habitação, higiene, adestramento, moléstias e seu tratamento. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 350 pp., il. A mesma editora publicou a 2ª. edição em 1935 (512 pp., il.), a 3ª. edição em 1947 (384 pp., 139 figs., 9 ests.) e a 4ª. edição em 1954 (385 pp., il.). A 7ª. edição é da Editora Itatiaia em 1980, 463 pp., 220 figs. (Coleção Vis Mea in Labore – 1).

“Aqui temos o cão. A história da sua origem, que remontaria a 40 ou 50 milhões de anos. Sua imensa variedade, espalhada pelo mundo inteiro. A hipótese, cientificamente plausível, de que teria sido o primeiro animal a domesticar-se. A lenda de que o cão é o melhor amigo do homem, embora a recíproca nem sempre seja verdadeira. Enfim este *Manual do Amador de Cães* é uma verdadeira enciclopédia. É indispensável ao veterinário e aos criadores profissionais, e será de inestimável valia aos que simplesmente gostam de ter cães em sua casa. E quem não gosta? Podem-se contar nos dedos os que não tiveram, não têm, ou não desejam ter um ou mais cães. E se há os que quase só servem para o divertimento e o enfeite da casa, há os que prestam verdadeiros serviços à comunidade, como os cães-pastores, os cães-de-guarda, os policiais.

O cão está integrado na paisagem humana de todas as latitudes. Tem, por isso mesmo, sido objeto de estudos e pesquisas. Muitas vezes exigem cuidados especiais.”

2 – 1931: *Vida dos Campos* – vol. I, Editora Moderna, Rio de Janeiro, 192 pp.; 1932 – vol. II, Editora Moderna, Rio de Janeiro, 180 pp.

O autor selecionou as consultas que respondeu durante 12-13 anos na secção *Vida dos Campos*, do periódico *O Jornal*, e as publicou nesses dois volumes.

3 – 1932: *Nossas Fruteiras*. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 32 pp.; 3ª. edição em 1956.

Descrição das principais árvores frutíferas cultivadas no Brasil.

4 – 1933: *Fruticultor Moderno*. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 32 pp., 32 figs.

Pequeno manual descrevendo as plantas frutíferas que podem ser cultivadas e como comercializá-las, destinado: “Para o pequeno policultor que precisa enviar ao mercado alguns frutos; para o lavrador que deseja abastecer sua mesa com o regalo de frutas sadias; para o pomareiro dos arredores dos grandes centros consumidores, que na exploração das árvores frutíferas encontra uma pequena fonte de renda, especialmente cultivando primores, frutos de luxo, digamos assim; para o amador que anhela entreter seus ócios numa tarefa útil e amena, mais que para os grandes fruticultores é que se destinam as modestas informações deste livrinho.”

35 – 1934: *O Que Todos os Criadores Devem Saber*. Editora Moderna, Rio de Janeiro; 2ª. edição em 1946, Editora Técnica Ltda., Rio de Janeiro, 174 pp., il.

Trata dos animais que podem ser criados e sobre os cuidados que devem ser tomados nessa atividade.

6 – s/d: *Inimigos e Doenças das Fruteiras*. Edição da Biblioteca Agrícola “O Campo”, Rio de Janeiro, 80 pp., 92 figs.; s/d - 2ª. edição, Editora Técnica, Rio de Janeiro.

“Este trabalho tem apenas o pequeno mérito de recolher, numa compilação algo condensada, o que se encontra esparsamente em algumas dezenas de publicações, na maioria delas de escassa divulgação ou de consulta difícil. Por outro lado, aqueles escritos, muito minuciosos, tratam da vida e hábitos dos insetos com certo luxo de detalhes em grande parte indispensáveis ao conhecimento completo da biologia deles, mas inúteis para o fruticultor que apenas deseja identificar, mais ou menos, o parasito e conhecer o meio de combatê-lo.”

7 – s/d: *Avicultura – Fonte de Riqueza*. Editora O Campo, Rio de Janeiro, 328 pp., il.

Trata da avicultura, que é uma atividade que pode

dar muito lucro.

8 – s/d – *Veterinária Prática*. Editora O Campo, Rio de Janeiro, 276 pp., il.

Em palavras acessíveis a qualquer leigo, o autor descreve tudo que se necessita saber para tratar dos animais domésticos.

9 – 1937-1939: *Dicionário de Avicultura e Ornitotecnica*. Volume I com E. Queirós. Editora O Campo, Rio de Janeiro, 448 pp., il., volume II – 344 pp., il. (originalmente publicado em fascículos na revista *O Campo*, Rio de Janeiro, 1935-1938) – A Editora Itatiaia está preparando a 2ª. edição.

A avicultura é “a mais industrial das manifestações da atividade agrícola; é, por outro lado, uma indústria doméstica, isto é, uma indústria capaz de ser executada pelo pequeno criador, dentro da sua propriedade rural e com auxílio da sua própria família.”

“As fontes científicas em que nos abeberamos foram previamente escolhidas e representam tudo que de mais seguro se tem escrito no domínio da avicultura e das ciências que lhe prestam subsídios.”

“Posto que nossa tarefa duplicasse de dificuldade, e o dicionário tomasse muito maior desenvolvimento que o premeditado, resolvemos desbordar as já extensas margens da avicultura e tratarmos, também, nesta obra, da ornitologia e ornitotecnica.”

10 – 1938: *Da Ema ao Beija-Flor (Vida e Costumes das Aves no Brasil)*. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 358 pp., il.; 1952 – 2ª. edição, 334 pp., il. (*Zoologia Brasileira* – IV); 1979 – 3ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 396 pp., 115 figs., pls.

“Pudesse eu contagiar aos meus leitores a admiração pelas aves, o interesse pelos seus costumes e o respeito pelas suas vidas, tão sagradas quanto as nossas, e teria conseguido o principal desejo que me guiou, ao



Fig. 2. Capa do primeiro livro da coleção *Zoologia Brasileira* (três edições).

escrever este livro.

Procurei, quanto pude, tornar o assunto ameno, como convém a esse gênero de divulgação, e é claro que não poderia aludir a todas as formas vivas que existem entre a ema gigantesca e o minúsculo beija-flor. Tratei do que me pareceu de maior interesse, e a tal propósito posso valer-me de escusa semelhante a que já fazia aquele pitoresco Pero de Magalhães Gandavo, na sua ‘História da Província de Santa Cruz’: ‘Doutras infinitas aves que há nestas partes, a que a natureza vestiu de muitas e mui finas cores’, pudera também aqui fazer menção, mas como meu intento principal não foi na presente história senão ser breve e fugir de coisas em que pudesse ser notado de prolixo dos poucos curiosos, quis somente particularizar estas mais notáveis e passar em silêncio por todas as outras, de que se deve fazer menos caso.”

Trata-se do primeiro volume da Zoologia Brasílica, publicado em 1938 e que mereceu três edições (Fig. 2).

11 – 1940: Pássaros do Brasil (Vida e Costumes). F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 301 pp., 45 figs., 19 ests.); 1948 – 2ª. edição revista e ampliada, F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 277 pp., 60 figs., 15 ests.; 1960 – 3ª. edição, F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 278 pp., il.; 1979 – 4ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 312 pp., 16 ests. (Zoologia Brasílica, 5).

No prefácio, Arthur Neiva menciona as aves vistas por Pero Vaz de Caminha em 1500, aquelas conhecidas por José de Anchieta em 1560 e o beija-flor confundido com uma mariposa por Simão de Vasconcelos. Faz menção também às aves citadas por Pero de Magalhães Gandavo e Gabriel Soares de Sousa no século XVI etc.

Em certo trecho, ele escreve: “As obras de Eurico Santos põem o leitor em contato com a natureza: ensinam, educam e aperfeiçoam o sentimento. Quando escreve sobre aves, vive para o seu mundo e com elas talvez se entenda, a exemplo de São Francisco de Assis.

Está executando um programa de brasilidade. Conhece o nome vulgar de todos os seres emplumados e as denominações que têm em vários pontos do país, batiza-os cientificamente com todo o rigor. Sua leitura encanta, pois abre vasto e esplêndido campo para os jovens que travam relações com os seus trabalhos, os quais se ocupam com uma das coisas mais formosas que o Brasil possui: suas belas aves e também com as ‘aves que aqui gorjeiam.’

Sem nenhum favor, a obra empreendida por Eurico Santos é das mais meritórias. Faculta aos interessados a visão panorâmica de um muno encantado, que sempre exerceu sobre os brasileiros grande atração, pois me recorde que as observações de Euler, a respeito da vida das aves fluminenses, foram lançadas em rodapés de um vespertino carioca, *A Notícia*, chamando a atenção do seu numeroso público de então.”

12 – 1942: Anfíbios e Répteis do Brasil (Vida e Costumes). F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 279 p., 57 figs., 9 ests.; 1955

– 2ª. edição, F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 263 pp., il. (Zoologia Brasílica III); 1981 – 3ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 263 pp., 65 figs., 16 ests.

Em certo trecho do Prefácio Eurico Santos escreve: “Sobre os nossos animais silvestres poderemos até contar pelos dedos da mão, as obras de divulgação popular propriamente dita. Foi assim que me abalancei em tentar a empresa e lancei, como ensaios, esses livros que o público está lendo com gosto, que a crítica recebeu como agrados e que os próprios especialistas da matéria louvaram com simpatia. Todas essas circunstâncias animam-me a prosseguir na rota em que sopra tão favorável menção.”

13 – 1942: O Cão Através da História e da Arte. Editora Século XX, Rio de Janeiro, 164 pp., 20 figs.

Esta pequena brochura trata do cão das turfeiras e vai até ao totó das elegantes. Em rápidas pinceladas o autor descreve o cão na história, sua inteligência e sua amizade com o ser humano desde a mais remota antiguidade. Trata também dos cães de luxo, o de São Bernardo, sua menção na filosofia dos anexins, não deixando de mencionar os preconceitos populares existentes sobre a raiva canina.

14 – 1943: As Cobras Venenosas – Como conhecê-las e evitá-las. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 109 pp., 59 figs. (Biblioteca Agrícola Popular Brasileira).

Esta obra trata das serpentes peçonhentas, meios de distingui-las, acidentes ofídicos, tratamento soroterápico, profilaxia do ofidismo, inimigos naturais das cobras, concluindo com as lendas, mentiras e erros sobre esses répteis.

15 – 1943: Avicultura – Fonte de Riqueza. Editora O Campo, Rio de Janeiro, 300 pp., il.

O autor trata da criação de aves em todos os seus aspectos.

16 – 1943: Cereais – “Trigo, Milho, Aveia, Arroz, Centeio e Cevada”. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 20 pp., 2 figs. 1947 - 2a. edição, Editora da Chácaras e Quintais, São Paulo, 16 pp., il. (Biblioteca Vamos para o Campo – 3).

O autor mostra como se cultivam os principais cereais, como trigo, milho, aveia, arroz, centeio e cevada.

17 – 1944: Manual do Lavrador Brasileiro. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 478 pp., 144 figs.; 1957 – 2ª. edição. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 512 pp., il.

Tudo o que o lavrador necessita saber para tratar das suas principais culturas da economia rural se encontra neste manual.

18 – 1944: História das Aves do Brasil, de J. T. Descourtilz, 2 volumes. Editora Kosmos, Rio de Janeiro. Tradução de Eurico Santos; 1983 - 2ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 223 pp., 48 estampas com 164 figs. (Coleção Vis Mea in Labore, 4).

“João Teodoro Descourtilz não é interessante, como qualquer naturalista de sua época, pelo número de espécies com que tenha enriquecido a ciência. Não foram os descobrimentos faunísticos que o prenderam continuamente à intimidade da fauna em seu meio natural, arrostando dificuldades, enfrentando a insalubridade de regiões em que o paludismo dominava. Hoje lhe chamaríamos ecologista. E poucos naturalistas terão sabido compreender e traçar, com tanta fidelidade e tão vivamente colorido, um quadro ecológico como o que a sua introdução nos pinta.”

O livro original foi publicado em francês em 1854-1856 com o título *Ornithologie Brésilienne ou Histoire des Oiseaux du Brésil* (Éditeur, Thomas Reeves, Rio de Janeiro, 42 pp., 48 pls.).

19 – 1945: Entre o Gambá e o Macaco (Vida e Costumes dos Mamíferos do Brasil). F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 298 pp., 72 figs., 4 ests. (Zoologia Brasílica, VI); 1984 – 2ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 287 pp., 73 figs.

“Antes deste livro não havia no Brasil um volume somente dedicado à fauna autóctone. Encontrava-se ela mergulhada na ignorância e no desinteresse dos estudiosos. Enquanto aqui nada se via a respeito dessa riqueza natural, nos museus e nas escolas européias eram conhecidas e estudadas as espécies encontradas no território brasileiro.

Eurico Santos foi quem, mais uma vez brilhantemente, divulgou de forma mais coesa os aspectos desse ramo zoológico. Seguiu de perto os passos de Goeldi e von Ihering, iniciadores dos trabalhos nessa área. E é nas informações desses dois pesquisadores renomados que busca as singularidades da Zoologia com que tão bem compõe este volume.

O livro tem a característica peculiar de Eurico Santos: a despreensão científica. Em sua vida nunca o autor se manifestava como sendo cientista e arrojadamente colocou Ciência e Folclore num só volume, dando um colorido diferente à série Ciência, o colorido às velhas lendas populares.”

20 – s/d (1946): Formigas, Rãs e Outros Animais. Editora O Campo, Rio de Janeiro, 203 pp., 37 figs. (Coleção Agrícola do O Campo). O ano do seu lançamento consta numa capa da revista O Campo, de 1946.

Como o livro trata mais longamente de formigas e rãs, ele ficou com os dois nomes no título, tratando-se de zoologia aplicada. As formigas foram tratadas com minúcias. Quanto às rãs, na década de 1940 o governo se interessou

pela criação da rã gigante-touro, atividade que passou a ser lucrativa só a partir da década de 1970, com criadouros espalhados pelo sudeste e sul do Brasil.

21 – s/d: Peixes de Aquário. Laboratório Roche, Rio de Janeiro (folheto muito raro, que vimos num sebo da Praça João Mendes, SP, cotado a preço exorbitante, em 1984).

O autor descreve as espécies de peixes de aquário comumente criadas em cativeiro.

22 – s/d: Lepidópteros (borboletas e mariposas). Laboratório Roche, Rio de Janeiro (folheto muito raro).

O autor trata das borboletas e mariposas comumente encontradas no Brasil.

23 – 1948: Cultura do Amendoim. 3a. edição. Edição da Chácaras e Quintais, São Paulo, 12 pp., il. (Biblioteca Agrícola Popular Brasileira – 1).

Trata do cultivo do amendoim, muito apreciado pelos brasileiros.

24 – 1948: Combate aos Ratos. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 42 pp., 9 figs.; 1960 – 2ª. edição. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro 43 pp., 5 figs.

O autor trata dos ratos na série animal, as espécies indígenas que são daninhas, os ratos exóticos, os malefícios que eles nos causam e os meios de combatê-los.

O trabalho foi premiado no concurso de monografias promovido pelo SIA em 1946.

25 – 1948: Proteção à Fauna Indígena. Edição da Chácaras e Quintais, São Paulo, 16 pp., il. (Biblioteca Agrícola Popular Brasileira – 39); 1954 – Proteção à Fauna. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 45 pp., 11 figs.

O autor menciona a depredação da fauna brasileira, as espécies de aves que merecem proteção e medidas para proteger a fauna.

26 – 1950: Caças e Caçadas. F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 282 pp., 87 figs., 11 ests.

O prefácio é de João de Paiva Carvalho. Bernardo de Castro fala sobre a espingarda de caça e suas munições. A descrição das caçadas é de Henrique Silva.

27 – 1952: Nossos Peixes Marinhos (Vida e Costumes dos Peixes do Brasil). F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 267 pp., 185 figs., 2 ests. (Zoologia Brasílica – I); 1982 – Editora

Itatiaia, Belo Horizonte, 265 pp., 185 figs.

O prefácio é de Agenor Couto de Magalhães, que informa que o autor “é um trabalhador infatigável. Pesquisa, rebusca, inquire, perscruta e acha o filão que lhe dará a matéria prima para um livro.” Mais adiante: “Vem realizando, num país que tem aversão aos assuntos de história natural, verdadeiro milagre: editar uma dezena de livros, despertando a modorra do brasileiro, espalhando conhecimentos sobre bichos de nossa terra!”

28 – 1952: Serpentes Peçonhentas. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 60 pp., 30 figs.

O autor explica o que são as serpentes peçonhentas, citando as mais conhecidas entre nós: jararaca, jararacuçu, urutu, jararaca-pintada, cotiara, caçaca, cotiarinha, surucucu, cascavel e coral. Ele faz a distinção entre as peçonhentas e as inofensivas. Menciona o que se deve fazer para evitar suas picadas e o uso do soro antiofídico em caso de injúria. Conclui com histórias e superstições sobre esses répteis.

29 – 1953: Crie Perus e Ganhe Dinheiro. Edição de Chácaras e Quintais, São Paulo, 16 pp., il. (Biblioteca Agrícola Popular Brasileira).

Trata da criação de perus e como ganhar dinheiro com essa atividade agrícola.

30 – 1954: Peixes de Água Doce (Vida e Costumes dos Peixes do Brasil). F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 270 pp., 126 figs., 7 ests.; 1962 – 2ª. edição. F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro; 1981 – 3ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 267 pp., 126 figs. (Zoologia Brasileira – 2).

“Obra escrita em estilo claro e sugestivo, como todas as outras do autor, oferecendo ao cultor e pescador uma soma inestimável de conhecimentos aos que, não sendo profissionais, não podem, portanto, dispor de vagares para compulsar a grande bibliografia existente em língua portuguesa e estrangeira.”

Além de tratar dos nossos peixes de água doce, o autor reservou um capítulo aos peixes do aquário, tanto os do Brasil quanto os do exterior.

31 – 1954: Proteção à Fauna. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 45 pp., 11 figs.

Discute os meios de se proteger a fauna brasileira, com muitas espécies ameaçadas de extinção.

32 – 1955: Os Moluscos (Vida e Costumes). F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 134 pp., 51 figs., 2 ests. (Zoologia Brasileira – VII); 1982 – 2ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 141 pp., 51 figs.

Trata da biologia e classificação dos moluscos brasileiros. Estuda as espécies menos conhecidas como os anfineuros e escafópodos, traça considerações sobre ostras e mexilhões, descreve os caramujos, caracóis e lesmas, menciona os polvos e seus parentes e fala sobre a arte de colecionar conchas.

33 – 1955: Aves de Luxo, Esporte e Utilidade. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 56 pp., 14 figs. (Biblioteca Agrícola Popular Brasileira).

O autor trata das aves ornamentais de luxo e de esporte. É um tipo de avicultura mais esportiva do que comercial. Ele trata da criação de pavões, faisões, galinhas, perdizes, galos, cisnes etc.

34 – 1955: O Amador de Pássaros – Captura, Manutenção e Criação. F. Brigueit & Cia., Rio de Janeiro, 171 pp., 39 figs., 8 ests.; 1979 – 2ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 191 pp., 39 figs. (Coleção Vis Mea in Labore – 3).

O capítulo I mostra alguns conhecimentos que os amadores de pássaros devem saber, enquanto que o capítulo II trata das espécies de aves indígenas e exóticas que podem viver em gaiolas ou viveiros. São registrados também casos de reprodução de aves em cativeiro.

35 – 1955: O Homem e a Fauna no Brasil. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 52 pp., 18 figs. (Série Estudos e Ensaios, 19).

O opúsculo trata da ação do homem sobre a fauna brasileira.

36 – 1956: A Cabra Leiteira. Em colaboração com Oscar Katterfeldt. Editora Chácaras e Quintais, São Paulo, 40 pp., il.

O opúsculo trata da criação da cabra leiteira, atividade comum no Nordeste brasileiro.

37 – 1956: Os Animais Selvagens – Aproveitamento, Cativeiro, Amansamento, Domesticação, Utilização. Serviço de Informação Agrícola, 204 pp. Foi originalmente publicado em fascículos na revista *Chácaras e Quintais*, de São Paulo, com ilustrações.

Como diz o título, a obra trata do aproveitamento, cativeiro, amansamento, domesticação e utilização de animais selvagens.

38 – 1957: Animais Nocivos. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 79 pp., 13 figs.

O opúsculo trata dos animais nocivos aos seres

humanos, tais como medusas, actínias, escorpiões, aranhas, marimbondos, abelhas, formigas, bicho-de-fogo, percevejos, barbeiros, baratas-d'água, peixes peçonhentos e venenosos, sapos, tratando também de criaturas malélicas e pseudopeçonhentas (jequitiranabóia e outras).

39 – 1957: O que convém saber sobre Moscas e Mosquitos. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 34 pp., 10 figs. (Série Clubes Agrícolas, 18).

O autor discorre sobre as doenças que são transmitidas por esses insetos.

40 – 1957: Histórias, Lendas e Folclore de Nossos Bichos. Edição O Cruzeiro, Rio de Janeiro, 409 pp.; 1978 – Edições de Ouro, Rio de Janeiro, 253 pp.; 1987 – 3ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 168 pp., 14 ests. (Coleção Vis Mea in Labore, 5).

O autor reuniu as histórias mais interessantes sobre o folclore dos nossos animais.

41 – 1958: O Urucu. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 14 pp.

Trata da planta chamada urucu, que produz uma tinta muito utilizada por algumas tribos de índios do Brasil.

42 – 1958: O Mundo Animal que nos Cerca. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 108 pp., 25 figs. (Série Clubes Agrícolas, 21).

Um dos assuntos é o ciclo de vida e perigos oferecidos por carrapatos, mencionando também as sarnas dos animais domésticos. A seguir, trata das aves úteis e algumas prejudiciais ao homem. Outro assunto é o relativo aos ratos, sapos, preás, mocós, lagartos, batráquios, ofídios, peixes, lesmas, minhocas, serpentes peçonhentas e não peçonhentas e a higiene do homem do campo.

43 – 1959: O Mundo dos Artrópodes. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 197 pp., 69 figs., 5 ests. (Zoologia Brasileira – VIII); 1982 – 2ª. Edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 197 pp., 8 prs.

Nesta obra o autor trata de escorpiões, pseudoscorpíões, aranhas, aranhões, aranhões, carrapatos, crustáceos microscópicos, camarões marinhos, pitus, lagostas, lagostins, lagostinhas, pagurus, tatuís, caranguejos, siris, santolas, gongolos e lacraias.

44 – 1961: Animais Silvestres que nos São Úteis. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 80 pp., 17 figs. (Série Clubes Agrícolas – 27).

Trata de dois mamíferos (cangambá e tamanduá-

bandeira) e uma série de aves. A seguir, menciona os anfíbios (sapos e parentes) e alguns répteis, assim como as utilidades não culinárias dos peixes. Por fim, cita os insetos que prestam serviços inestimáveis ao homem.

45 – 1961: Os Insetos (Vida e Costumes) – Tomo I. F. Briguiet & Cia., Rio de Janeiro, 206 pp., 113 figs., 2 ests. (Zoologia Brasileira – IX); 1982 – 2ª. edição. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 203 pp., 103 figs., 8 prs.

Neste Tomo I são tratados os seguintes insetos: lepismas, colêmbolas, efêmeras, lavadeiras, gafanhotos, esperanças, grilos, bicho-pau, lacrainha, baratas, louva-a-

Almanaque Agrícola CHÁCARAS E QUINTAIS

As penas das aves -

- seu aproveitamento industrial e comercial

por EURICO SANTOS

contendo:

Cap. I

Estudo da pena

Cap. II

As várias aves indígenas que nos forneciam penas

Cap. III

Os indígenas da América tinham bem adiantada a arte plumária

Cap. IV

As penas das aves domésticas

Cap. V

Preparo das penas — Utilizações diversas — Bibliografia

Almanaque Agrícola Chácaras e Quintais 2 Julho de 1962 p. 161

Fig. 3. Frontispício do folheto As penas das aves, publicado em julho de 1962.

deus, cupins, piolho dos livros, tisanópteros, hemípteros (percevejos, baratas da água), cigarras, jequitiranabóia, cigarrinha dos canaviais, pulgões das plantas, cochonilhas, formiga-leão e tricópteros (curubixás).

46 – 1962: As penas das aves – seu aproveitamento industrial e comercial. *Almanaque Agrícola Chácaras e Quintais*, São Paulo, 100(1):163-166, 168, 170, 172-176, 178. (Fig. 3).

Este artigo estuda as penas das aves, as aves indígenas que fornecem penas, assim como as penas das aves domésticas e a arte plumária entre os índios brasileiros.

47 – 1965: Nossos beija-flores e seus nomes vulgares. *Anuário Agrícola de Chácaras e Quintais*, São Paulo, 103(1):167-172, 2 figs. (Fig. 4).

O autor enumera os nomes vulgares dos beija-flores brasileiros.



Fig. 4. Frontispício do folheto Nossos beija-flores e seus nomes vulgares, publicado em julho de 1965.

48 – 1966: Contribuição à Zoologia Agrícola do Brasil. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 92 pp. (Série Clubes Agrícolas – 29).

O autor estuda os morcegos, os picapaus, galo-da-serra, formigas, abelhas, tatus, aranhas peçonhentas, mão-pelada, sururu, guará, jacamins, jibóia, andorinhas, ácaros, gafanhotos, joão-de-barro, tartaruga-da-Amazônia e jacarés, animais que prestam serviços à agricultura.

49 – 1966: Histórias do Caçador que Nunca Mentiu. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 33 pp., 9 figs. (Clubes Agrícolas - 31).

O autor conta várias histórias que ouviu dos caçadores. 50 – 1977: Pesca e Piscicultura. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 212 pp., 80 figs. (Coleção Vis Mea in Labore – 2).

Após apresentar um ligeiro histórico da pesca no Brasil, o autor trata da pesca marítima no norte, nordeste ocidental e oriental, leste setentrional e meridional e sul. A seguir, descreve as pescarias mais importantes: sardinha, tainha, bijupirá, cavalinha, peixe-voador, albacora, cação, xaréu e baiacu. Depois descreve a pesca esportiva marítima, fluvial e lacustre. Trata também da caça submarina e fornece um dicionário dos principais termos usados na pesca industrial e esportiva. Por fim, descreve como se constrói um tanque e as espécies que podem ser criadas (tilápia, tucunaré e apaiari).

51 – 1985: Os Insetos – 2°. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 243 pp., 52 figs., 16 prs. (Zoologia Brasílica – 10).

Este Tomo 2° trata das borboletas, mariposas, moscas, mosquitos, pulgas, besouros, abelhas, vespas (mangangás, marimbondos) e formigas, dando a descrição das principais espécies.

52 – 1987: Miscelânea Zoológica. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 118 pp., 26 figs., 16 prs. (Zoologia Brasílica – 11).

Esta obra encerra a coleção Zoologia Brasílica, tratando das esponjas do mar e de água doce, hidras, medusas, pólipos, estrelas-do-mar, pindá, pepino-do-mar, aranhas-do-mar, vermes (anelídeos e vermídeos) e vermes parasitos (platelmintos e nematelmintos), dando a descrição das principais espécies, citando também algumas superstições relativas a esses animais.

53 – 1987: Nossas Madeiras. Editora Itatiaia, Belo Horizonte, 313 pp., 76 figs., 16 prs. (Coleção Vis Mea in Labore – 7).

Até 1987, tratava-se de uma obra inédita de Eurico Santos. Tudo o que se relaciona com madeiras, incluindo a descrição das principais espécies, está contido no livro.

54 – Dicionário dos Peixes do Brasil. Editora Itatiaia, Belo Horizonte (Coleção Vis Mea in Labore – 8).

Esta obra é inédita e a Editora Itatiaia cogita em editá-la desde 1987.

**LISTA DOS ARTIGOS ESCRITOS PELO DIVULGADOR CIENTÍFICO
EURICO SANTOS, DE 1910 A 1968, EM DIVERSAS REVISTAS
NACIONAIS**

No prefácio do seu livro *Manual do Lavrador Brasileiro* (1944:5) Eurico Santos informa que fundou a revista *A Fazenda* em 1910, *A Fazenda Moderna* em 1916, *O Campo* em 1930 e *Seleções Agrícolas* em 1946. Os volumes I a IV da primeira revista se encontram na biblioteca do Instituto Agrônômico de Campinas, assim como a segunda revista figura com os volumes I, V, VI (1916-1926). Provavelmente, ambas as revistas constam na hemeroteca da Biblioteca Nacional, visto que elas foram editadas no Rio de Janeiro. Na biblioteca dessa repartição também se encontram as coleções completas de *O Campo*, *Seleções Agrícolas*, *Chácaras e Quintais* e *Sítios e Fazendas*.

Eurico Santos trabalhou no periódico *O Jornal*, do Rio de Janeiro, no qual manteve, por cerca de 30 anos, a seção *Vida dos Campos*, desde 1920. Os artigos publicados de 1920 a 1930 foram reunidos nos dois volumes com esse título, vindos à lume em 1931 e 1932. A coleção do periódico deve figurar na hemeroteca da Biblioteca Nacional.

Em *A Fazenda*, dirigida por J. A. Barbosa e secretariada por E. Santos, encontram-se os seguintes artigos de Santos:

- 1910 – 1 (6):6-7, 1 fig. – A coagulação da borracha.
1912 – 3 (20):16-17, 2 figs. – Os Híbridos.
1912 – 3 (23):18, 1 fig. – Os Híbridos.
1912 – 3 (26): – O porco Poland-China.
1912 – 3 (29):6-8, 3 fig. – A febre aftosa.
1912 – 3 (31):4-5, 3 figs. – Importância da criação do avestruz.

Encontramos os seguintes artigos de Santos na segunda revista, que não adotou o sistema de páginas numeradas no início, fazendo-as a partir do vol. 9 (4-5) (o diretor era Viriato Ruiz e Eurico o secretário):

- 1916 – 1 (5-6):14 – O ophidismo no Brasil – Algumas considerações úteis.
1916 – 1 (5-6):17 – O aproveitamento da farinha de mandioca no fabrico do pão.
1916 – 1 (7-8):6-7, 1 fig. – Merece atenção a criação dos caprinos.
1916 – 1 (7-8):20-21, 2 figs. – A luta contra a formiga – sua situação atual.
1916 – 1 (7-8):23 – Bibliographia; 1921 – 6 (3):19 – Bibliographia (Zoologia – Mamíferos, por Rudolf Gliesch); 6 (5):22 – Bibliographia; 1923 – 8 (2):9; 1923 – 8 (12):8; 1924 – 9 (2-3):12; 9 (4-5):23; 9 (8):15; 9 (9):20; 1925 – 10 (1):14; 10 (2):11; 10 (3):15; 1925 – 10 (4):17; 10 (5-6):10; 10 (10-11):12; 1926 – 11 (3-4):15; 11 (9):15.
1916 – 1 (9-10):10-11 – Algumas considerações sobre a fruta

- pão.
1917 a 1920 – volumes 2 a 4 – faltam na coleção.
1920 – 5 (1):18-19 – O trigo no Brasil.
1920 – 5 (1):20-22 – O mate e sua cultura.
1920 – 5 (4):8-9 – As fruteiras do Brasil – Tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.).
1920 – 5 (5):3, 1 fig. – Enxertia do cafeeiro.
1920 – 5 (5):4-5, 2 figs. – Estudos sobre o zebu.
1920 – 5 (7):2-5, 5 figs. – Os problemas dos alimentos – O mate.
1920 – 5 (8):13 – Uma árvore que produz sebo e óleo.
1920 – 5 (11):8-9 – Algumas observações interessantes sobre banhos compartilhados.
1920 – 5 (11):10, 1 fig. – O dendezeiro.
1920 – 5 (12):1-3, 3 figs. – Fruteiras nacionais – As anonas.
1920 – 5 (12):5 – Qual a ordem em que se devem empregar as manhas agrícolas para o preparo da terra?
1921 – 6 (1):3 – O estudo das vacas leiteiras.
1921 – 6 (1):8-9, 2 figs. – As espécies de noz moscada e o seu cultivo.
1921 – 6 (2):1-4, 3 figs. – A baunilha, sua cultura e seu preparo.
1921 – 6 (2):5 – A propósito da adubação verde na cultura da batata.
1921 – 6 (2):6 – A cultura do lúpulo no Peru.
1921 – 6 (2):8-9 – A cultura da batata economizando a semente.
1921 – 6 (2):13 – Adubos de curral.
1921 – 6 (3):1-2, 2 figs. – Os silos de cimento armado.
1921 – 6 (3):12-13 – O farelo de trigo na alimentação do gado.
1921 – 6 (4):5 – Escarificadores e cultivadores.
1921 – 6 (4):14-15, 1 fig. – Fermentação e secagem do cacau.
1921 – 6 (7):1-2 – Duas palavras - O descrédito da nossa exportação e medidas que se impõem.
1921 – 6 (7):18-19, 3 figs. – Como obter plantas resistentes às moléstias.
1921 – 6 (11):8 – Estudos feitos nos Estados Unidos sobre o valor do cruzamento de reprodutores machos raça leiteira pura, com vacas tipo primitivo.
1921 – 6 (11):17 – A propósito de silos.
1921 – 6 (12):1-2, 2 figs. – A propósito da adubação.
1922 – 7 (2):6-9, 4 figs. – A cultura da batata.
1922 – 7 (2):17-18 – Bernes e bicheiras.
1922 – 7 (5-6):1-3 – O mate – A bebida do futuro.
1922 – 7 (7):6-8 – A sarna dos cães.
1922 – 7 (10):12-13 – O consumo e a lavoura de bananas.
1922 – 7 (10):22 – Motivos da acidez dos frutos plantados de sementes.
1922 – 7 (11):2-3, 2 figs. – O rei do arroz.
1922 – 7 (11):10-11 – Colheita do cacau.
1922 – 7 (12):8-9 – Fruticultura brasileira – O caju.
1923 – 8 (1):14 – Consulta (sobre coelhos).
1923 – 8 (7):3-4 – A cultura do coqueiro.
1923 – 8 (7):7, 2 figs. – Amanhos da terra.
1923 – 8 (12):5-6, 1 fig. – Os sorgos, como forragem, são perigosos?
1924 – 9 (4-5):13-14, 1 fig. – O búfalo doméstico (a numeração

das páginas começou neste fascículo).

1924 – 9 (4-5):15-16, 1 fig. – Leiteria: determinação da acidez do leite.

1924 – 9 (10):4-6, 3 figs. – Criação de cães: Os cuidados necessários.

1925 – 10 (2):12, 1 fig. – O piolho das galinhas.

1925 – 10 (2):13-14, 6 figs. – A escolha dum cão de raça.

1925 – 10 (4):8-9, 12 figs. – Os gatos.

1926 – 11 (1-2):14 – As borboletas: Estudo, collecção e commercio.

1926 – 11 (3-4):7, 2 figs. – Jardinocultura – A calendula.

1926 – 11 (3-4):11-12 – O amendoim e a sua importancia industrial.

1926 – 11 (3-4):13 – tradução de E. S. – Os processos actuaes de prevenção contra a febre aphtosa.

1926 – 11 (3-4):17 – Consultas (capim e gado leiteiro).

1926 – 11 (7):1-3, 7 figs. – Estudo sobre o emprego do Fly-Tox na hygiene domestica, na debelação de insectos que atacam as plantas cultivadas e na veterinária.

1926 – 11 (7):3 – Consultas (ossos para adubação).

1926 – 11 (7-8, 1 fig.) – Cães e canis – Os bons cães de caça.

1926 – 11 (9):5-7, 6 figs. – Cães e canis – O cão policial allemão.

Artigos publicados na revista O Campo

1930 – 1 (1):73 – Como semear a cevada.

1930 – 1 (1):74-79 - Bibliographia da laranjeira e de outras Auranciaceas (com A. de Leonardo Pereira); 1 (2):133-137; 1 (3):103 – Bibliographia; 1 (3):146-154 – Bibliographia da laranjeira e de outras Auranciaceas (com A. de Leonardo Pereira); 1 (4):127; 1931 – 2 (10):83; 1931 – 2 (11):64; 1931 – 2 (12):58; 1932 – 3 (1):15; 1932 – 3 (4):75; 1933 – 4 (1):79; 1934 – 5 (2):80; 1934 – 5 (3):25; 1934 – 5 (4):70 – Bibliographia; 1934 – 5 (10):71

1934 – 5 (11):72; 1935 – 6 (7):71; 6 (9):70; 6 (10):70; 1936 – 7 (76):63; 7 (83):71; 1937 – 8 (88):72; 8 (90):72; 1937 – 8 (93):71; 1938 – 9 (102):80; 1939 – 10 (119):68; 1940 – 11 (127):48; 1940 – 11 (123):68; 11 (130):72.

1930 – 1 (1):104 – Mangas manchadas.

1930 – 1 (2):30-32, 2 figs. – Cães de moda, cães de luxo.

1930 – 1 (2) Utilização dos resíduos do carbonato de calcium.

1930 – 1 (3):37-40, 8 figs. Cães de mostra.

1930 – 1 (4):24-27, 10 figs. – A industria e o commercio do chicle (com Aníbal Martua).

1930 – 1 (4):44-45 – Consultas e respostas (cabra e febre aphtosa).

1930 – 1 (4):89, 1 fig. – Informação sobre alfarrobeira.

1930 – 1 (4):109-110, 1 fig. – Alimentação dos cães novos.

1930 – 1 (5):71-73, 9 figs. – Escolha de um cão de raça.

1930 – 1 (5):89-90, 2 figs. – O mamoeiro.

1930 – 1 (6):30-34, 11 figs. – O mate – bebida do futuro.

1930 – 1 (6):34 – Verme-planta.

1930 – 1 (6):50-52, 3 figs. – O Pointer, cão de mostra inglês de pêlo curto.

1930 – 1 (6):94-96, 2 figs. – Algumas notas sobre a enxertia

da laranjeira.

1930 – 1 (6):112 – O figo é flor ou fruto?

1930 – 1 (6):144 – Preparo de ossos para adubo.

1930 – 1 (6):154 – Como combater os cupins do chão.

1930 – 1 (10):41-42 - A influencia imaginária da lua na vida vegetal e animal.

1931 – 2 (7):37 – A criação de uma escola de horticultura.

1931 – 2 (7):42 – A praga das pequenas formigas.

1931 – 2 (7):53 – Mangas tardias e precoces.

1931 – 2 (9):29 – O bambu.

1931 – 2 (9):40 – Cochilos.

1931 – 2 (9):79 – Agricultura tropical.

1931 – 2 (9):80 – Consultas e respostas (engorda de porcos).

1931 – 2 (10):84-85 – XV Exposição Canina Internacional.

1931 – 2 (10):85 – Galinhas de pescoço pelado.

1931 – 2 (12):50 – O gergelim e as saúvas.

1931 – 2 (12):52, 1 fig. – A propósito de cães de caça e cães de companhia.

1931 – 2 (12):62-64, 2 figs. – O cajueiro.

1932 – 3 (3):56-58, 7 fig. - Fruta de conde e condessa.

1932 – 3 (5):10 – A mandioca no Brasil Colonial – reproduzido em Chácaras e Quintaes, 46 (3):270, 1932.

1932 – 3 (6):33 – Eczema dos cães.

1932 – 3 (6):64 – As avencas.

1932 – 3 (9):48 – O cão na philosophia dos anexins.

1932 – 3 (2):38-39, 4 figs. – A cherimolia.

1932 – 3 (9):36-37 – Horticultura: algumas notas.

1933 – 4 (1):45 – O leite sadio.

1933 – 4 (5):17-21, 18 figs. – Inimigos da doença das fruteiras.

1933 – 4 (6):67 – O rato e o seu velho inimigo, o gato.

1934 – 5 (3):27-28, 2 figs. – O mamoeiro e o seu cultivo; 5 (4):33-35, 7 figs.; 5 (5):42-46, 2 figs.

1935 – 6 (1):81-88 – Volume I - Dicionário de Avicultura e Ornitotecnica; 6 (2):73-80; 6 (3):73-80; 6 (4):73-80; 6 (5):73-80; 6 (6):79; 6 (7):73-80; 6 (8):73-80; 6 (10):73-80; 6 (11):73-80; 6 (12):73-80; 1936 – 7 (73):73-80; 7 (75):73-80; 7 (76):65-80; 1936 – 7 (78):73-80; Volume 2 – 1936 – 7 (78):73-80; 7 (79):73-80; 7 (79):73-80; 7 (81):73-80; 7 (82):73-80; 7 (83):73-80; 7 (83):73-80; 7 (84):73-80; 1937 – 8 (85):73-80; 8 (86):73-80; 8 (87):73-80; 8 (90):73-80; 8 (91):73-80; 8 (93):73-80; 8 (94):73-80; 8 (95):73-80; 8 (96):73-80; 1938 – 9 (97):73-80; 9 (98):73-80; 9 (99):73-80; 9 (100):73-80; 9 (101):73-80.

1935 – 6 (2):66-68, 2 figs. – O caju e a cultura do cajueiro; 6 (3):25.

1935 – 6 (5):33-34, 5 figs. – Arboricultura frutífera – Conselhos – Indicações; 6 (6):40, 2 figs.

1935 – 6 (6):45, 4 figs. – Jardinagem; 6 (8):45, 3 figs.

1935 – 6 (10):42-45, 6 figs. – I - Os inimigos naturaes das formigas; II – 6 (11):62-64, 4 figs.

A partir do volume 7, a revista adotou numeração seguida dos fascículos, começando pelo número 73:

1936 – 7 (74):57 – O que todo criador deve saber sobre veterinária – I; 1938 – 9 (98):52-56, 8 figs. — II. O que todo criador deve saber sobre veterinária; 9 (99):42-49, 11 figs. –

— III; 9 (100):22-26, 9 figs. — IV; 9 (101):55-57 — V; 9 (103):22-28, 7 figs. — VI; 9 (105):42-44 — VII; 9 (106):62-64, 5 figs. — VIII; 9 (107):56-59, 5 figs. — IX; 9 (108):52-54, 2 figs. — X; 1939 — 10 (109):44-45 — XI; 10 (110):60-63, 6 figs. — XII; 10 (111):33-37 — XIII; 10 (112):23-24, 1 fig. — XIV; 10 (113):61-62, 1 fig. — XV; 1940 — 11 (122):27-29, 3 figs. — XVI; 11 (123):22-23 — XVII.

1936 — 7 (74):57-59 — I — As doenças infecciosas.

1936 — 7 (75):33-34 — Um cavaleiro do mérito agrícola: o sapo.

1936 — 7 (77):36-39, 3 figs. — A goiabeira: II — 7 (78):57-60, 2 figs.; III — 7 (81):52-55, 3 figs.

1936 — 7 (83):22-23, 2 figs. — Incrível, mas verídico, o mecanismo da reprodução da mosca do berne.

1938 — 9 (101):73-75 — As formigas — I; 9 (103):57-59, 5 figs. — II; 9 (106):58-59, 61, 1 fig. — III; 9 (107):67 — IV; 9 (108):38-40 — V; 1939 — 10 (111):32 — VII; 10 (112):62-64 — VIII; 9 (117):38-39 — IX.

1938 — 9 (106):55-57, 3 figs. — O sapotieiro; 9 (107):13-14, 1 fig.

1939 — 10 (112):67 — O bicho do pé.

1939 — 10 (118):36-39, 1 fig. — O chopim.

1939 — 10 (119):64 — I — Velhas superstições campesinas; 10 (120) — II; 1940 — II (122):61 — III; 1940 — II (124):55 — IV.

1940 — II (123):42-43 — Ranicultura.

1940 — II (126):55-60, 3 figs. — O combate biológico contra as pragas das plantas cultivadas.

1940 — II (129):38-39 — Sarnas dos cães e dos gatos.

1940 — II (131):42-44, 1 fig. — Cães e canis.

1940 — II (131):66-67, 3 figs. — As cobras no ponto de vista da defesa contra o ofidismo.

1941 — 12 (134):47-48 — Cães e canis — As verminoses dos cães.

1941 — 12 (140):27-28, 2 figs. — Cães de caça brasileiros.

1941 — 12 (140):42-43, 1 fig. — Cães e canis — Origem do cão.

1941 — 12 (143):57-58, 1 fig. — Um raro, belo e curioso pássaro brasileiro — o galo da serra.

1942 — 13 (150):10-11, 3 figs. — A quina.

1942 — 13 (150):12, 1 fig. — O sapo-ferreiro.

1942 — 13 (150):40-42, 1 fig. — A bananeira.

1942 — 13 (151):16-17, 1 fig. — A quina.

1942 — 13 (153):18-19, 1 fig. — Craveiro da Índia.

1942 — 13 (154):22-33, 3 figs. — As especiarias — A baunilha.

1942 — 13 (154):29 — As especiarias — Pimenta do reino e gengibre.

1942 — 13 (156):59-60 — O tupinambou (*Helicanthus teberosus* L.).

1943 — 14 (158):6-7 — Os sorgos.

1943 — 14 (158):12 — Um novo livro de Eurico Santos — O cão através da história e da arte.

1943 — 14 (161):24-26, 6 figs. — As pulgas.

1943 — 14 (161):27-28 — Especiarias — Noz moscada (*Myristica fragans*).

1943 — 14 (164):51-52 — O combate aos insetos nocivos à lavoura por seus inimigos naturais.

A partir de 1944, volume 15 em diante até 1945,

volume 16, a revista só publicou assuntos sobre gado. Com a mudança de direção da revista, Eurico Santos fundou a revista *Seleções Agrícolas* em 1946, que durou até 1966 (21 anos). Ele assinava os artigos com E. S. e Eurico Santos. A biblioteca do Instituto Agrônomo de Campinas possui alguns fascículos do volume 1 (1946) e os demais dos volumes 2-20.

1947 — 2 (19):18-21 — Que pensar dos gatos?

1947 — 2 (19):39-40 — Flores nacionais.

1948 — 3 (24):51, 1 fig. — Conhece este totó?

1948 — 3 (26):16-20 — Jardinagem — Multiplicação das plantas.

1949 — 4 (33):77, 1 fig. — Conhece este totó?

1949 — 4 (36):35-40, 1 fig. — Manutenção de beija-flores em cativeiro.

1949 — 4 (36):4-9, 1 fig. — Conhece este totó? Pointer.

1949 — 4 (37):44-48, 1 fig. — O cavalo-marinho, o peixe-cachimbo e o trombeta.

1949 — 4 (38):16 — O sapo.

1949 — 4 (38):57, 1 fig. — Que totó é este?

1949 — 4 (39):48-50 — Crendices.

1949 — 4 (41):47 — Que totó é este?

1949 — 4 (42):27-32, 3 figs. — As aves na ornamentação dos jardins.

1949 — 4 (44):23-24 — Que totó é este?

1950 — 5 (45):65 — Que totó é este?

1950 — 5 (47):8 — Os animais sagrados.

1950 — 5 (47):51-53, 1 fig. — Toma a casa e come o dono.

1950 — 5 (48):39-43 — Comamos mais frutas!

1950 — 5 (49):37-50, 6 figs. — Os animais úteis e os nocivos à agricultura.

1950 — 5 (51):57-58, 1 fig. — Notas sobre o cão “Schnauser”.

1950 — 5 (54):25-30 — A caça entre os indígenas do Brasil.

1950 — 5 (56):39, 1 fig. — Conhece este totó?

1951 — 6 (58):37-39 — Não é econômico criar rãs.

1951 — 6 (59):21-22 — Orquídeas cheirosas.

1951 — 6 (60):23-24 — Pindorama.

1951 — 6 (61):39-40, 1 fig. — Curiosidades zoológicas I — O peixe-elefante vive nas profundezas do oceano.

1951 — 6 (61):47-49 — Plantas que matam peixes e insetos.

1951 — 6 (63):39-43, 1 fig. — Curiosidades zoológicas II — Um peixe que tem pulmão.

1951 — 6 (63):82-84, 86, 88, 90, 92 — Prática da criação de pombos.

1951 — 6 (64):33-34 — Pindorama II A palmeira buriti e a miriti.

1951 — 6 (65):25-26 — Pindorama III O Coqueiro da Bahia.

1951 — 6 (67):26 — Crisântemos.

1951 — 6 (67):50-51 — Os cravos.

1951 — 6 (67):69-70 — Dálias.

1951 — 6 (68):46-50 — Galos de briga.

1952 — 7 (69):13-15 — Orquídeas brasileiras (I).

1952 — 7 (70):11-13 — Orquídeas brasileiras (II) As Cattleyas.

1952 — 7 (70):71-72 — Alimentação dos pássaros de gaiola.

1952 — 7 (71):9-10 — Orquídeas brasileiras (III) Laelias.

1952 — 7 (72):13-14 — Orquídeas brasileiras (IV) Os Oncidiuns.

1952 — 7 (73):27-29 — Orquídeas brasileiras (V) As Miltonias.

1952 - 7 (74):7-11 - Orquídeas brasileiras (VI) Os Catasetuns.
 1952 - 7 (75):3-10 - Orquídeas brasileiras (VII) Conclusão – As orquídeas e o homem.
 1952 - 7 (76):72-73 - Métodos de combate aos cupins.
 1952 - 7 (77):29-30 - Frutas: menos trabalho, mais proveito.
 1952 - 7 (78):47-48 - Algumas considerações sobre o combate aos carrapatos.
 1952 - 7 (80):47 - As pequenas também causam grandes males.
 1953 - 8 (81):45-46 - Animais úteis que devemos proteger.
 1953 - 8 (82):11-12 - A dança dos tangarás e o baile das mulatas.
 1953 - 8 (83):17-18 - Cães domésticos – O “Cocker Spaniel” e o “Springer Spaniel”.
 1953 - 8 (86):13-15, 1 fig. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 I. Physalia caravela.
 1953 - 8 (87):19-21, 1 fig. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 II. Os escorpiões.
 1953 - 8 (88):11-13, 2 figs. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 III. Centopéias.
 1953 - 8 (88):83-84 - A cobaia.
 1953 - 8 (89):17-19, 1 fig. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 IV. Marimbondos.
 1953 - 8 (90):15-17, 1 fig. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 V. Peixes I.
 1953 - 8 (91):17-19, 2 figs. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 V. Peixes II.
 1953 - 8 (92):15-18, 1 fig. - Nem só as serpentes têm peçonha.
 V. Peixes III.
 1954 - 9 (94):17-18 - Os sapos são venenosos?
 1954 - 9 (95):23-24 - A propósito da picada das abelhas.
 1954 - 9 (100):69-72, 74 - Combate aos cupins.
 1955 - 10 (109):17-30 - Mosquitos – como evitar e combater.
 1955 - 10 (111):18 - Não basta ter bons reprodutores.
 1955 - 10 (114):67-68 - As toupeiras do Sr. Panlow e a heresia da herança dos caracteres adquiridos.
 1956 - 11 (121):17-33 - O cajueiro.
 1958 - 13 (152):21-23 - Conselho dos cães de caça.
 1959 - 14 (156):23-24 - Reforme-se o Código Florestal!
 1960 - 15 (166):54, 56 - Vantagens da criação de cabras.
 1960 - 15 (167):39-40 - Criação de caprinos para carne.
 1961 - 16 (183):55-56 - O despresado amendoim.
 1961 - 16 (184):19-20 - A verdade sobre bichos mentirosos.
 1961 - 16 (185):65-67 - Os beija-flores também cantam.
 1961 - 16 (186):39-40 - Carne de cavalo.
 1961 - 16 (187):13-14, 16 - Ipê – brasilidade e beleza.
 1964 - 19 (216):27-28 - Os caranguejos em domesticidade.
 1964 - 19 (217):65-66, 68 - Amendoim, planta alimentar e industrial.
 1965 - 20 (225):14-15 - Utilidade dos caranguejos.

Artigos publicados na revista *Chácaras e Quintais*. Esta revista foi fundada em 1910 e durou até 1967, mudando de nome em 1968 para *Avicultura Industrial Chácaras e Quintais*, que foi encerrada em 1969. Os artigos que ele publicou foram:

1933 – 48 (1):90, 1 fig. – O cão de S. Bernardo.
 1937 – 56 (6):743-744, 1 fig. – Os criadores de cães e a mania do cruzamento.
 1939 – Como fazer o alojamento dos cães – Casinholas e canil. 59 (1):73-75, 6 figs.
 1941 – 64 (4):584-587, 3 figs. – Defeitos do cão Dobermann.
 1942 – 65 (5):584-587, 3 figs. – A cobra jararacuçu (*Bothrops jararacussu*).
 1944 – 70 (4):487, 1 fig. – Enxerto de encosto.
 1946 – 74 (1):91 – Cães de vigia de cães de caça.
 1946 – 74 (1):99 - Que bicho é esse?
 1946 – 74 (3):306-308, 4 figs. – A propósito de lagostas.
 1947 – 75 (1):73-75, 1 fig. – Curados, encantadores e amarradores de serpentes.
 1947 – 76 (6):700 – “Brasilvania” não é ração: é apenas pílheria avícola.
 1948 – 77 (6):692-693 – Domesticando palmípedes indígenas.
 1948 – 78 (6):735, 1 fig. – Sementes de feijoa.
 1949 – 79 (6):692, 1 fig. – A “cobra de vidro”.
 1950 – 81 (1):36, 1 fig. - A propósito de um cão famoso e de uma linda capa da “Chácaras e Quintais”.
 1950 – 81 (1):65-68, 1 fig. – Sobre periquitos do Brasil.
 1950 – 81 (1):214 – Combate aos morcegos.
 1950 – 81 (1):227-228, 2 figs. – Sobre os passarinhos trinca-ferro (*Saltator* sp.).
 1951 – 83 (1):81-82, 1 fig. – Macaco barrigudo.
 1951 – 83 (2):85 – As deliciosas frutas indígenas: o cainito.
 1951 – 84 (2):95-97, 1 fig. – Os Martim-pescadores.
 1951 - 84 (1):77-79 – “Os animais selvagens” – Aproveitamento – Cativoiro – Amansamento – Domesticação.
 1951 – 84 (2):224-226, 2 figs. – Capítulo I – Algumas considerações preliminares. 1951 – 84 (3):340-343, 3 figs. - Capítulo II – A criação de raposas.
 1951 – 84 (5):579-581, 4 figs. – Capítulo III – A criação dos cangambás.
 1951 – 84 (6):730-73, 3 figs. – Capítulo IV – Coipocultura.
 1952 - 85 (1):57-59, 1 fig. – Capítulo V – Guaraxaim, ou cachorro do mato, pode ser também “Renard Argente”.
 1952 – 85 (2):135-137, 1 fig. – Capítulo VI – A capivara, a anta e o caietu podem ser criados em amplas parques.
 1952 – 85 (3):356-358, 2 figs. – Capítulo VII – Anta e porco do mato.
 1952 - 85 (6):756-758, 3 figs. – Capítulo VIII – O furão domesticado desde alta antiguidade, ainda hoje presta serviços e prova como é possível amansar e até domesticar certos carnívoros.
 1952 – 86 (2):252-254, 1 fig. – Capítulo IX – Não existem mais chinchilas nos Andes senão em criadouros.
 1952 – 86 (3):369-371 – Capítulo X – Valerá a pena criar tatus?
 1952 – 86 (4):534-535, 1 fig. – Capítulo XI – Criação do peixe-boi.
 1952 – 86 (6):345-347, 1 fig. – Capítulo XII – A ema, ou nhandu, caminha para franca domesticação.

1953 – 87 (1):116-118, 1 fig. – Capítulo XIII – Macucos, inhambus, perdizes e jaós vivem bem em domesticidade.
 1953 – 87 (2):203-205, 3 figs. – Capítulo XIV – Mutuns, jacus, jacutingas, urus e aracuãs, parentes da galinha, fácil se domesticam.
 1953 – 87 (3):401-403, 1 fig. – Capítulo XV – Entre as numerosas aves aquáticas, algumas são candidatas à domesticidade.
 1953 – 87 (4):537-539, 1 fig. – Capítulo XVI – As pombas silvestres aguardam sua domesticação.
 1953 – 87 (6):355-356, 1 fig. – Capítulo XVII – Ainda algumas aves cujo amansamento e até domesticação podem ser tentados.
 1953 – 88 (1):411-413, 2 figs. - Capítulo XVIII - Criação de jacarés, lagartos e serpentes.
 1953 – 88 (2):239-241, 2 figs. - Capítulo XIX - Não parece difícil criar a tartaruga amazonense.
 1953 – 88 (3):353-354, 1 fig. – Capítulo XX – Ranicultura.
 1953 – 88 (4):531-532, 1 fig.. – Capítulo XXI – Ostricultura.
 1953 – 88 (5):735-736, 1 fig. – Capítulo XXII – Mitilicultura.
 1953 – 88 (6):877-878, 2 figs. – Capítulo XXIII – Criação de camarões ou lagostas da água doce.
 1954 -89 (1):61-62, 2 figs. – Capítulo XXIV – Criação de caranguejos, siris e outros crustáceos.
 1954 -89 (2):215-216, 2 figs. – Capítulo XXV – Helicicultura.
 1954 – 89 (4):476-477, 2 figs.- Capítulo XXVI – Minhocas e sanguessugas.
 1954 – 89 (4):478, 1 fig. – No mundo das cobras – a urutu.
 1954 – 89 (5):609-610, 1 fig. – Capítulo XXVII – O bicho da seda indígena e a criação de borboletas.
 1954 – 89 (5):573, 1 fig. – No mundo das cobras – a jararaca.
 1954 – 89 (6):737-738, 1 fig. – Capítulo XXVIII – Criação de borboletas.
 1954 – 90 (2):177-178, 1 fig. Um cachorro selvagem raro e seus dois filhotes ainda mais raros.
 1954 – 90 (3):354-355, 2 figs. – Capítulo XXIX – Criação de infusórios, vermes, pequenos crustáceos, larvas para alimentação de peixes, pássaros e pintos, etc.
 1954 – 90 (6):735-736, 1 fig. – Capítulo XXX (conclusão) – Há quem crie aranhas para fins industriais e quem nos sugira criar cochonilha.

Esses capítulos foram reunidos e publicados como livro sob o título Os animais selvagens (Ministério da Agricultura, Serviço de Informação Agrícola e Divisão de Caça e Pesca do D. N. P. A., Rio de Janeiro, 1956, 204 pp., sem ilustrações).

1952 – 85 (6):741 – Para que tanto bicho?
 1952 – 86 (5):651 – Combatendo gralhas e morcegos.
 1953 – 87 (5):655-656, 1 fig. – É bom negócio criar perus.
 1954 – 84 (2):234 – Um gavião selvagem entre pombos citadinos.
 1954 – 90 (4):443-444, 1 fig. - Elogio do sapo, *Bufo marinus* L.
 1954 – 90 (5):617 – Obras sobre borboletas.

1955 – 91 (2):241 - Muda do bicudo-azulão.
 1955 – 92 (5):650 – Ainda a mortandade dos pintassilgos.
 1955 – 92 (6):829 – Criação de aracuãs.
 1956 – 93 (3):39-45, 1 fig. – Se existem lagartas, os cucos não são culpados.
 1956 - 93 (4):436-437, 1 fig. – Formigas que ferram e formigas que mordem – I – Formigas que ferram; 93 (5):558-559, 1 fig. – II – Formigas que mordem.
 1956 – 93 (4):554 – A propósito de beija-flores e sua bibliografia.
 1956 – 93 (6):862-863 – Os antibióticos no tratamento das aves de gaiola.
 1956 – 94 (1):52-54, 2 figs. – Alguns aspectos curiosos da vida dos beija-flores.
 1956 – 94 (1):71-72, 1 fig. – A paca, boa caça, é de fácil criação; 1961 – 104 (5):801-802, 1 fig.
 1956 – 94 (3):389, 1 fig. - De que se alimentam as serpentes.
 1956 – 94 (4):536 – Os novos rumos da ranicultura.
 1957 – 96 (3):341-342, 1 fig. – Um “papinho” sobre faisões.
 1957 – 96 (3):343-344, 2 figs. - O corvo e o urubu.
 1957 – 96 (6):853 – Os ácaros transmitem doenças ao homem.
 1958 – 98 (1):51-52 – Não é difícil criar faisões.
 1958 – 98 (3):486 – Há aranhas que cuidam dos filhos.
 1959 – 99 (6):704 – O galo músico.
 1959 – 100 (3):407 – Há histórias de bichos mais curiosas que os próprios bichos.
 1959 – 100 (3):498 – “Xerimbabo”: o termo nos pertence, mas o “hobby” é universal.
 1959 – 100 (4):648 – As abelhas indígenas e sua criação.
 1962-106 (1):163-166, 168, 170, 172-176, 178, 180 – As penas das aves – seu aproveitamento industrial e comercial (número publicado com o título Almanaque Agrícola Chácaras e Quintais)
 1965 – 112 (1):167-174, 2 figs. – Nossos beija-flores e seus nomes vulgares. Anuário Agrícola da Chácaras e Quintais.

Artigos publicados na revista Sítios e Fazendas, São Paulo, fundada em 1936 e encerrada em maio-junho de 1969 (33 anos). A biblioteca do Instituto Agrônomo não possui os volumes 1 a 3, 5-6 (1936-1938, 1940-1941).

1939 – 4 (1):19-21, 2 figs. -Principais doenças do carneiro e seu tratamento.
 1939 – 4 (2):58-61, 7 figs. – Moléstias do aparelho respiratório dos cães.
 1939 – 4 (4):38-39 – Raças caprinas e suas aptidões.
 1942 – 7 (1):34-36, 1 fig. – A raça Andaluza é notável pela beleza da coloração azul de sua plumagem.
 1942 – 7 (2):34-36, 2 figs. – O Braco francês é um cão saudável e de grande rusticidade.
 1942 – 7 (4):65-67, 2 figs. - A história dos periquitos.
 1942 – 7 (5):44-45, 9 fig. – A acarocediose das pereiras.
 1942 - 7 (8):5-6, 12 figs. – Principais moléstias das aves e seu tratamento.
 1942 - 7 (11):74-75, 1 fig. – O cisne branco é menor que o europeu e maior que o australiano.

- 1943 – 8 (2):15-16, 1 fig. – Chegou a hora da borracha brasileira.
- 1943 – 8 (3):70-73, 5 figs. – Como devem ser treinados racionalmente os galos de briga.
- 1943 – 8 (4):11-12, 2 figs. – Doenças dos cães e seu tratamento.
- 1943 – 8 (4):13-15, 2 figs. – O berne; II – 8 (5):8-9, 1 fig.
- 1943 – 8 (7):48-54, 8 figs. – A raça Cochinchina originária de Shangai é fruto de uma seleção criteriosa e inteligente de aves, inglesas e francesas. (com E. de Queiroz - do Dicionário de Avicultura e Ornitotecnica).
- 1943 – 8 (8):5-9, 6 figs. – A criação do rato do banhado.
- 1944 – 9 (1):48-51, 3 figs. – Entre as raças de galinhas modernamente aperfeiçoadas destacam-se a Rhode Island Rock.
- 1945 – 10 (2):76-82, 10 figs. – Entre as raças muito a Plymouth Rock é sem dúvida a mais popular.
- 1945 – 10 (3):48-49, 2 figs. – As asas, extremidades anteriores das aves, cuja adequada transformação constitui o órgão essencial do voo.
- 1945 – 10 (4):28-29, 1 fig. - O Setter inglês; 1948 - 13 (10):28-29, 1 fig.
- 1946 – 11 (4):4 – Como cultivar a mostarda.
- 1947 – 12 (7):41, 1 fig. – A saúde e a doença dos cães.
- 1947 – 12 (11):22-23, 2 figs. – Cão de pastor da Alsácia.
- 1948 – 13 (2):52, 1 fig. – Outros serviços que nos podem prestar os cães.
- 1949 – 14 (2):64 – O cultivo da Castanha do Pará.
- 1950 – 16 (2):59, 1 fig. – Doenças infecciosas dos cavalos.
- 1951 – 17 (2):30-31, 1 fig. – Para ter cães saudáveis.
- 1951 – 17 (7):68-70, 2 figs. – A galinha Sussex.
- 1951 – 17 (8):14-15, 4 figs. – Frutas brasileiras.
- 1951 – 17 (11):33-34, 1 fig. – Criação de pássaros em gaiolas.
- 1952 – 18 (1):32 – O reflorestamento racional.
- 1952 – 18 (2):23-24, 2 figs. – Alimentação dos pássaros de gaiola.
- 1952 – 18 (2):58-60, 3 figs. – Galos de briga.
- 1952 – 18 (3):98 – Cultura da dália no Brasil.
- 1952 – 18 (5):16-17, 3 figs. – Os morcegos devem ou não ser combatidos?
- 1952 – 18 (8):21-22, 1 fig. – Algumas considerações sobre o combate aos carrapatos.
- 1952 – 18 (9):37, 1 fig. – Devemos ou não criar carpas?
- 1952 – 18 (11):6 – O estrume e a mosca.
- 1953 – 19 (11):60, 62 – Como facilmente se criam cobaias.
- 1954 – 20 (12):62 – A cultura do bambu.
- 1955 – 21 (2):46-47, 1 fig. – Os sapos são venenosos.
- 1955 – 21 (6):17-18, 2 figs. – As moléstias dos cães em relação à espécie humana.
- 1955 – 21 (12):99-100 – Conselhos aos laticinistas.
- 1956 – 22 (7):12-15, 4 figs. – Operações de cirurgia veterinária ao alcance do cidadão.
- 1957 – 23 (12):26-28, 2 figs. – Os carrapatos são transmissores de graves moléstias.
- 1958 – 24 (7):47-48, 4 figs. – Podem as cobaias ser criadas em grandes ou pequenos cercados?
- 1959 – 24 (12):48 – Combate aos ácaros.
- 1959 – 25 (1):50, 1 fig. – Em favor dos jardins e das aves.
- 1959 – 25 (7):64-65, 1 fig. – A cultura da noz moscada.
- 1959 – 25 (8):26-30, 4 figs. – O Setter é o príncipe da raça canina.
- 1960 – 26 (1):10-18, 6 figs. – Vantagens da criação de cabras.
- 1960 – 26 (4):60-61, 3 figs. - Criação de caprinos para utilização da carne.
- 1960 – 26 (8):98-100, 1 fig. – Cultura da bananeira.
- 1961 – 27 (1):95-99 – Variedades de maracujá.
- 1961 – 27 (4):90-92, 1 fig. – Árvores ornamentais – as belas Cássias.
- 1961 – 27 (5):78-80 – Árvores ornamentais – Flamboyant e Sabipuruna.
- 1961 – 27 (7):1041-5, 107 – Árvores ornamentais – Os nossos ipês.
- 1961 – 27 (11):1-34, 3 figs. – Fácil de criar e domesticar a ema, o avestruz brasileiro.
- 1961 – 27 (12):84-85 – A cultura do amendoim.
- 1962 – 28 (12):96-99, 11 figs. – Combate aos cupins.
- 1963 – 29 (4):40-41, 4 figs. – A cabra, a vaca dos pobres.
- 1964 – 30 (10):46-47, 5 figs. – Frutas do Brasil.
- 1965 – 31 (2):13-143, 3 figs. – O guaraná, grande recurso alimentar.
- 1965 – 31 (3):96-98, 1 fig. – Utilidade dos caranguejos.
- 1965 – 31 (6):71, 1 fig. – Os caranguejos em domesticidade.
- 1966 – 32 (12):46, 1 fig. – Criação de caranguejos.
- 1967 – 33 (4):23, 1 fig. – Mudanças das flores da laranjeira.
- 1968 – 34 (11-12):15 – Cultivo do maracujá.

Eurico Santos também colaborou nas revistas *Caça e Pesca* (1941-1966) e *Fauna* (1942-1967). Tivemos as coleções completas de ambas as revistas, que foram doadas à Biblioteca do Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento de São Paulo. Seus artigos versavam sobre animais. O artigo mais interessante que ele publicou na revista *Fauna* diz respeito à Zoofonia, de Hércules Florence – *Fauna*, 2(7):3-8, il., julho de 1943.

Há ainda artigos seus nos seguintes boletins:

Boletim do Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro:
1945 – 34 (1):97-102 – O dendezeiro.

Boletim de Agricultura, Belo Horizonte:
1958 – 7 (7/8):67-68 - Os ácaros são mais prejudiciais do que julgamos.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA B. 1925. **Por campos e mattas**. São Paulo: Editora Monteiro Lobato.
- GOELDI EA. 1893. **Os mamíferos do Brasil**. Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves & Cia.
- GOELDI EA. 1894. **As aves do Brasil** – Primeira parte. Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves & Cia.; 1900 – Segunda parte. Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves & Cia.
- GOELDI EA. 1896. Lancear de olhos sobre a fauna dos reptéis do Brazil. **Bol. Mus. Par. Hist. Nat. Ethnog.** 1(1/4): 402-432.
- GOELDI EA. 1900a. Crocodilos do Brasil. **Jornal do Commercio**, Rio de Janeiro, 27 de novembro.
- GOELDI EA. 1900b. **Álbum de aves amazônicas**. Belém: Museu Paraense de Historia Natural e Ethnographia.
- GOELDI EA. 1902. Lagartos do Brazil. **Bol. Mus. Par. Hist. Nat. Ethnog.** 3(1/4): 499-560.
- GOELDI EA. 1903. As cobras do Brasil. **Jornal do Commercio**, Rio de Janeiro, de 17 de março.
- IHERING R VON. 1914a. Dicionario da fauna do Brazil ou definição zoológica dos nomes vulgares dos animaes do Brazil. **Alman. Agr. Brazil.** 3: 253-320.
- IHERING R VON. 1914 b. **O Livrinho das aves**. São Paulo, sem editor.
- IHERING R VON. 1917. **Atlas da fauna do Brasil**. São Paulo: Hartmann-Reichenbach.
- IHERING R VON. 1917. **Fauna do Brasil. Texto explicativo**. São Paulo: Seção de Obras d'O Estado.
- IHERING R VON. 1924. **Contos... de um naturalista**. São Paulo: Editora Brazão.
- IHERING R VON. 1929. **Da vida dos peixes – Ensaio e scenas de pescarias**. São Paulo: Melhoramentos.
- IHERING R VON. 1934. **Da vida dos nossos animais – Fauna do Brasil**. São Leopoldo: Rotermund & Cia.
- IHERING R VON. 1940. **Dicionário dos Animais do Brasil**. São Paulo, Diretoria de Publicidade Agrícola.
- LENT H. 1979. Eurico de Oliveira Santos (1883-1968) (p. 6117). 2ª ed. *In: Grande Enciclopédia Delta Larousse*. Rio de Janeiro: Editora Delta, 13: 5793.
- MAGALHÃES AC. 1931. **Monographia brasileira de peixes fluviaes**. São Paulo, Romiti, Lanzara & Zanin.
- MAGALHÃES AC. 1939. **Ensaio sobre a fauna brasileira**. São Paulo: Diretoria de Publicidade Agrícola.
- NOMURA H. 1961. Vida e obra do naturalista João de Paiva Carvalho. **Bol. Soc. Cear. Agronomia** 3: 1-24.
- NOMURA H. 1969. Eurico Santos (1883-1968). **Ciência e Cultura** 21(1): 100-103; **O Aquarista** 6(56-58): 29-31.
- NOMURA H. 1983. Análise sucinta da obra científica, literária e de divulgação do Doutor Rodolpho von Ihering, p. 113-142. *In: MP PAIVA (Coord.). A permanência de Rodolpho von Ihering*. Rio de Janeiro: Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza.
- NOMURA H. 1991. Eurico Santos (1883-1968), p. 57-58. *In: H NOMURA. Vultos da Zoologia Brasileira*. Volume I. Coleção Mossoroense, Mossoró, série C; 2ª ed., p. I: 88-89. Fundação Vingt-un Rosado, Coleção Mossoroense, Mossoró, Série C.
- SANTOS E. 1944. **Manual do lavrador brasileiro**. Rio de Janeiro: F. Brigueit.
- SILVA H. 1905. **Fauna Fluviatil de Goiás – contribuição para o conhecimento vulgar dos peixes e mais espécies fluviaes e lacustres do Brasil Central. Volume I**. São Paulo: Typographia Andrade & Mello; **Volume II**. Rio de Janeiro: Off. Kosmos.
- SILVA H. 1898. **Caça no Brasil Central**. Rio de Janeiro: Ed. Domingos de Magalhães.
- SILVA H. 1915a. **Caças e caçadas no Brasil**. Rio de Janeiro: H. Garnier.
- SILVA H. 1915b. **O pescador brasileiro, particularmente nos rios e lagos do interior**. São Paulo: Editora Chácaras e Quintaes.
- VARNHAGEN FA. 1860. **A caça no Brazil**. Rio de Janeiro: Laemmert & Cia.
- VELLOSO JMC. 1800. **Aviario brasílico, ou galleria ornithologica das aves indígenas do Brasil**. Lisboa: Na Officina da Casa Litteraria do Arco do Cego.
- VERÍSSIMO J. 1893. **A pesca na Amazônia**. Rio de Janeiro: Livraria Clássica de Alves & Cia.