Universidade Federal do Tocantins
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF
https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/

2021
vol.9 n.4

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY

JBB
ISSN: 2179-4804

EDITORIAL

Apesar da atipicidade do momento em razão da pandemia mundial provocada pelo COVID-19, o Journal of Biotechnology and Biodiversity (JBB) apresenta mais um volume. Essa situação certamente tem afetado a todos profundamente, no entanto deve-se enaltecer o importante papel que a ciência tem e o comprometimento dos pesquisadores, ora autores, em manter as contribuições para com a sociedade. Houve mudanças nos procedimentos e novos protocolos tem sido estabelecidos e está em constante evolução. Neste contexto, o corpo editorial do JBB tem mantido os esforços no contínuo fortalecimento do trabalho para o propósito deste periódico de promover o conhecimento e o debate de temas relevantes. Para tanto, apresentamos o volume 9, número 4 de 2021, contendo artigos científicos de reconhecido conteúdo, englobando a interdisciplinaridade que vem norteando o envolvimento da comunidade científica mundial. Entende-se como interdisciplinaridade a interação de uma ou mais disciplinas, em âmbito coletivo, com o objetivo de solucionar problemas complexos, nesse caso, ligados às Ciências Agrárias; Biotecnologia; Química; Biodiversidade e Meio Ambiente. Resulta em enriquecimento recíproco e na transformação de suas metodologias de pesquisa e conceitos. Agradecemos aos Conselhos Científicos pela atuação para com esta produção, garantindo a manutenção de sua qualidade. De forma especial, agradecemos aos pesquisadores(as) que submeteram seus manuscritos.

2021
vol.9 n.4

Marcos Giongo

Jader Nunes Cachoeira

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

ISSN: 2179-4804

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY

EDITOR GERAL
Marcos Giongo, Universidade Federal do Tocantins, Brasil (atual)
Gessiel Scheidt , Universidade Federal do Tocantins, Brasil (2010-2014)

EDITORES CIENTÍFICOS - Ciências Agrárias
Alexandre Beutling, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil
Aloísio Freitas Chagas Júnior, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Anabel Aparecida de Mello, Universidade Federal de Sergipe, Brasil
Antonio Carlos Batista, Universidade Federal do Paraná, Brasil
Cristiano Bueno de Moraes, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Gil Rodrigues dos Santos, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Henrique Soares Koehler, Universidade Federal do Paraná, Brasil
Lillian França Borges Chagas, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Juliana Barilli, Universidade Federal do Tocantins, Brasil

EDITORES CIENTÍFICOS - Biotecnologia
Alexsandro Sobreira Galdino, Universidade Federal de São João del-Rei, Brasil
Augustus Céser Franke Portella, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Daniel Ângelo Sganzerla Graichen, Universidade Federal de Santa Maria
Ildon Rodrigues do Nascimento, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Jackeline do Socorro Benassuly Barbosa, Instituto Federal de Brasília, Brasil
Kleber Franke Portella, Universidade Federal do Paraná, Brasil
Raimundo Wagner de Souza Aguiar, Universidade Federal do Tocantins, Brasil

EDITORES CIENTÍFICOS - Química
Damiana Beatriz da Silva, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Douglas Henrique Pereira,Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Grasiele Soares Cavallini,Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Nelson Luis Gonçalves Dias de Souza, Universidade Federal do Tocantins, Brasil

EDITORES CIENTÍFICOS - Biodiversidade e Meio Ambiente
Alexandre França Tetto, Universidade Federal do Paraná, Brasil
Aline Silvestre Pereira Dornelas, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Damiana Beatriz da Silva, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Jader Nunes Cachoeira, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Lorena Stolle, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Brasil
Maria Cristina Bueno Coelho, Universidade Federal do Tocantins, Brasil
Mauro Luiz Erpen, Instituto Federal do Tocantins, Brasil
Rafael Rode, Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil

EDITOR ADMINISTRATIVO
Jader Nunes Cachoeira, Universidade Federal do Tocantins, Brasil

2021
vol.9 n.4

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

ISSN: 2179-4804

COMITÊ DE CONSULTORES - 2020

Alexandre França Tetto
Alisson Macendo Amaral
Allan Deyvid Pereira da Silva
Ananda Santa Rosa
André Ferreira dos Santos
Andréa Maria Brandão Mendes de Oliveira
Ângela Simone Freitag Lima
Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho
Bárbara Ferreira
Breno Silva
Bruna Kovalsyki
Bianca Pizzorno Backx
Cahuê Francisco Rosa Paz
Carlos Alberto Agnolin
Carolina Soares Marques
Cleber Witt Saldanha
Dalva Luiz de Queiroz
Damiana Beatriz da Silva
Dayane de Souza Lima
Danilo Gualberto Zavarize
Débora dos Santos Rodrigues
Diego Pereira da Silva
Douglas Henrique Pereira
Edson Júnior do Carmo
Édson Santos Castro
Eduardo Morgan Uliana
Elaiz Aparecida Mensch Buffon
Eliane Dalva Godoy Danesi
Emerson Willian Santos de Almeida
Fábio José Carvalho Faria
Felipe Camargo de Campos Lima
Fernanda Lucas
Francisca Cassia da Silva Silva
Gil Rodrigues Santos
Gilson Araújo de Freitas
Gilmar Oliveira Santos
Glauco Arnold Tavares
Glauco Schultz
Grasiele Soares Cavallini
Heloísa Donizete da Silva
Henrique Amaral da Silva
Igor Eloi Silva Machado
Igor Viana Souza
Ildon Rodrigues do Nascimento
Itabajara da Silva Vaz Jr
Jackeline do Socorro Benassuly Barbosa
Jáder Nunes Cachoeira
Jean Carlos Miranda
João Alexandre Lopes Dranski
João Antônio Granja
João Paulo de Oliveira Santos
Joenes Mucci Peluzio
Jonathan William Trautenmüller
Josué Luiz Marinho Junior
Juliano Kobs Vidal
Katia Atoji
Khadija Bezerra Massaut
Laércio Mesquita Júnior
Leandro Calegari
Luiz Eduardo Santos Lazzarin
Luiz Felippe Salemi
Marcela Aparecida de Moraes
Marcelo Chuei Matsudo
Marcelo Tavares de Castro
Márcia Teixeira Falcão
Maria Cristina Bueno Coelho
Marcos Cardoso Silva
Mariana Chaves Santos
Maristela Epifânio
Maurício Bonatto Machado de Castilhos
Micael Moreira Santos
Michelle Rossana Ferreira Vaz
Natália Stheffany de Brito Lima
Neison Cabral Ferreira Freire
Nelson Luis Gonçalves Dias de Souza
Olavo da Costa Leite
Paula Kielse
Paula Tariana Lopes Seixas
Paulo Vitor de Souza Pinto
Pedro Vitor Pereira Guimarães Guimarães
Rafael Dal Bosco Ducatti
Rafael Rafael Leite Braz
Rafael Rode
Rebeca Costa
Régis Casimiro Leal
Renata Carvalho da Silva
Ricardo Carvalho Santos
Robson Willians da Costa Silva
Rodrigo Ferraz Ramos
Rhonan Martins de Sousa
Rogério Santos Ferreira
Susana Cristine Siebeneichler
Tamíris Marinho
Thales Henrique Barreto Ferreira
Thiago Campos Monteiro
Valdirene Neves Monteiro
Victor Braga Rodrigues Duarte
Viviane Fernandes Moreira
Wendel Cruvinel de Sousa

2021
vol.9 n.4

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

ISSN: 2179-4804

COMITÊ DE CONSULTORES - 2021

Adelaide de Sousa Veras
Adriana Santos Neves Ribeiro
Airton César da Silva Araújo
Aline Silvestre Pereira Dornelas
Alisson Macendo Amaral
Ana Clara Carneiro Fonseca
Ana Cristina de Menezes
Ana Paula Martins Guimarães
Ana Paula Monteiro da Silva Ribeiro
Andresa Priscila de Souza Ramos
André Ferreira dos Santos
Antonio Carlos
Bruna Tavares da Silva Brito Sousa
Claudio J. Barbedo
Daniel Ramos de Souza
Daniel Santana Colares
Daniela de Oliveira Luciano
Daniela Biondi
Damiana Beatriz da Silva
Débora C. M. de Moura
Débora dos Santos Rodrigues
Douglas Henrique Pereira
Eduardo da Silva Santos
Eduardo Henrique Rezende
Eliane Dalva Godoy Danesi
Felipe Camargo de Campos Lima
Gabriella Rayssa A da Silva Oliveira
Francisnei Pedrosa da Silva
Héberly Fernandes Braga
Hellen Cristina de Freitas
Irineu Ferreira da Silva Neto
Isabella Batista Barros
Isabella Monteiro Silva Galvão Dias
Jáder Nunes Cachoeira
Jamilie Brito de Castro
Janiere dos Santos Cardoso
Jhéssyka Yasminni L F F Felicio
Jhonathan Morais Resplandes
João Lucas Aires Dias
João Pedro Noleto
Josefa Andresa da S M Marinho
Joseila Maldaner
Josué Luiz Marinho Junior
Leanne Teles Pereira
Lívia Santos Lívia Maria de Lima Santos
Lorrainy Azevedo de Carvalho
PLorena Camargos de Souza
Luan Ramos da Silva
Luana Bezerra Montelo
Luana da Silva Botelho
Manuel Tomaz Ataide Junior
Marcelo Tavares de Castro
Maria Eugenia Ortiz Escobar
Mathaus Messias Coimbra Limeira
Manuella Souza Silverio
Octavio Henrique Bernardes Barros
Pablo Timóteo da Silva
Paulo Alexandre Lima Santiago
Rafael Costa Schaidhauer de Almeida
Rafael Dal Bosco Ducatti
Rafael Rode
Raphael Nogueira Rezende
Rodolfo Medeiros Trinetto
Rodrigo Nunes da Rocha
Rita de Cássia Pompeu de Sousa
Samila Bezerra Lima
Schirley Aparecida Costalonga
Tean Zaheer
Thaiana Brunes Feitosa
Thiago Bitencourt
Thiago César Santos
Valdirene Neves Monteiro
Wendel dos Santos Moraes
Yusuky de Sousa Gomes

2021
vol.9 n.4

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

ISSN: 2179-4804

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY

JBB

páginas

Análise fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante do extrato foliar de *Cariniana estrellensis* 309-316
Antonio Vycttor de Pádua Ribeiro, César Auladino Leite Filho Leite Filho, Jordana Lucio Garcia, João Victor Morais Silva , Aline Aires Aguiar

Relevância da morfologia e biometria foliar: um estudo com espécies de *Aphelandra* R. Br. (Acanthaceae) 317-321
Livia Zottele, Elisa Mitsuko Aoyama, Alexandre Indriunas

Respostas fisiológicas de mudas de *Ceiba glaziovii* (Kutze) K Skum. à eventos de seca intermitente 322-329
Maria Fernanda da Costa Oliveira, José Laurindo dos Santos Júnior, Rafael Silva Freitas, Elizamar Ciríaco da Silva

Resíduos agroindustriais como substrato para cultivo indoor de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus* 330-339
Pedro Ítalo Alves de Carvalho, Maria Rebeca Brandão Sales , Jaime Conrado Aragão Neto, Francisco Valdicélio Ferreira

Análise fitoquímica e atividades antimicrobiana e antioxidante das folhas de *Henriettea succosa* (Aubl.) DC 340-349
Izaqueu Rodrigues da Silva, Bruno Anderson de Morais , Maria Isabela Ferreira de Araújo , Amanda Reges de Sena, Tonny Cley Campos Leite

Estudo da composição de polpa de manga e soro de queijo para bebidas láticas fermentadas 350-358
Rafael Resende Maldonado , Roberto Elias Buosi, Octávio Avancini Neto , Ramon dos Santos Araújo, Marcela Aparecida Deziderio , Elizama Aguiar de Oliveira, Rodrigo Rodrigues Petrus , Eliana Setsuko Kamimura

Desenvolvimento do amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.) sob lâminas de água e composições de substratos 359-368
Amanda Rossetto Pacheco, Miguel Stancare Neto, Gustavo Henrique Gravatim Costa, Marcelo da Fossa Paz, Marcos Vinicius Bohrer Monteiro Siqueira

2021
vol.9 n.4

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

CeMAF www.cemaf.org
UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

ISSN: 2179-4804

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY

JBB

páginas

Variabilidade espacial de características morfofisiológicas do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) 369-376
Marony Pereira de Almeida Santos, Antônio Clementino dos Santos, Guillermo Arturo Herrera Chan, Mateus Sunti Dalcin, Weslany Silva Rocha, Olavo da Costa Leite

Secagem de toras de clones de *Eucalyptus urograndis* em estufa solar 377-383
Dáfilla Yara Oliveira de Brito, Jaltiery Bezerra de Souza, João Paulo Silva Gomes, Lucas Jean Nunes, João Gilberto Meza Ucella-Filho, Tatiane Kelly Barbosa de Azevêdo

Modulação da hemostasia por inibição enzimática exercida por folhas de *Averrhoa carambola* 384-396
Daniela Aparecida Oliveira, Pedro Henrique Souza Cesar, Marcus Vinicius Cardoso Trento, Mariana Aparecida Braga, Silvana Marcussi

Principais cadeias produtivas para o desenvolvimento da agroenergia no Norte do Brasil: limitações e perspectivas 397-409
Micaele Rodrigues de Souza, Gabriel Duarte de Oliveira, Rosinete Nogueira de Sousa, Tamyres Siglya Sousa de Almeida, Ana Elisa Esteves dos Santos, Solange Aparecida Ságio

Halófilos deteriorantes em produtos cárneos salgados 410-421
Eduardo Henrique Santos Guedes, André Leonardo dos Santos, Camila Mariane da Silva Soares, Aynaran Oliveira de Aguiar, Aloísio Freitas Chagas Junior, Gessiel Newton Scheidt, Marcos Giongo, Lillian França Borges Chagas

2021
vol.9 n.4

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

CeMAF www.cemaf.org

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Análise fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante do extrato foliar de *Cariniana estrellensis*

Antonio Vycttor de Pádua Ribeiro[a*], César Auladino Leite Filho Leite Filho[a], Jordana Lucio Garcia[a], João Victor Morais Silva[a], Aline Aires Aguiar[a]

[a] Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos, Brasil

[*] Autor correspondente (vycttoribeiro95@gmail.com)

INFO

Keyworks
DPPH
phytocomposites
jequitiba-branco

ABSTRACT

Phytochemical analysis and evaluation of the antioxidant activity of Cariniana estrellensis leaf extract. The variety of secondary metabolites that make up plants, especially those with antioxidant action, are of paramount importance for the use of their extracts and isolated molecules in the prevention of diseases. Due to the antioxidant action of secondary compounds, such as phenolics and coumarins, present in the extracts of many plants, there is a relationship with the reduction of cellular oxidative damage caused by reactive oxygen and nitrogen species, being Cariniana estrellensis, which is also popularly known as jequitibá-branco, rich in phytocomposites of secondary metabolism. It is a neotropical climatic tree species, predominant in the Brazilian cerrado, in which it is recommended for medicinal use for inflammation of mucous membranes and pharyngitis. This work aimed to determine and characterize the chemical compounds present in the leaves of C. estrellensis and to evaluate their antioxidant activity. In the evaluation of antioxidant activity, the DPPH free radical scavenging method (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazil) was used. The total phenolic content was quantified by the Folin-Ciocalteu method in conjunction with the casein precipitation method. With the percentages of secondary compounds, especially those with antioxidant action, and the ability to sequester hydrogen, it was demonstrated that the leaf extract of Cariniana estrellensis has an effect analogous to that of ascorbic acid, a potent antioxidant found in citrus fruits.

Palavras-chaves
DPPH
fitocompostos
jequitibá-branco

RESUMO

A variedade dos metabólitos secundários que constituem as plantas, principalmente os com ação antioxidante, são de suma importância para o uso de seus extratos e moléculas isoladas na prevenção de doenças. Devido à ação antioxidante de compostos secundários, como os fenólicos e os cumarínicos, presentes nos extratos de muitas plantas, há uma relação com a redução dos danos oxidativos celulares originados por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, sendo a *Cariniana estrellensis*, que é também popularmente conhecida como jequitibá-branco, rica em fitocompostos do metabolismo secundário. Trata-se de uma espécie arbórea climática neotropical, predominante no cerrado brasileiro, na qual tem uso medicinal recomendada para inflamações de mucosas e faringite. Este trabalho teve como objetivos determinar e caracterizar os compostos químicos presentes nas folhas de *C. estrellensis* e avaliar a atividade antioxidante delas. Na avaliação da atividade antioxidante, foi utilizado o método de sequestro do radical livre DPPH (1,1-Difenil-2-picril-hidrazil). O conteúdo fenólico total foi quantificado pelo método de Folin-Ciocalteu em conjunto com o método de precipitação da caseína. Com os percentuais dos compostos secundários, principalmente os de ação antioxidante, e a capacidade de sequestro de hidrogênio , demonstrou-se que o extrato foliar de *Cariniana estrellensis* tem efeito análogo ao do ácido ascórbico, um potente antioxidante encontrados em frutas cítricas.

Received 17 January 2021; Received in revised from 19 March 2021; Accepted 19 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca por alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização desses produtos. A história do desenvolvimento das civilizações Oriental e Ocidental é rica em exemplos da utilização de recursos naturais na medicina, no controle de pragas e em mecanismos de defesa (Viegas et al., 2006).

O domínio Cerrado é considerado uma savana neotropical apresentando como o segundo maior em riqueza florística do Brasil. A área abrange os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhã, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal, além disso, incorpora áreas dos territórios da Bolívia, Paraguai e Argentina. (Menezes Filho et al., 2019).Isso garante ao Tocantins a presença endêmica de uma flora predominantemente de árvores de médio porte, com troncos grossos e tortuosos, como é o caso da *Cariniana estrellensis*(jequitibá-branco) na região do Tocantins. Esta contém Folhas alternas, simples, elípticas, ápice acuminado, margens serreadas, de 5 a 12 cm de comprimento e 3 a 6 cm de largura, com pecíolo levemente alado. Flores brancas, com cerca de 7 mm de comprimento. Apresenta fruto cápsula cilíndrica, lisa, com bordo apical provido de espinhos, do tipo pixidio, de 5 a 9 cm de comprimento, com sementes aladas. Cada fruto contém 20 a 35 sementes.O fruto é de decomposição lenta, uma vez caído no solo. Sementes de cor castanha, com a testa expandida em asa membranácea, até 4cm de comprimento e núcleo seminal basal mais ou menos piriforme com 1,2cm de comprimento e 0,6cm de largura. O que lhe confere grande resistência ao clima da região, bem como aos predadores.

Os metabolitos secundários, em especial os flavonoides, são responsáveis pelo crescimento, desenvolvimento, aumento da resistência das plantas a condições adversas e proteção contra herbívoros e patógenos (Prado, 2009), também apresentam funcionalidade biológica na saúde humana. Os flavonoides atuam eliminando espécies reativas oxidantes, como ânion superóxido, hidroxilas, e radical peroxila (Hassimoto et al, 2005), bem como, sequestrando quelantes de metais capazes de catalisar a peroxidação de lipídeos (Huber; Rodriguez-Amaia, 2008), sendo sua capacidade antioxidante determinada pelas características estruturais de substituições nos anéis B e C (Balasundram; Samman, 2006); o número e a posição dos grupos de hidrogênio e suas conjugações; e a presença de elétrons nos anéis benzênicos (Rockenbach, 2008; Rees; Dodd; Spencer, 2018; Maleki;Crespo; Cabanillas, 2019).

Ainda no grupo dos polifenóis, os taninos são compostos com capacidade de formar precipitados com as proteínas, ligando-se por pontes de hidrogênio, fornecendo importante estabilidade a elas. Devido a esta propriedade, exercem um efeito antimicrobiano, antifúngico e fungistático observados em extratos, suas frações tanto em ensaios em humanos, animais e em frutíferas (Monteiro et al., 2005; Zhu et al., 2019).

Cumarinas são relacionadas a efeitos antitrombóticos, anti-inflamatórios e expectorantes, tendo a Varfarina (estrutura modificada da cumarina) comercializada como um anticoagulante oral, inibidor da vitamina K, cujo papel é essencial na síntese de fatores da cascata de coagulação. Além disso, estudos têm apontado efeito anticarcinogênico das cumarinas (Rufatto et al., 2013). Associam-se ainda às cumarinas atividades inibitórias principalmente no crescimento de várias linhagens de células tumorais de mama, em modelos *in vivo* (Panno e Giordano, 2014; Yerer et al., 2020).

As saponinas apresentam propriedade biológicas importantes tanto em humanos quanto para os animais, tendo sido relatados efeitos estimulantes do sistema imunológico, efeitos no metabolismo do colesterol, atividade hipoglicemiante, efeitos neuroprotetores, antioxidantes, antivirais, antibacterianos e antifúngicos, bem como propriedades anticarcinogênicas (Cragg et al., 2014; Ma et al., 2017).

As plantas medicinais estão dentre os produtos naturais de grande interesse científico devido à possibilidade de empregá-las no tratamento, cura e prevenção de doenças e por proporcionarem grandes chances de se obter moléculas protótipos devido a diversidade de seus constituintes (Soares et al., 2017).

A biodiversidade do Cerrado oferece diversos recursos naturais que são primorosamente manejados por suas populações para a prática da medicina popular (Leite; Camargos; Castilho, 2021). De acordo com Firmo et al. (2011), uma planta que passa a exercer uma ação terapêutica ao ser administrada no homem ou animal, por qualquer via ou forma farmacêutica, é denominada de fitoterápica.

Levando em consideração o uso de plantas para fins terapêuticos sem o devido conhecimento, objetivou-se averiguar neste estudo, os possíveis potenciais biológicos dos extratos a partir do órgão foliar de *Cariniana estrellensis*, sobre a fitoquímica e sua atividade antioxidante.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta, preparo e identificação do material botânico

As folhas de *C. estrellensis*, foram obtidas na cidade de Palmas, capital do Tocantins, os exemplares estão depositados no Herbário da Universidade Federal do Tocantins (27713). Inicialmente, as folhas foram secas em estufa de secagem à temperatura de 45º C e em seguida, pulverizadas em moinho de facas (Fortinox, Mod. Start FT 50). O pó obtido foi armazenado em frasco de vidro e mantido em temperatura ambiente ao abrigo da luz e umidade, conforme porporto pot Al-Marby et al. (2016).

Preparo dos extratos das folhas

Para o preparo dos extratos, foram utilizados 15 g do pó de folhas secas. Foi utilizado sistema de Soxhlet com tempo pré-determinado de 4 h, usando três processos de extração por solventes. Primeiramente, foi realizada uma extração com etanol (P.A.) (à temperatura de ebulição do solvente, resultando no extrato (E). No segundo processo, foi realizado com *n*-hexano (P.A.) como solvente, resultando no extrato (H), e na terceira extração, com metanol (P.A.) como solvente, resultando no extrato (M).

A triagem fitoquímica, foi realizada para as classes de compostos presentes nos extratos E, H e M. Os métodos ensaiados seguiram conforme descrito por Matos et al. (1997), com base em reações colorimétricas e de precipitação.

Os compostos fenólicos totais foram quantificados pelo método colorimétrico utilizando reagente de *Folin-Ciocalteu* em conjunto com o método de precipitação da caseína, conforme descrito por Amorim et al. (2008), modificado. Para quantificar o conteúdo de fenólicos totais, soluções metanólicas contendo uma alíquota de (0,2 mL) de extratos de *C. estrellensis* (0,25 mg mL^{-1}) (p/v), e como padrão ácido gálico entre as concentrações (3-100 µg mL^{-1}) (p/v), onde foram acrescidas com reagente *Folin-Ciocalteu* na concentração 10% (v/v) (0,5 mL^{-1}), seguido de homogeneização por 5 min. Após esse período, foi adicionada uma solução aquosa de carbonato de sódio concentração 7,5% (p/v) (1 mL) e 8,3 mL de água purificada em sistema de gradiente purificador Millipore® Milli-Q (água Milli-Q).

A mistura foi homogeneizada suavemente e mantida durante 30 min. no escuro. A absorbância foi medida em 760 nm usando espectrofotômetro UV-*Vis* (Biospectro, Mod. SP-220). O conteúdo de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras em uma curva de calibração construída com diferentes concentrações de ácido gálico em metanol (y = 1,3631x + 0,0213, R^2 ajustado = 0,962). O resultado foi expresso como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato de *C. estrellensis* (mg EAG 100 g^{-1} de extrato seco).

A determinação dos flavonoides totais foi realizado conforme descrito por Soares et al. (2014), modificado. Resumidamente, as reações foram realizadas em triplicata, adicionando-se 0,5 mL de soluções metanólicas do extrato (0,25 mg mL^{-1}) (p/v) ou padrão entre 8-400 µg mL^{-1} (p/v) com uma solução aquosa contendo ácido acético 60% (v/v) e solução metanólica de piridina 20% (p/v) na proporção (500 µL : 2 mL), seguido de 1 mL de uma solução aquosa de cloreto de alumínio 5% (p/v), e 6 mL de água Milli-Q. O branco foi composto por todos os componentes da reação com o extrato ou padrão e substituindo o cloreto de alumínio por metanol. Esta solução foi agitada suavemente, e mantida por 30 min. no escuro. Logo em seguida, sua absorbância foi medida em 420 nm em espectrofotômetro UV-*Vis* . O conteúdo total de flavonoides foi determinado pela interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração (y = 1,3336x + 0,0078, R^2 ajustado = 0,9999) construída com diferentes concentrações do padrão de rutina, e expressa em miligramas equivalentes expresso em rutina (ER) por grama de extrato seco (mg ER 100 g^{-1} extrato seco). O ensaio foi realizado em triplicata.

A determinação das cumarinas totais, foi realizada utilizando a metodologia descrita por Osório e Martins (2004), modificada. Os procedimentos foram iniciados com a transferência de 0,25 mL de extrato diluído na concentração de 1 mg mL^{-1}, 1 mL de água destilada e 0,25 µL de uma solução aquosa de acetato de chumbo a 5% em tubos de ensaios. Em seguida, as amostras foram agitadas e acrescidas com 4 mL de água destilada. Desta solução, foram transferidos 1 mL para novos tubos de ensaios, adicionados com 4 mL de uma solução aquosa de ácido clorídrico a 1M. As amostras permaneceram em repouso por 30 min. em câmara escura sob temperatura ambiente. A absorbância foi medida em 320 nm. Como branco, foi utilizado água destilada. Para a curva de calibração (alíquotas entre 25-250 µL) será utilizada uma solução padrão de cumarina (Sigma-Aldrich) com todos os reagentes já citados anteriormente, aferindo-se o volume final para 10 mL com água destilada. A solução controle de cumarina foi de 1 mg mL^{-1}. As concentrações finais de cumarina foram entre 0,5-5,0 µg mL^{-1}. O ensaio foi realizado em triplicata. O teor de cumarinas

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

totais foi expresso em miligramas equivalente de cumarina por grama de extrato (mg EC 100 g^{-1} extrato seco).

Para a determinação da capacidade antioxidante, foi utilizado o método de redução do radical livre DPPH (1,1-diphenil-2-picril-hidrazil), descrita por Peixoto Sobrinho et al. (2011), modificado. Em 1,5 mL a partir de uma solução estoque de DPPH cocnentração 40 µg mL^{-1} em metanol, foi diluída com 0,25 mL de cada amostra de extrato seco. Após 30 min. em câmara escura, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-*Vis* em 517 nm. Como padrão foi utilizado solução de ácido ascórbico concentração 20 µg mL^{-1} em metanol. Os resultados foram expressos conforme equação:

$$AA(\%) = \left[\left(A0 - \left(\frac{As - Ablank}{Ao}\right)\right] x100 \qquad 1$$

Onde:

AA = a atividade antioxidante,
A_s corresponde a absorbância da amostra,
A_{branco} corresponde a absorbância do branco,
A_0 corresponde a absorbância de 40 µg mL^{-1} DPPH (estoque).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

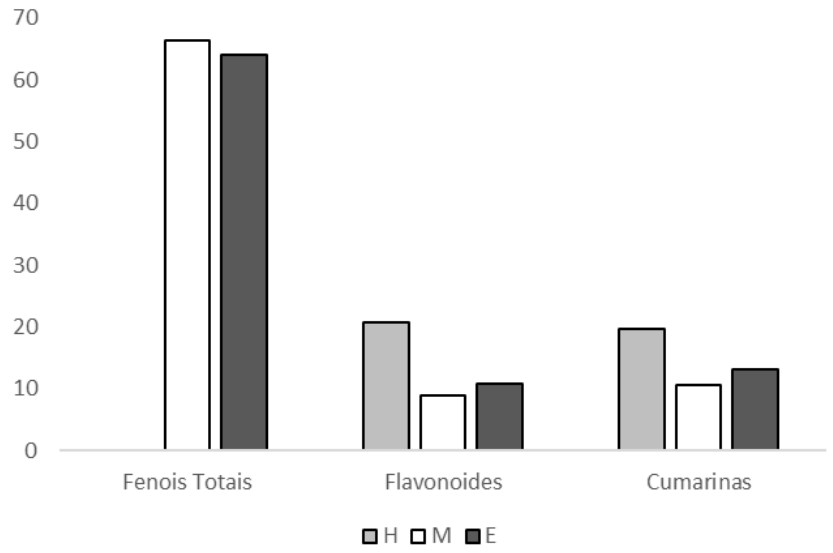
Alguns estudos têm demonstrado a presença de taninos nas folhas de *C. estrellensis* como responsáveis pela atividade farmacológica desta espécie de acordo com os efeitos observados em ensaios com moléculas isoladas (Lima-Neto et al., 2015) no entanto, os compostos fenólicos ainda não foram bem documentados nesse Táxon. Talvez porque os metabólitos secundários se liguem competitivamente para alguns solventes durante o processo de extração devido ao diferencial de polaridade entre a fitomolécula e o solvente. Neste estudo, o processo de extração favoreceu a extração de outros compostos fenólicos e cumarínicos. Os compostos fenólicos, em particular os flavonoides, são considerados antioxidantes mais efetivos quando comparados a vitamina C e aos carotenoides, por possuírem estruturas ideais para o sequestro de radicais, reduzindo estes do meio intra e extracelular (Barreiros; David; David, 2006; Rockenbach et al., 2008; Granato et al., 2018).

Os resultados obtidos através dos testes fitoquímicos na determinação do teor quantitativo de fenóis totais, flavonoides e cumarinas estão descritos na tabela 1 e figura 1.

Tabela 1 - Relação do teor de compotos fenólicos totais, flavonoides e cumarinas nos extratos a partir do órgão foliar de *Cariniana estrellensis*

Extrato	Fenóis totais*	D.P.	Flavonoides**	D.P.	Cumarinas***	D.P.
E	64,9	0,40	10,68	0,21	13,21	0,73
H	1,2	0,07	20,68	0,98	19,71	0,73
M	66,29	0,21	8,98	0,47	10,52	0,87

E (extrato etanólico); H (extrato hexânico); M (extrato metanólico). * mg EAG 100 g^{-1}. ** mg RE 100 g^{-1}. *** mg EC 100 g^{-1}. D.P = desvio padrão.



Legenda: E (extrato etanólico); H (extrato hexânico); M (extrato metanólico)

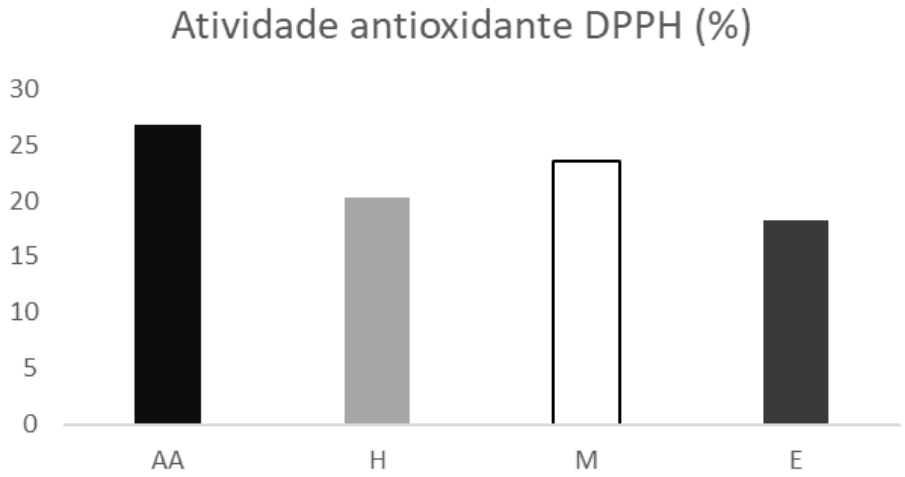
Figura 1 – Relação percentual entre os teores de fenólicos totais, flavonoides, cumarinas em concentração de extrato por mg EAG 100 g^{-1}; mg ER 100 g^{-1}, e mg EC 100 g^{-1} respectivamente

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

Dentro dos fenóis totais os extratos etanólico e metanólico possuem teor quantitativo similar ao de *Cariniana domestica* (Janovik, 2011), desta forma é possível entender a vasta quantidade de metabólitos secundários presentes em *C. Estrellensis* uma vez que o teor de flavonoides e cumarinas compreendem cerca de 37% dos fenóis totais. Um percentual importante de compostos secundários antioxidantes, tendo em vista que, segundo Corrêa (2015) existe claramente um interesse atual no desenvolvimento de moléculas com alta atividade antioxidante como candidatos potenciais no desenvolvimento de novos fármacos a serem adotadas sobre patologias envolvidas com moléculas reativas, e as cumarinas que se destacam também como antioxidantes promissores com interesse farmacológico.

A variação entre o percentual de atividade antioxidante dos extratos se deve aos diferentes solventes utilizados durante o processo de extração, mesmo que pequena, ainda se mostram próximas à do ácido ascórbico (Figura 2). Corroborando com a afirmação acima, Duarte-Almeida et al. (2006) demonstram em estudo, utilizando o método de sequestro do radical livre DPPH, em que, a atividade antioxidante obtida pelo ácido ascórbico é entre 20-30%, com faixa percentual de redução próximo ao do extrato folair metanólico de *C. Estrellensis*. A efeito de comparação, segundo Pasquini-Netto (2012) o extrato bruto etanólico do Taxón *Pterogyne nitens* apresenta importante potencial de ação contra espécies reativas oxidativas, notadamente, frente a radicais livres e ácido hipocloroso (HOCl). Entretanto, a despeito desta atividade, também foi constatado um potencial lesivo às células, revelado pela lise de eritrócitos, possivelmente há a presença de saponinas hemolíticas. Diferente da *C. estrellensis*, que possui um excelente efeito antioxidante e, ao mesmo tempo, seus extratos não evidenciaram riscos à saúde.

Na figura 2, estão apresentados os resultados da atividade antioxidante promovida pelos extratos foliares de *C. estrellensis* na redução do radical livre modelo DPPH.



Legenda: (AA) atividade antioxidante do padrã, em (H) extrato hexânico, em (M) extrato metanólico, e em (E) extrato etanólico

Figura 2 - Atividade antioxidante na redução do radical livre DPPH promovida pelos extratos foliar de *Cariniana estrellensis*

A avaliação do teor quantitativo dos metabólitos secundários dos extratos a partir do material foliar de *C. estrellensis* apresentaram resultados satisfatórios sobre a atividade de redução do radical livre DPPH, revelando que esse órgão aéreo são uma fonte potencial de compostos com propriedades farmacológicas. Sendo necessário ressaltar em novos estudos, possíveis compostos em outros extratos com diferentes solventes para *C. estrellensis*, como aquoso ou outras estruturas além das folhas, ainda torna-se necessário, conhecer as estruturas químicas das fitomoléculas que constituem esses extratos através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) comparando com padrões específicos.

CONCLUSÕES

A partir do exposto, fica claro o potencial fitoquímico da Cariniana *estrellensis* na produção de fenois totais (em especial flavonoides e cumarinas) ,corroborando a ação antioxidante observada nos extratos (principamente metanólico) do órgão aéreo foliar da planta a partir da

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

comparação com o ácido ascórbico através do método de sequestro de radicais livres (DPPH). Ficando , assim, evidente o potencial citoprotetor do extrato da *C. estrellensis* e a possibilidade da continuidade do estudo para a comprovação ou não da ação antioxidante em extratos aquosos. O que facilitaria a prática do uso de extratos fitoterápicos do jequitibá-branco pela população com fins preventivos e terapêuticos.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Faculdade ITPAC/Palmas pelo suporte financeiro e ao Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN-UFT) pelo uso de equipamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abe LT. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *vinis vinifera* L. Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, v.27, n.2, p.394-400, abr.-jun, 2007.

Abrahão AS, Pereira GFA, Duarte SMS, Lima AR, Avvarenga DJ. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 34, n. 2, p. 414-420, mar./abr., 2010.

Al-Marby A, Ejike CE, Nasim MJ, Awadh ANA, Al-badani RA, Alghamdi GM, Jacob C. Nematicidal and antimicrobial activities of methanol extracts of 17 plants, of importance in ethnopharmacology, obtained from the Arabian Peninsula. J. Intercult. Ethnopharmacol. v.5, n.2, p.114-121, 2016.

Alves LF. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. Revista Virtual de Química. v. 5, n. 3, p. 450-513, 2013.

Amorim ELC, Nascimento JE, Monteiro JM, Peixoto-Sobrinho TJS, Araújo TAS, Alburquerque UP (2008). A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. Func. Ecosyst. Commun. v.2, n.1, p.68-74.

Amorozo, MCM, Gély AL. Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas. Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi., Ser. Bot. v.4, n.1, p.47-131, 1988.

Amorozo, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. Acta Bot. Bras. v.16, n.2, p.189-203, 2002.

Balasundram N, Sundram K, Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, v.99, n.1 , 191-203. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042

Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre a geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quimica Nova, São paulo, v.29, n.1,p.113-123, 2006.

Bresolin TMB, Cechinel Filho V. Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar. São Paulo: Santos. 2010. 416 p.

Calixto JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. Ciência e Cultura, câncer HeLa cells. PloS One, v.9, n. 8, 2014.

Cobalto C. What phytotherapy needs: Evidence-base guidelines for better clinical practice. Phytotherapy Research, v. 32, n.3, p. 413-425, 2018.https://doi.org/10.1002/ptr.5977

Cordeiro JMP, Félix LP. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. Rev. Bras. Pl. Med. v.16, n.3, p.685-692, 2014.

Corrêa BDA. Síntese e avaliação do potencial antioxidante de cumarinas funcionalizadas com selênio, Dep. de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2015. https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/166956

Cragg GM, Grothaus PG, Newman DJ. New horizons for old drugs and drug leads. Journal of Natural Products, v. 77, n. 3, p. 703–23, 2014.

Cragg GM, Grothaus PG, Newman DJ. New horizons for old drugs and drug leads. Journal of Natural Products, v. 77, n. 3, p. 703–23, 2014.

Da Silva CB, Silva KB, Oliveira EL Soares VF, Costa JG, Santos AF. (2017). A importância da ação antioxidante de óleos essenciais em benefício da saúde. Diversitas Journal, v.2, n.1, p.52-55. https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v2i4.483

Duarte MCT. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Revista Multiciência, v.7, p.1-16, 2006.

Duarte-Almeida JM. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema b-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. Ciênc. Tecnol. Aliment. v.26. n.2. Campinas abr./jun. 2006.

Ferro D. Fitoterapia: conceitos clínicos. São Paulo: Atheneu, 2006. 502 p.

Ferronato R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.17, n.2, p.224-230, Abr./Jun. 2007

Firmo W, Menezes VDEJM, Passos CE, Dias CN, Alves LPL, Dias ICL, Neto MS, OLEA RSG. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Cadernos de Pesquisas (UFMA). São Luís, v. 18, n. especial, dez. 2011. Disponível em . Acesso em 20 fev. 2014.

França ISX, Souza JÁ, Baptista RS, Britto VRS. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. Rev. Bras. Enferm. v.61, n.2, p.201-8, 2008.

Granato D, Shahidi, F, Wrolstad, R, Kilmartin P, Melton, LD, Hidalgo FJ. et al. Antoixidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban *in vitro* screening methods? Food Chemistry, v.264, p.471-475, 2018. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.012

Hassimotto NMA, Genovese MI, Lajolo FM. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

fruit pulps. Journal Agriculture and Food Chemistry, n.53, p.2928-2935, 2005

Huber LS. Flavonóis e flavonas: Fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. Alim. Nutr. ISSN 0103-4235, Araraquara, v.19, n.1, p.97-108, jan./mar. 2008

Janovik V. Avaliação química e atividade antioxidante das cascas de Cariniana doméstica. Dissertação de Mestrado (UFSM-RS). Manancial, repositório digital da UFSM, 2011.

Jirschitzka J. A biossíntese do alcalóide tropano vegetal evoluiu independentemente nas Solanaceae e Erythroxylaceae; PNAS, 05/2012

Leite PM, Camargos LM, Castilho RO. Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. European Journal of Integrative Medicine, v. 41, 2021. https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101270

Lima Neto GA. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1069-1077, 2015.

Ma ZN, Li YZ, Li W, Yan XT, Yang G, Zhang. J.; Zhao LC, Yang LM. Nephroprotective effects of saponins from leaves of *Panax quinquefolius* against cisplatin-induced acute kidney injury. International Journal of Molecular Sciences, v. 18, n. 7, 2017. https://doi.org/10.3390/ijms18071407

Maleki SJ, Crespo JF, Cabanillas B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. Food Chemistry, v. 299, 2019. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124

Matos FJA. (1997). Introdução à fitoquímica experimental. (2a. ed.) Fortaleza: EUFC

Menezes Filho ACP, Sousa WC, Castro CFS. Atividades antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais de *Cochlospermum regium* frente à *Sclerotinia esclerotiorum* e *Colletotrichum gloesoporioides*. Colloquium Agrariae, v.16, n. 1, p.109-116, 2020.http://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/3113

Menezes Filho ACP, Sousa WC, Souza LF, Castro CFS. Composição química do óleo essencial das flores de *Myrcia guianensis* (Aubl.) DC. Revista Cubana de Plantas Medicinales, v. 24, n. 4, p. e892, 2019.http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/892/410

Monteiro RA, Coutinho JG, Recine E. Consulta aos rótulos de alimentos e bebidas por frequentadores de supermercados em Brasília, Brasil. Rev Panam Salud Publica. 2005. v.18, n.3, p.172–77.

Osório, A.C.; Martins, J.L.S. Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Brazilian Journal of Pharmaceutical Science, v. 40, n.4 p.481-486, 2004.

Panno M, Giordano F. Departamento de Farmácia, Saúde e Ciências da Nutrição, Universidade da Calábria, Arcavacata di Rende, CS 87036, Itália, 2014.

Pasquini-Netto H. Avaliação das atividades antioxidante, anti e pró-hemolítica do extrato etanólico das folhas de Pterogyne nitens Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae). Rev. bras. Plantas Med., Botucatu , v.14, n.4, p.666-672, 2012

Peixoto-Sobrinho TJDS, Castro VTNA, Saraiva AM, Almeida DM, Tavares EA, Amorim ELC (2011). Phenolic content and antioxidant capacity of four *Cnidoscolus species* (Euphorbiaceae) used as ethnopharmacologicals in Caatinga, Brazil. Afr. J. Pharm. Pharmacol. v.5, n.20, p.2310-2316.

Prado A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. 2009. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2009.

Rees A, Dodd GF, Spencer JPE. The effects of flavonoids on cardiovascular health: A review of human intervention trials and implications for cerebrovascular function. Nutrients, v.10, n.12, p.1-20, 2018. https://doi.org/10.3390/nu10121852

Rockenbach II, Rodrigues E, Cataneo C, Gonzaga, V, Lima A, Mancini-Filho J, Fett R. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis peruviana* L. Alimentos e Nutrição, v.19, n.3, p.271-276, 2008.

Rockenback II. Compostos fenólicos, ácidos graxos e capacidade antioxidante do bagaço da vinificação de uvas tintas. Centro de Ciencias Agrárias, Universidade Federal de Santa Cataria; Florianópolis, 2012.

Rufatto LC, Finimundy M, Ely R, Moura S. *Mikania laevigata*: chemical characterization and selective cytotoxicactivity of extracts on tumor cell lines. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology, v.20, n.10, p.883- 889, 2013.

Saurabh P, Manila B, Niraj T, Sonal P, Bansal YK. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, v.9, n.3, p.293-304, 2015.

Shohaib T, Shafique M, Dhanya N, Divakar MC. Importance of flavonoides in therapeutics. Hygeia: Journal for Drugs and Medicines, v.3, n.1. p.1-18, 2011.

Silva FS, Albuquerque UP, Júnior LMC, Lima AS, Nascimento ALB, Monteiro JM. An ethnopharmacological assessment of the use of plants against parasitic diseases in humans and animals. Journal of Ethnopharmacology, v.155, n.2, p.1332-1341, 2014. https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.036

Soares IM, Bastos EGP, Peixoto-Sobrinho TJDS, alvim TC, Silveira MA, Aguiar RWS, Ascêncio SD (2014). Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares 41 de *Ipomoea batatas* (L.) lam. obtidas por melhoramento genético para produção industrial de etanol. Rev. Cienc. Farm. Básica Appl. v.35, n.3, p.479-488.

Turner FJ, Werhoogen J. Igneous and metamorphic petrology. 20ª ed., McGraw-Hill, 694 p., 1960.

Viegas C. Os produtos naturais e a química medicinal moderna, Quím. Nova. v.29, n.2 São Paulo. Mar./Apr. 2006

Yerer MB, Dayan S, Han MI, Sharma A, Tuli HS, SAK K. Nanoformulations of coumrins and the hybrid molecules of coumarins with potential anticancer effects. Anti-Cancer Agents i Medicinal Chemistry, v.20, n.15, p.1797-1816,

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

2020.
https://doi.org/10.2174/1871520620666200310094646

Zaynab M, Fatima M, Abbas S, Sharif Y, Umair M, Zafar MH, Bahadar K. Role of seconderay metabolites in plant defense against pathogens. Microbial Pathogenesis, v.124, p.198-202, 2018.
https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034

Zhu C, Lei M, Andargie M, Zeng J, Li J. Antifungal activity and mechanism of action of tannic against *Penicillium digitatum*. Physiological and Molecular Plant Pathology, v.107, p.46-50, 2019.
https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.04.009

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.ribeiro

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Relevance of leaf morphology and biometrics: a study with species of *Aphelandra* R. Br. *(Acanthaceae)*

Livia Zottele[a], *Elisa Mitsuko Aoyama*[a], *Alexandre Indriunas*[a]

[a] Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Brasil
[b] Universidade Federal do Rio do Janeiro, Brasil

[*] Autor correspondente (aleindri@gmail.com)

INFO

Keyworks
blade
leaf structure
variegation

ABSTRACT

Morphological characteristics, as well as biometrics, govern the description of species. However, systematical comparative analyzes of these aspects between taxa are scarce. The aim of the work was to evaluate the relevance of these characteristics in species of *Aphelandra*. Leaves of *A. longiflora*, *A. harleyi*, *A. espirito-santensis*, *A. nitida*, A. *sinclairiana* and *A. squarosa* were collected and analyzed for morphologic patterns: phyllotaxis, texture, leaf blade form, symmetry, apex, base, margin, venation and coloring pattern; and for biometric parameters: total length, length and width of the leaf blade, length and diameter of the petiole. We calculated mean and standard deviations. Among the relevant morphological patterns are the shape of the blade, apex and base, and the biometric data showed differences. As conclusion, this analysis proposal proves to be an instrument of accuracy and detail for descriptions.

Palavras-chaves
estrutura foliar
limbo
variegação

RESUMO

Relevância da morfologia e biometria foliar: um estudo com espécies de Aphelandra *R. Br. (Acanthaceae).* Características morfológicas, assim como biométricas, regem a descrição de espécies. Mas, análises comparativas sistemáticas desses aspectos entre táxons são escassas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a relevância dessas características em espécies de *Aphelandra*. Foram coletadas folhas de *A. longiflora*, *A. harleyi*, *A. espirito-santensis*, *A. nitida*, *A. sinclairiana* e *A. squarosa* e analisados quanto a morfologia: a filotaxia, textura, forma do limbo, simetria, ápice, base, margem, venação e padrão de coloração; e como parâmetros biométricos: comprimento total, comprimento e largura do limbo e comprimento e diâmetro do pecíolo; foram utilizados a média e o desvio padrão. Dentre os padrões morfológicos relevantes encontram-se a forma do limbo, ápice e base e, os dados biométricos apresentaram diferenças. Conclui-se que essa proposta de análise se prova um instrumento de acuidade e detalhamento para descrições.

Received 13 April 2021; Received in revised from 30 April 2021; Accepted 19 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.zottele

INTRODUCTION

Although plant taxonomic descriptions are predominantly morphological and also offer measurements indicating the dimensions of the structures presented, taxa comparative morphological and biometric approaches are scarce. This type of approach, in addition to giving more accuracy to taxa descriptions, can provide information and data usable for studies from autoecology to landscape ecology, and may also be of interest for cultivation (Stuessy, 2009).

Within Acanthaceae there are studies that evaluate leaf morphological aspects such as for species of *Justicia* L. (Aoyama and Indriunas, 2013) and *Megaskepasma erythrochlamys* Lindau (Jesus et al., 2020). However, addressing biometrics, these are restricted to reproductive structures such as in the work of Aoyama et al. (2015) on the morphology of mature fruits and seeds of *Justicia scheidweileri* V.A.W. Graham and, as well, in *Ruellia furcata* (Nees) Lindau (Monteiro et al., 2020), exclusively on seeds' morphology, we can cite the work with of *Ruellia* L. from an Atlantic Forest region of southeastern Brazil (Azevedo and Braz, 2018), of the Ruellieae tribe in Brazil (Azevedo and Moraes, 2020) and *Ruellia elegans* Poir seeds (Indriunas and Aoyama, 2020).

The genus *Aphelandra* R.Br. comprises shrubs or suffrutescent herbs; belong to Acanthaceae (ca. 3500 species) and include approximately 230 species of Neotropical distribution, ranging from southern Mexico to northern Argentina and Brazil, with some species being found also in western India (Wasshausen, 1975, 2013; Profice and Andreata, 2011).

Since the morphological characteristics and biometric data are scarcely explored, the present guiding question of the study is whether these aspects are relevant in *Aphelandra*. The present study aims to analyze the leaf morphological characteristics of *Aphelandra* species.

MATERIAL AND METHODS

Aphelandra species were sampled from October 2013 to August 2014. The selected species were *Aphelandra longiflora* (Lindl.) Profice, *A. harleyi* Wassh., *A. espirito-santensis* Profice & Wassh., collected in the Reserva Natural Vale (RNV), which is located in the city of Linhares, State of Espírito Santo; *A. nitida* Ness & Mart. collected in Liberdade, a neighbourhood of the city of São Mateus, State of Espírito Santo; *A. sinclairiana* Nees ex Benth., collected at the Museu de Biologia Prof. Mello Leitão, located in the city of Santa Teresa and *A. squarosa* Ness, obtained from cultivated specimens to also use in the comparisons. We sampled 20 adult leaves from the third node of each species to carry the morphological and biometric analyses.

Botanical identifications counted with the expertise of specialists from the Reserva Natural Vale and the Universidade Federal do Espírito Santo. Vouchers were deposited at the CRVD herbarium (Reserva Natural Vale), the VIES herbarium (Universidade Federal do Espírito Santo) and the MBML herbarium (Museu de Biologia Professor Mello Leitão).

Morphological characters of the leaves such as phyllotaxis, texture, leaf blade form, symmetry, apex, base, margin, venation and coloring pattern were described using the terminology proposed by Hickey (1973) and Ellis et al. (2009). For the biometrical analyses we evaluated the following parameters: total length, length and width of the leaf blade, length and diameter of the petiole, all using a graded centimetre rule and a digital pachymetre. We calculated mean and standard deviations to all quantitative data.

RESULTS AND DISCUSSION

Similarly to most Acanthaceae species, *Aphelandra* leaves exhibit oposite decussate phyllotaxis, according to Bell and Bryan (2008, p. 262) "when sucessive pairs are oriented at 90º to each other, four rows of leaves will be visible from above", a typical pattern for the family, corroborating Wasshausen (1975). From the six species analyzed (Fig. 1-24), all exhibit a symmetrical lead base, except for *A. squarrosa*, where it is asymmetrical. All species have a smooth texture, except for *A. squarrosa*, in which it is cartaceous. Leaf margins and venation was equal to all species, with entire margins and the camptodromous-brachidodromous venation, a pattern in which the secondary veins get together forming a series of prominent arcs (Fig. 7-12).

Regarding the leaf blade form, apex and base, there was variation among the species. *A. longiflora*, *A. harleyi*, *A. nitida*, and *A. sinclairiana* have elliptical blades (Fig. 1, 2, 4, 5), while *A. espirito-santensis* and *A. squarrosa* exhibit ovate to elliptical blades (Fig. 3, 6, 9, 12). Regarding the apex, *A. longiflora* and *A. harleyi* have acuminate (Fig. 13, 14); *A. espirito-santensis* obtuse (Fig. 15), *A. nitida* and *A. squarrosa* acute (Fig. 16, 18) and *A. sinclairiana* have attenuated apexes (Fig. 17). This same variation of apex form was observed also by Profice and Andreata (2011) to *Aphelandra* species of curve-billabiate corollas and Profice

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.zottele

(1990/92) to *Aphelandra* of Rio de Janeiro. Regarding the leaf base, five species have decurrent leaf bases (Fig. 19, 20, 22, 23, 24), except for *A. espirito-santensis*, which has a cordate leaf base (Fig. 21).

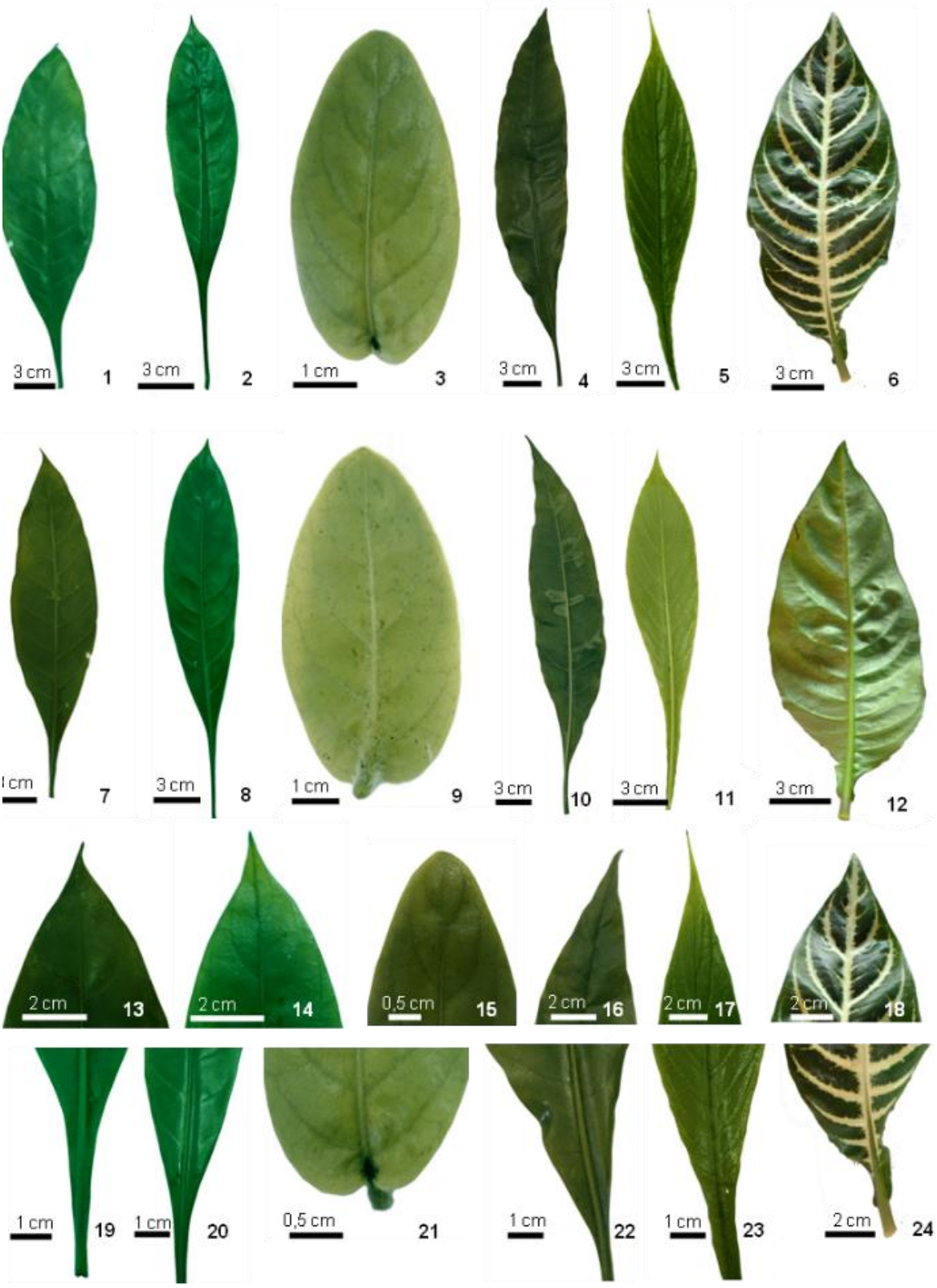


Figure 1-24 - Morphological aspects of the leaves of *Aphelandra*. 1-6 Adaxial face; 7-12 Abaxial face; 13-18 Detail of apex; 19-24 Detail of base. 1, 7, 13, 19 *A. longiflora*; 2, 8, 14, 20 *A. harleyi*; 3, 9, 15, 21 *A. espirito-santensis*; 4, 10, 16, 22 *A. nitida*; 5, 11, 17, 23 *A. sinclairiana*; 6, 12, 18, 24 *A. squarrosa*.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.zottele

According to Profice and Andreata (2011) the form and size of the leaf blade varies intraspecifically and is of minor taxonomic utility. Leaf blade variation depends on the genetic intraspecific variability and environmental factors. According since the classic work of Hickey and Wolfe (1975) about 75 to 90% of the leaves from tropical forests exhibit entire margins, consistent to what we observed in the six species of *Aphelandra*. According to Profice and Andreata (2011), leaf texture of *Aphelandra* varies from cartaceous to smooth. Several studies with Acanthaceae also describe the leaves in the family as smooth, as observed by Braz et al. (2002) in *Aphelandra* (= *Geissomeria* Lindley), *Ruellia* L., and in the genus *Justicia* L. (Oliveira and Andrade, 2000). Regarding the leaf venation, all species analyzed exhibit the same camptodromous-brachidodromous venation, as observed from the species from Rio de Janeiro (Profice 1990/92). This is a common pattern in the family, as has been noted by Aoyama and Indriunas (2013) for *Justicia* species. The species have a coloration ranging from dark olive in *A. longiflora*, *A. harleyi*, *A. nitida* and *A. squarrosa*, to light olive in *A. espirto-santensis* and *A. sinclairiana*, all with a lighter abaxial surface colours (Fig. 1-6). According to Wasshausen (1975) this type of coloration is common in species of this genus. *A. squarrosa* has variegated leaves, with leaf veins strongly marked by a whitish colour (Fig. 6).

Regarding the biometric data, *A. espirito-santensis* exhibited higher differences (Table 1) when compared to the others, with relatively small leaves, a distinctive character when compared to the other studied species. These biometric differences may be attributed to the herbaceous to reptant stem this species has (Profice and Wasshausen, 1993). This taxon deserves special attention, since it is endemic to the Reserva Natural Vale (Profice and Wasshausen, 1993).

Table 1 - Biometric parameters of the leaves of *Aphelandra* R. Br.

Species	Total length (cm)	Length - blade (cm)	Width - blade (cm)	Length - petiole (cm)	Diameter – petiole (mm)
A. longiflora	21.55 ± 3.88	19.31 ± 0.78	4.76 ± 0.89	1.92 ± 0.68	2.48 ± 0.61
A. harleyi	16.35 ± 1.66	15.5 ± 0.39	4.64 ± 0.95	1.75 ± 0.62	2.19 ± 0.42
A. espirito-santensis	5.10 ± 0.70	4.20 ± 0.74	2.88 ± 0.42	0.87 ± 0.38	0.59 ± 0.31
A. nitida	30.97 ± 3.76	27.71 ± 3.40	7.13 ± 1.53	3.87 ± 2.3	3.27 ± 0.29
A. sinclairiana	18.55 ± 2.33	17.21 ± 2.54	4.32 ± 0.41	1.35 ± 0.28	1.69 ± 0.16
A. squarrosa	15.64 ± 3.07	13.82 ± 3.21	6.69 ± 1.69	1.64 ± 0.60	3.34 ± 0.65

A. nitida has also shown biometric variations when compared to the other species, with the highest averages to all leaf parameter analyzed, which may be an environmental response, since this species occurs in a low light insulation conditions within the Atlantic rain forest. According to Martin et al. (2020) specimens occurring in places of high solar incidence exhibit shorter leaves, since they tend to be thicker than those growing under low solar incidence. Monteiro and Aoyama (2012) have also reported biometric differences in *Ruellia furcata*, with variations between specimens collected under shadows and bushes of higher insulation.

CONCLUSIONS

The most relevant morphological variations are the shape of the blade, the apex and the base and the biometric data point out differences between the analyzed species. Among them, *A. espirito-santensis* is the one that showed the most distinct results, since this taxon has a reptant habit and the others are subshrubs. Thus, the proposed question proves to be an instrument of greater accuracy and detailing for descriptions.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.zottele

ACKNOWLEDGMENTS

In the Reserva Natural Vale and to Museu de Biologia Professor Mello Leitão, at given way to realization of part of the collections made. The Geovane de Souza Siqueira curator of the herbarium CVRD, which contributed immensely to identifying, locating and gathering of species.

REFERENCES

Aoyama EM, Indriunas A. Morfoanatomia foliar de três espécies de *Justicia* L. (Acanthaceae). Enciclopédia Biosfera, v.9, p.2833-2844, 2013.

Aoyama EM, Indriunas A, Vitoria EL, Monteiro MM. Caracterização morfológica de frutos e sementes maduros de *Justicia scheidweileri* V.A.W. Graham (Acanthaceae). Natureza On Line, v.13, p.134-140, 2015.

Azevedo IHF, Braz DM. Seed morphology of Ruellia L. (Acanthaceae) from the southeastern Brazilian Atlantic rain forest: Taxonomic, phylogenetic, and ecological. Flora, v.240, p.48-57, 2018. https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.12.011

Azevedo IHF, Moraes P. Seed morphology of Ruellieae species (Acanthaceae) in Brazil and Its Taxonomic Implications. Systematic Botany, v.44, n.3, p.631-651, 2019. https://doi.org/10.1600/036364419X15620113920662

Bell AD, Bryan A. Plant form: an illustrated guide to flowering plant morphology. London:Timber Press, 2008.

Ellis B, Daly DC, Hickey LJ, Johnson KR, Mitchell JD, Wilf P, Wing SL. Manual of Leaf Architecture. New York: Ithaca, 2009.

Hickey LJ. Classification of the architecture of dicotyledonous Leaves. American Journal of Botany, v.1, p.17-33, 1973.

Indriunas A, Aoyama EM. Microescultura da testa da semente madura de *Ruellia elegans* Poir. (Acanthaceae). Journal of biotechnology and biodiversity, v.8, n.4, p.349–352, 2020. https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n4.indriunas

Jesus GS, Indriunas A, Aoyama EM. Caracterização morfológica de *Megaskepasma erythrochlamys* Lindau (Acanthaceae). 2020. 40, Encontro Regional de Botânicos MG, BA e ES. Anais... Vitória, ES.

Martin RE, Asner GP, Bentley LP, Shenkin A, Salinas N, Huaypar KQ, Pillco MM, Delis F, Álvarez C, Enquist BJ, Diaz S, Malhi Y. Covariance of sun and shade leaf traits along a Tropical Forest Elevation Gradient. Frontiers in Plant Science, v.10, p.1-13, 2020. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01810

Monteiro MM, Indriunas A, Aoyama EM. Morphological characterization of fruits and seeds of *Ruellia furcata* (Nees) Lindau (Acanthaceae) from Espírito Santo State, Brazil. Multi-Science Journal, v.3, n.3, p.65-68, 2020. https://doi.org/10.33837/msj.v3i3.1265

Profice SR. Espécies de *Aphelandra* R.Br. (Acanthaceae) no estado do Rio de Janeiro - Morfologia foliar e das brácteas. Rodriguésia, v.42, p.51-65, 1990/92.

Profice SR, Andreata RHP. Revisão taxonômica de Aphelandra R. Br. (Acanthaceae) de corola curto-bilabiada. Instituto Anchietano Pesquisa, v.62, p.7-70, 2011.

Profice SR, Wasshausen DC. *Aphelandra espirito-santensis* (Acanthaceae), a new species from Espírito Santo, Brazil. Novon, v.3, p.280-283, 1993.

Stuessy TF. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. New York: Columbia University Press, 2009.

Wasshausen DC. The genus *Aphelandra* (Acanthaceae). Smithsonian Contributions to Botany, v.18, p.1-157, 1974.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.zottele

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Seedling physiological responses from *Ceiba glaziovii* (Kutze) K. Skum. to intermittent drought events

Maria Fernanda da Costa Oliveira[a*], José Laurindo dos Santos Júnior[a], Rafael Silva Freitas[b], Elizamar Ciríaco da Silva[a]

[a] Universidade Federal de Sergipe, Brasil
[b] Universidade Federal de Viçosa, Brasil
[*] Autor correspondente (mfdacostaoliveira@gmail.com)

INFO

Keyworks
barriguda
Caatinga
plasticity

ABSTRACT

The Brazilian Dry Tropical Forest, called Caatinga, has several environmental conditions limiting plant growth and development, requiring the plants that inhabit this phytogeographic domain, physiological and morphological traits to guarantee the perpetuation and survival of the species. The objective of the present work was to evaluate the growth parameters in *Ceiba glaziov*ii, a tree species that occurs in the Caatinga, submitted to intermittent drought. For such seedling of *C. glaziovii* were subjected to different cycles of irrigation suspension [Control- daily irrigation, S7- irrigation every seven days and SS - total suspension of irrigation until signs of wilt appear]. Height, number of leaves, stem diameter, dry matter of the various organs, root / shoot ratio, leaf area, and the index of plasticity were evaluated. The prolongation of intermittent drought had a significant reducing effect on the growth rates, dry matter production and leaf area of stressed *C. glaziovii* seedlings compared to daily watering ones. Plant height and stem diameter were the most plastic traits found (IP>0,8). Thus, watering intervals above seven days may severely compromise the production of *C. glaziovii* seedlings, affecting the growth rates until the accumulation of dry matter. These results demonstrate that this species does not show great tolerance to drought stress during the initial period of its development, suggesting for cultivation of seedlings an adequate water availability or an interval of up to seven days between watering.

Palavras-chaves
barriguda
Caatinga
plasticidade

RESUMO

Respostas fisiológicas de mudas de Ceiba glaziovii (Kutze) K Skum. à eventos de seca intermitente.
A Floresta Tropical Seca brasileira, chamada de Caatinga, apresenta diversas condições ambientais que limitam o crescimento e desenvolvimento dos vegetais, exigindo das plantas que habitam esse domínio fitogeográfico estratégias morfológicas e fisiológicas que garantam a perpetuação e sobrevivência de suas espécies. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros do crescimento inicial de *Ceiba glaziov*ii, espécie arbórea que ocorre na Caatinga, submetidas a seca intermitente. Para tal, plântulas de *C. glaziovii* foram submetidas a diferentes ciclos de suspensão de rega [rega diária (controle), a cada sete dias (S7) e suspensão da rega até sinais de murcha foliar (SS). Foram avaliados altura, número de folhas, diâmetro do caule, matéria seca dos diversos órgãos, relação raiz/ parte aérea, área foliar, e o índice de plasticidade. O prolongamento da seca intermitente apresentou um efeito significativamente redutor nos ritmos de crescimento, na produção de matéria seca e na área foliar das plântulas de *C. glaziovii* estressadas em comparação as regadas diariamente. A altura e o diâmetro do caule das mudas foram as características mais plásticas encontradas (IP>0,8). Não houve diferença para partição de biomassa e relação raiz/parte aérea. Com isso, intervalos de rega acima de sete dias podem comprometer a produção de mudas de *C. glaziovii*, demonstrando que a espécie não apresenta grande tolerância a seca durante o período inicial do seu desenvolvimento. É indicado o cultivo das mudas em situações de disponibilidade hídrica ou intervalo de até sete dias entre as regas.

Received 25 May 2021; Received in revised from 01 June 2021; Accepted 19 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUCTION

Northeastern Brazil has about 53% of the semi-arid region, in which it is inserted the ecoregion called Caatinga, one of the geographical domains occurring in dry tropical forests (Dombroski et al., 2011; Santos et al., 2021). This domain is characterized by a low annual precipitation volume (250-800 mm) distributed irregularly, and high soil and air temperatures. These characteristics can promote changes in the distribution of plant communities in the most diverse ecosystems (Silva et al., 2017; Zhao et al., 2018).

Because of the intensification of the greenhouse effect caused by global climate changes, arid and semi-arid environments have been considered highly vulnerable to climate changes (Ouhamdouch e Bahir, 2017; Marengo et al., 2018). In this perspective, the Caatinga vegetation has undergone severe changes caused by desertification and anthropic actions, putting at risk the promotion of the maintenance of ecosystem services and the permanence of these species (Silva et al., 2017; Antongiovanni et al., 2020; Ramos et al., 2020).

Several findings in the literature have been discussing the most varied strategies that plants occurring in arid and semi-arid environments are used to withstand this recurrent disturbance (Silva et al., 2013; Gratani, 2014; Amissah et al., 2018; Santos Júnior et al., 2020; Ribeiro et al., 2020). Some changes in growth patterns such as reduced number of leaves and leaf area (Moura et al., 2020), investments in a more robust root system (Dantas et al., 2020) and, consequently, increase in the root/shoot ratio (Ferreira et al., 2015) have been interpreted as important morphological transformations that guarantee greater survival in these environments (Santos Júnior et al., 2020).

Although these changes occur, it is still questionable whether such characteristics, which are often indications of xeromorphic behavior, are common among the most diverse species that are already adapted to these environmental conditions (Souza et al., 2015; Santos et al., 2021). This leads us to question whether the occurrence of this behavior is closely related to the plant's growth habit or it is a consequent response to the stressful environment.

Ceiba glaziovii (Kutze) K. Sckum, known as paunchy or white paineira, it is an endemic tree species from northeastern Brazil, occurring in the Caatinga (Duarte, 2015; Silva et al., 2021). Its popular name is due to its great ability to retain water in its stem, leaving it swollen (Du Bocage e Sales, 2002; Silva et al., 2016). The species in question has a strong importance for popular knowledge due to its medicinal properties (Pereira-Júnior et al., 2014), helping in predicting rainfall (Bastos e Fuentes, 2015), feeding ruminants (Souza et al., 2013) and it has also been shown to be important in projects for the restoration of degraded areas (Lorenzi, 2009; Pereira et al., 2001).

Notwithstanding the conditions of the phytogeographic domain of occurrence of the species and its natural tolerance to conditions of strict water limitation, studies that evaluate the morphological parameters of its initial growth, in this perspective, are scarce, with studies under different levels of shading (Ribeiro et al., 2020) or studying other aspects of their behavior under intermittent drought (Santos Júnior et al., 2020).

Therefore, the present study aimed to evaluate the growth parameters of *Ceiba glaziovii* seedlings submitted to intermittent drought, seeking to discuss how the morphological responses reflect in different growth patterns and rhythms for the ecology and survival of this species.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted out under semi-controlled conditions in an agricultural greenhouse at the Federal University of Sergipe (UFS). The seeds of *Ceiba glaziovii* K. was collected in Paripiranga/BA (10º41’00”S; 37º51’00”O), located in a semi-arid region, and sown in trays containing washed sand.

After emergence, fifteen seedlings they were transplanted into polyethylene bags containing 4.5 kg of a mixture of vegetable soil, washed sand, and bovine manure, in the proportion 3:1:1 (v/v). The seedlings, after transplanting, were watered daily for approximately 20 days, close to field capacity (20% of the maximum volumetric capacity of the soil), before the application of water treatments (differentiation of treatments).

Soil monitoring was done using a soil meter (Hidrofarm HFM2010 Falker), and the soil remained close to field capacity with an average percentage of volumetric soil moisture of 20.9%.

During the period of the experiment, the average temperature was 29.6 °C, ranging from 25.9 °C to 31.3 °C. The average relative humidity was 64.8%, alternating from 49 to 75.

The experimental design was completely randomized, with three water treatments of irrigation suspension cycles [daily watering (control), intervals of seven days as moderate stress (S7), and suspension of watering until signs of leaf wilt as severe stress (SS)] with five replication per treatment, totaling 15 seedlings.

Soil moisture was always assessed before re-irrigation in all treatments. The vegetative growth was evaluated weekly over the 56 days, and the parameters evaluated were: height of the seedlings

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

(H), using a measuring tape, starting from the base of the stem at a previously marked point until the insertion of the youngest leaf; basal stem diameter (SD), using a Digimess digital caliper measuring it in a previously marked location, and the number of leaves (LN) from the visual count.

At the end of the experimental period, the seedlings were separated into leaves, stem and root, packed in paper bags and taken to dry in an oven at 65ºC for 72 hours until the material reached constant weight, to obtain the dry matter weight for leaves (LDM), stem (SDM), root (RDM) and total (TDM). From these data, it was possible to calculate the biomass partition for the various organs and the root/shoot ratio (R/S ratio), following the protocols described by Benincasa (2003).

The phenotypic plasticity index (ranging from 0 to 1) for each morphological variable was calculated as resulting from the difference between the highest and lowest mean values between treatments, divided by the highest mean value.

Values closer to 1 indicate high levels of plasticity for a given characteristic, whereas values close to 0 indicate low levels of plasticity for the analyzed attribute (Valladares et al., 2005). The data were submitted to the Shapiro-Wilk normality test and when the data presented normal distribution they were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey ($P<0,05$).

RESULTS AND DISCUSSION

The soil moisture was reduced over the experimental period due to intermittent drought, both due to evaporative issues occurring on the surface of the pots and due to the water demands of the seedlings in the respective water treatments.

The reduction in water availability directly affects the development and physiology of plants, being a relevant factor for the survival of species that live under this stress condition (Taiz et al., 2017; Marengo et al., 2018).

The soil moisture of the control seedlings (C) ranged from 19.2 to 20.9%, whereas in the seedlings watered every seven days (S7) the variation was from 15.8 to 16.9% and in plants with water suspension. watering until signs of leaf wilting (SS) varied from 9.3% to 9.6%, before re-irrigation, which demonstrates a reduction of about 20 and 50% in soil moisture, for plants grown under moderate water restriction and severe, respectively, when compared to the control treatment (Table 1).

Table 1 – Percentage of volumetric soil moisture (%) before the re-irrigation of *C. glaziovii* seedlings subjected to intermittent drought. Control (C) with daily watering, watering every seven (S7) day sand at intervals until the leaves show signs of wilting (SS). Mean ± SD of five repetitions

Days after water stress	**Water treatments**		
	C	**S7**	**SS**
14	19,2±0,5	16,3±0,6	- 9,4±0,7
28	20,9±2,4	16,0±2,0	9,3±0,3
42	19,1±1,2	16,4 ±0,9	9,4±0,4
56	20,8 ±1,0	15,8 ±0,4	9,6±0,4
Mean	**20,9±0,04**	**16,05 ±1,4**	**9,5 ±0,06**

The water deficit in the soil is one of the main abiotic factors that affect the establishment and dynamics of plant species, affecting the growth rates and production of dry matter in the initial stage of plant development (Silva et al., 2013; Gratani, 2014; Ribeiro et al., 2019; Santos Júnior et al., 2020).

In this study, there was a marked reduction in growth rates in seedlings of *C. glaziovii* as they were exposed to more severe water restriction, which reflected drastic reductions in the final accumulation of fixed carbon. Seedlings grown under the highest water restriction regime showed approximately 70% reduction in height and stem diameter (Figure 1A and 1B), as well as 50% reduction in the number of leaves when compared to the control treatment (Figure 1C). Analyzing the growth of *Erythrina velutina* seedlings De Oliveira et al., (2016) also observed reductions in height and number of leaves when grown under water restrictions. Reductions in cell division rates during periods of water restriction may imply a decrease in plant growth rate (Taiz et al., 2017).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

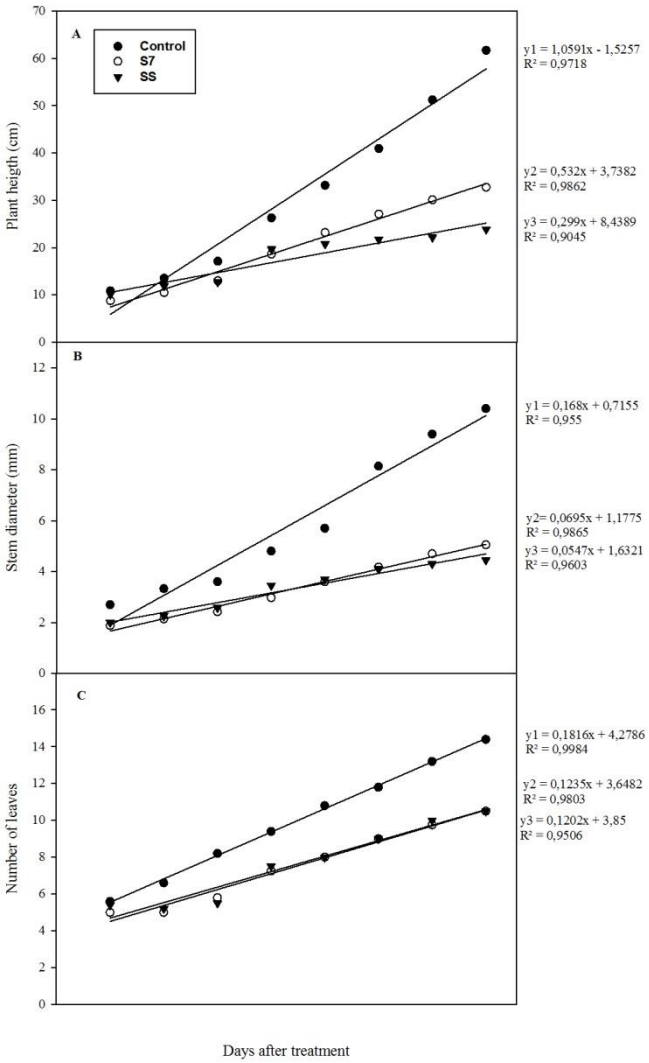


Figure 1 - Height (A), basal stem diameter (B) and leaf number (C) of *C. glaziovii* seedlings submitted to intermittent drought

This behavior of reduced growth rates was also observed in moderate stress. These reductions in height, stem diameter, and, especially, the number of leaves can harm the production of dry matter. Thus, leaf abscission may be one of the survival mechanisms used during water scarcity, found in some arboreal species such as *Tabebuia aurea* and *Caesalpinia ferrea* (Dombroski et al., 2011) but the species in the present study did not use this strategy but significantly reduced the emission of new leaves when they were stressed.

Similar to growth, intermittent drought had a strong effect on the production of dry matter (Table 2), especially on root (RDM) and total (TDM) dry matter. The most severe watering intervals (SS), of approximately 14 days, significantly reduced the production of dry matter when compared to the control seedlings (C), reductions also observed to plants watered each every seven days (S7). No significant results were observed for the root/shoot ratio and biomass partition for the different organs. The interferences of water deficit in the promotion of growth and development rhythms in plants as observed in the present work have been widely discussed (Silva et al., 2013; Gratani, 2014; De Oliveira et al., 2016; Taiz et al., 2017; Santos Júnior et al., 2020).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

Table 2 - Leaves dry mass (LDM), stem dry mass (SDM), root dry mass (RDM), total dry mass (TDM), root/shoot ratio (R/S), leaf biomass partition (LBP), stem biomass partition (SBP) and root biomass partition (RPB) of *C. glaziovii* seedlings submitted to water deficit. Control, S7 and SS corresponding to water treatments as daily watering and intervals of seven days and total suspension of watering, respectively. Equal letters did not differ statistically by Tukey's test (P<0.05)

Water treatment	LDM (g)	SDM (g)	RDM (g)	TDM (g)	R/S ratio	LPB (%)	SPB (%)	RPB (%)
Control	3,96 a	4,32 a	5,13 a	11,12 a	0,3944 a	29,12 a	43,54 a	27,32 a
S7	2,68 a	3,49 a	2,35 b	5,33 b	0,3478 a	28,64 a	46,29 a	25,05 a
SS	1,05 b	1,90 b	1,02 b	3,94 b	0,3271 a	27,14 a	46,35 a	26,50 a

These reductions in growth rates are multicausal in nature and may occur due to stomatal limitations (Santos Júnior et al., 2020), which aim to restrict the loss of water through transpiration while limiting the diffusion of CO_2 to the carboxylation sites, reducing the formation of carbon compounds for immediate consumption and promoting growth rates (Marques et al., 2020; Santos et al., 2021) commented that *Ceiba glaziovii* seedlings under intermittent drought prioritize keeping the tissues hydrated, probably due to stomatal closure, slowing their growth to ease metabolic costs.

Reductions in growth rates are also related to the adoption of energetically costly mechanisms such as the accumulation of osmoprotective and regulatory substances that aim to protect tissue water content (Moura e Vieira, 2020; Santos Júnior et al., 2020), a characteristic that *Ceiba glaziovii* presents in the roots to keep the tissues hydrated at the first sign of drought (Santos Júnior et al., 2020).

In addition, the absence of the basic preceptor maintain growth rates. The absence of water hinders the processes of cell stretching and division, which leads to a restriction of cell expansion since it is the one that guarantees the necessary turgor pressure for cell growth to occur (Taiz et al., 2017).

Although this occurs, some of the usual responses to this condition were not observed in the present study, such as greater root growth resulting from a greater investment of resources for this organ. This generally translates into changes in the proportion of root growth as a function of the area, which is usually interpreted as xeromorphic behavior. This can guarantee a greater uptake of water resources in the deepest layers of the soil as well as better management of the transpiring surfaces (Ferreira et al., 2015; Dantas et al., 2020). Thus, although *C. glaziovii* is a species widely occurring in the semi-arid landscapes of the Caatinga, it does not seem to use this strategy of reversing patterns to deal with disturbances occurring in its place of occurrence.

Despite the literature citing the inversion of growth patterns as a drought tolerance strategy, species such as popularly called *jatobá* (*Hymenea coubaril* L.) (Nascimento et al., 2011) and *pereiro* (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) (Freitas e Silva, 2018) in the same way that *C. glaziovii* also does not present such alterations. This behavior, at least so that *H. courbaril* and *A. pyrifolium* seems to be related to the low growth rates that these species have, presenting a slow growth pattern in the initial stage of development, which does not seem to apply to *C. glaziovii*, since it is referred to as a selective xerophytic pioneer species (Melo et al., 2014), which in a way needs further explanation.

Some changes in leaf morphology and structure respond to water deficiency. In the present study (Table 3), an increase in the leaf area ratio (LAR) was noted, a characteristic that demonstrates changes in leaf thickness, which may symbolize a greater accumulation of carbohydrates or inefficiency in transporting them (Benincasa, 2003; Nascimento et al., 2011). In addition, changes in specific leaf area (SLA) seems to correlate with interferences in carbon metabolism, requiring a larger leaf area to maintain full photosynthetic capacity, at least in conditions of moderate stress.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

Table 3 - Leaf area (LA) (cm^2), leaf area ratio (LAR) (cm^2/g TDM) and specific leaf area (SLA) (cm^2/g LDM) of *C. glaziovii* seedlings submitted to water deficit. Equal letters did not differ statistically by Tukey's multiple range test (P<0.05)

Water treatment	LA (cm^2)	LAR (cm^2/g TDM)	SLA (cm^2/g LDM)
Control	267,6 a	18,5 b	74,9 ab
S7	230,2 a	21,5 ab	77,0 a
SS	140,1 b	25,0 a	62,0 b

Plant species that have a slow-growing initial growth, especially late secondary and climax (Lovelock et al., 1998), do not invest as many resources in promoting the growth of a given organ, thus impacting on low levels of plasticity for such characteristics. This behavior seems to be related to the ecology of tree species, since such organisms do not require high levels of energy investment for faster growth (reflecting a lower level of plasticity), which no longer occurs with fast-growing species that require a large amount of resources to develop in a short period of time, which reflects a high degree of plasticity (Chapin III et al., 1993; Price et al., 2003 Ferreira et al., 2015).

Although we have observed this fact, in our study changes in height and stem diameter were the characteristics of greater plasticity (Figure 2). The plastic response of such organs probably seems to be related to the particularity of the growth habit of *C. glaziovii*, which presents differentiated stem anatomy. It can store large volumes of water, a stock that guarantees the maintenance of the water supply during periods of drought.

Thus, it is notable that this curious strategy of living with drought requires organs with high levels of plasticity, which allows expansion and retraction of the stem without serious damage to the anatomical structures.

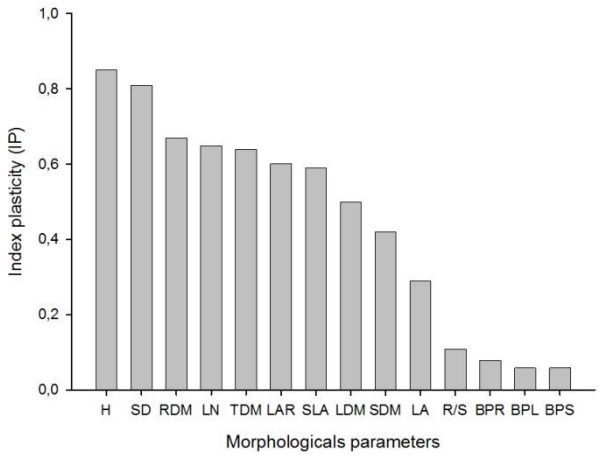


Figure 2 - Plasticity index of the morphological parameters evaluated in *C. glaziovii* seedlings submitted to intermittent drought. Height (H), stem diameter (SD), root dry matter (RDM), leaf number (LN), total dry matter (TDM), leaf area ratio (LAR), specific leaf area (SLA), leaf dry matter (LDM), stem dry matter (SDM), leaf area (LA), root/shoot ratio (R/S), biomass partitioning for root (BPR), biomass partitioning for leaves (BPL), and biomass partitioning for stem (BPS)

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

In this study, *C. glaziovii* had its initial growth reduced when subjected to severe water stress, which highlights the importance of studies on the morphophysiological responses of plants during the seedling establishment phase, ensuring a higher success rate in reforestation programs. Therefore, evaluating the initial parameters of seedling growth is of significant importance in identifying the strategies used by species to establish themselves in environments with unfavorable situations. In this way, it is possible to contribute to higher productivity of seedlings, knowing the conditions that best favor their growth, inducing greater amounts of acclimated plants to the various stressful situations found in the *Caatinga*, thus increasing the percentage of success of their insertion environment.

CONCLUSIONS

Ceiba glaziovii is moderately tolerant to water suppression during the initial phase of its development. Intervals longer than seven days compromise seedling production, by reducing growth and dry matter production. So, according to the present study the cultivation of the seedlings must be carried out with adequate water availability, using interval of up to seven days between irrigations.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Federal University of Sergipe for the scholarship granted through the Scientific Initiation Program (PIBIC) and to the Center for Ecology and Environmental Monitoring - NEMA/UNIVASF, the Integration Project of the São Francisco River with the North-Northeast Hydrographic Basins - PISF and the Ministry of Regional Development – MDR.

REFERENCES

Amissah L, Mohren GMJ, Kyereh B, Agyeman VK, Poorter L. Rainfall seasonality and drought performance shape the distribution of tropical tree species in Ghana. Ecology and Evolution, v.8, p.8582–8597, 2018. https://doi.org/10.1002/ece3.4384

Antongiovanni M, Venticinque EM, Matsumoto M, Fonseca CR. Chronic anthropogenic disturbance on Caatinga dry forest fragments. Journal of Applied Ecology, v.57, p.2064–2074, 2020. https://doi.org/10.1111/1365-2664.13686

Bastos S, Fuentes MC. O uso da etnoclimatologia para a previsibilidade de chuvas no município de Retirolândia-BA. Revista do CERES, v. 1, n. 2, p. 176-183, 2015. Disponível em: http://www.cerescaico.ufrn.br/ceres/. Acesso em 17 mar. 2021.

Benincasa MMP. Análise de crescimento de plantas: noções básicas. Jaboticabal: FUNEP; 41p. 2003.

Chapin III FS, Autumn K, Pugnaire F. Evolution of suites of traits in response to environmental stress. The American Naturalist, v.142, p.79-92, 1993. https://doi.org/10.1086/285524

Dantas BF, Ribeiro RC, De Oliveira GM, Da Silva FFS, de Araújo GGL. Biosaline production of seedlings of native species from the Caatinga dry forest. Ciência Florestal, v.29, n.4, p.1551-1567, 2020. http://dx.doi.org/10.5902/1980509831221.

De Oliveira MKT, Dombroski JLD, de Medeiros RCA, de Medeiros AS. Desenvolvimento inicial de *Erythrina velutina* sob restrição hídrica. Pesquisa Florestal Brasileira, v.36, n.88, p.481-488, 2016. https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.88.1261.

Dombroski JLD, Praxedes S, Freitas RM, Pontes FM. Water relations of Caatinga trees in the dry season. South African Journal of Botany, v.77, p.430-434, 2011. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.11.001.

Duarte, MC. 2015. Ceiba in Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9 035. Acesso em: 08 jan. 2021.

Du Bocage AL, Sales MF. A família Bombacaceae Kunth no Estado de Pernambuco, Brasil. Acta Botanica Brasilica, São Paulo, v.16, n.2, p.123-139, 2002. https://doi.org/10.1590/S0102-33062002000200001

Ferreira WN, Lacerda CF de, Costa RC, Medeiros FS. Effect of water stress on seedling growth in two species with different abundances: the importance of Stress Resistance Syndrome in seasonally dry tropical forest. Acta Botanica Brasilica, v.29, n.3, 2015. https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb0045

Freitas RS, Silva EC. Respostas fisiológicas de mudas de *Aspidosperma pyrifollium* (Apocynaceae) à ciclos de suspensão de rega. Scientia Plena, v.14, n.5, p.1-12, 2018. https://doi.org/10.14808/sci.plena.2018.051201.

Gratani L. Plant Phenotypic plasticity in response to environmental factors. Advances in Botanica, v.2014, p.17, 2014. http://doi.org/10.1155/2014/208747.

Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, São Paulo: Editora Plantarum. v.2, 229p, 2009.

Lovelock CE, Winter K, Mersits R, Popp M. Responses of communities of tropical tree species to in elevated CO_2 in a forest clearing. Oecologia, v.116, p.207-218, 1998. http://dx.doi.org/10. 1007/s004420050581

Marengo JA, Alves LM, Alvala RCS, Cunha AP, Brito S, Moraes OLL. Climatic characteristics of the 2010-2016 drought in the semiarid Northeast Brazil region. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, v. 90, p. 1973-1985, 2018. http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720170206

Marques I, Fernandes I, David PHC, Paulo OS, Goulao LF, Fortunato AS, Lidon FC, DaMatta FM, Ramalho JC, Ribeiro-Barros AI. Transcriptomic Leaf Profiling Reveals Differential Responses of the Two Most Traded Coffee Species to Elevated [CO_2]. International Journal of

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

Molecular Sciences, v.20, n.23, p.1-24, 2020. https://doi.org/10.3390/ijms21239211.

Melo AFR, Nogueira Junior LR, Guimarães MC, Amorim JRA. Semeadura direta de espécies arbóreas da Caatinga e Mata Atlântica na recomposição de áreas de reserva legal e mata ciliar no agreste sergipano: observações iniciais. In: Seminário de Iniciação científica e Pós-graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2014, Aracaju. Disponível em: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/110459/1/191.pdf. Acesso em 17 mar. 2021.

Moura GKA, Rufino MKG, Da Silva FKG, Trovão, DMBM. Leaf deciduousness and flowering of woody Caatinga species. Biotemas, v.33, n.4, p.1-10, 2020. http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2020.e72364

Moura J, Vieira EA. Responses of Young plants *of Vachellia farnesiana* to drought. Australian Journal of Botany, v.68, p. 587-594, 2020. https://doi.org/10.1071/BT20043

Nascimento HHC, Nogueira RJMC, Da Silva EC, Da Silva MA. Análise do crescimento de mudas de jatobá (*Hymenaea coubaril* L.) em diferentes níveis de água no solo. Revista Árvore, v. 35, n. 3, p. 617-626, 2011. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622011000400005

Ouhamdouch S, Bahir M. Climate Change Impact on Future Rainfall and Temperature in Semi-arid Areas (Essaouira Basin, Morocco). Environmental Processes, v.4, n.4, p. 1–16, 2017. https://doi.org/10.1007/s40710-017-0265-4

Pereira IM, De Andrade LA, Costa JRM, Dias JM. Regeneração natural em um remanescente de caatinga sob diferentes níveis de perturbação, no agreste paraibano. Acta Botanica Brasilica, v.15, n. 3, p.413-426, 2001. https://doi.org/10.1590/S0102-33062001000300010

Pereira Junior LR, Andrade AP, Araujo KD, Barbosa AS. Espécies da Caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. Floresta e Ambiente, v.21, n.4, p.509-520, 2014. https://doi.org/10.1590/2179-8087.024212

Price TD, Qvarnstrom A, Irwin DE. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, v.270, n.1523, p.1433-1440,2003. https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2372

Ramos GG, Alves JB, De Araújo MF, Ferreira VSG, Pinto MGC, Leite MJH. Survey of the environmental impacts of a ciliary forest stretch in the Caatingaregion in the Paraíbano hinterland. Brazilian Journal of Development, v.6, n.7, p.52848-52859, 2020. https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-798

Ribeiro JES, Figueiredo FRA, Coêlho ES, Pereira WE, De Albuquerque MB. A non-destructive method for estimating leaf area of *Ceiba glaziovii* (Kuntze) K. Schum. Floresta, v.50, n.1, p.1063-1070, 2019. http://dx.doi.org/10.5380/rf.v50i1.61088

Ribeiro JES, Figueiredo FRA, Coêlho ES, Pereira WE, De Albuquerque MB. Ecophysiology of *Ceiba glaziovii* (Kuntze) K. Schum. submitted to shading. Journal of Agricultural Studies, v.8, n.2, p.182-194, 2020. https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.15774

Santos Júnior JL, Oliveira MFC, Silva EC. Acúmulo de solutos orgânicos em mudas de *Ceiba glaziovii* (Kutze) Kum. em resposta à seca intermitente. Scientia Plena, v.16, n.1, p.1-12, 2020. https://doi.org/10.14808/sci.plena.2020.011201.

Santos M, Barros V, Lima L. Whole plant water status and non-structural carbohydrates under progressive drought in a Caatinga deciduous woody species. Trees, v.34, n.4, 2021. https://doi.org/10.1007/s00468-021-02113-y

Silva EC, Albuquerque MB, Azevedo Neto AD, Silva Junior CD. Drought and Its Consequences to Plants – From Individual to Ecosystem. Responses of Organisms to Water Stress. São Cristóvão, p.17-47, 2013. https://doi.org/10.5772/53833

Silva JMC, Barbosa LCF, Leal IR, Tabarelli, M. The Caatinga: Understanding the challenges. Caatinga: The largest tropical dry forest region in South America, p.3–19, 2017.

Silva PLK, Dos Santos EAV, Dos Anjos CS, Silva KN. Anatomia foliar de *Ceiba glaziovii* k. Schum. (Malvaceae-Bombacoideae), uma espécie medicinal da caatinga. I Congresso Internacional da diversidade do semiárido. Anais I. Realize Editora, 2016. Disponível em: https://www.editorarealize.com.br/index.php/artigo/visualizar/23485> Acesso em: 17 mai. 2021.

Souza BI, Menezes R, Camara AR. Efeitos da desertificação na composição de espécies do bioma Caatinga, Paraíba/Brasil. Investigaciones Geográficas, n.88, p.45-59, 2015. https://doi.org/10.14350/rig.44092

Souza LVS, Azevedo DO, De Carvalho AJA, Simões WL, Voltolini TV. Qualidade nutricional de plantas forrageiras de ocorrência na caatinga. Enciclopédia Biosfera, v.9, n.16, p.178-185, 2013.

Taiz L, Zeiger E, Moller I, Murphy A. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. 6. ed, Artmed, 888p. 2017.

Valladares F, Aranda I, Arrieta S. Shade tolerance, photo inhibition sensitivity and phenotypic plasticity of Ilex aquifolium in continental Mediterranean sites. Tree Physiology, v.25, n.8 p.1041-1052, 2005. https://doi.org/10.1093/treephys/25.8.1041

Zhao Y, Cao H, Xu W, Chen G, Lian J, Du Y, Ma K. Contributions of precipitation and temperature to the large scale geographic distribution of fleshy-fruited plant species: Growth form matters. Scientific reports, v.8, 2018. https://doi.org/10.1038/s41598-018-35436-x

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.costa

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Resíduos agroindustriais como substrato para cultivo *indoor* de cogumelos comestíveis da espécie *Pleurotus ostreatus*

Pedro Ítalo Alves de Carvalho[a], Maria Rebeca Brandão Sales[a], Jaime Conrado Aragão Neto[a], Francisco Valdicélio Ferreira[b*]

[a] Centro Universitário Inta (UNINTA), Brasil
[b] Universidade Federal do Ceará, Brasil

[*] Autor correspondente (celionutri@gmail.com)

INFO

Keyworks
Agaricaceae
Pleurotus
culture media
conditioned
mycelium

ABSTRACT

Agro-industrial waste as a substrate for indoor cultivation of edible mushrooms of the species Pleurotus ostreatus. Mushrooms are defined as macrofungi belonging to the Fungi kingdom and phylum Basidiomycota whose main function is the decomposition of organic matter. In addition to their ecological function, these are considered as foods of high nutritional and medicinal value. According to the above, we aim here to standardize the indoor cultivation of edible mushrooms of the Pleurotus ostreatus Branco (POB) and Pleurotus ostreatus Preto (POP) strains with the use of agro-industrial residues (sugarcane bagasse and wood shavings) as a substrate. The results showed that substrate colonization differs as to the type of packaging and the amount of substrate. It was observed that the cultivation containing substrate (1:1) in reusable glass bottles showed higher standardization and quality when compared to the use of polypropylene bags, besides presenting greater culture homogeneity between strains. The POP strain showed 14% productivity and 16.47% biological efficiency, when compared to the POB strain which obtained 12% productivity and 14.11% biological efficiency. It was concluded that the technique was satisfactory since *P. ostreatus* productivity is directly linked to substrate quality, however, the use of controlled temperatures may favor the best yield and biological efficiency.

Palavras-chaves
Agaricaceae
Pleurotus
meio de cultivo
condicionado
micélio

RESUMO

Cogumelos são definidos como macrofungos pertencentes ao reino Fungi e filo *Basidiomycota* que tem como principal função a decomposição da matéria orgânica. Além de sua função ecológica, estes são considerados como alimentos de elevado valor nutricional e medicinal. De acordo com o exposto, objetivamos aqui padronizar o cultivo indoor de cogumelos comestíveis das linhagens de *Pleurotus ostreatus* Branco (POB) e *Pleurotus ostreatus* Preto (POP) com a utilização de resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e raspas de madeira) como substrato. Os resultados obtidos demonstraram que a colonização do substrato difere quanto ao tipo de acondicionamento e a quantidade de substrato. Foi observado que o cultivo contendo substrato em razão de (1:1) em frascos de vidro reutilizáveis evidenciou maior padronização e qualidade quando comparadas à utilização de sacos de polipropileno, além de apresentar maior homogeneidade da cultura entre as linhagens. A linhagem de POP apresentou produtividade de 14% e eficiência biológica de 16,47%, quando comparada a linhagem de POB que obteve produtividade de 12% e eficiência biológica de 14,11%. Concluiu-se que a técnica foi satisfatória visto produtividade de *P. ostreatus* está diretamente ligada a qualidade de substrato, contudo, a utilização de temperaturas controladas pode favorecer ao melhor rendimento e eficiência biológica.

Received 30 March 2021; Received in revised from 30 April 2021; Accepted 02 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

Os fungos representantes do gênero *Pleurotus* pertencem à ordem *Agaricales*, e são conhecidos pela grande variedade de sua morfologia (Lopes e Rosso, 2013). Estes estão dentre os fungos degradadores de madeira destacados como causadores da podridão-branca, por serem organismos mais efetivos quanto à biodegradação dos materiais lignocelulósicos na natureza, devido a síntese de enzimas oxidativas capazes de degradar os constituintes primários da madeira (Machuca e Ferraz, 2001). A presença de enzimas com capacidade de degradação de resíduos lignocelulósicos, incrementam a disponibilidade de assimilação via hifa e posteriormente distribuído dentro do organismo, as quais proporcionam a obtenção de compostos como carbono e nitrogênio para o seu crescimento (Alexandrino et al., 2007).

A maioria dos cogumelos comestíveis originários de fungos apresentam índices relevantes de desenvolvimento micelial em diversos tipos de matéria-prima enriquecidos ou não com farelos de cereais (Eira, 2004; Sales-Campos et al., 2008). Geralmente os substratos utilizados para o cultivo de cogumelos são gramíneas secas, além de resíduos agrícolas como polpa de café, sabugo de milho e bagaço de cana de açúcar (Moda et al., 2005). *Pleurotus* é um cogumelo comestível de grande interesse biotecnológico devido à sua habilidade em degradar inúmeros resíduos agrícolas e sua alta qualidade sensorial (Sánchez, 2017).

Segundo Burgi (1995), cada tonelada de cana de açúcar moída gera 300 kg de bagaço de cana. O plantio da cana de açúcar no Ceará representa pouca expressividade comparado ao cenário nacional, porém possui impacto econômico significativo no mercado local com a extração do caldo de cana, tornando o bagaço de cana muitas vezes inutilizado. De acordo com Pelizer et al, (2007), a reutilização deste resíduo representa a otimização da produção agrícola, já que reduz o desperdício ao canalizá-los de volta para o processo econômico, e propicia a redução do seu volume, eliminando um possível impacto ambiental.

Atualmente, no Brasil, o cultivo e consumo de cogumelos do gênero *Pleurotus* tem aumentado de modo acentuado em função de vários fatores como a comercialização por seu valor gastronômico e devido a suas propriedades nutricionais, além de sua capacidade adaptativa à condição brasileira de clima tropical (Furlani e Godoy, 2007).

Diante da possibilidade de reutilização do bagaço de cana, componente rico em resíduos lignocelulósicos, o qual apresenta potencial de biotransformação a partir de seus constituintes, sendo eles principalmente, celulose, hemicelulose e lignina, como substrato para obtenção de corpos frutíferos (Menezes e Barreto, 2015).

Os cogumelos do gênero *Pleurotus* contém baixo teor de gordura e são ricos em proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas, aminoácidos, e minerais como cálcio, potássio, iodo e fósforo, assim representando uma ótima alternativa de nutrição (Cheung, 2010). No entanto, essa composição depende do tipo de substrato, das metodologias de cultivo e das espécies cultivadas (Furlani e Godoy, 2007).

Estudos concluem ainda que estes macrofungos possuem propriedades medicinais passiveis de utilização na alimentação humana, indicando possíveis usos como antidiabéticos, antimicrobianos, antitumorais, anti-inflamatórios, moduladores do sistema imune e antioxidantes, desta forma, os cogumelos do gênero *Pleurotus* desempenham potencial de transformação de resíduos em alimentos com valor nutricional, gastronômico e medicinal agregados, aproveitando resíduos agrícolas que não estão diretamente disponíveis para o consumo humano, restituindo-os em alimentos e o tornando mais acessível às populações em geral (Chang e Miles, 2004; Fernandes et al., 2015; Sánchez, 2017).

A busca por alternativas sustentáveis no âmbito alimentar que circundam práticas que promovam à alimentação saudável, visando obter a partir de resíduos madeireiros e agrícolas um alimento com alto valor nutricional com baixo custo, cultivo acessível, norteou e delineou as vertentes para elaboração do estudo. A Partir disso objetivamos aqui padronizar o cultivo indoor de cogumelos comestíveis das linhagens de *Pleurotus ostreatus* Branco (POB) e *Pleurotus ostreatus* Preto (POP) com a utilização de resíduos agroindustriais (bagaço de cana-de-açúcar e raspas de madeira) como substrato.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da pesquisa e Matriz primária

Pesquisa de caráter experimental quantitativa realizada no Laboratório de Pesquisa Multiusuário do Centro Universitário INTA - UNINTA. A matriz primária corresponde a cepa de *P. ostreatus* que foi obtida em placa de petri em meio de cultura Batata Dextrose Ágar - BDA (micélio) e esporo em cultura liquida, adquirida de fonte comercial.

Veículo para a Produção de Semente (Spawn)

As sementes de sorgo (*Sorghum bicolor*) foram adquiridas comercialmente e utilizadas como

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

substrato para o crescimento do fungo na quantidade de 500 g, lavados em água corrente e levados à cocção durante 45 minutos em água destilada na razão de 1/2: 1m/v. Após sua secagem, foram envasados 300 g de sorgo em frascos de vidro reutilizáveis com 550 ml de volume, fechados com tampa de aço perfurada e preenchida com algodão. Posteriormente foram destinados a esterilização em autoclave vertical a 121± 1 °C por 30 minutos.

Realizada a esterilização e o posterior resfriamento dos frascos a temperatura de 25 ºC realizou-se a inoculação de 05ml de esporo *P. ostreatus* em cada frasco de sementes em câmara de fluxo laminar e ambiente estéril. Logo após a inoculação as sementes foram destinadas a sala escura, em ar ambiente com humidade de 70 a 80% e temperatura média de 36º objetivando adaptação e assimilação das hifas à semente e assim obter o total crescimento micélio, período este compreendido em aproximadamente 40 dias, em condições estacionárias. Estes grãos colonizados foram denominados de semente ou Spawn.

Ajuste e formulação de substrato

Utilizaram-se substratos de cultivo que atendessem as expectativas de bom desenvolvimento e a disponibilidade dos resíduos locais. Comparando-se as diversas combinações de meios de cultivo, foi possível verificar que tanto a presença de sulfato de cálcio ($CaSO_4$. 0,5H_2O) e calcário dolomítico ($CaCO_3$. $MgCO_3$) com bagaço-de-cana mostraram-se essenciais para o desenvolvimento dos fungos.

Os resíduos agrícolas utilizados como matéria-prima na produção dos substratos foram escolhidos em função da disponibilidade local e consistiram em bagaço da cana de açúcar e raspas de madeira. Coletados no mercado central e marcenarias locais pertencentes ao município de Sobral-CE, respectivamente.

O substrato utilizado para padronização da técnica de cultivo foi constituído a partir da proporção de 1:1 (bagaço da cana-de-açúcar: raspas de madeira) de ambos resíduos na quantidade de 05kg respectivamente. O bagaço da cana-de-açúcar foi processado em forrageira visando diminuir a desintegração das fibras pertencentes à cana-de-açúcar, objetivando facilitar a assimilação das hifas da semente de Spawn ao substrato. Posteriormente, o substrato processado foi tratado com 1% calcário dolomítico e 1% gesso (100g de cada) e misturados. Após a homogeneização do substrato, umedeceu-se com água.

Atribuiu-se como recipiente para o cultivo frascos de vidro reutilizáveis que compreendem 220 ml de volume (13 cm de altura por 6 cm de comprimento) com tampa de aço. O substrato homogeneizado foi separado em 30 frascos com 200 g de substrato. As tampas de aço foram perfuradas ao centro e preenchidas com algodão para permitir as trocas gasosas. Em seguida, os frascos foram esterilizados a 121± 1 °C durante 60 minutos, tempo este utilizado com intuito de maior esterilização do substrato e aumentar o rendimento favorecendo a adesão do fungo ao substrato, e resfriado em temperatura ambiente por 24 horas.

Utilizou-se também sacos plásticos novos de polietileno com capacidade máxima de 20 l, de baixa densidade, incolor, translucido para fins de cultivo. O qual possibilitou maior volume de utilização de substrato, este foi adaptado em caráter comparativo para diferentes faixas de crescimento, com quantitativo de substrato em sacos contendo 10, 5 e 2 kg de substrato. Foram atribuídos a todos os recipientes os mesmos critérios de processamento descritos anteriormente.

Inoculação

Após resfriamento, em condições assépticas, procedeu-se a inoculação no substrato transferindo 10 g do Spawn para os frascos de produção. Ao final da inoculação, todos os frascos foram identificados em gênero e data de inoculação. Posteriormente, destinados à incubação em sala fechada sob temperatura controlada artificialmente a 25°C e ausência de luz até completa colonização. Atribuiu-se as mesmas técnicas de montagem de substrato para a utilização dos sacos de polietileno, com quantidades diferente de substrato correspondem a 2,5 e 10 kg.

Incubação e frutificação

A incubação dos frascos contendo as linhagens de *Pleurotus ostreatus* branco (POB) e *Pleurotus ostreatus* preto (POP) foi realizada na ausência de luz em câmara escura para prevenção de frutificação precoce. Os mesmos foram incubados em temperatura ambiente em torno de 25°C durante 30 dias. Quando os substratos dos frascos estavam totalmente colonizados, foram dispostos em temperatura ambiente ha 25°C e umidade relativa do ar acima de 80%, através da utilização de umidificador de ar portátil (Lenoxx-Pua715) para obtenção de corpos frutíferos.

A colheita ocorreu de forma diária em até três dias após o início da frutificação com o intuito de evitar a desidratação destes resultando na perda de peso. A mesma se deu a partir da torção dos cachos evidenciados de forma manual. Após a colheita todos os cogumelos que emergiram de

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

cada vaso foram pesados assepticamente e quantificados para o cálculo da Eficiência Biológica (EB) e percentagem de produtividade (P).

Produtividade em massa fresca

Foram realizados cálculos de eficiência biológica (EB) e Percentagem de produtividade (P) para expressar a produção da biomassa fúngica, caracterizada pela conversão dos resíduos lignocelulósicos em basidiomas (cogumelos). Este parâmetro é o mais utilizado pelos pesquisadores da área (Chang e Miles, 2004), o que facilita a comparação dos resultados com dados da literatura:

$$EB\ (\%) = \frac{\text{Massa fresca de cogumelos (g)} \times 100}{\text{Peso seco de substrato inicial (g)}}$$

$$P\ (\%) = \frac{\text{Massa fresca dos cogumelos (g)} \times 100}{\text{Peso úmido de substrato inicial (g)}}$$

Análise de dados

Utilizou-se o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) os dados foram apresentados como média e desvio padrão de (n=15).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à diferença do crescimento micelial do mesmo tratamento, não houve diferencial estatístico entre EB dos *spawns*. Bettin et al., (2010), concluiu que concentrações de 0,5% de glicose auxiliam na assimilação do fungo ao meio de cultivo, ocorrendo melhoria referente a colonização do spawn. Entretanto, na técnica utilizada, apesar de não empregar a suplementação de nutrientes junto a semente, o fungo apresentou boa atividade de assimilação mesmo em ausência de monômeros disponíveis. A facilitação a nutrientes prontamente assimilados está relacionada à repressão catabólica de muitos fungos, relacionada provavelmente com a economia de energia (Piscitelli et al., 2011).

Conforme Simões (2015), para a formação de corpos frutíferos torna-se necessário garantir a distribuição do inóculo ao substrato acrescentando-se cerca de 1-5% de massa do substrato em inóculo. Esta quantidade possibilitou crescimento micelial uniforme mesmo em substrato não suplementado e em ausência de reguladores de pH. O tempo de colonização obtido no estudo também foram encontrados por Eira e Bueno (2005), até a completa colonização das sementes pelo micélio fúngico compreendido de 20-25 dias em que foi realizado a pesquisa dentro da conformidade.

Obtenção do inóculo (Spawn)

A figura 1 apresenta a disseminação do micélio colonizado ao decorrer de 24 dias, referente às linhagens de POP e POB, bem como as características de colonização perante a mesma condição ambiental de desenvolvimento.

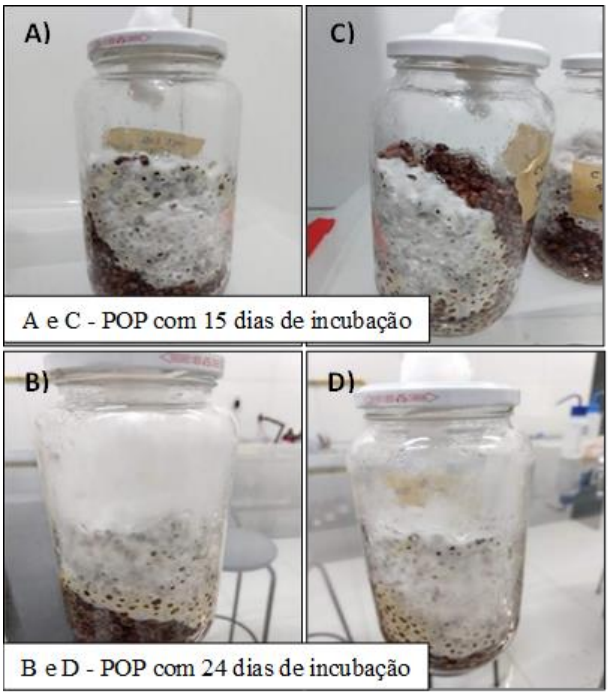


Figura 1 – Variação de crescimento micelial, no mesmo substrato nas mesmas condições de desenvolvimento do fungo *Pleurotus ostreatus*

Monitoramento de desenvolvimento do micélio

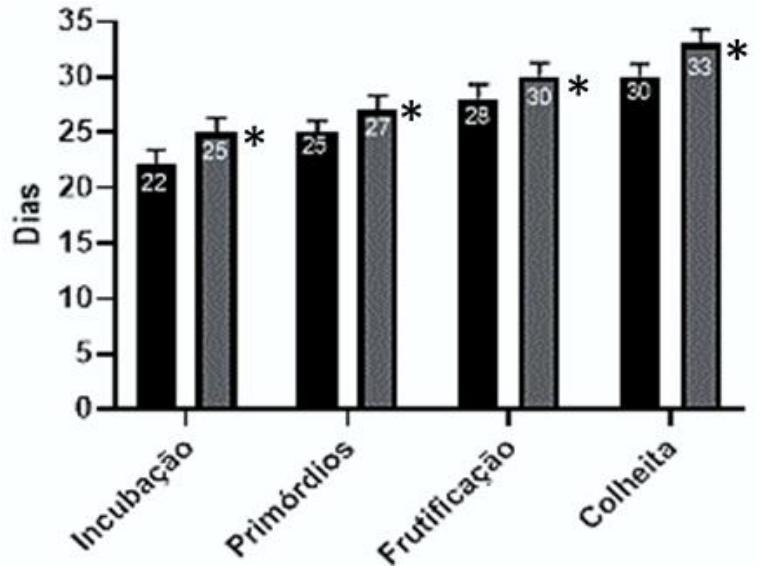
Após o preenchimento dos vasos, esterilização e a respectiva inoculação do spawn, deu início ao monitoramento do micélio nos vasos a partir da visualização aparente de assimilação das hifas no substrato.

Em relação ao tempo de colonização do meio, de forma geral, o crescimento micelial da cepa foi menor que os 30 dias estipulados. Esta característica é muito favorável, pois com o tempo de colonização inferior reduz-se o risco de contaminação e o período de incubação e formação de basidiomas, tornando a produção mais promissora (Marino et al., 2008).

De acordo com Albuquerque (2010), de forma geral o primeiro fluxo é o mais expressivo em relação à massa de cogumelos colhidos, sendo o primeiro pico produtivo a etapa que representa 50% da produtividade total. Porém, quanto referente ao ponto de vista de produção, a soma

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

dos fluxos pode aumentar consideravelmente a quantidade de rendimento do substrato, visto que este pode ter até 3 fluxos de frutificação. A figura 2 apresenta dados referentes ao período de incubação, primórdios, frutificação, colheita e duração de cultivo em frascos de vidro.



Cultivo de POP. *Cultivo de POB

Figura 2 - Tempo entre a colonização e colheita de (POB e POP) do gênero *P. ostreatus* cultivados em bagaço de cana-de-açúcar e raspas de madeira

Referente ao monitoramento da colonização observou-se que o desenvolvimento dos substratos diferiu quanto à capacidade de assimilação das hifas. Atingiram-se valores médios entre as linhagens, conferindo 22 dias e 25 dias para POP e POB, respectivamente, quanto ao cultivo em frasco de vidro, o mesmo já não se obteve em relação ao cultivo em sacos contendo 10 e 5 kg de substrato nas mesmas condições de crescimento.

Tavares (2015), realizou ensaios de cultivo de *Pleurotus* com vários substratos, dentre eles, a palha de feijão em 60% e bagaço de cana-de-açúcar com 40% da concentração, obteve-se como tempo de colonização de 15 a 21 dias e frutificação com 22 a 26 dias. Tais valores se aproximam dos resultados encontrados no presente estudo, porém cabe destacar a diferença da composição dos substratos.

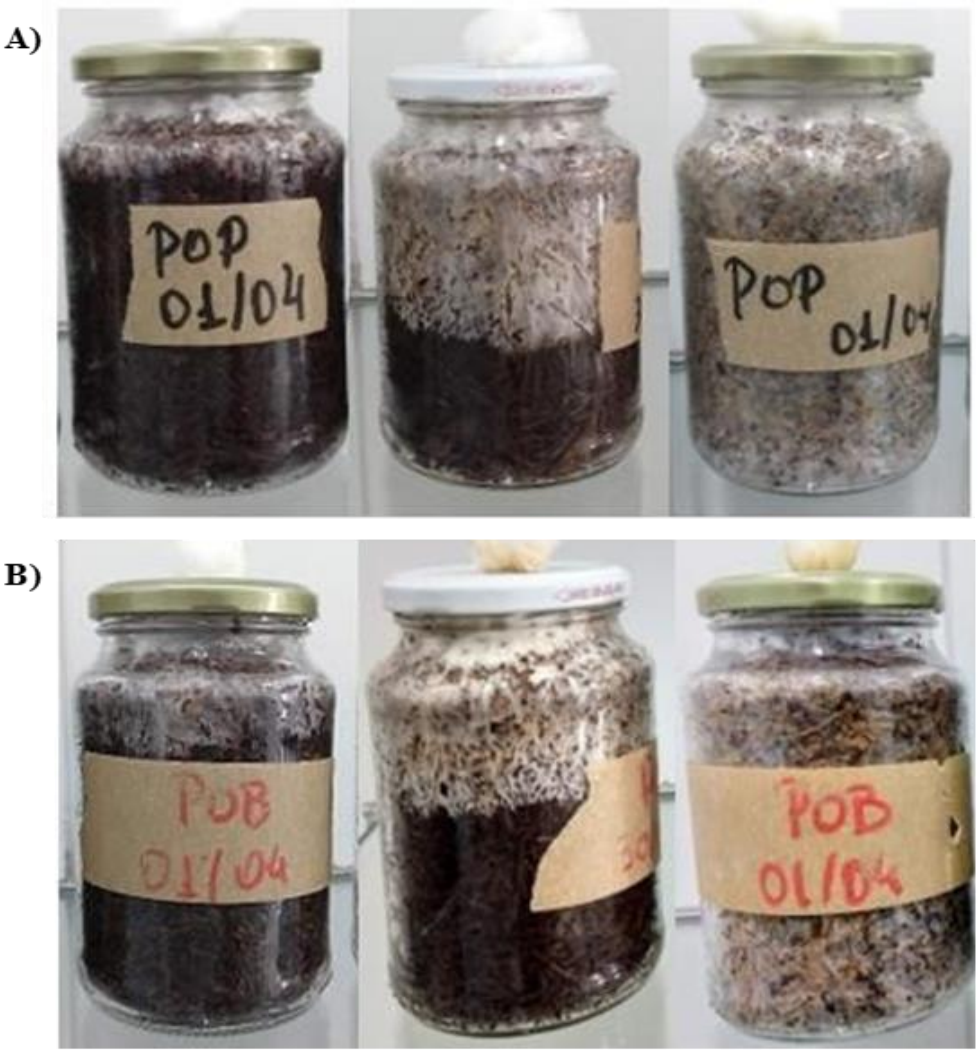
Os substratos de POP e POB foram analisados ao mesmo tempo e comparados quanto a sua eficiência e adaptação. Pode observar que de forma geral apresentaram crescimento semelhante para as linhagens como mostra a figura 3.

A proliferação do micélio foi observada 72h após inoculação como mostra a figura A e B, e finalizada com tempo médio de 30 dias para todos os tratamentos visando a completa colonização dos substratos. De acordo com Mantovani e colaboradores (2012), o produtor deve estar atento as fases de cultivo visto que podem apresentar metabolismo e preferências diferentes de acordo com a linhagem escolhida, ocasionando uma flutuação da produtividade.

Segundo Minotto et al., (2011), a assimilação dos microrganismos aos meios de cultivo ocorre em função da disponibilidade de nutrientes, destacados principalmente em fontes de carbono, nitrogênio e do seu potencial genético. A composição do substrato tornou propícia a produção de cogumelos ao longo do processo, ainda que sejam observadas mudanças sutis sobre a relação carbono por nitrogênio do substrato. Estas mudanças não conferem consequências ao resultado de um processo de compostagem curta, no qual não há necessidade de biotransformação profunda da matéria orgânica, tendo em vista que o composto foi preparado especificamente para o cultivo de *P. ostreatus*.

Vale ressaltar que os sacos dispostos com maior quantidade de substrato foram sujeitos a contaminação visto o aumento no tempo de colonização. Uma vez que, como já relatado por Silva et al., (2005), a não colonização do micélio influência na produção de cogumelos. Em contrapartida, quanto à utilização dos frascos de vidro não se observou contaminantes durante todo o ciclo, o qual favoreceu sua utilização.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho



A – Crescimento do micélio com linhagem de POP em 72 horas, 14 dias e 24 dias. B – Crescimento do micélio com linhagem de POB em 72 horas, 14 dias e 27 dias.

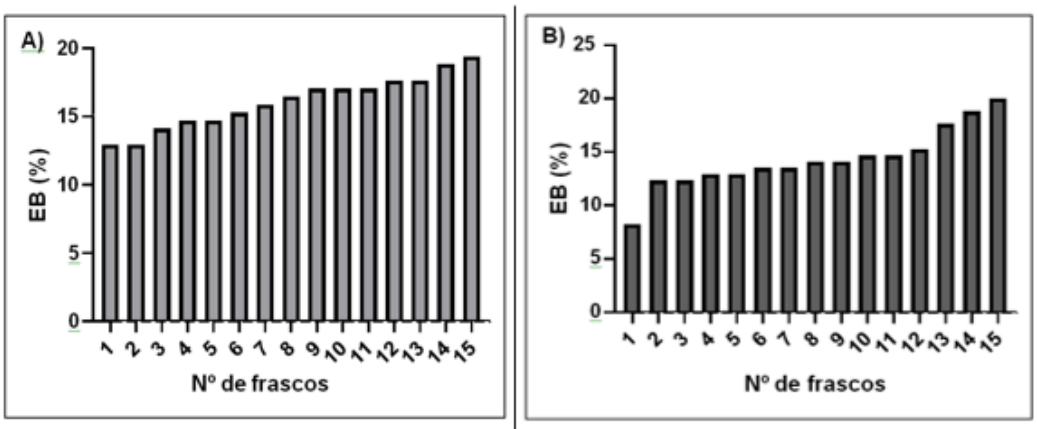
Figura 3 - Frascos contendo linhagens de POP e POB

Produção e Eficiência Biológica

A figura 4 apresenta os níveis de eficiência biológica referente à colheita dos diferentes frascos de vidro contendo as linhagens de POP e POB, o qual expressa a relação entre a massa fresca de cogumelo sobre a massa seca de substrato.

Para Siqueira et al., (2011), a eficiência biológica é um método eficaz para avaliar a eficiência da bioconversão do substrato em cogumelos. Contudo, para os produtores de cogumelos, o parâmetro mais prático é o rendimento. Mediante a isto, um bom índice de rendimento/produtividade inicia com valores superiores à 10% referente ao peso de cogumelos frescos em relação ao substrato úmido.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho



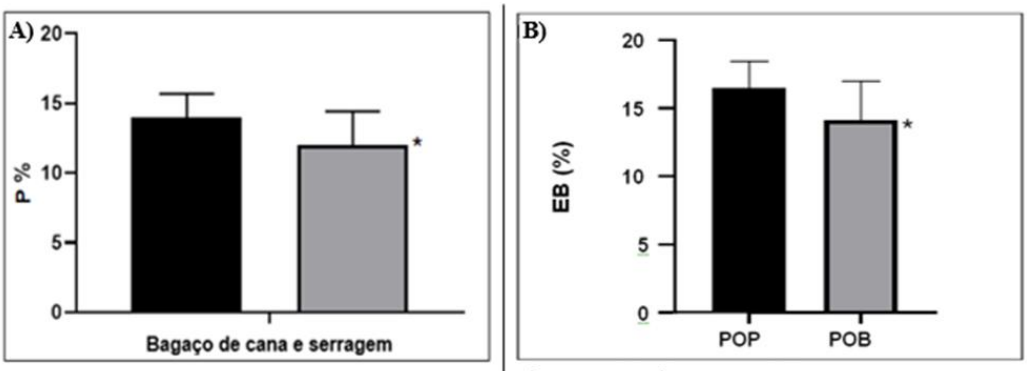
A – Eficiência biológica de *P. ostreatus preto (POP) em frascos de vidro*

B – Eficiência biológica de *P. ostreatus* branco (POB) em frascos de vidro

Figura 4 - Eficiência Biológica (EB) de POP e POB, obtido a partir da produção do cogumelo fresco, em relação ao peso seco do substrato utilizado. EB = ([peso fresco de cogumelos/peso seco do substrato inicial] x 100)

O estudo de Ramos et al, (2011), avaliaram o crescimento da espécie *P. ostreatus* em atmosfera controlada e encontrou valor médio de produção de 13,74% de EB e 6,8% referente a produtividade, cultivados em palha de trigo e colocadas em sacos de polipropileno.

Valores que comparados ao cultivo em frasco apresentam diferenças significativas no acréscimo de produção e EB, visto que em ambas as linhagens em cultivo foram superiores à média de 10%.



P. ostreatus preto-POP

**P. ostreatus* branco-POB

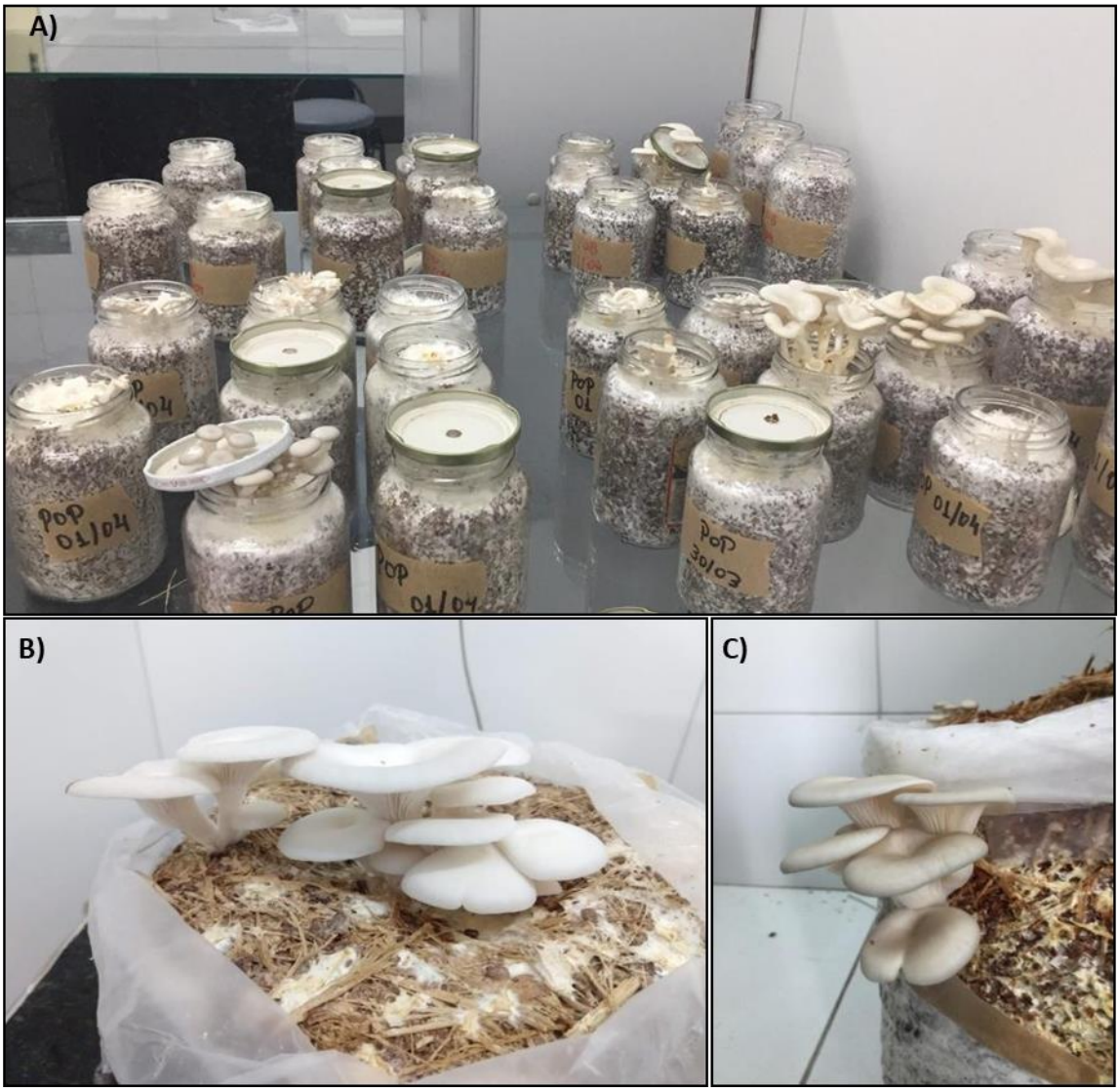
Figura 5 - Apresenta respectivamente os valores médios obtidos da produtividade e eficiência biológica de cogumelos das linhagens do género *P. ostreatus*

Houve, neste caso, produtividade próxima tanto para POP e POB, porém a linhagem POP obteve valores de média de produção com margem de 14% referente a produtividade como mostra a figura 5-A, nas condições ambientais propostas esta linhagem apresentou-se mais produtiva e com maior capacidade de bioconversão do substrato.

Quanto ao cultivo em sacos obteve-se 166 e 364 g de POB para os substratos contendo 5 e 10 kg respectivamente, quanto aos valores de POP 170 g referente a 5 kg e posteriormente 492 g de 10 kg. Observou-se que o micélio necessitou de maior tempo de colonização visto o breve período de incubação ou a distribuição não satisfatória referente a quantidade de *spawn* utilizada, apresentando dificuldade de total colonização do substrato.

Relacionado aos valores de eficiência biológica dispostos na figura 5-B, foi obtido valores de 16,11% para o cultivo de POP e 14,11% referente ao cultivo de POB, próximos aos encontrados pela pesquisa desenvolvida por Paz e colaboradores (2006), o qual, a partir do cultivo do gênero *Pleurotus* em bagaço de uva, resultante da indústria de vinhos e bagaço de maçã, resultante da indústria de sucos (Breyer et al., 2007), obtiveram rendimento de cogumelos nos valores de 15,23% para uva e 16,57% para maçã, em clima temperado.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho



A – Disposição de frascos evidenciando os primórdios de frutificação. B – Corpos frutíferos de POB em saco de polietileno. C – Corpos frutíferos de POP em saco de polietileno.

Figura 6 - Linhagens de POP e POB durante o período de frutificação no substrato padronizado

Assim, no presente estudo, vários fatores podem ter levado a esses valores de EB e rendimento de forma geral. Um desses fatores é a temperatura, dado que, dentro de uma mesma espécie, cada linhagem pode requerer uma faixa de temperatura diferente, apesar de crescerem em uma ampla faixa, é possível que em temperaturas altas, nas quais a linhagem de *P. ostreatus* desse experimento foi produzida, não sejam as ideais para uma maior produtividade.

Sales-Campos et al., (2008) testando o crescimento micelial de isolado de *P. ostreatus*, em meios de culturas diferentes, nas temperaturas de 22 até 30ºC e posteriormente até 35ºC, observaram que a 30 e 35ºC, o crescimento foi afetado, sendo o melhor resultado de crescimento obtido a 25°C.

A composição química do substrato testado, bem como a disponibilidade de componentes no resíduo, pode ser de difícil decomposição pelo fungo e ocasionar influência direta na EB, sendo essencial a presença de açúcares prontamente assimiláveis (Pedra e Marino, 2006; Cardoso et al., 2013).

Gyenge etal., (2016) observaram características distintas em relação ao cultivo em sacos e ao cultivo em frascos, concluíram que a tecnologia de cultivo, bem como a embalagem também pode influenciar na EB e rendimento. Dentre estas, o uso de frascos permitiu a reutilização em diversos cultivos e maior eficiência biológica, apresentando cogumelos mais uniformes, enquanto que nos sacos, permitiram uma única utilização e a sua posterior formação de resíduo (lixo), a eficiência biológica foi menor, bem como os valores obtidos.

Colavolpe et al. (2014), utilizaram a

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

esterilização em autoclave, imersão em água quente e gesso ($CaSO_4$. $0,5H_2O$), utilizando a mesma metodologia de cultivo. Segundo os autores, ajustar o pH do substrato para níveis alcalinos é uma boa forma de inibir o crescimento de contaminantes, sem afetar o crescimento de *P. ostreatus*.

Composto Exaurido

A utilização do substrato pós-cultivo de *P. ostreatus* possui sua eficácia como fertilizante e condicionador do solo (Medina et al., 2012; Oda et al., 2014) e como substrato para produção de mudas (Silva et al., 2005) avaliada positivamente neste meio. Segundo Nakatsuka et al. (2016) a adição de substrato pós-cultivo fresco promove a atividade biológica do solo e do subsolo. Estes autores recomendaram a adição de substrato pós-cultivo de cogumelos como uma prática para a melhoria da estrutura do solo em regiões subtropicais.

A utilização de resíduos lignocelulósicos para a produção de cogumelos pode ser vantajosa para reduzir o impacto ambiental destes resíduos, agregar valor econômico com a produção de alimento de alto valor nutricional para os seres humanos e ainda permitir a utilização de tais resíduos como fertilizantes (Bento et al., 2014).

Diante disso, a utilização dos resíduos de bagaço da cana-de-açúcar e raspas de madeira como substrato para a produção de cogumelos comestíveis e o aproveitamento do substrato pós-cultivo como adubo e fertilizante do solo, apresenta-se como uma alternativa viável, tanto do ponto de vista econômico, como ambiental e social.

CONCLUSÕES

A técnica e os tratamentos utilizados (calcário dolomítico e gesso) em resíduos madeireiros e agrícolas como substrato para cultivo de *P. ostreatus*, apresentaram boa taxa de produção, com obtenção de corpos de frutificação em todos os ensaios de produção.

Observamos que o cultivo em frascos de vidro reutilizáveis proporcionou melhores médias quando comparado à utilização de sacos de polipropileno. Mediante ao ponto de vista produtivo e ecológico, a utilização dos frascos colaborou com a colonização do substrato e obtenção de corpos frutíferos, além de diminuir a projeção de dejetos e assim reduzir um possível impacto ambiental.

Neste sentido, tornam-se necessárias novas pesquisas considerando avaliar a adaptação dessas linhagens as altas temperaturas locais para que a técnica se aproxime ainda mais de produtores, bem como a utilização de suplementos para melhorar a disponibilidade de nutrientes e garantir não só uma boa produção, mas também um alimento rico quanto às suas características nutricionais, além de avaliar a aceitação local mediante a sua inserção como produto alimentício ou atividade de comércio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albuquerque MP. Cultivo de Lentinus sajor-caju Pleurotus sajor- caju e *Pleurotus* spp. em diferentes substratos. Ano de obtenção: 2010. 126 P. Tese (Doutorado em Agricultura familiar) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Alexandrino AM, Faria HG, Souza, CGM, Peralta, RM. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). Ciência Tecnologia Alimentar, v.27, n.2, p.364-368, 2007. https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000200026

Bento CBP, Da Silva JS, Rodrigues MT, Kasuya MCM, Mantovani HC. Influence of white-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. Afr. J. Microbiol. Res, v.8, n.28, p.2724-2732, 2014. https://doi.org/10.5897/AJMR2014.6858

Burgi, R. Utilização de resíduos culturais e de beneficiamento na alimentação de bovinos. Anais do 6º simpósio sobre nutrição de bovinos da FEALQ, 1995. Piracicaba SP, p.153-169.

Breyer CA, Paz MF, Giovanni RN. Cultivo de *Pleurotus sajor*-caju em bagaço de maçã pela técnica Jun-Cao. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, 16, 2007, Curitiba. Anais. Curitiba, 2007.

Cardoso JCP, Demenjour P, Louis MM, Paz MF. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* em bagaço de bocaiuva e de cana-de-açúcar pela técnica JUN-CAO. Evidência, v.13, n.1, p.31-40, 2013.

Chang Shu-Ting, Miles P. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect and Environmental Impact. CRC Press: USA, 478p. 2004.

Cheung PCK. The nutritional and health benefits of mushrooms. British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin, v.35, n.4, p.292–299, 2010. https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2010.01859.x.

Colavolpe MB, Mejía SJ, Albertó E. Efficiency of treatments for controlling *Trichoderma* spp during spawning in cultivation of lignicolous mushrooms. Brazilian Journal of Microbiology, v.45, n.4, p.1263-1270, 2014. https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400017.

Eira AF, Bueno FS. Cultivo de cogumelo: shimeji e hiratake. Viçosa: CPT, 224p. 2005.

Eira AF, Esposito E, Azevedo JL. Fungos uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia. Caxias do Sul: Educs, 638p. 2004.

Fernandes Â, Barros L, Martins A, Hebert P, Ferreira ICFR. Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. Food Chemistry, v.169, p.396–400,2015. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.027

Furlani RPZ, Godoy HT. Nutritional value of edible mushrooms. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, n.1, p.154–157, 2007.

Gyenge B, Kozma T, Almádi B, Szarvas J, Villás G, Urvölgyi M. Technology innovation in sustainable growing and distribution of king oyster mushroom. Hungarian Agricultural Engineering, v.29, p.5-10. 2016. https://doi.org/10.17676/HAE.2016.29.5

Lopes S, Rosso S. Bio. São Paulo: Editora Saraiva, 784p.2013.

Machuca A, Ferraz A. Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during Eucalyptus grandis decay in solid medium. Enzyme Microbial Technology, v.29, n.6, p.386–391, 2001. https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00417-3

Marino RH, Abreu LD, Mesquita JB, Ribeiro GT. Crescimento e cultivo de diferentes isolados de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: fr.) Kummer em serragem da casca de coco. Arq. Inst. Biol, v.75, n.1, p.29-36,2008.

Mantovani TRD, Meirelles P, Valle JS, Linde GA, Colauto NB. Formulação de substratos na produção de biomassa micelial e de lacase de Pleurotus ostreatus. Semin Agrar. v.33, n.5, p.1681-92, 2012.

Menezes CR, Barreto AR. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v.19, n.2, p.1365-1391, 2015.

Medina E, Paredes C, Bustamante M, Moral Raúl, Moreno-Caselles J. Relationships between soil physico-chemical, chemical and biological properties in a soil amended with spent mushroom substrate. Geoderma, v.173, n.174, p.152-161, 2012. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.12.011.

Minotto E, Bernardi E, Rosa FO, Nascimento JS. Desenvolvimento micelial in vitro de *Pleurotus* sp. Em palha de arroz suplementada com serragem de couro. Arquivo do Instituto Biológico, v.78, n.4,p.609-613,2011.

Moda EM, Horri J, Spoto MHF. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and suplemented sugarcane bagasse. Scientia Agrícola, Piracicaba, v.62, p.127-132, 2005. https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000200006

Nakatsuka H, Oda M, Hayashi Y, Tamura K. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. Geoderma. v.269, p.54-60, 2016. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.01.023

Oda M, Tamura K, Nakatsuka H, Nakata M, Hayashi Y. Application of high carbon: nitrogen material enhanced the formation of the soil a horizon and nitrogen fixation in a tropical agricultural field. Agricultural Sciences, v.5, n.2, p. 1172–1181, 2014. http://dx.doi.org/10.4236/as.2014.512127

Paz MF, Vieira E, Breyer CA, Giovanni RN, Bertoldi FC. Cultivo de *Pleurotus sajor-caju* em bagaço de uva Isabel. Evidência, v.6, p.187-194, 2006.

Pedra WN, Marino RH. Cultivo axênico de *Pleurotus* spp. em serragem da casca de coco (*Cocos nucifera* linn.) suplementada com farelo de arroz e/ou de trigo. Arquivos do Instituto Biológico, v.73, n.2, p.219-225, 2006.

Pelizer LH, Pontieri MH, Moraes IO. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução de impacto ambiental. Journal of Technology Management and Innovation, v.2, n,1, p.118-127, 2007.

Piscitelli A, Giardina P, Lettera V, Pezzella C, Sannia G, Faraco V. Induction and transcriptional regulation of laccases in fungi. Current Genomics, v.12, n.2, p.104–112, 2011. https://doi.org/10.2174/138920211795564331

Ramos C, Sapata M, Ferreira A, Andrada L. Candeias, M. Produção de três espécies de cogumelos *Pleurotus* e avaliação da qualidade em atmosfera modificada. Revista de Ciências Agrarias, v.34, n.1, p.57-64, 2011.

Sales-Campos C, Eira AF, Jesus MA, Campagnolli F, Andrade MCN. Crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* em resíduo de Simarouba amara. Pesq. Agropec. Bras, v.43, n.11, p.1633-1635, 2008. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008001100024

Sánchez C. Bioactives from Mushroom and Their Application BT - Food Bioactives: Extraction and Biotechnology Applications. In: Puri M. (Ed.). Cham: Springer International Publishing, p.23–57, 2017.

Simões MG. Desenvolvimento e crescimento da espécie de cogumelo *Pleurotus ostreatus* em garrafas de plástico reutilizado. Ano de obtenção: 2015. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, Portugal.

Silva GA, Trufem SFB. Saggin Júnior OJ, Maia LC. Arbuscular mycorrhizal fungi in a semiarid copper mining area in Brazil. Mycorrhiza, v.15, p.47-53, 2005. https://doi.org/10.1007/s00572-004-0293-6

Siqueira FG, Martos ET, Silva R, Dias ES. Cultivation of *Pleurotus* sajor-caju on banana stalk and Bahia grass-based substrates. Horticultura Brasileira, v.29, n.2, p.199-204, 2011. https://doi.org/10.1590/S0102-05362011000200011

Tavares ACD. Cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* INPA 1467: Produção, composição centesimal e mineral. Ano de obtenção: 2015. 91p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.carvalho

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Phytochemical analysis and antimicrobial and antioxidant activities of *Henriettea succosa* (Aubl.) DC. leaves

Izaqueu Rodrigues da Silva[a], Bruno Anderson de Morais[a], Maria Isabela Ferreira de Araújo[b], Paula Perazzo de Souza Barbosa[c], Amanda Reges de Sena[a], Tonny Cley Campos Leite[a*]

[a] Federal Institute of Education, Science and Technology of Pernambuco, Brasil
[b] Federal University of Pernambuco, Brasil
[*] Autor correspondente (tonny.leite@barreiros.ifpe.edu.br)

INFO

Keyworks
biological activity
natural products
secondary metabolites

ABSTRACT

Henriettea succosa is a tree species consumed in abundance by birds, however, there is no report on its phytochemical profile and biological activity. This study performed the phytochemical screening and the antimicrobial and antioxidant potential of *H. succosa* leaves. The hexane (Hex), ethyl acetate (AcOEt) and methanol (MeOH) extracts of the leaves were evaluated for chemical composition by Thin Layer Chromatography and spectrophotometric analysis; the antimicrobial activity was determined by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Microbicide Concentration (MMC); antioxidant activity was determined using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging, determination of the reducing power and the phosphomolybdenum complex reduction assay. The photoprotor action of the extracts was also evaluated. The results showed a higher content of phenolic compounds (444.08 ± 0.020 mg EAG/g) and tannins (414.37 ± 0.16 mg EAG/g) in the MeOH extract, which was effective against *Staphylococcus aureus* and *Serratia marcescens*, with MIC of 1 mg/ ml and CMM of 2 mg/ml. The MIC and MMC of AcOEt for *Micrococcus luteus* was 1 mg/mL, this was also considered the minimum concentration necessary for the Hex extract to act on the *S. aureus* strain. The MeOH extract showed greater antioxidant activity by the DPPH (79.09%) and reducing power (327.2 ± 0.00 mg EAA/g) methods, while the AcOEt extract showed greater activity by the phosphomolybdenum method (40.5%). However, none of the extracts showed a photoprotective effect against UV radiation. In summary, this study revealed that the leaves of *H. succosa* have secondary metabolites with bactericidal potential, in addition to antioxidant action.

Palavras-chaves
atividade biológica
metabolitos secundários
produtos naturais

RESUMO

Análise fitoquímica e atividades antimicrobiana e antioxidante das folhas de Henriettea succosa (Aubl.) DC. Henriettea succosa é uma espécie arbórea consumida em abundância por pássaros, no entanto, não há relatos sobre seu perfil fitoquímico e atividade biológica. Este estudo realizou a triagem fitoquímica e analisou o potencial antimicrobiano e antioxidante das folhas de *H. succosa*. Os extratos hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) foram avaliados quanto a composição química por Cromatografia em Camada Delgada e análise espectrofotométrica; a atividade antimicrobiana foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Mínima Microbicida (CMM); a atividade antioxidante foi determinada usando-se os ensaios de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), de determinação do poder redutor e de redução do complexo fosfomolibdênio. Foi avaliada também a ação fotoprotetora dos extratos. Os resultados mostraram maior teor de compostos fenólicos (444,08 ± 0,020 mg EAG/g) e taninos (414,37 ± 0,16 mg EAG/g) no extrato MeOH, sendo este eficaz contra *Staphylococcus aureus* e *Serratia marcescens*, com CIM de 1 mg/mL e CMM de 2 mg/mL. O CIM e CMM do AcOEt para *Micrococcus luteus* foi 1 mg/mL, essa também foi considerada a concentração mínima necessária para o extrato Hex agir sobre a cepa de *S. aureus*. O extrato MeOH apresentou maior atividade antioxidante pelos métodos de DPPH (79,09%) e poder redutor (327,2 ± 0,00 mg EAA/g), enquanto o extrato AcOEt apresentou maior atividade por meio do método fosfomolibdênio (40,5%). No entanto, nenhum dos extratos apresentaram efeito fotoprotetor contra radiação UV. Em suma, este estudo revelou que as folhas de *H. succosa* possuem metabólitos secundários com potencial bactericida, além de ação antioxidante.

Received 07 April 2021; Received in revised from 06 May 2021; Accepted 25 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUCTION

Human culture has always been influenced by plant biodiversity, mainly due to the medicinal properties it provides, thus boosting the search for bioactive compounds for the synthesis of new drugs, with secondary metabolites considered to be leading molecules both in natural form and in models for medicinal chemistry (Valli *et al*., 2012).

In this scenario, the Melastomataceae family stands out, which has more than 4,800 species distributed in different regions of the world, predominantly in the Neotropical area. In Brazil, it is considered the sixth largest family of Angiosperms, with 68 genera and more than 1500 species, and present in the most diverse plant formations. Among its genera is *Henriettea*, composed of 22 species (Arantes and Monteiro, 2002).

Henriettea succosa (Aubl.) DC., popularly known as mundururu-meloso in Brazil, is a tree species that can reach 5 to 13 m in height. It is a fruit tree used as food for birds frugivores and predominates in the Brazilian Atlantic Forest (Baumgratz, 2015; Cazetta *et al*., 2019; Costa *et al*., 2006). Most studies found evaluated the floristic biodiversity, structure and diversity of tree species and fungal systematics (Bonilla-Mata & Acosta-Vargas, 2020; Farnum, 2019; Hernández-Restrepo *et al*., 2020; Machado *et al*., 2016; Silva *et al*., 2021). Given absent works in the literature about the biological activities of the referred species, this research aimed to perform the phytochemical analysis and determine the antimicrobial and antioxidant effect of the *H. succosa* leaves.

MATERIAL AND METHODS

This study was conducted at the Microbiology and Bromatology Laboratories located at the Federal Institute of Pernambuco (IFPE) - *Campus* Barreiros, Barreiros/PE, Brazil.

Plant material

The *H. succosa* leaves were identified by the botanist M.Sc. Earl Celestino de Oliveira Chagas, and the exsiccatae deposited in the herbarium of the Environmental Institute of the State of Alagoas (IMA-AL) under number MAC 0050941.

Microorganisms

Bacteria: *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 01), *Micrococcus luteus* (UFPEDA 06), *Bacillus subtilis* (UFPEDA 16), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA 138), *Escherichia coli* (UFPEDA 224), *Serratia marcescens* (UFPEDA 398), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA 39), *Mycobacterium smegmatis* (UFPEDA 71). Fungi: *Candida albicans* (UFPEDA 1007). All obtained from Microorganisms of the Department of Antibiotics collection of the Federal University of Pernambuco (UFPEDA).

Obtaining leaf extracts from *H. succosa*

The leaves (2000 g) of *H. succosa* were dried for four days, in an oven with controlled temperature (40 °C) and constant renewal of air, ground, and stored in an airtight container before extraction. The extracts were obtained through exhaustive maceration with hexane (Hex), or ethyl acetate (AcOEt), or methanol (MeOH), in the proportion of 1:10 (w/v) for seven days at room temperature. Subsequently, the material was filtered and the solvent was removed from the extract under reduced pressure, using a rotary evaporator at 65 °C.

Phytochemical profile by Thin Layer Chromatography (TLC)

Phytochemical analysis of *H. succosa* leaf extracts was performed by Thin Layer Chromatography (TLC), using silica gel plates pre-coated by F254 (Wagner and Bladt, 2001). In the mobile phase of the column, 5 mg / mL of hexane extracts (Hex: AcOEt - 7:3), ethyl acetate extract (Hex: AcOEt - 6:4), and methanolic extract were applied (Hex: AcOEt: MeOH – 2:5:3). The eluents were used to fraction the compounds present in the extracts. Standard developers were co-chromatographed for each class of phytochemical constituent. The plates were observed in an ultraviolet chamber at the wavelengths of 254 nm and 365 nm.

Quantification of total phenolic compounds

Total phenolics quantify in *H. succosa* leaf extracts was performed according to Silva *et al*. (2006), with modifications. In a test tube 0.2 ml of the extract (500 mg / ml), 0.5 ml of 10% Folin-Ciocalteu reagent (v/v) and 1 ml of sodium carbonate solution (Na_2CO_3) were added to a 7.5% (w/v). After stirring, the samples remained for 30 minutes in the dark and at room temperature. At the end of this time, 3 ml of distilled water were added and the reading was made at 760 nm. The standard curve was prepared with gallic acid, and the phenol content was expressed in milligrams of Gallic Acid Equivalent per gram of extract (mg GAE/g).

Determination of total tannins

This analysis was carried out according to Shad *et al*. (2012) method. 500 µL of each *H. succosa* leaf extracts (500 mg / mL) and 2.5 of the reagent Folin-Ciocalteu 10% (v/v) were added in a test tube. After stirring for 3 min, 2 mL of 20% (w/v)

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

sodium carbonate (Na_2CO_3) was added, and then, after standing for 2 h in the dark, the reading was made at 725 nm. A standard curve was drawn up using tannic acid, and the tannin content was expressed in milligrams tannic acid equivalent per gram of sample (mg TAE/g).

Determination of total flavonoids

The analysis was carried out following the methodology of Barroso *et al*. (2011), where 1 ml of each *H. succosa* leaf extracts (500 mg/ml), 4 ml of distilled water, and 300 µl of sodium nitrite ($NaNO_2$) at 25% (w/v) were added in a test tube. After standing for 5 min, 300 µL of aluminum chloride ($AlCl_3$) 10% (w/v), 2 mL of sodium hydroxide (NaOH) at 1 mol/L, and 2,4 mL of distilled water were added and, then, the reading was made at 510 nm. A standard curve was drawn up using rutin, and the flavonoid content was expressed as milligrams rutin equivalent per gram of sample (mg RE/g).

Antimicrobian activity

Inoculum

Bacterial and fungal suspensions were prepared from cultures grown on nutrient agar (NA) and Sabouraud dextrose (SDA), respectively. The bacterial strains were incubated at 35 ± 2 °C for 24h, and the fungal strains at 35 ± 2 °C for 24-48 h. After incubation, approximately 4-5 colonies were transferred to test tubes containing 5 mL of sterile saline (0.85% NaCl). The resulting suspensions were vortexed for 15s (Fanem Ltda, Guarulhos, SP, Brazil). The final inoculum turbidity was normalized with a suspension of barium sulfate (0.5 tube on the McFarland scale). The final concentration obtained was 1-5 × 10^8 colony-forming units per milliliter (CFU/mL) for bacteria, and 1-5 × 10^6 (CFU/mL) for the fungal strain (Ostrosky *et al*., 2008).

Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Microbicide Concentration (MMC)

The MIC of *H. succosa* leaf extracts in the strains used was determined by the broth microdilution method (Ingroff *et al*., 2002), where 90 µL of Muller Hinton Broth (MHB) were transferred to the wells of a 96-well microdilution plate with U-shaped bottom (Alamar, Diadema, SP, Brazil). Then, 90 µL of the product emulsion was inoculated from the third column of the plate (A3). Serial dilutions were performed, where a 90µL aliquot was taken from the most concentrated well to the next, producing concentrations of 0.03 mg / mL in the last column (A12). Por fim, 10 µL das suspensões bacterianas ou fúngicas foram adicionados em cada poço. The plates were incubated at 35 ± 2 °C for 24 h for bacteria, and 28 ± 2 °C for 48 h for the fungal strain. After that time, 30 µL of rezasurin (0.1 mg/mL) was added for quantitative analysis of microbial growth in the wells and determination of the relative antimicrobial activity. To determine the MMC, aliquots of 5 µL of the concentrations of the extracts that presented MIC were subcultured in Petri dishes containing CMH. After 24 h of incubation for bacteria (35 ± 2 °C) and 48 h for the fungus (28 ± 2 °C), a reading was performed to evaluate the MMC based on the controls. MMC was defined as the lowest concentration of the product capable of inhibiting bacterial or fungal growth or allowing growth of less than three CFU, resulting in a 99.9% bactericidal activity. The tests for antimicrobial activity were performed in duplicate and the results expressed by the arithmetic mean of the MIC or MMC.

Determination of reducing power

The reducing power of *H. succosa* leaf extracts was determined using the method proposed by Waterman and Mole (1994). 100 µL of the extracts diluted in methanol were used, with a final concentration of 0.5 mg/mL. Afterward, 8.5 ml of distilled water, 1 ml of the $FeCl_3$ solution (0.1 M) were added and, after 3 min, 1 ml of the potassium ferricyanide solution (0.08 M) was added. After 15 min, the reading was performed at 720 nm. A standard curve was drawn up using ascorbic acid, and the results obtained were expressed in milligram equivalent to ascorbic acid per gram of the extract (mg EAA/g).

Sequestering activity of the radical 2,2-diphenyl-1-picrilhhydrazi (DPPH)

The test to determine the ability of *H. succosa* leaf extracts to sequester the free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhidrazi) was carried out according to Cavin *et al*., (1998), with modifications, where 0.1 ml aliquot of each extract was added to 3.9 ml of a solution of DPPH (0.004%, w/v) and, after resting for 30 min in the dark, the reading was performed at 517 nm. Ascorbic acid was used as a standard and the percentage of the sequestering activity (% SA) of the DPPH radical was calculated using the equation:

$$\% SA = 100x (Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}$$

Where: $Abs_{control}$ is the absorbance of DPPH + ethanol and Abs_{sample} is the absorbance of radical DPPH + sample (sample or standard). The anti-radical efficiency was established using linear

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

regression analysis and the results were expressed through the concentration of the sample necessary to obtain half of the sequestering activity of the DPPH radicals ± average standard error (EC_{50} ± A.S.E.).

Reduction test for the phosphomolybdenum complex

The antioxidant capacity of *H. succosa* leaf extracts was evaluated using the phosphomolybdenum method (Prieto *et al*., 1999). Briefly, 0.3 mL of different concentrations (25, 50, 100 and 150 µg/mL) of the extracts were combined with 3 mL of the reactive solution (0.6 mol/L sulfuric acid, 28 mmol/L sodium phosphate, and 4 mmol/L ammonium molybdate) in test tubes, which were incubated at 95 °C for 90 min. The absorbance of the solution was measured at 695 nm against a control (0.3 mL of distilled water and 3 mL of the reagent). For calculation purposes, the rutin pattern was considered to be 100% antioxidant activity.

$$\% \text{ AA} = ABS_{sample} - ABS_{control} \times 100 / ABS_{rutin} - ABS_{control}$$

Photoprotective activity

The evaluation of the photoprotective activity of *H. succosa* leaf extracts was performed in vitro according to Mansur *et al*. (1986). This test aims to evaluate whether the samples provide protection against UVA and UVB radiation. For that, each extract was diluted in ethanol until a concentration of 100 µg / mL was obtained. The absorbance reading was performed between 290 and 320 nm. The Sun Protection Factor (SPF) was calculated using the equation:

$$\text{SPF (spectrometry)} = FC \times 290\sum 320\ EE(\lambda) \times l(\lambda) \times abs(\lambda)$$

Statistical analysis

The results of the tests were subjected to Tukey test through the Sisvar statistical program at the level of 5% probability.

RESULTS AND DISCUSSION

Extract yield

The extracts yield obtained from 300 g of *H. succosa* leaves were: hexane - 3 g (1% w/w); ethyl acetate - 4 g (1.5% w/w); and methanol - 9 g (3% w/w).

Phytochemical profile

The phytochemical profile of Hex, AcOEt and MeOH extracts from the leaves of *H. succosa* revealed the presence of different compounds (Table 1).

Table 1 - Phytochemical profile of *H. succosa* leaves

H. sucosa	**Hex**	**AcOEt**	**MeOH**
Alkaloids	-	-	-
Coumarins	+	-	-
Flavonoids	-	+	+
Tannins	-	+	+
Saponins	-	-	-
Triterpenes	+	+	-
Steroids	+	-	-
Anthraquinones	-	-	-
Essencial oils	-	-	-

(-): Not detected; (+): Detected; Hex: Hexane; AcOEt: Ethyl acetate; MeOH: Methanol

Hex extract showed curmarins, triterpenes and steroids, AcOEt, flavonoids, tannins and triterpenes, and in contrast, MeOH presented only two of the nine compounds analyzed: flavonoids and tannins.

Due to the nonpolar nature of the hexane extract, there is a trend in lipophilic compounds extraction, such as methyl esters of fatty acids, traces of triterpenes, and coumarins (Figueiredo *et al*., 2008). Thus, the chemical composition of the Hex extract of the leaves of *H. succosa* adds fat-soluble compounds driven by the lipophilicity of the solvent. Also, the variation in these components can be influenced by genetic and environmental factors of the plant, a condition that distinguishes the metabolites between species of the same family.

Coumarins can be found in the roots, flowers, fruits, and leaves of vegetables, and their presence may be related, among other activities, to the antimicrobial and antioxidant actions of plant

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

extracts (Detsi *et al*., 2017), activities reported in the present study. Generally, more complex terpenes, such as triterpenes are abundant in plants and confer bioactive properties in the prevention and treatment of malignant tumors, anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant effect, among others (Cháirez-Ranpirez *et al*., 2016; Isah *et al*., 2016).

The presence of triterpenes in plant extracts is also related to the synthesis of plant phytosterols and steroid hormones, such as plant brassinosteroids (Bishop and Koncz, 2002), a common peculiarity in the phytochemical findings of the present study, since the presence of triterpenes and steroids in the hexane extract of *H. succosa* leaves.

The flavonoids in the AcOEt and MeOH extracts may be responsible for the pharmacological properties of the species, including antimicrobial, anti-inflammatory, and antioxidant action (Tsuchiya, 2010). Thus, they can contribute to the possible effects of the extracts on dermatological problems.

Measurement of total phenolics, tannins and flavonoids

Table 2 shows the results of the determination of total phenolics, tannins and flavonoids from *H. succosa* leaf extracts.

Table 2 - Dosage of total phenolics, tannins and flavonoids from *H. succosa*

Análise	µg/ml - Extrato	
	AcOEt	MeOH
Phenolics (mg GAE/g)	255.57 ± 0.020	444.08 ± 0.020
Tannins (mg TAE/g)	201.7±0.01	414.37±0.16
Flavonoids (mg RE/g)	171.73±0.01	270.5±0.1

Gallic Acid Equivalent per gram of extract (mg GAE/g); mg rutin equivalent per gram sample (mg RE/g); mg tannic acid equivalent per gram of extract (mg TAE/g).

There was a significant increase in these classes of metabolites in the MeOH extract, with a predominance of phenolic compounds (444.08 mg EAG/g) and tannins (414.37 mg EAT/g). The hexane extract showed concentrations below the minimum required for quantification (data not shown).

Methanol is a polar solvent capable of promoting greater solubility and interaction between the molecules present in the extract (Felhi *et al*., 2017), a condition that may be related to the increase in the content of phenolic compounds, tannins, and flavonoids verified in this study, when compared to the AcOEt extract and the hexane.

In plants, phenolic compounds (flavonoids, simple phenols, tannins, stilbenes) are components of the electron transport chain in mitochondria and chloroplasts, in addition to being involved in oxidation-reduction processes, growth regulation, and plant development, a mechanism related to its significant increase in quantification tests (Babenko *et al*., 2019). Also, they are bioactive metabolites that perform antimicrobial, antioxidant, anti-tumor, anti-inflammatory, anti-aging, and chemopreventive action (Metsämuuronen and Sirén, 2019).

However, as studies with species of the family Melastomataceae are scarce, comparative analyzes related to the phytochemical profile are difficult. However, chemical investigations with the genus *Miconia*, from the same family, revealed the presence of flavonoids, triterpenes, steroids, phenolic acids, quinones, tannins, and lignans (Sabbag Cunha *et al*., 2019), similar findings, from the phytochemical point of view to those found in the present study.

Antimicrobial activity

For the antimicrobial evaluation of the *H. succosa* leaf extracts (Table 3) against the tested microorganisms, the MIC was determined, which refers to the lowest concentration of an antimicrobial that will inhibit the visible growth of a microorganism after overnight incubation. Already MMC refers to the lowest concentration of antimicrobial that will prevent the growth of an organism after subculture on to antibiotic/extracts-free media (Andrews, 2001).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

Table 3 - Determination of the MIC and MMC of the extracts of *H. succosa* in mg/mL

Extract Strain/ (mg/mL)	Parameters	01	06	16	138	39	224	398	1007
Extract Hex	MIC	1	2	2	0.5	4	1	2	1
	MMC	1	2	2	4	4	2	8	8
	MMC/MIC	1	1	1	8	1	2	4	8
Extract AcOEt	MIC	0.5	1	4	0.5	4	2	0.5	0.5
	MMC	2	1	4	4	4	4	1	4
	MMC/MIC	4	1	1	8	1	2	2	8
Extract MeOH	MIC	1	0.25	2	1	1	2	1	1
	MMC	2	1	4	4	4	4	2	8
	MMC/MIC	2	4	2	4	4	2	2	8

MIC: Minimum Inhibitory Concentration, MMC: Minimum Microbicide Concentration, HEX: hexane, AcOEt: ethyl acetate, MeOH: methanol, 01: *S. aureus*, 06: *M. luteus*, 16: *B. subtilis*, 138: *E. faecallis*, 39: *P. aeruginosa*, 224: *E. coli*, 398: *S. marcencens*, 1007: yeast *C. albicans.*

The AcOEt extract at a concentration of 0.5 mg/mL had significant bacteriostatic and fungistatic activities, inhibiting gram-positive bacteria: *S. aureus*, *E. faecallis*, gram-negative: *S. marcencens*, and the fungal strain *C. albicans*. In contrast, doses of 4 mg/mL of this extract were needed to inhibit the growth of *B. subtilis* and *P. aeruginosa*. The effective antimicrobial effect of the MeOH extract was against the *M. luteus* strain, with MIC of 0.25 mg/mL and MMC of 1 mg/mL. However, the Hex extract did not demonstrate significant bactericidal and fungicidal activities against *S. marcencens* and *C. albicans*, respectively, with MMC of 8 mg/mL.

According to Rios and Recio (2005), an extract can be considered promising when it is active at a concentration below 0.1 mg/mL. However, the effect of the product capable of causing the eventual death of a microorganism occurs when the MIC/MMC ratio is between 1 and 2 (Hafidh *et al*., 2011). Therefore, the three extracts were bactericidal against most of the tested strains, however, none of the extracts showed activity against *C. albicans*. Low antifungal efficacy may be related to chemical decomposition or microbial degradation of organic compounds by target microorganisms (Rongai *et al*., 2017).

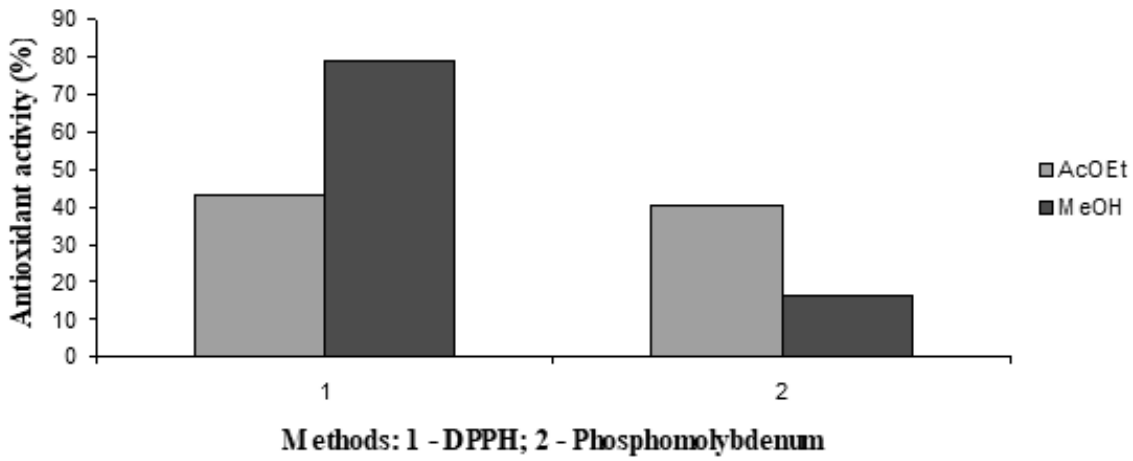
Gilbert *et al*. (2014) observed the antibacterial effect of methanolic extract from the leaves of *Dissotis thollonii* Cogn against strains of *E. coli*, a condition favored by the significant presence of polyphenols and flavonoids in species of the family Melastomataceae. Such secondary metabolites can promote rupture of membrane lipopolysaccharides contained in gram-negative bacteria such as *E. coli*, thus facilitating the entry of antimicrobial compounds to target sites within the cell (Zakaria *et al*., 2011).

In addition, bioactive products can inhibit the synthesis of essential bacterial proteins or act on cell wall receptors, and thus prevent the growth of the pathogen (Lavigne, 2009). Thus, possibly the antibacterial potential of *H. succosa* leaf extracts was amplified by the presence of triterpenes in the sample, especially in the AcOEt extract, in which there was an increase in the number of inhibited microorganisms (Saleem *et al*., 2010).

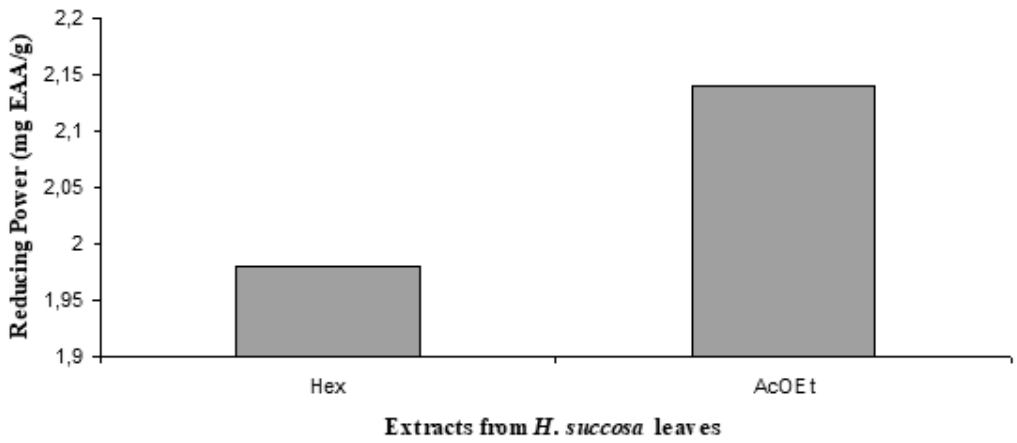
Antioxidant activity

The antioxidant capacity of the Hex, AcOEt, and MeOH extracts from the leaves of *H. succosa* was determined by the tests: 1 - Sequestering activity of the DPPH radical; 2 - Determination of the reducing power; 3 - Phosphomolybdenum complex formation method, summarized in figures 1 and 2.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva



AcOEt: Ethyl acetate; MeOH: Methanol
Figure 1 - Antioxidant activity by DPPH and Phosphomolybdenum from *H. succosa* leaves



AcOEt: Ethyl acetate; MeOH: Methanol; mg EAA/g: milligram equivalent to ascorbic acid per gram of the sample
Figure 2 - Antioxidant activity by Reducing power from *H. succosa* leaves

The free radical DPPH can be reduced in the presence of antioxidant compounds, capable of donating hydrogen atoms and, thus, making it a stable diamagnetic molecule. The MeOH extract exhibited a greater capacity to reduce the DPPH radical (79.09 ± 0.001%) when compared to the AcOEt extract (43.53 ± 0.050%).

The polarity of the extractive solvents contributes to the increase in the percentage of bioactive molecules, a condition related to the content of phenolic and flavonoid compounds present in the MeOH extract, however, the discrepancy in the water-solvent ratio can influence the solubility of the phytochemicals and thus alter the possible biological effects (Rahaiee *et al*., 2015), a phenomenon observed in this study, since, although the AcOEt extract contains greater varieties of metabolites when related to MeOH extract, it presented a low capacity for eliminating the DPPH radical.

Nzogong *et al*. (2018) evaluated the antioxidant capacity of two plants of the Melastomataceae family and observed low elimination of the DPPH radical by ethanolic extracts. The discrepancy in the antioxidant percentage of crude extracts from plants inserted in the same family may be related to variations in the content of antioxidant compounds, such as phenolic derivatives, therefore, the existence of such compounds could explain the antioxidant activity found in the species studied in this study.

The reducing activity of *H. succosa* leaf extracts was also carried out using the metal ion reducing potency method, a reaction that promotes the

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

reduction of Fe^{+3} in Fe^{+2} by antioxidant compounds (Waterman and Mole, 1994). It was inferred that the MeOH extract had a greater capacity to reduce Fe^{+3} (327.2 ± 0.00 mg EAA/g) when compared to the AcOEt extract (227.8 ± 0.01 mg EAA/g). The reducing properties of plant extracts are mostly attributed to the cleavage of the free radical and therefore the donation of hydrogen molecules, besides, they prevent the formation of peroxide precursors (Rumzhum *et al*., 2012).

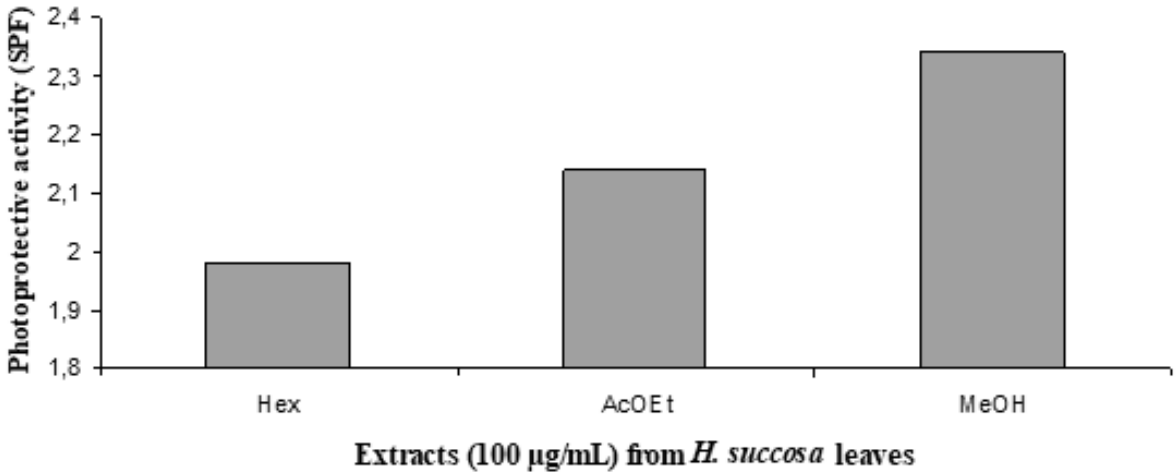
In the phosphomolybdenum complex formation test, the phosphate/molybdenum complex is formed at acid pH, and the subsequent reduction of molybdenum to molybdenum by the plant extract (Prieto *et al*., 1999). The results showed that the AcOEt extract promoted a greater reduction of molybdenum (40.5 ± 0.462%), an effect that may be related to the content of chemical compounds present in the extract, with synergism between them.

Photoprotective activity

The method described by Mansur is widely used to measure the sun protection factor (SPF) *in vitro*, its principle is to relate the absorbance of the test product with the erythematous effect of radiation and the intensity of light at wavelengths from 290 to 320 nm (UVB region in the spectrum) (Violante *et al*., 2009). Table 6 shows the SPF of Hex, AcOEt, and MeOH extracts from *H. succosa* leaves.

At a concentration of 100 µg/mL, the MeOH extract was shown to have a higher absorbance of ultraviolet light B (2.34 ± 4.13), followed by AcOEt (2.14 ± 3.02) and Hex (1.98 ± 3.45). According to Anvisa (2012), photoprotective products must have a minimum SPF value of 6, thus, the results obtained for the extracts used do not meet the limit required.

The increase in the protection factor of the MeOH extract is probably due to higher concentrations of photoprotective compounds in the sample, in general, phenolic compounds induce defense against UV radiation, since similar substances in plant species perform such functions (Rozema *et al*., 2001)



Sun Protection Factor (SPF); Hex: hexane; AcOEt: ethyl acetate; MeOH: Methanol.
Figure 3 - Photoprotective activity from *H. succosa* leaves

CONCLUSIONS

H. succosa leaf are a source of secondary metabolites, especially coumarins, flavonoids, tannins and steroids, and MeOH has a greater capacity to extract such compounds in significant concentrations. In addition, the tested products showed antibacterial and fungistatic activity, with emphasis on AcOEt, effective against most strains, except for *S. aureus*, *E. faecallis* and *C. albicans*. In addition, the extracts prevented and/or controlled oxidative stress, being potentially antioxidant, however, they were unable to exercise photoprotection in vitro against UV-B-induced damage. Our results are pioneering in the phytochemical and biological exploration of *H. succosa* leaves, inferring that the species has pharmacological and chemical potential for future studies, however, a more in-depth approach to the species is necessary in order to identify specific compounds and other bioactivities.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Federal Institute of Pernambuco (IFPE) - Campus Barreiros for the structural and financial support for the implementation of this work.

REFERENCES

Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.48, suppl. S1, p.5-16, 2001.

Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2012) Resolução RDC nº 30, de 1 de junho de 2012. Avaiable in: http://www.cosmeticsonline.com.br/ct/painel/fotos/assets/uploads/regulatorios/bef6eRDC-30.pdf.

Arantes AA, Monteiro R. A família Myrtaceae na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. Lundiana: International Journal of Biodiversity, v.3, n.2, p.111-127, 2002.

Babenko LM, Romanenko KO, Kosakivska IV, Smirnov OE, Trunova OK. Phenolic compounds in plants: Biogenesis and functions. The Ukrainian Biochemical Journal, v.91, n.3, p.5-18, 2019.

Barroso MF, Noronha JP, Delerue-Matos C, Oliveira MBPP. Flavored waters: influence of ingredients on antioxidant capacity and terpenoid profile by HS-SPME/GC-MS. Journal of agricultural and food chemistry, v.59, n.9, p.5062-5072, 2011.

Baumgratz JFA. Henriettea in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Available in: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9475.

Bishop GJ, Koncz C, Brassinosteroids and plant steroid hormone signaling. The Plant Cell, v.14, n. suppl 1, p.S97-S110, 2002.

Bonilla-Mata R, Acosta-Vargas LG. Dynamic and growth of the forests of the Isla del Coco National Park, Costa Rica. Revista de Biología Tropical, v.68, p.89-102, 2020.

Cavin A, Hostettmann K, Dyatmyko W, Potterat O. Antioxidant and lipophilic constituents of Tinosporacrispa. Planta medica, v.64, n.5, p.393-396, 1998.

Cazetta E, Ribeiro DAS, Cassano CR, Faria D, Dodonov P, Baumgarten JE. Forest amount, not structure, influences fruit removal of two pioneer species in Atlantic forest remnants. Biotropica, v.51, p.674-681, 2019.

Cháirez-Ramírez MH, Moreno-Jiménez MR, González-Laredo RF, Gallegos-Infante JA, Rocha-Guzmán NE. Lupane-type triterpenes and their anti-cancer activities against most common malignant tumors: A review. EXCLI journal, v.15, p.758, 2016.

Costa LCB, Rocha EA, Silva LAM, Jardim JG, Silva DC, Gaião LO, Moreira RCT. Levantamento Preliminar das Espécies Vegetais com Potencial Econômico no Parque Municipal da Boa Esperança, Ilhéus, Bahia, Brasil. Acta Farmacéutica Bonaerense, v.25, p.184-191, 2006.

Detsi A, Kontogiorgis C, Hadjipavlou-Litina D. Coumarin derivatives: an updated patent review (2015-2016). Expert opinion on therapeutic patents, v.27, n.11, p.1201-1226, 2017.

Farnum F. Caracterizacion de un bosque fragmentado em una área adyacente a La corretera boyd Roosevelt, província de Colón, Panama. Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negócios, v.6, p.31-43, 2019.

Felhi S, Daoud A, Hajlaoui H, Mnafgui K, Gharsallah N, Kadri A. Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of Ecballium elaterium seeds and peels fruits. Food Science and Technology, v.37, n.3, p.483-492, 2017.

Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJ. Fatores que afetam a produção de metabólitos secundários em plantas: componentes voláteis e óleos essenciais.

Flavour and Fragrance Journal, v.23, p.213–26, 2008.

Gilbert A, Herve TT, William YN, Leonard SF, Jules-Roger K, Albert K. Antidiarrhoeal and antibacterial activity of aqueous and methanolic leaves extracts of *Dissotis thollonii* Cogn.(Melastomataceae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v.4, p.S672-S678, 2014.

Hafidh RR, Abdulamir AS, Vern LS, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F, Sekawi Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. The open microbiology journal, v.5, p.96, 2011.

Hernández-Restrepo M, Giraldo A, Doorn RV, Wingfield MJ, Groenewald JZ, Barreto RW, Colmán AA, Mansur PSC, Crous PW. The Genera of Fungi – G6: *Arthrographis*, *Kramasamuha*, *Melnikomyces*, *Thysanorea*, and *Verruconis*. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, v.6, p.1-24, 2020.

Ingroff AE, Chaturvedi V, Fothergill A, Rinaldi MG. Optimal testing conditions for determining MICs and minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for uncommon molds: NCCLS collaborative study. Journal of Clinical Microbiology, v.40, n.10, p.3776-3781, 2002.

Isah MB, Ibrahim MA, Mohammed A, Aliyu AB, Masola B, Coetzer TH. A systematic review of pentacyclic triterpenes and their derivatives as chemotherapeutic agents against tropical parasitic diseases. Parasitology, v.143, n.10, p.1219-1231, 2016.

Lavigne JP. Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance; 2009. Avaiable in: http://www.med.univmontp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/modbase/MB7_Bio_ Med/Ressources_locales/BACTERIO/B6-ATB_et_resistance.pdf.

Machado JRA, Silva NG, Duarte CC. Biodiversidade florística ameaçada pelo uso intensivo de pastagens, no município de Palmeirina – PE. Regne, v.2, p.981-990, 2016.

Mansur JDS, Breder MNR, Mansur MCDA, Azulay RD. Determinaçäo do fator de proteçäo solar por espectrofotometria. An. Bras. Dermatol, p.121-4, 1986.

Metsämuuronen S, Sirén H. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: A review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. Phytochemistry Reviews, v.18, n.3, p.623-664, 2019.

Nzogong RT, Ndjateu FST, Ekom SE, Fosso JAM, Awouafack MD, Tene M. Antimicrobial and antioxidant activities of triterpenoid and phenolic derivatives from two Cameroonian Melastomataceae plants: Dissotis

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

senegambiensis and Amphiblemma monticola. BMC complementary and alternative medicine, v.18, n.1, p.1-11, 2018.

Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana de determinação de concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

Prieto P, Pineda M, Aguilar, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Analytical biochemistry, v. 269, n.2, p.337-341, 1999.

Rahaiee S, Moini S, Hashemi M, Shojaosadati SA. Evaluation of antioxidant activities of bioactive compounds and various extracts obtained from saffron (*Crocus sativus* L.): a review. Journal of Food Science and Technology, v.52, n.4, p.1881-1888, 2015.

Rios JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of ethnopharmacology, v.100, n.1-2, p.80-84, 2005.

Rongai D, Pulcini P, Pesce B, Milano F. Antifungal activity of pomegranate peel extract against fusarium wilt of tomato. European Journal of Plant Pathology, v.147, n.1, p.229-238, 2017.

Rozema J, Broekman RA, Blokker P, Meijkamp BB, de Bakker N, Van de Staaij, J. UV-B absorbance and UV-B absorbing compounds (para-coumaric acid) in pollen and sporopollenin: the perspective to track historic UV-B levels. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v.62, n.1-2, p.108-117, 2001.

Rumzhum NN, Rahman MM, Parvin MN, Chowdhury SA. Evaluation of Antioxidant, Antino Potentialities of Methanolic Extract of Memecylon umbellatum. Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v.4, n.2, p.84, 2012.

Sabbag Cunha GO, Coelho da Cruz D, Severo Menezes AC. An Overview of Miconia genus: Chemical Constituents and Biological Activities. Pharmacognosy Reviews, v.13, n.26, 2019.

Saleem M, Nazir M, Ali MS, Hussain H, Lee YS, Riaz N, Jabbar A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. Natural product reports, v. 27, n. 2, p. 238-254, 2010.

Shad MA, Haq N, Tanzila R, Ahmad HB, Mazhar H. Optimization of extraction efficiency of tannins from Cichorium intybus L.: Application of response surface methodology. Journal of Medicinal Plants Research, v.6, n.28, p.4467-4474, 2012.

Silva TMS, Camara CA, da Silva Lins AC, Barbosa-Filho JM, da Silva EMS, Freitas BM *et al*. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. Journal of food composition and analysis, v.19, n.6-7, p.507-511, 2006.

Tsuchiya H. Structure-dependent membrane interaction of flavonoids associated with their bioactivity. Food chemistry, v. 120, n. 4, p. 1089-1096, 2010.

Valli M, Pivatto M, Danuello A, Castro-Gamboa I, Silva DHS, Cavalheiro AJ *et al*. Tropical biodiversity: has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry?. Química Nova, v.35, n.11, p.2278-2287, 2012.

Violante IM, Souza IM, Venturini CL, Ramalho AF, Santos RA, Ferrari M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.19, n.2A, p.452-457, 2009.

Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Nova York: Springer, 2001.

Waterman PG, Mole S. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications, 1994.

Zakaria ZA, Zakaria ML, Amom Z, Desa MN. Antimicrobial activity of the aqueous extract of selected Malaysian herbs. African Journal of Microbiology Research, v.5, n.30, p.5379-5383, 2011.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.silva

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Study of the composition of mango pulp and whey for lactic fermented beverages

Rafael Resende Maldonado[a**], Roberto Elias Buosi[b], Octávio Avancini Neto[b], Ramon dos Santos Araújo[b], Marcela Aparecida Deziderio[b], Elizama Aguiar-Oliveira[c*], Rodrigo Rodrigues Petrus[d], Eliana Setsuko Kamimura[d]

[a] University of Campinas, Brazil
[b] Integrated College Maria Imaculada, Brazil
[c] State University of Santa Cruz, Brazil
[d] University of São Paulo, Brazil
[*] Autor correspondente (eaoliveira@uesc.br)
[**] *In memoriam*

INFO

Keyworks
fermentation
fruit pulp
lactic acid bacteria
Mangifera indica
mixture design

ABSTRACT

Fermented lactic beverages have high sensory acceptance and may present probiotic microorganisms that are able to promote well-being. Milk is the primary substrate for this type of fermentation. However, more and more, consumers have been requesting for alternative formulations with lower (or absent) milk content. Two nutritional components can allow the reduction of milk in formulations: cheese whey (CW) and fruit pulps. This study aimed to investigate, with the aid of the experimental design tool and sensory analysis, the best formulations between mango pulp (MP), CW and whole milk (WM) to develop lactic beverages fermented by *Lactobacillus acidophilus* La-5 at 37 °C for up to 72 h. The results indicated that the increase in MP proportion associated with a decrease in WM elevated the sensory acceptance. Three formulations, with 24 h of fermentation, containing 55 – 100 % (w/w) of MP and 0 – 45 % (w/w) of CW were the best formulations and presented pH of 3.5 – 4.0, cell count >10^8 CFU/mL and 82 – 88 % of global acceptance. These results suggest MP or MP with CH as substrates for lactic fermentation replacing milk.

Palavras-chaves
fermentação
polpa de fruta
bactérias do ácido lático
Mangifera indica
matriz de mistura

RESUMO

Estudo da composição de polpa de manga e soro de queijo para bebidas láticas fermentadas. As bebidas láticas fermentadas apresentam alta aceitação sensorial e podem conter microrganismos probióticos que são capazes de promover o bem-estar. O leite é a principal matéria-prima para esse tipo de fermentação. No entanto, cada vez mais, os consumidores vêm solicitando formulações alternativas com menor composição (ou ausência) de leite. Dois componentes nutritivos podem permitir a redução do leite nas formulações: o soro de queijo (SQ) e polpas de fruta. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar, com o auxílio da ferramenta de planejamento experimental e análise sensorial, as melhores formulações entre polpa de manga (PM), SQ e leite integral (LI) para o desenvolvimento de bebidas lácticas fermentadas por *Lactobacillus acidophilus* La-5 a 37 °C por até 72 h. Os resultados indicaram que o aumento da proporção de PM associado a diminuição de LI elevou a aceitação sensorial. Três formulações, com 24 h de fermentação, contendo 55 – 100 % (p/p) de PM e 0 – 45 % (p/p) de SQ foram as melhores formulações e apresentaram pH de 3,5 – 4,0, contagem de células >10^8 UFC/mL e 82 – 88 % de aceitação global. Esses resultados sugerem PM ou PM com SQ como substratos para a fermentação láctica em substituição ao LI.

Received 02 May 2021; Received in revised from 01 June 2021; Accepted 19 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUCTION

Lactic acid bacteria (LAB) are industrially important microorganisms and are used in industrial food fermentations, such as: yougurt (Huang et al., 2020), fermented milk (Abdel-Hamid et al., 2019), soy (Peirotén et al., 2020) and fruits (Isas et al., 2020). LAB are usually found in milk and dairy products, in plants and in the human and animal intestinal mucosa (Yerlikaya et al., 2020); they are capable of metabolizing different substrates and to improve nutritional properties (Garcia et al., 2020a). In addition, they are able to modify the profile of bioactive compounds and some physical-chemical and sensory characteristics besides to reduce lactose content and extend the shelf life by increasing acidity or producing bacteriocins (Daba and Elkhateeb, 2020; Wu et al., 2021). This group of bacteria has gained prominence due to the great potential to be used as probiotics (Peng et al., 2020). Among the various groups of bacteria classified as LAB, the most studied are *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacteria* spp. that are used industrially to produce yogurt (Yerlikaya et al., 2020).

The main raw material for lactic fermentation is milk (Peng et al., 2020), however, whey has been increasingly studied and applied for different fermented beverages (Guimarães et al., 2019). Whey is one of the main by-products of the cheese industry and is a source of vitamins, minerals and proteins such as sulphuramino acids which are particularly valuable due to their anticarcinogenic activities (Moussa and El-Gendy, 2019). Whey can contain approximately half the total amount of milk solids (*e.g.* proteins, lactose and mineral) and is estimated to be equivalent to 90 % of milk volume. However, if disposed of incorrectly, it can be an environmental threat due to its high organic loads (Rama et al., 2019).

Another rich substrate for LAB fermentation can be suggested as different tropical fruit pulps (or juices) such as: *Spondias dulcis* (Souza et al., 2020a), *Theobroma grandiflorum* (Pereira et al., 2017), *Syzygium cumini* (Garcia et al., 2020b), *Anacardium occidentale* (Souza et al., 2020b) and many others. Fruit pulps can be potential substrates due to the incorporation of specific aromas (which improves sensory acceptance) and some specific nutrients. Furthermore, the fruit based fermented products are lactose free, which meet the needs of consumers with lactose intolerance, for example (Maldonado et al., 2017). Mango (*Mangifera indica*) is one of the tropical fruits with unique flavor and high nutritional value; some works were performed previously with mango and whey, for example: Andrade et al. (2019), Skyplonek et al. (2019), Pandey and Ojha (2020) and Pandey et al. (2019). This study targeted the production of lactic fermented beverages based on mango, milk and whey. The fermentation conditions, and the physical-chemical, sensory and microbiological characteristics of the finished products were also investigated.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of mango pulp, milk and whey

The mangoes utilized (*Magnifica indica* v. Tommy Atkins) were purchased locally (Mogi Guaçu, São Paulo, Brazil). The fruits were cleaned, peeled, and processed in a blender for the pulp preparation at the proportion 1:1 (mango pulp mass / distilled water mass). The pulp was pasteurized in batches (80 ºC / 5 min), hot filled in glass flasks, cooled to ambient temperature (~25 °C) and then frozen at -18 ºC (Maldonado et al., 2017; Nagpal et al., 2012).

Whey was obtained from the coagulation of whole fresh (unpasteurized) milk also supplied by a local producer. The coagulation process was realized with the addition of a lactic culture (10^6 UFC/mL, Rhodia Foods®) and rennet (Estrella®). After one hour of coagulation, the whey was separated by filtration, pasteurized, and stored under the same conditions as the mango pulp. The whole milk was pasteurized and stored under the same conditions as the mango pulp and whey (Maldonado et al., 2017).

Lactic fermentation

The formulation of mango, milk, and whey-based lactic fermented beverages was evaluated using a Simplex Mixture Design for three components with ten different formulations (trials) (Bourscheid et al., 2014; Barros Neto et al., 2010). The minimum quantities of mango pulp and whey were defined at 40 % and 30 % (w/w), respectively, based on a previous study (Maldonado et al., 2017). The statistical analysis was performed with STATISTICA v.8 (Statsoft).

The fermentations were conducted in sterilized flasks of 250 mL, into which 150 mL of the substrates were added. A lyophilized lactic culture (LAB) containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 (10^6 UFC/mL) was inoculated into each flask. The flasks were still kept at 37 ºC without agitation for 72 h. Samples were collected every 24 h for assessing the titratable acidity, concentration of soluble solids (SS), and pH. All formulations from the mixture design with 24 h of fermentation were selected for LAB cells counting (dilution 10^{-8}) and sensorial analysis.

Two formulations were then selected from the

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

data analysis: trial 1 [70 % (w/w) of mango and 30 % (w/w) of whey] and trial 4 [55 % (w/w) of mango and 45 % (w/w) of whey). A sample containing 100 % (w/w) of mango was also taken. They were all fermented (5 replicates) for 24 h and were sensory evaluated.

Analytical methods

Physico-chemical analysis: The physico-chemical tests were carried out according to the standards described by the Instituto Adolfo Lutzs (IAL, 2005). For the determination of acidity titration was performed with a NaOH 0.1 mol/L and phenolphthalein; the soluble solids content (SS, °Brix) was measured with a portable refractometer (Instrumentep, São Paulo, Brazil) and the pH with a digital pHmeter (Digimed, São Paulo, Brazil).

Microbiological analysis: The LAB cell counting was performed by the colony forming units (CFU) method with serial decimal dilution of samples and plating (triplicate) in MRS (Man, Rogosa and Sharpe, Kasvi®, Brazil) agar with incubation at 37 ºC / 48 h (Fujita et al., 2017; Maldonado et al., 2017). Values were expressed per volume of fermented beverages (CFU/mL).

Sensory analysis: Based on previous work (Nogueira et al., 2016; Santos et al., 2008) and with approval of the Ethics Committee (CAAE n. 56661716.8.0000.5679), the sensory evaluation of the fermented beverages was conducted with untrained assessors. The attributes taste, aroma, color and overall acceptance were evaluated using a five-point just-about-right (JAR) scale (5 = liked very much and 1 = disliked very much). Sweetness and acidity were assessed with a five-point ideality scale (5 = much higher than the ideal and 1 = much lower than the model). The samples were produced accordingly to the good manufacturing practices and stored for one day in a fridge; prior to analysis, the samples were sweetened with 10 % (w/v) of sucrose to balance the acid/sweet ratio. For the first stage of analysis, ten selected formulations were evaluated by 15 untrained assessors and, for the second stage, three selected formulations were assessed by 58 untrained assessors. The results were evaluated by ANOVA and Tukey test, with a confidence level of 95 % ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Lactic Fermentation

The mango pulp, whey and milk-based lactic beverages were prepared according to the proportions defined by the matrix design shown in Table 1. The obtained profiles for: pH, acidity (%, v/v) and soluble solids (SS, °Brix) throughout the 72 h of fermentation (Fig. 1) demonstrate that the fermentation process, in the first 24 h, resulted in abrupt decreases for pH and SS values but for the titratable acidity it was observed a continuous increase until the end of the 72 h of fermentation. The lactic acid, the main acid produced by LAB, is a weak acid and its increase in time, does not necessarily reflect a significant decrease of pH, since it can may generate a buffering effect which tends to minimize the pH variations (Maldonado et al., 2017).

Table 1 - Coded Simplex Matrix with pseudo-components to evaluate the formulation of lactic fermented beverages with mango pulp, whey and milk. The responses presented are: cell count for lactic acid bacteria (LAB, log CFU/mL) and the average score for some sensorial attributes (n = 15 assessors). The real proportions (%, w/w) of the variables are exhibited in parentheses

Trial	Variables			Responses (24 h)						
	Mango (% w/w)	Whey (% w/w)	Milk (% w/w)	LAB (log CFU/mL)	Taste	Aroma	Color	Overall Accep-tance	Sweet-ness	Acidity
1	1 (701)	0 (30)	0 (0)	6.4	4.2 ± 0.5	2.9 ± 1.3	4.6 ± 0.5	4.2 ± 0.5	3.2 ± 0.4	2.9 ± 0.2
2	0 (40)	1 (60)	0 (0)	8.0	3.2 ± 0.9	2.9 ± 1.2	4.1 ± 0.8	3.2 ± 0.9	2.5 ± 0.7	2.8 ± 0.8
3	0 (40)	0 (30)	1 (30)	14.6	2.7 ± 1.0	3.1 ± 1.1	3.2 ± 1.2	2.4 ± 1.0	2.1 ± 0.7	2.9 ± 1.1
4	1/2 (55)	1/2 (45)	0 (0)	> 100 est.	4.4 ± 0.5	3.1 ± 1.1	4.5 ± 0.5	4.3 ± 0.6	3.1 ± 0.6	3.1 ± 0.4
5	1/2 (55)	0 (30)	1/2 (15)	13.4	2.9 ± 0.9	3.8 ± 1.1	3.7 ± 0.9	3.3 ± 0.9	2.6 ± 0.6	3.0 ± 0.8
6	0 (40)	1/2 (45)	1/2 (15)	> 100 est.	2.9 ± 1.0	3.6 ± 1.0	2.8 ± 1.2	3.1 ± 1.2	2.8 ± 0.6	3.4 ± 0.5
7	1/3 (50)	1/3 (40)	1/3 (10)	11.3	3.7 ± 0.7	3.1 ± 1.4	3.8 ± 0.8	3.7 ± 0.9	3.1 ± 0.4	3.1 ± 0.2
8	2/3 (60)	1/6 (35)	1/6 (5.0)	> 100 est.	4.1 ± 0.4	3.9 ± 0.8	4.3 ± 0.5	3.7 ± 0.5	2.9 ± 0.6	3.1 ± 0.5
9	1/6 (45)	2/3 (50)	1/6 (5.0)	> 100 est.	2.9 ± 0.7	3.0 ± 1.1	3.3 ± 0.8	3.0 ± 0.8	2.8 ± 0.8	2.8 ± 0.7
10	1/6 (45)	1/6 (35)	2/3 (20)	2.8	3.6 ± 0.7	3.3 ± 0.8	3.3 ± 0.9	3.3 ± 0.7	3.1 ± 0.7	2.7 ± 0.6

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

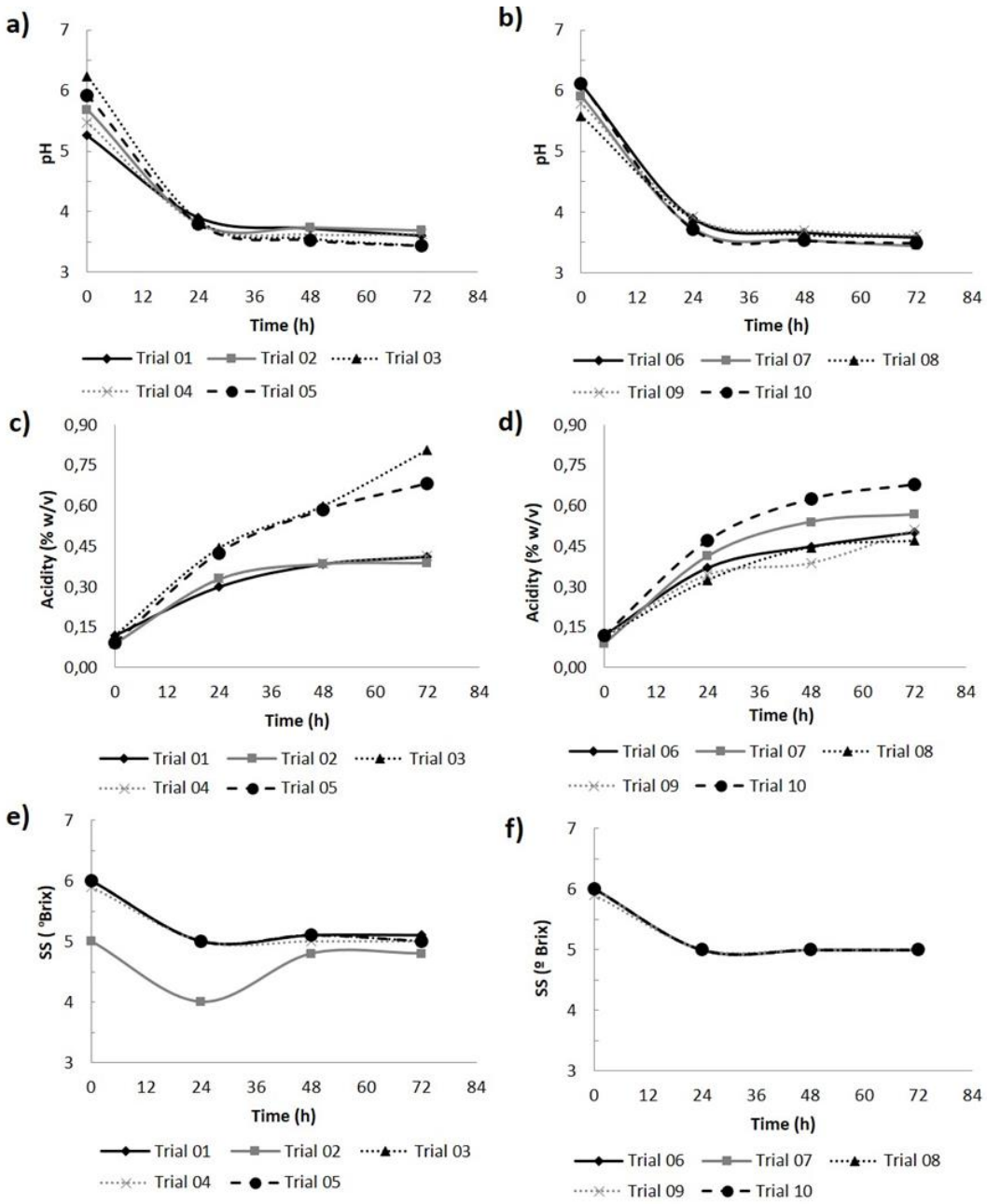


Figure 1 - Kinetic of fermentation for ten trials (formulations can be obtained at Table 1) of lactic fermented beverage using mango pulp, whey and whole milk during fermentation time for: a) and b) pH, c) and d) acidity (% w/v), e) and f) soluble solids (SS °Brix)

The evaluation of the initial conditions is essential for formulation of beverages since the natural acidity of fruits may interfere in LAB's growth and survival (Fonteles et al., 2013; Di Cagno et al., 2011). For the initial pH values (t = 0 h) it was possible to observe a statistical significant difference between values and it was possible to adjusted a codified model (R^2 = 0.94; p < 0.01) presented in Equation 1, which permitted to obtain its correspondent contour curve (Fig. 2.a). The results showed, as expected, that the increase in milk volume led to an increase in pH values, whereas the higher mango pulp proportion led to lower pH values. Despite the initial pH differences, after 24 h, all the formulations presented similar pH values (Fig. 1.a and 1.b) with an average at 24 h of 3.84 ± 0.07 and it was not possible to identify a statistical significant difference (p > 0.05) between the formulations. Similar result was observed in previous studies also with mango pulp as substrate: pH 3.5 after 24 h (Maldonado et al., 2017) and pH = 3.2 after 72 h (Reddy et al., 2015).

$$pH\ (t = 0\ h) = (5.33) \cdot (Mango) + (5.74) \cdot (Whey) + (6.38) \cdot (Milk) \quad 1$$

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

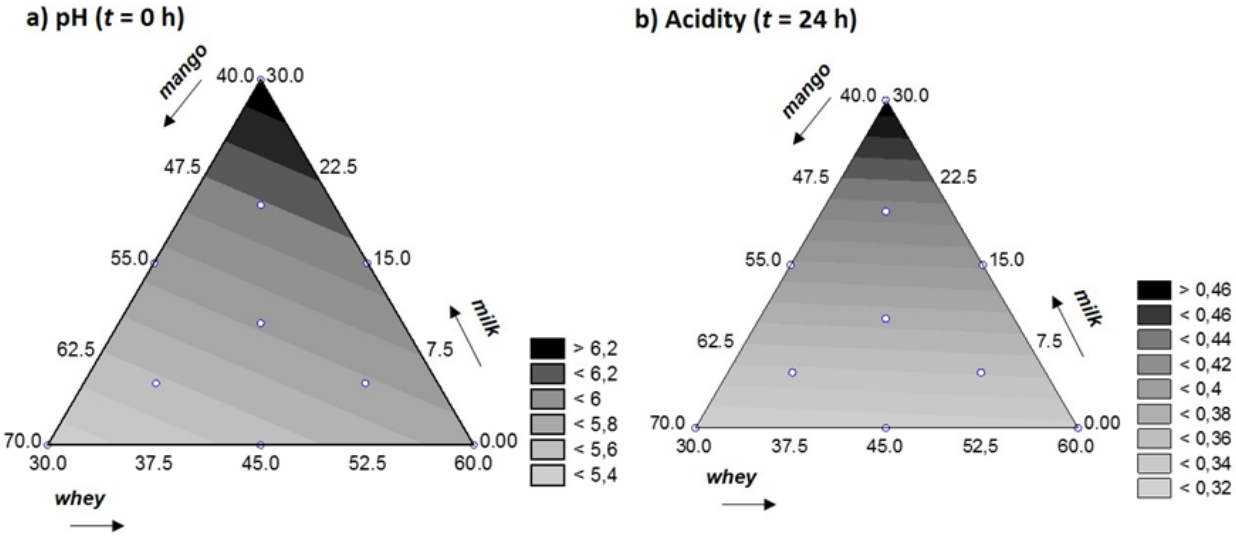


Figure 2 - Contour curves for a) the initial pH (t = 0 h) and b) the final acidity (t = 24 h) of lactic fermented beverages developed with different proportions (%, w/w) of mango pulp, whey and whole milk.

In comparison to pH, the titratable acidity presented an opposite behaviour since there was no statistically significant difference ($p > 0.05$) between formulations at $t = 0$ (as it can be observed at Figures 1.c and 1.d), however, there was a statistically significant difference ($p < 0.05$) after 24 h. The acidity values varied from an average value of 0.11 ± 0.01 % (w/w) (at t = 0 h) to values between 0.30 to 0.47 % (w/w) (after 24 h), due to the metabolism of LAB in different formulations. The acidity data (24 h) was adjusted to a coded model ($R^2 = 0.75$; $p < 0.05$) presented in Equation 02 and the obtained contour curve can be observed in Figure 2.b. From the results (Fig. 2.b) it was possible to observe that, similarly for what was observed for the higher pH values (Fig. 2.a), the formulations with higher mango and lower milk proportions resulted in higher titratable acidities, for example, formulations (trials) 10 and 3 (compositions at Tab. 1) resulted in the highest acidities [0.47 and 0.44 % (w/w), respectively]. LAB can ferment different substrates, but milk is their natural habitat and fermentation tend to be faster which could explain higher titratable acidities. In a previous work from the research group (Maldonado et al., 2017), it was obtained a 0.5 % (v/v) of titratable acidity for LAB fermentation (24 h) with only mango as a substrate and a smaller value (0.3 % v/v) with equal proportions of mango and whey.

$$Acidity\ (t = 24\ h) = (0.32) \cdot (Mango) + (0.33) \cdot (Whey) + (0.48) \cdot (Milk) \qquad 2$$

Considering the soluble solids content (SS, °Brix) it was not possible to confirm a statistical significant difference ($p > 0.05$) between all formulations, since they resulted in similar SS values at both: t = 0 h (5.8 ± 0.3 °Brix) and t = 24 h (4.9 ± 0.3 ° Brix), as it can be observed at Figures 1.e and 1.f. Reddy et al. (2015) also observed a reduction in SS with a probiotic mango lactic fermented beverages from 12.0 to 5.8 °Brix, after 72 h of fermentation.

The cell counting of beverages obtained with 24 h of fermentation is presented in Table 1 for each formulation, the results showed a steady growth of LAB (reaching over 10^8 CFU/mL) in all formulations (considering the inoculum of $1.0 \cdot 10^6$ CFU/mL). According to the Brazilian legislation, the minimum value for LAB cell counting in lactic fermented beverages is established as 10^6 CFU/mL (Brazil, 2001), therefore, all formulations are in agreement to this specification and can be classified as lactic fermented beverages. It is worth noting that there was an expressive growth of LAB with formulations (trials) 4, 6, 8 and 9 whose proportions varied from: 40 to 60 % (v/v) for mango, 35 – 50 % (v/v) for whey and 0 – 15 % (v/v) of milk (Tab. 1). The influence of mango in LAB growth was also verified in a previous study that evaluated lactic fermented beverage with whey, in which the addition of mango in the formulations increased the cellular counting of *L. casei* cells in 1 log UFC after 24 h compared with formulations without mango (Desnilasari and Kumalasari, 2017). Other similar counting for mango based lactic fermented beverages has been reported such as 10^7-10^8 CFU/mL (Maldonado et al., 2017) and 9.81 log UFC/mL (Liao et al., 2016).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

Initial sensory analysis

Since fermentation was considered stable for the first 24 h, as discussed before, the ten beverages obtained with 24 h were submitted to sensory evaluation, firstly, with a reduced group of 15 untrained assessors; the average scores obtained (Tab. 1) were statistically analysed. Three of the six attributes evaluated were adjusted to statistically significant models: (R^2 = 0.61 and p = 0.04), color (R^2 = 0.76 and p = 0.01), and global acceptance (R^2 = 0.76 p = 0.01) and their contour curves are presented in Figure 3. From the analysis of the contour curves it was observed the increase in mango proportion resulted in an increase in the assessors' marks to taste (Fig. 3.a), color (Fig. 3.b), and global acceptance (Fig. 3.c) and, an increase in milk proportion, resulted in an opposite (and undesirable) effect. This is a significant result as it demonstrates mango's potential as a substrate for the production of a lactic fermented beverage with high sensory acceptance and low lactose content.

Aroma was the attribute that presented the lowest acceptance, varying between 2.9 and 3.8 (58 to 76 % acceptability index) (Tab. 1). And considering the attributes sweeteness and acidity, the average scores were around 3 (the center of the scale): 2.8 ± 0.3 and 3.0 ± 0.2, respectively (Tab. 1), therefore, these attributes were considered adequate. This is also an indication that the addition of sucrose in order to improve the taste was also favourable and it has been confirmed in other studies with satisfactory sensory acceptance results (Maldonado et al., 2017; Nogueira et al., 2016).

According to Table 1, formulations 1 and 4 presented the best results, especially for global acceptance (score > 4.0, representing more than 80 % of the acceptability index), and these two formulations are precisely the ones that do not contain milk. Additionally, since the increase in mango proportion improved the sensory acceptance, a formulation with only mango pulp was chosen with formulations 1 and 4 for the final validation and sensory analysis.

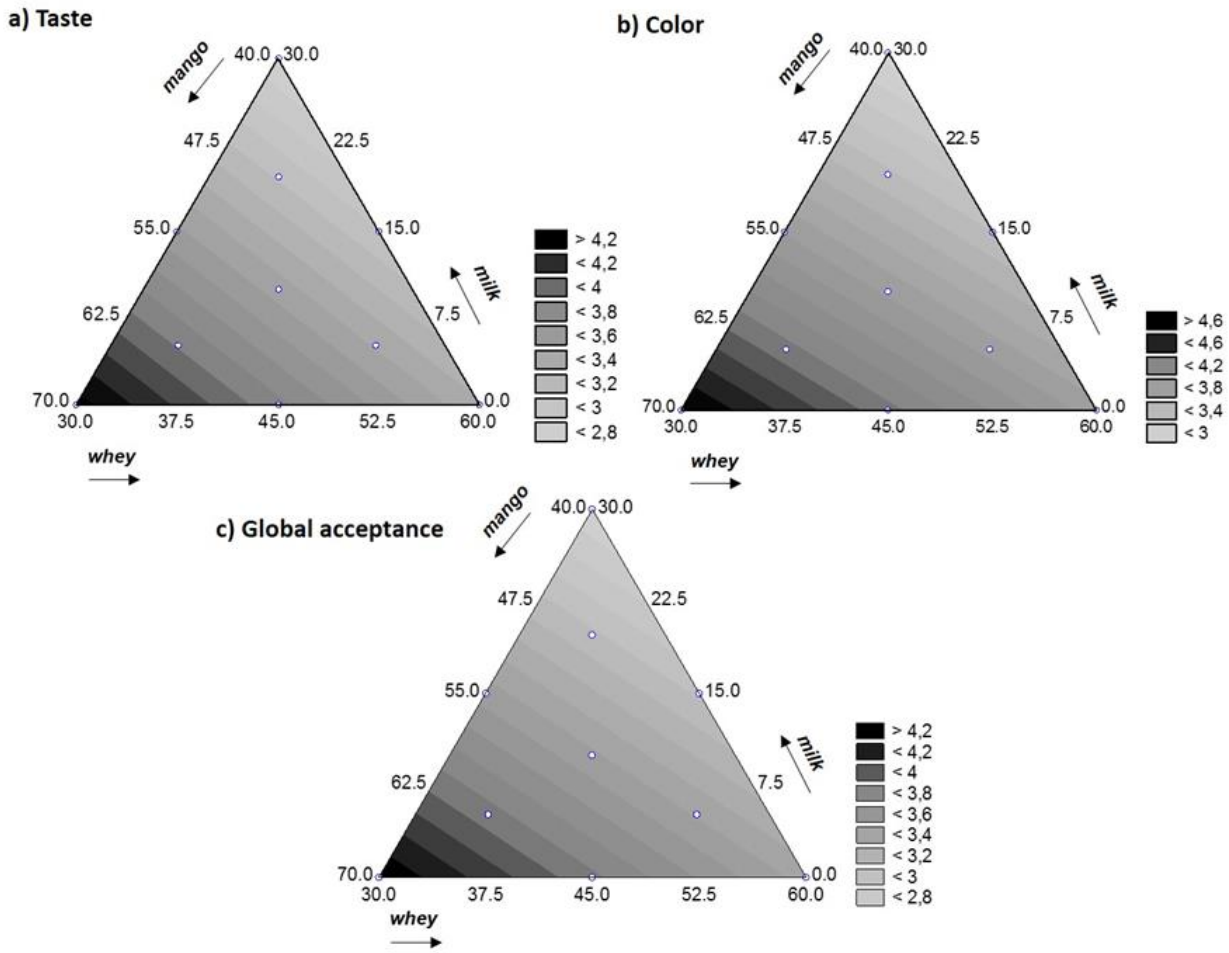


Figure 3 - Contour curves for the sensory analysis of lactic fermented (24 h) beverages developed with different proportions (%, w/w) of mango pulp, whey and whole milk for the attributes: a) taste, b) color and c) global acceptance

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

Validation

The results for pH and SS for the three selected formulations are shown in Table 2. The analysis shows that initially (t = 0 h), the lowest pH was obtained with only mango pulpas a substrate but at t = 24 h, the lowest proportion of mango resulted in the lowest pH. Regarding the SS values, the formulation with 70 % (w/w) of mango was statistically different from the other two formulations, this tendency remained unaltered with the fermentation as observed before with the mixture design. The coefficients of variation (CV) obtained were lower than 10 % (Table 2) which indicate that there was a good reproducibility among the five replicates realized.

Sensory analysis of the final formulations

The results of the sensory analysis for the three selected formulations are presented in Table 3. The results demonstrated no statistical significant difference (p > 0.05) between the three formulations for none of the attributes evaluated. Furthermore, a high global acceptance (from 82 to 88 %) for the three formulations was verified, this result confirms that, among all the formulations evaluated, the three formulations selected were those with the consumer's highest acceptance potential. This is a promising result since it was possible to elaborate the lactic fermented beverage utilizing mango and whey, without lactose, with a good sensory acceptance. The sensorial analysis also permitted to observe that whey has also the benefit to be incorporated in formulations without altering significantly the sensory acceptance.

Table 2 - Average values of pH and soluble solids (SS, °Brix) at 0 and 24 h of lactic fermentation of mango pulp and whey formulations (n = 5 replicates)

Formulations mango:whey % (w/w)	pH		SS (°Brix)	
	0 h	24 h	0h	24 h
HSD (α =0.05)	0.33	0.13	0.96	0.74
70:30	5.13 ± 0.06 [a] (CV= 1.20 %)	3.98 ± 0.03 [a] (CV = 0.84 %)	4.80 ± 0.45 [a] (CV = 9.32 %)	5.00 ± 0.35 [a] (CV = 9.32 %)
55:45	5.00 ± 0.25 [b] (CV =4.93 %)	3.89 ± 0.03 [a] (CV = 0.88 %)	5.94 ± 0.62 [b] (CV = 10.49 %)	5.98 ± 0.25 [b] (CV = 0.75 %)
100:0	4.47 ± 0.13 [c] (CV =2.86 %)	4.27 ± 0.09 [b] (CV = 2.19 %)	6.40 ± 0.55 [b] (CV = 8.56 %)	6.50 ± 0.50 [b] (CV = 7.69 %)

HSD = Honestly significant difference. CV = Coefficient of variation. Values in the same column, marked with different superscript letters are statistically different (p < 0.05)

Table 3 - Average scores for the sensory evaluation of some attributes (n = 58 assessors) of lactic fermented beverages produced with different proportions (% w/w) of mango pulp and whey

Formulations mango:whey % (w/w)	Attributes					
	Taste	Aroma	Color	Overall acceptance	Sweetness	Acidity
70:30	4.3 ± 0.6	4.2 ± 0.8	4.6 ± 0.5	4.3 ± 0.6	3.5 ± 0.7	3.0 ± 0.7
55:45	4.4 ± 0.8	4.2 ± 0.9	4.7 ± 0.6	4.4 ± 0.6	3.2 ± 0.7	3.3 ± 0.7
100:0	4.2 ± 0.8	4.0 ± 0.8	4.5 ± 0.7	4.1 ± 0.8	3.1 ± 0.8	3.2 ± 0.9

As regards the literature, studies on lactic fermented beverages fruit-based are not rare. However, there are still few studies in which fruit pulps are utilized in combination to whey or milk for the fermentation and not just added after fermentation for flavouring. Castro et al. (2013) evaluated the substitution of milk for whey in a strawberry flavored lactic fermented beverage and obtained the highest global acceptance (77.8 %), utilizing 35 % (w/w) of whey. Santos et al. (2008) evaluated the substitution of milk for whey in a lactic fermented beverage of mango (12 % w/w) and obtained a global acceptance of 86.6 % utilizing 40 % of whey. Desnilasari and Kumalasari (2017) also verified an increase in color and texture of a whey and mango pulp lactic fermented beverage, however, the addition of mango did not increase the global acceptance of the beverages. Maldonado et al. (2017) obtained lower sensory acceptance of 68.8 % for taste, 74.4 % for aroma and 91.1 % for color also fermenting mango pulp, however, without the sugar addition before the sensory analysis.

The comparison with the literature indicates that the results obtained with the lactic fermented beverages of mango and mango with whey, in this

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

study, are superior to those related previously. Therefore, under the conditions evaluated in this study, the selected formulations are promising for producing a commercial fruit-based lactic fermented beverage.

CONCLUSIONS

Fermented beverages (and other food products) with lower milk content or milk-free are nowadays a constant requirement from consumers, for different reasons. Fruit pulps are a potential candidates to replace milk in fermented lactic beverages and whey represents a low cost ingredient which can contribute to enrich formulations. The investigation for new substrates and fermentation conditions are important and must be stimulated in order to value local fruits, for example. From this present work, the investigation of the best compositions between mango pulp, whey and milk permitted to suggest three formulations – all milk free – as a substrate for *L. acidophilus* La-5 fermentation and to obtain fermented beverages with a good sensory acceptance. The use of fruit pulps, such as mango pulp (with or without whey) can result in different fermentation profiles than those obtained when milk is (traditionally) used. However, by using fruits and whey it is possible to develop new products with unique characteristics.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful for the financial support from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil).

REFERENCES

Abdel-Hamid M, Romeih E, Gamba RR, Nagai E, Suzuki T, Koyanagi, T et al. The biological activity of fermented milk produced by *Lactobacillus casei* ATCC 393 during cold storage. International Dairy Journal, v.9, p.1-8, 2019. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.12.007

Andrade MR, Martins TR, Rosenthal A, Hauck JT, Deliza R. Fermented milk beverage: formulation and process. Ciência Rural, v.49, n.3, 2019. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180382

Barana AC, Lima RC, Botelho VB, Simões DR. Development of a fermented dairy beverage using chesse quark sour whey. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.7, n.5, p.13-21, 2012.

Barros Neto B, Scarminio IS, Bruns RE. Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria. Bookman, Porto Alegre, RS. p.187-215.

Bourscheid C, Bedin AC, Schoder MA, Hornung PS, Barana AC, Demiate IM et al. Mix ready to prepare soup with fiber of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.8, n.2, p.1618-1626, 2014. https://doi.org/10.3895/S1981-36862014000200014S1

Brazil. Ministry of Health. Resolution n°12 from January 12th of 2001. Diário Oficial da União, Brasília, DF.

Castro WF, Cruz AG, Bisinotto MS, Guerreiro LMR, Faria JAF, Bolini, HMA et al. Development of probiotic dairy beverages: Rheological properties and application of mathematical models in sensory evaluation. Journal of Dairy Science, v.96, p.16-25, 2013. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5590

Chen Z, Liu T, Ye T, Yang X, Xue Y, Shen y. Effect of lactic acid bacteria and yeasts on the structure and fermentation properties of Tibetan kefir grains. International Dairy Journal, v.114, 104943, 2021. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104943

Daba GM, Elkhateeb WA. Bacteriocins of lactic acid bacteria as biotechnological tools in food and pharmaceuticals: Current applications and future prospects. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v.28, 101750, 2020. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101750

Desnilasari D, Kumalasari R. Characteristic of fermented drink from whey cheese with addition of mango (*Mangifera odorata*) juice. IOP Conference Series: Earth and Enviromental Science, v.101, 012024, 2017. https://doi.org/10.1088/1755-1315/101/1/012024

Di Cagno R, Filannino P, Gobbetti M. Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile or pomegranate juice, International Journal of Food Microbiology, v.248, p.56-62, 2017. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.014

Di Cagno R, Codda R, De Angelis M, Gobbetti, M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. Food Microbiology, v.33, p.1-10, 2013. https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003

Di Cagno R, Minervini G, Rizzello CG, De Angelis M, Gobbetti M. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. Food Microbiology, v.28, p.1062-1071, 2011. https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.011

Filannino P, Azzi L, Cavoski I, Vincentini O, Rizzello, CG, Gobbetti M et al. Exploitation of the health-promoting and sensory properties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. International Journal of Food Microbiology, v.163, p.184-192, 2013. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.002

Fonteles TV, Costa MGM, de Jesus ALT, Fontes CPML, Fernandes FAN, Rodrigues S. Stability and quality paramenters of probiotic cantloupe melon juice produced with sonicated juice. Food Bioprocess Technology, v.6, p.2860-2869, 2013. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0962-y

Fujita A, Sarkar D, Genovese MI, Shetty K. Improving anti-hyperglycemic and anti-hypertensive properties of camu-camu (*Myriciaria dubia* Mc. Vaugh) using lactic acid bacterial fermentation. Process Biochemistry, v.59, p.133-140, 2017. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.017

Garcia C, Guerin M, Souidi K, Remize F. Lactic Fermented Fruit or Vegetable Juices: Past, Present and Future. Beverages, v.8, n.6, 2020. https://doi.org/10.3390/beverages6010008

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

Garcia SLA, Silva GM, Medeiros JMS, Queiroga APR, Queiroz BB, Farias DRB et al. Influence of co-cultures of *Streptococcus thermophilus* and probiotic lactobacilli on quality and antioxidant capacity parameters of lactosefree fermented dairy beverages containing *Syzygium cumini* (L.) Skeels Pulp. The Royal Society of Chemistry, v.10, p.10297–10308, 2020. https://doi.org/10.1039/c9ra08311a

Gobbetti M, Di Cagno R, Calasso M, Neviani R, Fox PF, de Angelis M. Drivers that establish and assembly the lactic acid bacteria biota in cheeses. Trends in Food Science & Technology, v. 78, p. 244-254, 2018. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.06.010

Guimarães JT. et al. Effect of high-intensity ultrasound on the nutritional profile and volatile compounds of a prebiotic soursop whey beverage. Ultrasonics Sonochemistry, v.55, p.157-164, 2019. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.02.025

Huang Y, Yu J, Zhou Q, Sun L, Liu D, Liang, M. Preparation of yogurt-flavored bases by mixed lactic acid bacteria with the addition of lipase. LWT - Food Science and Technology, v.131, 109577, 2020. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109577

IAL. Métodos Analíticos do Instituto Adolfo Lutzs. Imesp, São Paulo, SP. p.340-350. 2005.

Isas AS, Celis MSM, Correa JRP, Fuentes E, Rodríguez L, Palomo I et al. Functional fermented cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria. Food Research International, v.138, 109729, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109729

Liao XY, Guo LQ, Ye ZW, Qiu LY, Gu, FW, Lin JF. Use of autochthonous lactic acid bacteria starters to ferment mango juice for promoting its probiotic roles. Preparative Biochemistry and Biotechnology, v.46, n.4 p.399-405, 2016. https://doi.org/10.1080/10826068.2015.1045615

Maldonado RR, Araújo LC, Dariva LCS, Rebac KN, Pinto IAS, Prado, JPR et al. Potential application of four types of tropical fruits in lactic fermentation. LWT- Food Science and Technology, v.86, p.254-260, 2017. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.005

Moussa MEM, El-Gendy MA. Physiochemical, microbiological and sensory properties of guava whey blend beverages. Middle East Journal of Applied Sciences, v.9, p.326-331, 2019.

Nagpal R, Kumar A, Kumar M. Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. Annals of Microbiology, v.62, p.1573-1578, 2012. https://doi.org/10.1007/s13213-011-0412-5

Nogueira LK, Aguiar-Oliveira E, Kamimura ES, Maldonado RR. Milk açaí berry pulp improve acceptability of kefir-fermented milk beverage. Acta Amazonica, v.46, p.417-424, 2016. https://doi.org/10.1590/1809-4392201600173

Pandey A, Mishra AA, Shukla RN, Dubey PK, Vasant RK. Development of the Process for Whey Based Pineapple Beverage. Excellent Publishers, v. 8, n. 6, p. 3212-3228, 2019. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.806.383

Pandey S, Ojha P. Preparation and Quality Evaluation of Mango based Whey Beverage. Journal of Food Science and Technology Nepal, v.12, n.12, p.59 -61, 2020. https://doi.org/0.3126/jfstn.v12i12.33375

Peirotén A, Gaya P, Landete JM. Application of recombinant lactic acid bacteria and bifidobacteria able to enrich soy beverage in dihydrodaidzein and dihydrogenistein. Food Research International, v.134, 109257, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109257

Peng K, Koubaa M, Bals O, Vorobiev E. Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: A review. Food Research International, v.137, 109544, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109544

Pereira ALF, Feitosa WSC, Abreu VKG, de Oliveira Lemos T, Gomes WF, Narain N et al. Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. Food Research International, v. 100, p. 603-611, 2017. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.055

Rama GR, Kuhn D, Beux S, Maciel MJ, Souza, CFV. Potential applications of dairy whey for the production of lactic acid bacteria cultures. International Dairy Journal, v.98, p.25-37, 2019. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.06.012

Reddy LV, Min JH, Wee YJ. Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. Microbial Biotechnology Letters, v.43, p.120-125, 2015. https://doi.org/10.4014/mbl.1504.04007

Santos CT, Costa AR, Fontan GCR, Fontan RDCI, Bonomo RCF. The influence of whey concentration in the sensorial acceptance of fermented lactic beverage with mango pulp. Alimentos e Nutrição Araraquara, v.19, p.55-60, 2008. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5590

Skyplonek K, Dmytrów I, Malek AM. Probiotic fermented beverages based on acid whey. Journal of Dairy Science, v.102, n.9, p.7773-7780, 2019. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16385

Souza HF, Borges LA, Lopes JPA, Carvalho BMA, Santos SHS, Almeida AC et al. Elaboration, evaluation of nutritional information and physical-chemical stability of dairy fermented drink with caja-mango Pulp. Ciência Rural, v.50, n.1, e20190644, 2020. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190644

Souza FRM, Santos NGS, Padilha DMM, Bezerra DS, Felipe MBMC, Ramalho HMM. Probiotic fermented milk drink added with cashew pulp (*Anacardium occidentale*): formulation, physicochemical, microbiological and sensory characteristics. Research, Society and Development, v.9, n.8, e990986753, 2020. https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6753

Wu J, Zhang Y, Ye L, Wang C. The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides in vitro: A review. Carbohydrate Polymers, v.253, 117308, 2021. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117308

Yerlikaya O, Saygili D. Akpinar A. Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from commercial yoghurt starter cultures. Food Science and Technology, v.41, n.2, p.418-425, 2021. https://doi.org/10.1590/fst.03920

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.maldonado

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Desenvolvimento do amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.) sob lâminas de água e composições de substratos

Amanda Rossetto Pacheco[a], Miguel Stancare Neto[a], Gustavo Henrique Gravatim Costa[b], Marcelo da Fossa Paz[c], Marcos Vinicius Bohrer Monteiro Siqueira[b*]

[a] Universidade do Sagrado Coração, Brasil
[b] Universidade do Estado de Minas Gerais, Unidade Frutal, Brasil
[c] Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
[*] Autor correspondente (mvbsiqueira@gmail.com)

INFO

Keyworks
biosolid
composted sewage sludge
plant nutrition
seedling production

ABSTRACT

Development of amendoim-bravo (Pterogyne nitens Tul.*) in water slides and substrate compositions.* The wild peanut (*Pterogyne nitens* Tul.) is considered a rustic species and adaptable to several regions of the national territory, and indicated for silviculture, plantations in degraded areas and replacement of riparian forests. The objective of this work was to evaluate the development of wild peanut seedlings under different concentrations of composted sewage sludge (LEC), commercial substrate (SC) and water depths. The experimental design consisted of 240 seedlings, divided into five different treatments: S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25% SC), S3 (50% LEC + 50% SC), S4 (25% LEC + 75% SC) and S5 (100% SC). The experiment had three irrigation depths, four times a day: L1 (6 minutes), L2 (9 minutes) and L3 (12 minutes). The following characteristics were evaluated: height of the aerial part, diameter of the collection, number of leaves, weight of the dry mass and the Dickson Quality Index. The data were subjected to analysis of variance and the measures compared using the Tukey test. Treatments with 75% to 100% of SCF showed superior results in the evaluated parameters in relation to SC. Regarding the water regime, there was no significant influence of the water depths on the morphological characteristics of the seedlings.

Palavras-chaves
biossólido
lodo de esgoto compostado
nutrição mineral de plantas
produção de muda

RESUMO

O amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.) é considerado uma espécie rústica e adaptável a várias regiões do território nacional, e indicada para silvicultura, plantios em áreas degradas e reposição de matas ciliares. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento das mudas de amendoim-bravo sob concentrações de lodo de esgoto compostado (LEC), substrato comercial (SC) e lâminas de água. O delineamento experimental foi composto por 240 mudas, divididas em cinco tratamentos diferentes: S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25% SC), S3 (50% LEC + 50% SC), S4 (25% LEC + 75% SC) e S5 (100% SC). O experimento contou com três lâminas de irrigação, quatro vezes ao dia: L1 (6 minutos), L2 (9 minutos) e L3 (12 minutos). Foram avaliadas as seguintes características: altura da parte aérea, diâmetro do coleto, número de folhas, peso da massa seca e o Índice de Qualidade de Dickson. Os dados foram submetidos a análise de variância e as medidas comparadas pelo teste de Tukey. Tratamentos com 75% a 100% de LEC apresentaram resultados superiores nos parâmetros avaliados em relação ao SC. Para o regime hídrico, não houve influência significativa das lâminas de água sobre as características morfológicas das mudas.

Received 05 February 2021; Received in revised from 10 April 2021; Accepted 01 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

A espécie *Pterogyne nitens* Tul. é conhecida popularmente como amendoim-bravo. Pertence à família Fabaceae, ocorre naturalmente entre as latitudes 06ºS a 28º, e é uma espécie secundária inicial, comportando-se como pioneira; ocorre em locais arenosos e degradados e em solos de baixa fertilidade natural, é recomendada para plantios em reposição de matas ciliares em locais com inundações periódicas de rápida duração e recomposição e restauração de áreas degradadas (Lorenzi, 2002; Biruel et al., 2007; Santos et al., 2018).

Com a constante exploração das florestas nativas pela expansão do agronegócio, tem-se observado uma redução da cobertura florestal, gerando uma grande demanda por mudas nativas para a recuperação de áreas degradadas e reflorestamento (Leles et al., 2006; Caldeira et al., 2013; Siqueira et al., 2017).

O desenvolvimento de novas técnicas para a produção de mudas florestais é de extrema importância econômica e ambiental, bem como a inovação e busca por redução de gastos com rápidos ganhos (Weiss et al., 2020). A utilização de resíduos provenientes das estações de tratamento de esgoto traz resultados relevantes, principalmente como substrato para espécies arbóreas destinadas à restauração florestal (Rebouças et al., 2010; Siqueira et al., 2018).

Quando tratado, o lodo de esgoto compostado (LEC), pode trazer benefícios ao meio ambiente, por intermédio da sua reutilização como substrato, melhorando a fertilidade de solos degradados (Bezerra et al., 2006; Nogueira et al., 2009; Cieslik et al., 2015). Esse material apresenta alto teor de matéria orgânica, como nitrogênio e fósforo, além de micronutrientes e elevada retenção de água (Vega et al., 2004; Santos et al. 2014; Nobrega et al., 2017).

Uma das etapas importantes na produção de mudas de qualidade é a irrigação, sendo um fator que influencia diretamente no crescimento e desenvolvimento de qualquer espécie. O déficit hídrico, pode ocasionar deficiência na absorção de nutrientes; já o excesso pode favorecer a lixiviação dos nutrientes, proporcionando um microclima favorável para doenças (Morais et al., 2012).

Nesse sentido, o LEC nos últimos anos tem recebido significativa atenção de viveiros quanto ao seu uso na formulação de substratos para mudas de espécies florestais (Pedrosa et al., 2017). O LEC foi utilizado como substrato para produção de diversas mudas nativas como o dedaleiro (Santana et al., 2019), embaúba (Morgado et al., 2020), a quaresmeira (Lobo et al., 2018), o monjoleiro (Lanzeti et al., 2021), entre outras.

Com este trabalho objetivou-se analisar o desenvolvimento do amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.) em diferentes composições de LEC e lâminas de irrigação.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

O experimento foi conduzido no viveiro Associação de Recuperação Florestal e Ecológica (ACIFLORA), localizado em Bauru, SP. Segundo a classificação de Koppen, o clima da região é tropical de savana, tipo Aw, com uma média de precipitação anual de 1.331 mm e de temperatura com máxima de 32ºC e mínima de 20ºC (Alvares et al., 2013).

Montagem do experimento

As sementes da espécie foram fornecidas pelo Instituto Florestal de São Paulo. A semeadura foi realizada a partir da distribuição em fileiras dentro de um canteiro construído com tábuas de madeira, com areia fina localizado no chão e com dimensão de 1m x 20m. Finalizada a semeadura, cobriu-se com vermiculita e revestiu-se com um telado de sobreamento (50%). Após um mês da semeadura, as mudas foram repicadas e transplantadas para 240 tubetes de 120 cm³ cada, sendo então mantidas por um período de 45 dias em casa de vegetação.

O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos casualizados, composto por 240 mudas, submetidas a 15 tratamentos compostos pela combinação de cinco substratos e três lâminas de irrigação, havendo quatro repetições por tratamento conforme descrito por Lobo et al. (2018), Santana et al. (2019), Morgado et al. (2020), Olher et al. (2020), Oliveira et al. (2020) e Lanzeti et al. (2021).

Substratos

Os substratos utilizados foram o Carolina Soil Florestal®, identificado como substrato comercial (SC) segundo o fabricante, o composto é formado por turfa de Sphagno, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, e traços de NPK, calcário dolomítico e gesso agrícola, e o composto orgânico Terafertil, identificado como substrato de lodo de esgoto compostado, LEC, e fornecido pela empresa Tera Ambiental do município de Jundiaí-SP. A partir dos dois substratos foram formuladas as seguintes combinações de substratos: S1: 100% LEC; S2: 75% LEC + 25% SC; S3: 50% LEC + 50% SC; S4: 25% LEC + 75% SC e S5: Controle 100% SC.

Irrigação

A irrigação foi realizada por microaspersores tipo Fog, com bicos do modelo mist, com vazão de 120 L h^{-1} e separados em três diferentes lâminas: L1

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

com 6 minutos de irrigação (10 mm); L2 com 9 minutos de irrigação (16 mm) e L3 com 12 minutos de irrigação (21 mm), sendo cada lâmina submetida a quatro irrigações ao dia.

Avaliações biomédicas e análise estatística

Durante o período de janeiro a outubro de 2018 de experimento foram mensurados, mensalmente, a altura da parte aérea (determinada a partir do nível de substrato até a ponta da última folha), diâmetro do coleto (determinado por paquímetro e calculado ao nível do substrato), número de folhas e peso seco da parte aérea e da raiz.

Após a medição final, as mudas foram cortadas à altura do colo, separando-se a parte aérea da raiz. Pesou-se o material fresco em balança digital (Shimadzu, modelo AY220) e posteriormente, o material foi levado a uma estufa (Fanem, modelo 315 SE) por um período de 72 h em uma temperatura de 60 ºC para a sua secagem e determinação da matéria seca.

A qualidade da muda foi avaliada por meio do Índice de Qualidade de Dickson (Dickson et al., 1960), conforme a Equação 1:

$$IQD = \frac{PMST}{\frac{H}{DC} + \frac{PMSPA}{PMSR}} \qquad 1$$

Onde:

PMST: Produção da Massa Seca Total (g);
H: Altura (cm);
DC: Diâmetro do Colo (mm)
PMSPA: Produção da Massa Seca Aérea (g);
PMSPR: Produção da Massa Seca Radicular (g).

A taxa de crescimento foi calculada a partir do coeficiente angular (tgα) da linha de regressão linear obtida pela média dos valores de crescimento.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as medidas comparadas pelo teste de Tukey à nível 5%. Os dados cinéticos foram submetidos a análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Altura das mudas

Os substratos formulados com maiores concentrações de LEC obtiveram resultados superiores em altura. A diferenciação dos tratamentos se evidenciou a partir do nono mês, onde constatou-se que mudas em S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25% SC) e S3 (50% LEC + 50 SC) obtiveram melhores resultados quando comparados com os tratamentos S4 (25% LEC + 75% SC) e S5 (100% SC). Verificou-se que as maiores médias obtidas foram em S2 (75% LEC + 25% SC) e S3 (50% LEC + 50% SC) (Tabela 01).

Tabela 1 - Influência dos substratos no crescimento (altura em mm) de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens*).

Tempo (dias)	Tratamento (mm)				
	S1	S2	S3	S4	S5
30	5,45±0,49	5,61±0,50	5,83±0,57	5,57±0,40	5,50±0,48
60	11,25±0,89	12,10±0,40	12,44±1,33	11,86±0,80	11,24±0,95
90	18,15±1,38	19,86±0,22	20,21±1,90	19,10±0,89	17,92±1,32
120	25,62±1,86	28,10±0,02	28,12±2,31	26,70±1,15	25,05±1,55
150	33,85±1,96	36,26±0,18	36,56±2,44	34,19±1,13	32,166±1,87
180	41,37±2,56	44,05±0,11	44,32±2,69	41,56±1,39	39,05±2,22
210	49,27±3,27	51,98±0,27	52,14±3,03	49,02±1,65	46,01±2,53
240	58,09±3,32	60,09±0,09	60,33±3,18	56,55±1,59	53,00±2,91
270	67,67±4,29	69,65±0,38	69,90±3,79	64,94±2,02	60,49±3,55
300	77,27±4,77	79,23±0,31	79,26±4,15	73,16±2,51	67,91±4,31
Taxa de Cresc. (mm/dia)*	0,027	0,027	0,027	0,026	0,023
R^2	0,9959	0,9984	0,9985	0,9992	0,9994

*Obtida pelo coeficiente angular da curva de crescimento. S1: 100% LEC; S2: 75% LEC + 25% SC; S3: 50% LEC + 50% SC; S4: 25% LEC + 75% SC e S5: Controle 100% SC.

A altura da parte aérea é utilizada para estimar o padrão de qualidade de mudas de espécies florestais em viveiros, no entanto, para espécies nativas, os parâmetros adequados de altura, ainda não estão definidos para as diversas espécies florestais (Oliveira et al., 2014).

Os resultados de altura neste estudo indicam que o uso do LEC traz vantagens em relação ao substrato comercial. Resultados semelhantes foram encontrados por Paiva et al. (2009), nos quais a

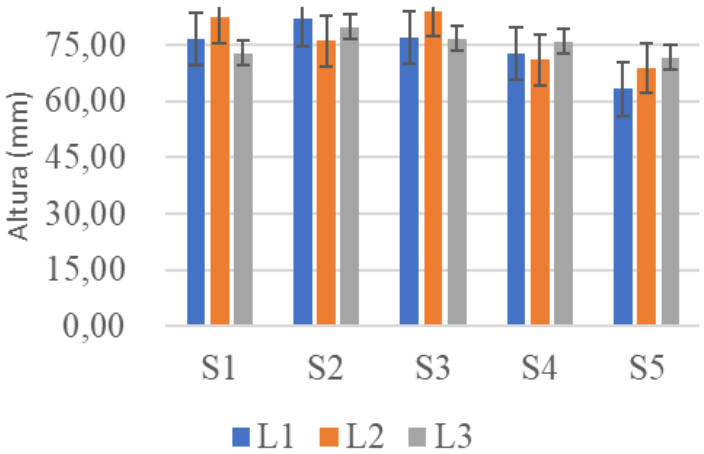
© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

utilização de LEC se equiparou com a utilização de fertilizantes minerais sob o desenvolvimento das espécies de aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), cabreúva-vermelha (*Myroxylon peruiferum* L.f.), pau-de-viola (*Citharexylum myrianthum* Cham.) e unha-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link.). No entanto, Scheer et al. (2012) avaliaram que no desenvolvimento das mudas de angico-gurucaia (*Parapiptadenia rigida* Benth.) o LEC puro proporcionou uma nutrição às plantas, superior ao SC, o que não aconteceu com a espécie estudada já que o S1(100% LEC) apresentou média de crescimento menor em S2 e S3.

Os benefícios do uso de LEC foram também observados por Caldeira et al. (2014), com mudas de *Eucalyptus grandis* (W. Hill), misturando o LEC com resíduos vegetais (fibra de coco e palha de café *in natura*), onde os maiores crescimentos foram observados nos tratamentos S1 (100% LEC), e S2 (80% LEC + 20% Fibra de Coco).

Trigueiro e Guerrini (2014) mostraram que combinações de SC contendo LEC apresentaram resultados superiores para espécies florestais de rápido crescimento, o que se observa nos resultados desse trabalho. O incremento na altura está relacionada aos acréscimos de matéria orgânica, substratos ricos em matéria orgânica apresentam um melhor desenvolvimento das mudas, gerando uma boa formação do sistema radicular (Faustino et al., 2005).

Em relação às lâminas de água, não ocorreram variações estatísticas significantes entre L1, L2 e L3 ao final de 300 dias de medições das mudas. A quantidade de água e o tempo usado em cada lâmina não interferiram na eficiência do substrato, em relação à altura da parte aérea, sendo suficientes 4 irrigações diárias de 6 minutos (10 mm) cada (Figura 01).



S1: 100% LEC; S2: 75% LEC + 25% SC; S3: 50% LEC + 50% SC; S4: 25% LEC + 75% SC e S5: Controle 100% SC. L1: 6 minutos de irrigação (10 mm); L2: 9 minutos de irrigação (16 mm), L3: 12 minutos de irrigação (21 mm).

Figura 1 - Influência das lâminas de água em relação à altura das mudas (mm) de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.).

Em um estudo com mudas de aroeira-pimenteira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), Trigueiro e Guerrini (2014) observaram que, em relação a característica física dos substratos, à medida que se aumenta a proporção de LEC na mistura, há um aumento da sua densidade, ocorrendo uma redução da macroporosidade e aumento da microporosidade do substrato, proporcionando uma maior capacidade de retenção de água. Esta afirmação pode explicar a tendência de comportamento observada na Figura 01, ainda que não haja significância estatística.

Diâmetro do Coleto

Durante o experimento, observou-se que até o quarto mês as mudas de *P. nitens* (Tul.) apresentaram um diâmetro do coleto de 1 mm. Entre o quinto e o sexto mês de avaliação o diâmetro do coleto apresentou uma média de 2 mm em todos os tratamentos, e após o nono mês o diâmetro do coleto foi de 3 mm. Observou-se que não houve significância entre os resultados obtidos para este parâmetro, tanto para as lâminas de água como na composição de substrato em discordância com o trabalho de Scheer et al. (2012), no qual, o diâmetro do coleto apresentou aumento significativo com o uso de substratos à base de LEC, sem adição de fertilizantes, para as mudas de angico-branco (*Anadenanthera colubrina* Vell.).

O diâmetro do coleto está entre um dos

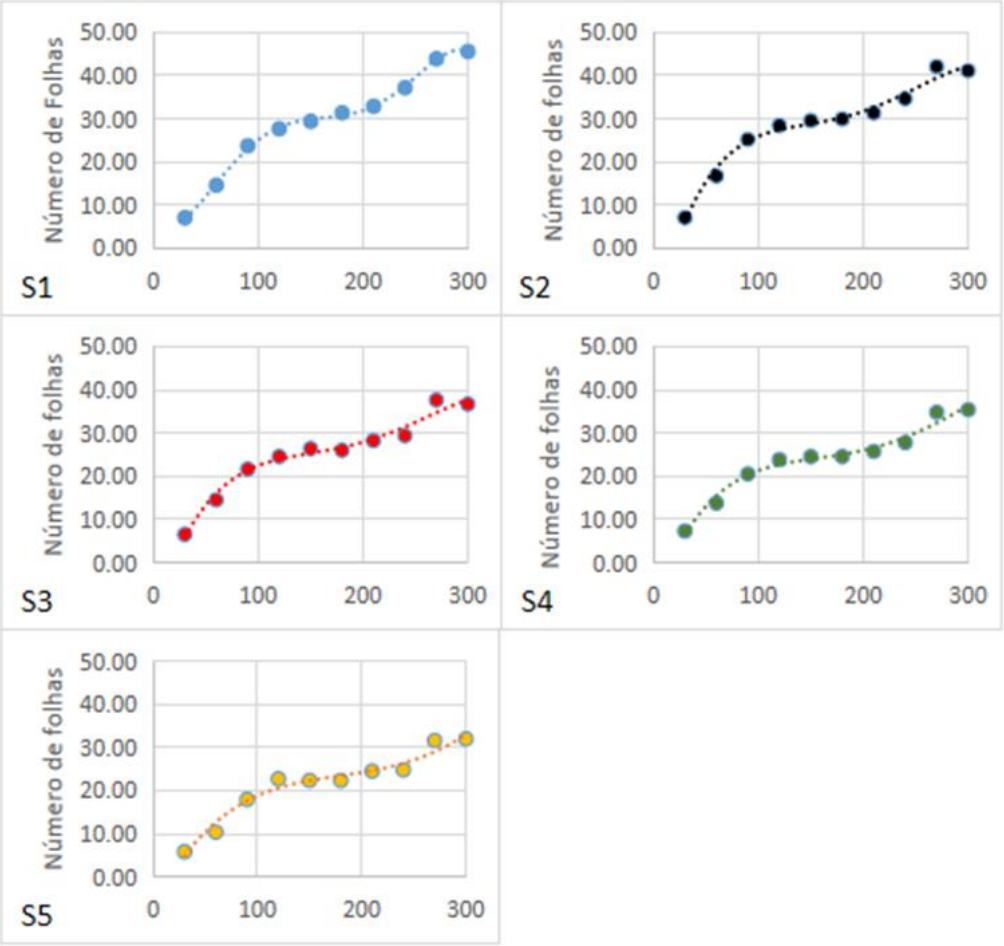
© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

principais fatores que irão determinar a qualidade das mudas. Junto a este parâmetro, são também incluídos a altura e o peso da parte aérea e subterrânea, sendo que plantas com maior diâmetro do coleto possibilitam melhor equilíbrio do crescimento da parte aérea (Gomes e Paiva, 2004; Rossa et al., 2015). Essa característica morfológica, em geral, é a mais observada para avaliar a capacidade de sobrevivência de uma muda em campo e é considerado um dos parâmetros que melhor refletem a qualidade de mudas florestais (Melo et al., 2018).

Bomfim et al. (2009), observaram médias do diâmetro do coleto de 3,18 mm para mudas produzidas em tubetes de 288 cm³ e 1,95 mm para mudas em tubetes de 50 cm³. No presente trabalho, o diâmetro de 3 mm, ocorreu a partir do nono mês de desenvolvimento em tubetes de 120 cm³. Observou-se que o tamanho do tubete influenciou diretamente na espessura do coleto, atribuído à quantidade e/ou qualidade de substrato fornecido. A escolha do tamanho adequado de tubetes é fundamental para o desenvolvimento radicular visto que, tubetes menores apresentam maior restrição radicular, o que acarreta menor desenvolvimento da planta (Santos et al., 2000).

Número de folhas

O número de folhas apresentou um destaque quando correlacionada com a altura das mudas em relação ao LEC, onde S1 e S2 se diferenciaram significativamente na quantidade de folhas contabilizadas após 300 dias de desenvolvimento. Nesse parâmetro morfológico, S1 apresentou maiores médias no número de folhas em relação aos outros substratos utilizados, sendo superior a 40 folhas; já S2 possuiu uma média de 40 folhas e S3, S4 e S5 obtiveram valores inferiores (Figura 02).



Eixo X representa o tempo (dias). Eixo Y representa o número de folhas. S1, curva em azul; S2, curva em preto; S3, curva em vermelho; S4, curva em verde; S5, curva em laranja.

Figura 2 - Influência dos substratos em relação ao número de folhas para as mudas de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.).

As curvas de aumento do número de folha se ajustaram perfeitamente ao modelo de regressão

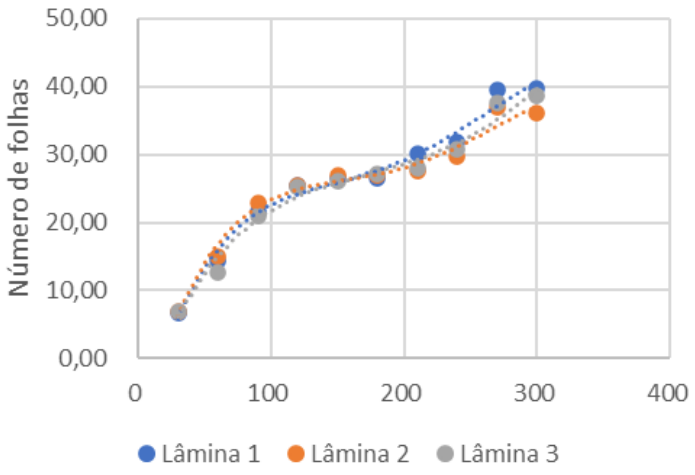
© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

polinomial de 4º grau com confiança de 99,2% para S1, 98,8% para S2, 98,9% para S3, 97,8% para S4 e 98,2% para S5, isso significa que o fenômeno observado nas curvas (Figura 02), mostram o fenômeno real, onde, para todos os substratos houve aumento no número de folhas nos primeiros 100 dias, uma parada entre os dias 100 e 200, retomando o aumento e estabilizando novamente em torno do dia 300 mostrando ciclos de 100 dias entre as fases de aumento e estabilidade.

Os resultados quanto ao número de folhas estão em concordância com Morgado et al. (2020) que trabalharam com *Cecropia pachystachya* (Trécul.) que encontraram maior número de folhas nas combinações de substratos do que nos substratos puros.

Para esse parâmetro (número de folhas) a redução de macroporosidade com subsequente aumento na retenção de água observada por Trigueiro e Guerrini (2014) explica de forma mais evidente o que foi observado na figra 2 onde os substratos com maiores quantidades de LEC apresentaram maior número de folhas.

Em relação ao regime hídrico, não houve diferenças significativas, contudo, L1 apresentou maiores médias em relação ao número de folhas (Figura 03) demonstrando, novamente, que a quantidade de água disponibilizada com L1 (10 mm) já é suficiente para o desenvolvimento das mudas.



Legenda: Eixo X representa o tempo (dias). Eixo Y representa o número de folhas. L1, curva em Azul; L2, curva em laranja e L3, curva em cinza. L1: 6 minutos de irrigação (10 mm); L2: 9 minutos de irrigação (16 mm), L3: 12 minutos de irrigação (21 mm).

Figura 3 - Influência das lâminas de água em relação ao número de folhas para as mudas de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.).

As regressões também se ajustaram bem para esse parâmetro isolado com confiança de 98,4% para L1, 98,0% para L2 e 98,8% para L3. Segundo Lambers e Oliveira (2019), diversas espécies tem desenvolvido mecanismos para se adaptar a baixa quantidade de água no substrato, dentre eles o fechamento estomático, redução da taxa de fotossíntese e transpiração, redução da condutância sugerindo que a espécie de amendoim-bravo não necessita de irrigações por períodos prolongados (Silva et al., 2002).

Vários parâmetros vêm sendo estabelecidos a fim de determinar a qualidade de mudas em viveiro (Rudek et al., 2013). A importância da área foliar é amplamente conhecida por ser um indicativo de produtividade, fitomassa e da vida econômica do cultivo (Figueiredo et al., 2010). Pode-se mensurar esse parâmetro através dos métodos de contagem das folhas, dimensões foliares, método dos quadrados, dimensões lineares, com suas respectivas áreas foliares, e também através do uso de uma câmera digital, não havendo necessidade de equipamentos caros, conhecimentos avançados de matemática e tampouco da destruição das mudas (Rudek et al., 2013).

Peso de matéria seca

Na Tabela 02 é apresentado as médias obtidas pela combinação das variáveis substrato e lâmina de água pela qual observa-se que não há diferença estatística para matéria seca da parte aérea nem para matéria seca da raiz. Contudo a somatória das médias mostra uma biomassa total maior nos substratos S1 e S2 na L1.

Para a massa seca da parte aérea e do sistema radicular, foram observados maiores médias em S2 (75% LEC + 25% SC) e S1 (100% LEC) quando

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

isoladas as lâminas de água.

Tabela 2 - Matéria seca para as mudas de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.), sob diferentes substratos (S) e lâminas de água (L).

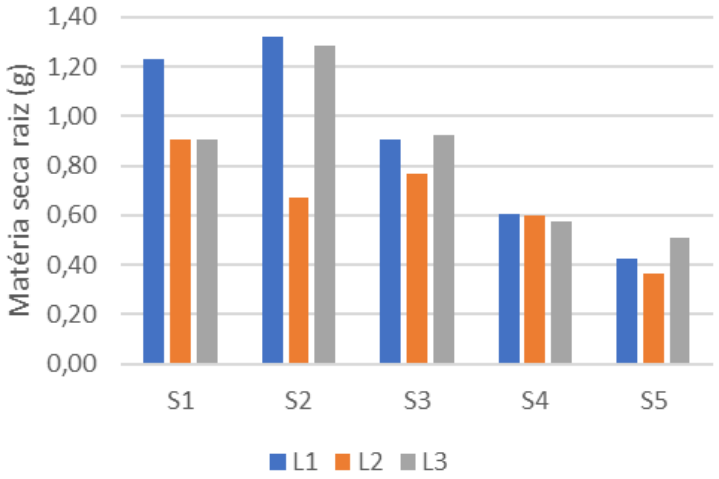
	MSPA (g)			MSR (g)			MST (g)		
	L1	**L2**	**L3**	**L1**	**L2**	**L3**	**L1**	**L2**	**L3**
S1	0,77±0,40	0,78±0,28	0,57±0,31	1,23±0,66	0,91±0,52	0,90±0,40	2,00a	1,68a	1,43a
S2	0,79±0,18	0,61±0,25	0,73±0,27	1,32±0,60	0,67±0,27	1,29±0,46	2,11a	1,28a	2,02a
S3	0,65±0,30	0,63±0,29	0,62±0,19	0,91±0,31	0,77±0,29	0,92±0,41	1,56a	1,40a	1,54a
S4	0,42±0,14	0,39±0,14	0,39±0,09	0,61±0,26	0,60±0,24	0,57±0,27	1,03a	0,99a	0,96a
S5	0,26±0,10	0,33±0,11	0,33±0,13	0,43±0,18	0,36±0,15	0,51±0,16	0,69a	0,69a	0,84a

Legenda: Matéria seca da parte aérea (MSPA), matéria seca da raiz (MSR) e massa seca total (MST = MSPA+MSR). Letras iguais na horizontal significam que não há diferença estatística. L1: 6 minutos de irrigação (10 mm); L2: 9 minutos de irrigação (16 mm), L3: 12 minutos de irrigação (21 mm).

Em relação ao peso de MSPA, em L1 os tratamentos formulados com maiores concentrações de LEC, sendo eles S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25% SC) e S3 (50% LEC + 50% SC) apresentaram maiores médias de biomassa quando comparados com o controle (100% SC), resultados semelhantes aos encontrados por Faria et al. (2013) em mudas de fedegoso gigante (*Senna alata* L.). Os autores também verificaram que na composição dos substratos para a produção de mudas, a adição do LEC resultou em maiores valores para altura da parte aérea, diâmetro do coleto e massa seca radicular.

A MSPA, segundo Gomes e Paiva (2006), é um indicador de rusticidade da muda, sendo que maiores valores representam mudas mais resistentes, o que prepara a muda para as adversidades que pode encontrar no campo.

Em L1, os tratamentos que apresentaram maiores pesos da matéria seca na raiz, foram os formulados com altas concentrações de LEC, sendo S2 (75% LEC + 25 SC) e S1 (100% LEC) ao ser comparado com o controle (100% SC) (Figura 04).



S1: 100% LEC; S2: 75% LEC + 25% SC; S3: 50% LEC + 50% SC; S4: 25% LEC + 75% SC e S5: Controle 100% SC. L1: 6 minutos de irrigação (10 mm); L2: 9 minutos de irrigação (16 mm), L3: 12 minutos de irrigação (21 mm).

Figura 4 - Influência dos substratos e lâminas de água em relação à matéria seca da raiz (MSR) das mudas de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.).

Para a MSR, os tratamentos com maior concentração de LEC: S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25 SC) e S3 (50% LEC + 50% SC), obtiveram os maiores valores médios, resultados também encontrados por Paiva et al. (2009) com cabreúva vermelha (*Myroxylon peruiferum* L.f.) e Caldeira et al. (2012) com teca (*Tectona grandis* L.f.).

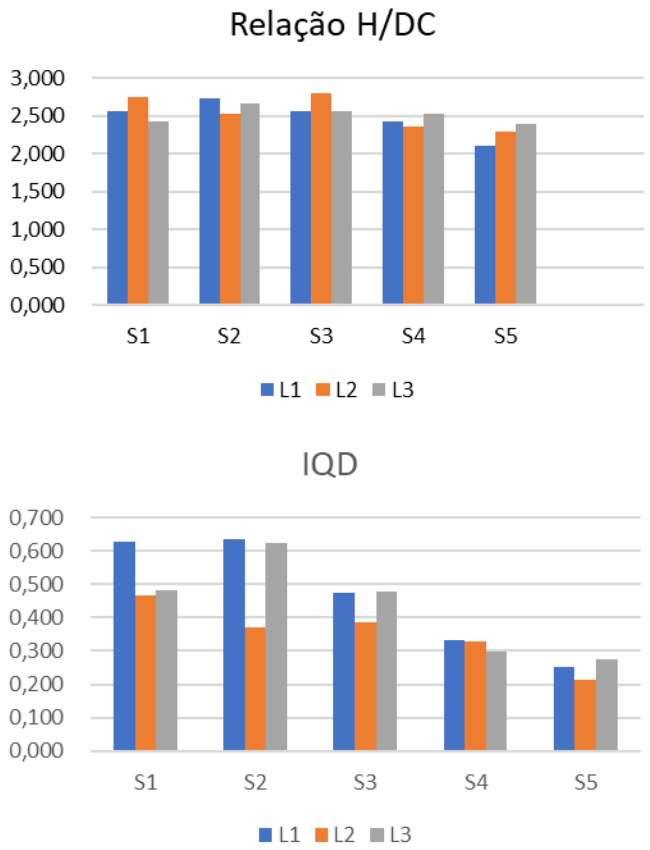
© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

Para os valores de MST, os tratamentos formulados com concentrações de LEC, variando de 100% à 50%, apresentaram resultados superiores em relação ao tratamento controle, formulado com 100% SC. Em relação as lâminas de água, todas obtiveram médias superiores em substratos formulados com altas concentrações de LEC, porém L1 se destacou, possuindo maiores concentrações de MST.

Índice de Qualidade de Dickson

O Índice de Qualidade de Dickson (IQD) é um indicador da qualidade da muda, considerando em seu cálculo a robustez (relação H/DC), o equilíbrio da distribuição de biomassa, fatores como biomassa aérea e da raiz, altura e DC (Dickson et al., 1960; Melo et al., 2018). Os resultados para o Índice de Qualidade de Dickson e a relação altura (H) *versus* diâmetro do coleto (DC), encontram-se na Figura 05.

Em relação à altura da parte aérea com H/DC, não houve diferença significativa entre os tratamentos, porém as maiores médias encontradas nos tratamentos S1/L2, S2/L1 e S3/L2 seguem o mesmo padrão dos demais dados analisados com valores médios maiores para as formulações de maior concentração de LEC (Figura 05).



L1: 6 minutos de irrigação (10 mm); L2: 9 minutos de irrigação (16 mm), L3: 12 minutos de irrigação (21 mm).

Figura 5 - Valores do Índice de Qualidade de Dickson (IQD) e relação altura/diâmetro (H/DC) para mudas de amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.).

De acordo com o IQD, os tratamentos S1 e S2 obtiveram resultados superiores em L1, apresentando uma diferença significativa em relação as outras lâminas de irrigação. É interessante constatar que as lâminas apresentam significância estatísticas apenas quando associados os parâmetros substrato e lâmina, demonstrando um sinergismo entre a irrigação e o substrato já que, isolatamente, a variação na irrigação não apresenta significância estatística para as medidas de número de folhas e altura das plantas.

O IQD é considerado importante para avaliação de mudas florestais, uma vez que avalia o acúmulo de reservas, assegura maior resistência e melhor fixação no solo, além de avaliar a capacidade de sobrevivência em campo (Sturion e Antunes, 2000). Para Caldeira et al. (2012), o IQD é uma característica que pode variar de acordo com a

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

espécie, manejo, proporção dos substratos e idade fisiológica em que a muda foi avaliada.

Para o presente trabalho os índices mais indicados foram S1 (100% LEC), S2 (75% LEC + 25% SC) em L1 (6 minutos de irrigação). Por ser um índice muito variável, muitas vezes torna-se inviável comparar os resultados de IQD com estudo de diferentes autores

CONCLUSÕES

O LEC pode ser utilizado como substrato para a produção de mudas de amendoim-bravo, onde as proporções de 75% a 100% de LEC, na composição com SC, apresentaram os melhores valores em relação aos parâmetros morfológicos analisados.

O regime de irrigação, apresenta diferenças significativas apenas quando combinado com o substrato, mostrando sinergismo entre os tratamentos estudados, demonstrando que a L1 é suficiente para o desenvolvimento das mudas.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Florestal de São Paulo pelo fornecimento das sementes. Ao Viveiro Associação de Recuperação Florestal e Ecológica - ACIFLORA pelas facilidades concedidas no estabelecimento e monitoramento do experimento, bem como os revisores que contribuíram com suas importante sugestões para a versão final deste manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JL de M, Sparovek G. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, v.22, n.6, p.711-728, 2013. https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507

Bezerra FB, Oliveira MACL, Perez DV, Andrade AG, Meneguelli NA. Lodo de esgoto em revegetação de área degradada. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.41, n.3, p.469-476, 2006. https://*doi*.org/10.1590/S0100-204X2006000300014

Biruel RP, Borba Filho AB, Araújo ECE, Fraccaro FO, Perez SCJGA. Efeitos do condicionamento seguido ou não de secagem em sementes de *Pterogyne nitens* Tul. sob estresse. Ciência Florestal, v.17, n.2, p.119-128, 2007. https://doi.org/10.5902/198050981943

Bomfim AA, Novaes AB, São José AR, Grisi FA. Avaliação morfológica de mudas de madeira-nova (*Pterogyne nitens* Tull.) produzidas em tubetes e sacos plásticos e de seu desempenho no campo. Floresta, v.39, n.1, p.33-40, 2009. http://dx.doi.org/10.5380/rf.v39i1.13723

Caldeira MVW, Peroni L, Gomes DR, Delarmelina WM, Trazzi PA. Diferentes proporções de biossólido na composição de substratos para produção de mudas de timbó (*Atleia glazioveana* Baill). Scientia Forestalis, v.40, n.93, p.015-022, 2012.

Caldeira MVW, Delarmina WM, Peroni L, Gonçalves EO, Silva AG. Lodo de esgoto e vermiculita na produção de mudas de eucalipto. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v.43, n.2, p.155-163, 2013. https://doi.org/10.1590/S1983-40632013000200002

Cieslik BM, Namiesnik J, Konieczka P. Review of sewage sludge managements: standards, regulations and analytical methods. Journal of Cleaner Production, v.90, p.1-15, 2015. https://*doi*.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.031

Dickson A, Leaf AL, Hosner JF. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. Forest Chronicle, v.36, n.1, p.10-13, 1960. https://*doi*.org/10.5558/tfc36010-1

Faria JCT, Caldeira MVW, Delarmina WM, Lacerda LC, Gonçalves EO. Substratos à base de lodo de esgoto na produção de mudas de *Senna alata*. Comunicata Scientiae, v.4, n.4, p.342-351, 2013. https://doi.org/10.14295/cs.v4i4.242

Faustino R, Kato MT, Florêncio L, Gavazza S. Lodo de esgoto como substrato para produção de mudas de *Senna siamea* Lam. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.9, p.278-282, 2005.

Gomes JM, Paiva HN. Viveiros florestais: propagação sexuada. 3. Ed., Viçosa: UFV, p.116, 2004.

Lambers H, Oliveira RS. Plant Physiological Ecology. New York, Springer-Verlag. 3rd ed. 2019, XXVII, 736 p.

Lanzeti NGAA, Chimini AC, Neto MS, Paz MF, Siqueira MVBM. Lodo de esgoto compostado e diferentes lâminas de irrigações no desenvolvimento de *Acacia polyphylla.* Journal of Biotechnology and Biodiversity. v.9, n.2, p.201-211, 2021. https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n2.lanzeti

Leles PSS, Lisboa AC, Neto SNO, Grugiki MA, Ferreira MA. Qualidade de mudas de quatro espécies florestais produzidas em diferentes tubetes. Floresta e Ambiente, v.13, n.1, p.69-78, 2006.

Lobo TF, Oliveira FC, Morgado TB, Siqueira MVBM. Diferentes misturas de substrato com lodo de esgoto compostado enriquecido e substrato comercial em quaresmeira. Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science, v.7, n.1, p.326-340, 2018. https://doi.org/10.21664/2238-8869.2018v7i1.p326-340

Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

Melo LA, Abreu AHM, Santos LPS, Oliveira RR, Silva DT. Qualidade e crescimento inicial de mudas de *Mimosa caesalpiniifolia* Benth. produzidas em diferentes volumes de recipientes. Ciência Florestal, v.28, n.1, p.47-55, 2018. https://*doi*.org/10.5902/1980509831574

Morais WWC, Susin F, Vivian MA, Araújo MM. Influência da irrigação no crescimento de mudas de *Schinus terebinthifolius.* Pesquisa Florestal Brasileira, v.32, n.69, p.23-28, 2012. https://*doi*.org/10.4336/2012.pfb.32.69.23

Morgado BT, Olher I, Timo TPC, Rissi MN, Lobo TF, Siqueira MVBM. Growth of *Cecropia hololeuca* in water

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

blades and substrates formulated with sewage sludge. Journal of Agricultural and Environmental Science/Revista de Ciências Agrárias, v.63, p.01-10, 2020. http://dx.*doi*.org/10.22491/rca.2020.3174

Nobrega, M. A. S.; Pontes, M. S.; Santiago, E. F. Incorporação do lodo de esgoto na composição de substrato para produção de mudas nativas. Acta Biomedica Brasiliensia, v.8, n.1, p.43-55, 2017. https://*doi*.org/10.18571/acbm.121

Nogueira TAR, Melob WJ, Oliveira LR, Fonseca IM, Melo GMP, Marcussi AS, Marques MA. Nickel in soil and maize plants grown on an oxisol treated over a long time with sewage sludge. Abingdon, Chemical Special e Bioavailability, v.21, n.3, p.165-173, 2009. https://*doi*.org/10.3184/095422909X12470543670605

Olher I, Siqueira MVBM, Costa GHG, Lobo TF. Utilização de lodo de esgoto compostado e água residuária tratada para produção de pau viola. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v.8, n.4, 304-310, 2020. https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v8n4.olher

Oliveira LS, Araújo FM, Costa GHG, Lobo TF, Siqueira MVBM. Influência do lodo de esgoto compostado e de diferentes lâminas de água em mudas de mirindiba (*Lafoensia glyptocarpa*, Koehne). Pesquisa Florestal Brasileira, v.40, e201901948, p.1-6, 2020. https://dx.doi.org/10.4336/2020.pfb.40e201901948

Oliveira LR, Lima SF, Lima APL. Crescimento de mudas de cedro rosa em diferentes substratos. Pesquisa Florestal Brasileira, v.34, n.79, p.187-195, 2014. https://doi.org/10.4336/2014.pfb.34.79.605

Paiva AV, Poggiani F, Gonçalves JLM, Ferraz AV. Crescimento de mudas de espécies arbóreas nativas, adubadas com diferentes doses de lodo de esgoto seco e com fertilização mineral. Scientia Forestalis, v.37, n.84, p.499-511, 2009.

Pedrosa MVB, Lima WL, Amaral AA, Carvalho AHO. Biossólido de lodo de esgoto na agricultura: desafios e perspectivas. Revista Agrogeoambiental, v.9, n.4, p.125-142, 2017. http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v9n42017999

Rebouças JRL, Silva DN, Silva N, Silva MIG, Rajgheyi HANS, Neto ONS. Crescimento do feijão-caupi irrigado com água residuária de esgoto doméstico tratado. Revista Caatinga, v.23, n.1, 2010.

Rossa UB, Angelo AC, Westphalen DJ, Oliveira FEM, Silva FF, Araujo JC. Fertilizante de liberação lenda no desenvolvimento de mudas de *Anadenathera peregrina* (angico-vermelho) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha). Ciência Florestal, v.25, n.4, p.841-852, 2015. https://doi.org/10.5902/1980509820582

Rudek A, Garcia FAO, Peres FSB. Avaliação da qualidade de mudas de eucalipto pela mensuração da área foliar com o uso de imagens digitais. Enciclopédia Biosfera, v.9, n.17, p.3775-3787, 2013.

Santana LO, Araújo FM, Souza FLP, Leme MC, Timo TPC, Lobo TF, Siqueira MVBM Desenvolvimento de mudas de dedaleiro (*Lafoensia pacari*. A.St.-Hil.) mediante diferentes substratos e lâminas de irrigação. Revista do Instituto Florestal, v.31, n.2, p.147-156, 2019.

Santos FEV, Kunz SH, Caldeira MVW, Azevedo CHS, Rangel OJP. Características químicas de substratos formulados com lodo de esgoto para produção de mudas florestais. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental, v.18, n.9, p.971-979, 2014. https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v18n09p971-979

Santos MJC, Nascimento AVS, Mauro RA. Germinação do amendoim bravo (*Pterogyne nitens* Tul) para utilização na recuperação de áreas degradadas. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.3, n.1, p.31-34, 2008. https://doi.org/10.5039/*agraria*.v3i1a182.

Santos CB, Longhi SJ, Hoppe JM, Moscovich FA. Efeito do volume de tubetes e tipos de substratos na qualidade de mudas de *Cryptomeria japonica* (L. F.) D. Don. Ciência Florestal, v.10, n.2, p.1-15, 2000. https://doi.org/10.5902/19805098466

Scheer MB, Carneiro C, Bressan AO, Santos KG. Compostos de lodo de esgoto para a produção de mudas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Cerne, v.18, n.4, p.613-621, 2012. https://doi.org/10.1590/S0104-77602012000400011

Silva SRS, Demuner AJ, Barbosa LCA, Casali VWD, Nascimento EA, Pinheiro AL. Efeito do estresse hídrico sobre características de crescimento e a produção de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. Acta Scientiarum, v.24, n.5, p.1363- 1368, 2002. https://*doi*.org/10.4025/actasciagron.v24i0.2382

Siqueira DP, Barroso DG, Marciano CR. Lodo de esgoto: diretrizes e o seu uso como fertilizantes, condicionador de solo e substrato florestal. Vértices, v.19, n.3, p.171-186, 2017. https://*doi*.org/10.19180/1809-2667.v19n32017p171-186

Siqueira DP, Carvalho GCMW, Barroso DG, Marciano CR. Lodo de esgoto tratado na composição de substrato para produção de mudas de *Lafoensia glyptocarpa*. Floresta, v.48, n.2, p.277-284, 2018. http://dx.*doi*.org/10.5380/rf.v48i2.55795

Sturion JÁ, Antunes JBM. Produção de mudas de espécies florestais. In: Galvão APM (ed) Reflorestamento de propriedades rurais para fins produzidas e ambientais. Colombo: Embrapa Florestais, 2000. p.125-150.

Trigueiro RM, Guerrini IA. Utilização de lodo de esgoto na produção de mudas de aroeira-pimenteira. Revista Árvore, v.38, n.4, p.657-665, 2014. https://doi.org/10.1590/S0100-67622014000400009

Vega FVA, Bovi MLA, Berton RS, Godoy Junior G, Cembranelli MAR. Aplicação de biossólido na implantação da cultura da pupunheira. Horticultura Brasileira, v.22, p.131-135, 2004.

Weiss G, Ludvig A, Živojinović I. Four decades of innovation research in forestry and the forest-based industries – A systematic literature review. Forest Policy and Economics, v.120, 2020. https://doi.org/10.1016/j.forpol.2020.102288

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.pacheco

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Variabilidade espacial de características morfofisiológicas do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.)

Marony Pereira de Almeida Santos[a*], Antônio Clementino dos Santos[a], Guillermo Arturo Herrera Chan[a], Mateus Sunti Dalcin[a], Weslany Silva Rocha[a], Olavo da Costa Leite[a]

[a] Universidade Federal do Tocantins, Brasil

[*] Autor correspondente (maronysantos@yahoo.com.br)

INFO

Keyworks
Vigna unguiculata (L.)
geoestatistic
variability

ABSTRACT

Spatial variability of morphophysiological characteristics of cowpea (Vigna unguiculata L.).
Study in relation to the behavior of the productive potential of the cowpea is determined by the edaphoclimatic factors, as a climatic element, the climatic conditions are directly related to the chemical attributes of the soil and the productivity components of the cowpea. It is worth noting that it is a nutrient-demanding plant, due to the small and shallow root system and the short cycle that is related to physiological conditions. This work aimed to analyze the morphophysiological characteristics of the bean crop through semivariograms, in order to qualify the best productive regions of the stand. The following evaluations were carried out: plant height, stem diameter, A, B and total chlorophyll. Spatial dependence was analyzed through semivariogram adjustments, based on statistical and geostatistical techniques, in order to observe the values of chlorophylls A, B and total, which are correlated. The stem diameter presents a moderate degree of spatial dependence which corresponded to 31% for the analyzed data. Plant height has a low degree of spatial dependence which is equivalent to only 9%. The Kriging mappings allowed detailed analyzes under the spatial variability of morphophysiological characteristics based on data quantifications in relation to the effects of spots caused on soil fertility.

Palavras-chaves
Vigna unguiculata (L.)
geoestatística
variabilidade

RESUMO

Estudo em relação ao comportamento do potencial produtivo do feijão-caupi é determinado pelos fatores edafoclimáticos, como elemento climático, as condições climáticas estão relacionadas diretamente com os atributos químicos do solo e os componentes de produtividade do feijão-caupi. Vale destacar, que ela é uma planta exigente em nutrientes, em função do pequeno e pouco profundo sistema radicular e do ciclo curto que está relacionado com as condições fisiológicas. Este trabalho objetivou analisar características morfofisiológicas da cultura do feijoeiro por meio de semivariogramas, a fim de qualificar as melhores regiões produtivas do talhão. Foram realizadas as seguintes avaliações: a altura da planta, diâmetro do caule, clorofila A, B e total. A dependência espacial foi analisada por meio de ajustes de semivariogramas, com base nas técnicas estatísticas e geoestatísticas foram utilizadas a fim de se observar os valores das clorofilas A, B e total, que se apresentam correlacionado. O diâmetro de caule apresenta um moderado grau de dependência espacial que correspondeu a 31 %, para os dados analisados. A altura de planta apresenta fraco grau de dependência espacial que equivale a apenas 9%. Os mapeamentos de Krigagem permitiram análises detalhadas sob a variabilidade espacial de características morfofisiológicas com base nas quantificações dos dados em relação aos efeitos de manchas provocados a fertilidade do solo.

Received 15 March 2021; Received in revised from 20 May 2021; Accepted 29 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata (L.) Walp*) é uma leguminosa bastante utilizada como cultura alimentar no Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, sendo de origem africana. Vale destacar que o feijão-caupi pode ser chamado de feijão de corda ou feijão macassar entre outros nomes populares, tendo como características de ter grãos secos cozidos e na fase de maturação, grãos verdes, com baixo custo de produção. Segundo Frota et al. (2018), frisam que o feijão caupi é uma das principais culturas alimentares do Nordeste brasileiro, se destaca pelo alto valor nutritivo, além do baixo custo de produção, possuindo de maneira geral atributos desejáveis, como alto conteúdo proteico, energético, de fibras alimentares e de minerais, tais como: ferro, zinco, potássio, fósforo e magnésio.

Conab (2021), (Companhia Nacional de Abastecimento), mostra que feijão-caupi tem grande importância, principalmente por apresentar alta demanda consumidora, destacando os Estado do Piauí e Bahia, que, juntos, representam mais de 86% da área estimada para o plantio do feijão-caupi em todo o país, com perspectiva total para o feijão nesta temporada 2020/21, incluindo as estimativas de terceira safra, é de destinação de 2.945,9 mil hectares para o cultivo da cultura (considerando o feijão-comum cores, o feijão comum preto e o feijão-caupi) e uma produção de 3.250 mil toneladas. Destacando também, o Estado do Tocantins, apresentando maior relevância na produção da região Norte, com área superior a 29 mil hectares em 2019, visto que a maior parte dessas áreas são manejadas em condição de sequeiro com uma produção de 32,6 mil toneladas, representando incremento de 36,4% em comparação a 2018/19.

Nesse sentido, variabilidade espacial de atributos físicos de solo, mapeamento das características morfofisiológicas de uma planta tem sido muito utilizada para buscar melhorias no uso de manejo de solo. Dessa forma, o mapeamento por análise visual dos mapas obtidos por krigagem permite quantificar diversas variáveis, identificando como o grau de dependência espacial dos tipos de solos. Ribeiro et al. (2016), mostram que com a mapeamento baseado por krigagem mostrou-se satisfatórios em relação a variabilidade espacial de atributos físicos de solo coeso sob sistemas de manejo convencional e de plantio direto, identificando os maiores teores de umidade e densidade, densidade e porosidade do solo, nos sistemas de manejo convencional e de plantio direto. Silva et al (2013), relatam que a coleta de amostras de solo georreferenciadas permite espacializar os atributos químicos, com auxílio das ferramentas de geoestatística, sendo frequentemente utilizada, visando identificar zonas com restrições químicas que possam estar limitando o rendimento e os aspectos morfofisiológicos das culturas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade espacial das características morfofisiológicas do feijão-caupi, através de semivariogramas, a fim de qualificar as melhores regiões produtivas do talhão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, Campus Universitário Gurupi, localizado na região sul do Estado do Tocantins, a 280 m de altitude, sob as coordenadas 11°44’50’’ de latitude e 49°03’07’’ de longitude, no período de dezembro a março de 2020. O solo utilizado foi classificado como: Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico (LVA), (Santos, 2013).

A precipitação média anual varia entre 1300 a 1500 mm, com temperatura média anual de 27 °C, (SEPLAN, 2012). Leite (2015) retrata que nas proximidades de Gurupi (TO), a média de precipitação pluviométrica, é de 1.646,3 mm ano^{-1}.

O solo foi coletado na camada de 0–20 cm com base na coordenadas descritas acima. A caracterização química e textural estão apresentadas na tabela 1. A adubação de plantio foi de 150 kg.ha^{-1} de P_2O_5 e 40 kg.ha^{-1} de K_2O, e nenhuma adubação para o controle.

Tabela 1 - Características químicas de um Latossolo Vermelho Escuro Distrófico na camada de 0-20 cm, em experimento de doses de fósforo na cultura do feijão-caupi, semeada em Gurupi -TO, 2017.

SOLOS	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}	H+Al	SB[2]	CTC(T)[1]	CTC(t)[3]	V[4]	m[5]	MO[6]		pH $CaCl_2$
	..... cmol$_c$ dm^{-3}							..... (%)				
LVA	2.6	0,9	0,1	2.5	3,61	6,26	2,4	59	3	1,9		4,8
SOLOS	**P**	**K**	**B**	**Cu**	**Fe**	**Mn**	**Zn**	**Silte**	**Argila**	**Areia**	**Cascalho**	**Terra Fina**
	..... mg dm^{-3}							..... g kg^{-1}				
LVA	2,9	0,11	0,18	0,8	26,0	0,7	2,1	50	275	675	0	100

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

Para amostragem, selecionou-se uma área de 32,5 m por 25 m, totalizando 812,5 m^2, que foi dividida em 50 parcelas de 6,5 m x 2,5 m (16,25 m^2) cada uma. Foram definidas as direções X e Y do sistema de coordenadas cartesianas. Em cada parcela foi determinada uma planta (ponto) com intervalo de 6,5 L/O (X) e 2,5 N/S (Y) (Figura 1).

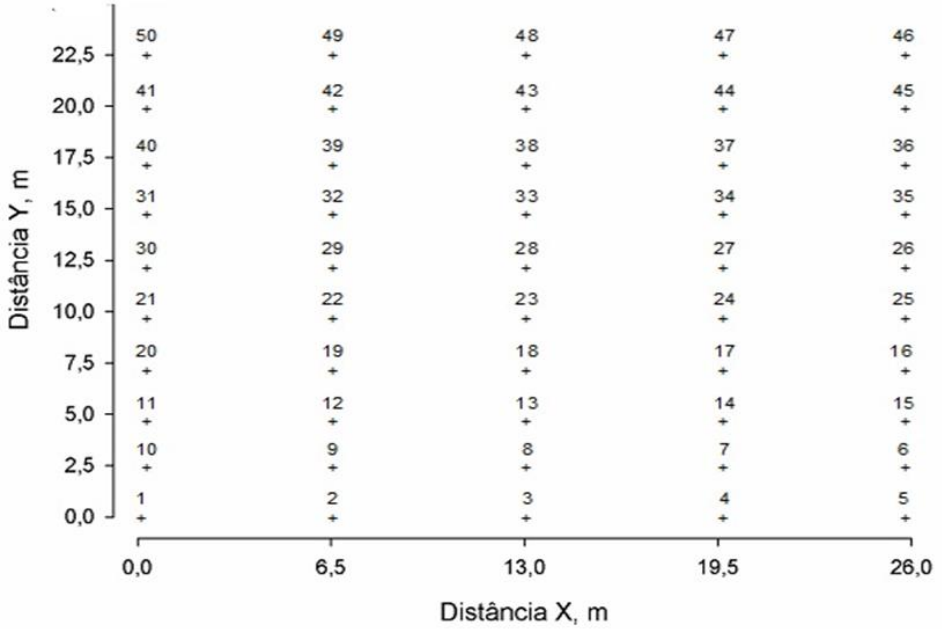


Figura 1 - Esquema de amostragem das plantas de feijão-caupi.

Em cada planta foi realizada as seguintes avaliações: a altura da planta, levando-se em consideração a distância média do solo até o ponto da haste principal (cm), diâmetro do caule foi considerado na primeira ramificação (mm), clorofila A, B e total foram tomadas da última folha desenvolvida da haste principal. As variáveis alturas de plantas foram determinadas com o auxílio de uma régua em centímetros. Já para determinação do diâmetro do colo utilizou-se um paquímetro graduado em milímetros. A medição da altura da planta e diâmetro do colo foi analisada no estádio fenológico V4.

A dependência espacial foi analisada por meio de ajustes de semivariogramas (Vieira, 2000), com base na pressuposição de estacionariedade da hipótese intrínseca, a qual é estimada pela Equação 1:

$$y(h)=12N(h)\sum[Z(xi)N(h)i=1-Z[(xi+h)]2 \qquad 1$$

Em que:

N(h) o número de pares de valores medidos Z(xi), Z(xi + h), separados por um vetor h. O gráfico de y(h) é denominado semivariograma.

O grau de dependência (GD), consiste na razão entre a variância estrutural e o patamar. Este parâmetro permite classificar o grau de dependência espacial e foi calculado através da Equação 2:

$$GD=C(C_0+C) \qquad 2$$

Em que:

C_0: efeito pepita (representa a variação aleatória do fenômeno estudado);

C: Variância estruturada (variância explicada pela componente espacial);

C_0 + C: patamar (variação total do fenômeno avaliado).

Segundo os critérios de Cambardella et al. (1994) quando a razão entre o efeito pepita e o patamar, expressa em porcentagem, é < 25%, a dependência espacial dessa variável é considerada forte, entre 25 e 75% é considerada moderada e se a razão for > 75% é considerada fraca.

Os programas utilizados foram GS+ versão 7 (2004) e o Surfer 8 (2002) para a confecção dos mapas. As análises geoestatísticas para obtenção da confecção dos mapas foram realizadas utilizando o programa Geostatistics for the Environmental Sciences - GS+® 7.0 e o programa Surfer® 8, contribuindo para as avaliações experimentais de validação cruzada no comportamento espacial.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão relacionados os resultados da estatística descritiva aplicada às variáveis avaliadas para a área em estudo. Os valores da média e mediana para quase todas as variáveis estão pouco distantes, mostrando distribuições assimétricas, o que pode ser confirmado pelos valores de assimetria distantes de zero. De acordo com Diggle & Ribeiro (2007), o coeficiente de assimetria e curtose são mais sensíveis a valores extremos do que a média, mediana e o desvio padrão, uma vez que um único valor pode influenciar fortemente o coeficiente de assimetria e curtose, pois os desvios entre cada valor e a média são elevados à terceira potência.

Tabela 2 - Média, mediana, variância, desvio-padrão (DP), coeficiente de variação (CV), valor mínimo, valor máximo, assimetria e curtose, para características agronômicas do feijão-caupi em Gurupi-TO

Variável	Media	Mediana	Variância	DP.	CV %	Min.	Max.	Assimetria
Altura	64,58	75,50	147,3914	12,14164	18,80	35	103	-2,698
Diâmetro	8,80	8,125	2,9303	1,7118	19,45	6,08	14,01	1,183
Clor. A	31,9	31,1	5,971363	2,44363	7,66	28	36	0,982
Clor. B	17,2	14,45	8,971922	2,9953	17,41	14	22	2,754
Clor. Total	47	45,6	26,144853	5,1132	10,87	43	52	0,821

Os coeficientes de variações evidenciaram valores entre 7,66% e 19,45%. Segundo Pimentel-Gomes (2000), o coeficiente de variação dá uma ideia da precisão experimental. Tendo-se por base os coeficientes encontrados no presente estudo, pode-se classificar em baixos, quando inferiores a 10 %, médios quando variarem de 10-20 %, altos quando variarem de 20-30 % e muito altos quando forem superiores a 30. Portanto verifica-se que a característica clorofila A apresentou CV% baixo (7,66%), e as demais variáveis alturas, diâmetro, clorofila B e clorofila total exibiram CV% considerados médios.

Para Webster (2001), o valor de assimetria até 0,5, sendo indicativo que é determinado pelo atributo presente na distribuição normal, sendo dispensada a transformação logarítmica para normalização dos dados; nesse sentido, os valores entre 0,5 e 1,0 necessitam de análise por meio de seus quadrados mínimos para averiguar tendência de uma distribuição log normal e valores de assimetria maiores que 1,0 necessitam de transformação logarítmica para apresentarem distribuição normal. Portanto, para todas as variáveis agronômicas estudadas, há necessidade de transformação dos dados para obtenção de uma distribuição normal.

Na Tabela 3, apresentam-se os modelos de semivariogramas selecionados com os respectivos parâmetros de ajuste e o grau de dependência espacial. Observa-se, nessa Tabela, que o GD na maioria dos casos foi acima de 92 %, com apenas duas exceções, sendo 31 % para diâmetro de caule e 9 % para altura de planta menor valor encontrado. Com isso, é possível constatar forte estrutura de dependência espacial do teor de clorofila A, B e Total na cultura de feijão-caupi na área estudada.

Tabela 3 - Modelos e resultados da dependência espacial ajustados aos dados

Variáveis	Modelo	C_0	C_0+C	A	C(C_0+C)	Classificação	R^2
Altura	Linear	138,88	152,76	21,69	0,091	Fraco	0,03
Diâmetro	Linear	2,23	3,23	16,59	0,310	Moderado	0,18
Clor. A	Exponen-	0,35	5,57	4,08	0,937	Forte	0,17
Clor. B	Gaussiano	0,54	8,89	3,93	0,939	Forte	0,36
Clor.Total	Exponen-	1,92	26,42	5,4	0,927	Forte	0,21

C_0: efeito pepita, (C_0+C): patamar, A: alcance em metros e R^2: coeficiente de correlação.

Analisando os valores do alcance teórico dos modelos selecionados (Tabela 3), verificaram-se valores entre 3 e 21 m, havendo tendência dos maiores valores para altura de planta e diâmetro de caule. Além disso, notou-se tendência de menores valores para os teores de clorofila A, B e Total.

Confrontando os resultados dos alcances teóricos dos modelos de semivariogramas

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

ajustados (Tabela 2), constataram-se menores valores dos alcances na primavera, próximos a 100 m. Desse modo, pode-se inferir que há necessidade de aumentar a quantidade de amostras de umidade do solo no período chuvoso, especialmente no verão, de forma a diminuir a dispersão das diferenças relativas e, consequentemente, proporcionar melhores condições para seu posterior mapeamento.

O comportamento do alcance do semivariograma está associado à existência de estrutura de dependência espacial e aplicação dos princípios da correlação espacial. O valor de patamar e o efeito pepita mostram a extensão da estrutura de dependência espacial e representam a variação aleatória do fenômeno (Barreto et al., 2012).

Os resultados da análise geoestatística mostraram que todas as variáveis analisadas apresentaram dependência espacial (Tabela 3), com exceção da altura de planta, que indicou efeito pepita puro, sinalizando, segundo Vieira (2000), variabilidade não explicada, que pode ser em decorrência de erros de medida e microvariações não detectadas, considerando-se a distância de amostragem utilizada.

Para os dados que apresentaram fraca dependência espacial, não foi possível o ajuste dos semivariogramas, pela inexistência de patamar. O número reduzido de amostras pode ter causado a inexistência de dependência para alguns dados, pois as amostragens devem ser suficientemente próximas para que se possam caracterizar possíveis manchas de variabilidade. Portanto, distâncias de amostragem menores do que as utilizadas neste trabalho poderiam melhorar a precisão no ajuste dos semivariogramas (Silva Neto et al., 2012). Vale destacar que a modelagem de dados de mapeamento como a krigagem é considerada um excelente instrumento de processamento de informação relacionada com a distribuição espacial de variáveis, como questões de levantamento ambientais, utilizando procedimentos geoestatísticos. Segundo Landim (2006), Lundgren (2017), a krigagem constroe mapa de excelente qualidade fornecendo resultados confiáveis, obtendo dependência espacial, onde sua existência verificada pelo semivariograma amostral ou pelo teórico são os principais instrumentos da geoestatística.

O modelo linear (Tabela 3) foi o que melhor se ajustou aos dados de diâmetro de caule, e representando moderada dependência espacial. O mapa (Figura 3) para altura de plantas permite inferir que essa variável se mostrou muito homogênea na área, não havendo grandes variações na altura de plantas de feijão-caupi. Para diâmetro de caule (Figura 3) pode-se inferir que a porção inferior direita da área apresentou maior diâmetro de caule (maior que 10,5 cm) das plantas de feijão, indicando redução da parte inferior direita para superior esquerda.

Devido, possivelmente, à interferência de manejos culturais na camada superior (0-20 cm), como teores de fósforo existentes no solo desta área, os pontos onde apresentaram cores mais escuras, ou seja, diâmetros maiores foram os locais com maiores adubações com fósforo, que variaram de 0 a 150 kg de P_2O_5 ha^{-1} combinados com a influência dos fatores ambientais, como chuvas e escoamentos superficiais. Miranda et al. (2005) também relatam que a variabilidade no estande das culturas está diretamente relacionada com os fatores edáficos, como propriedades físicas, químicas e biológicas, fatores climatológicos, como precipitação e de manejo, como aplicações desuniformes de sementes, fertilizantes e corretivos.

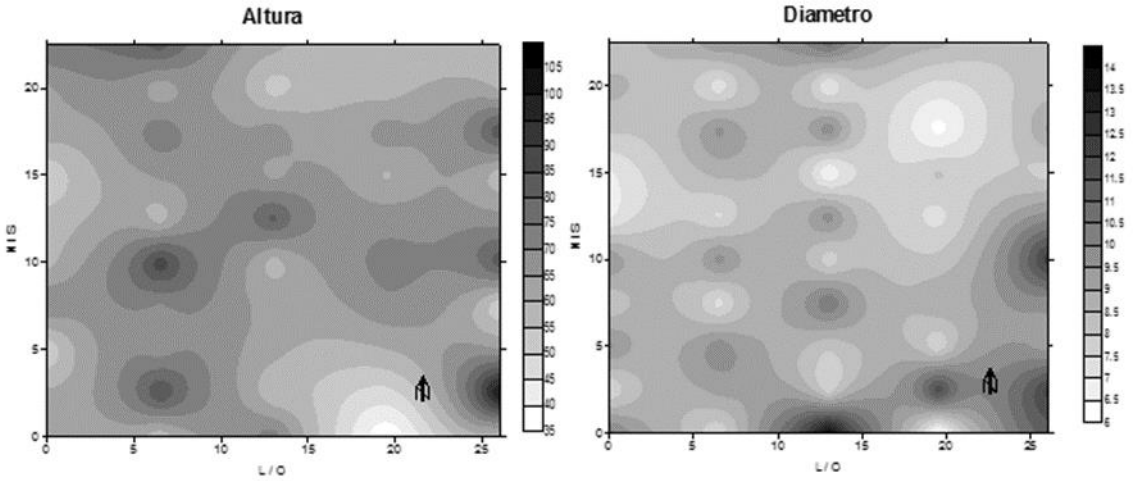


Figura 3 - Mapas de Krigagem para as variáveis analisadas altura de planta e diâmetro de caule

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

Os resultados da análise geoestatística, para as variáveis clorofila, nas diferentes amostras, demonstraram que, o modelo exponencial foi o que melhor se adequou para clorofila A e Total, já para a clorofila B, melhores resultados foram verificados para o modelo Gaussiano, observando forte dependência espacial entre as clorofilas (Tabela 2). Hurtado et al. (2009), estudando a variação espacial da clorofila no milho, encontraram que os modelos que melhor se ajustaram para os semivariogramas dos índices de clorofila, foram o exponencial, Gaussiano e esférico, no entanto, os índices de clorofila apresentaram moderada dependência espacial. Para melhor apresentação do índice de clorofila A, B e Total foram gerados mapas temáticos, a fim de representar a distribuição espacial dos dados (Figura 4).

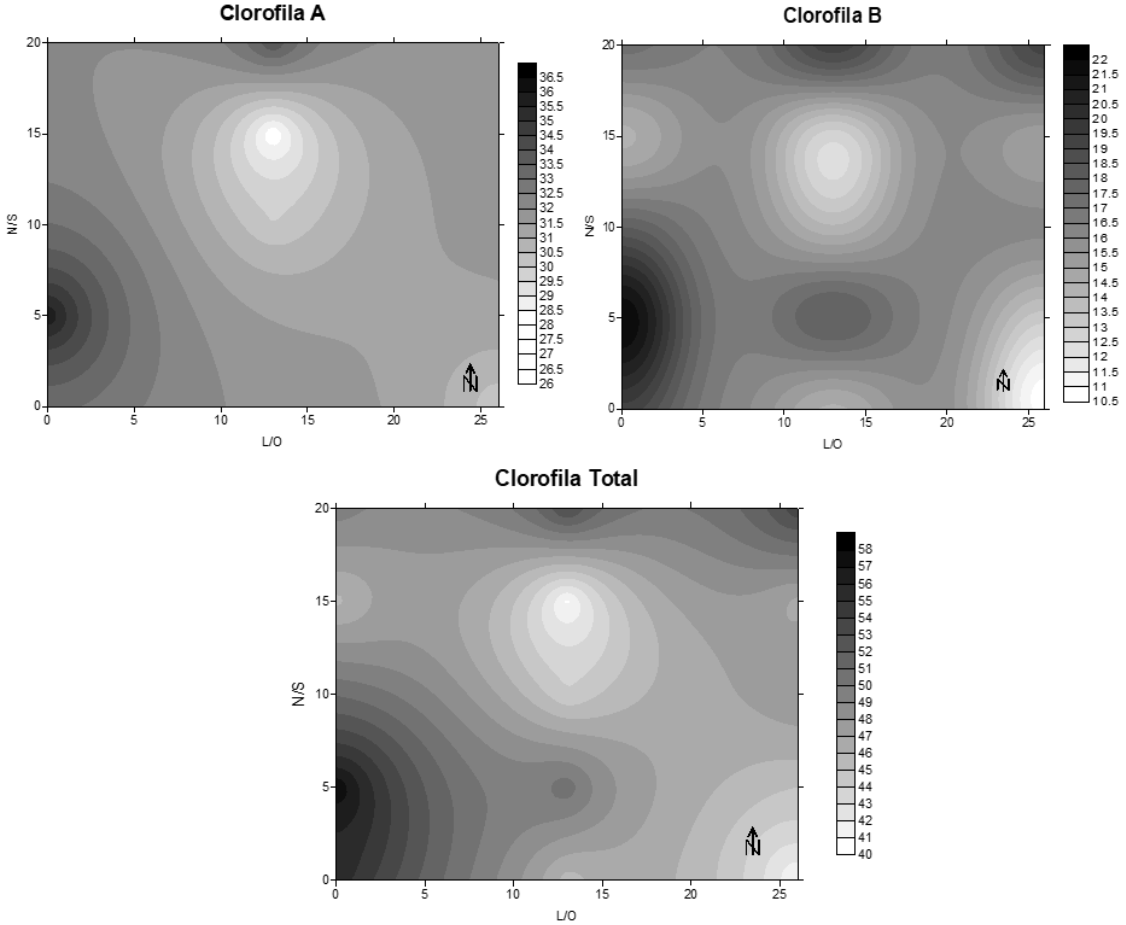


Figura 4 - Distribuição espacial do índice de clorofila A, clorofila B e clorofila Total na cultura de feijão caupi (*Vigna unguiculata*)

No mapa temático do índice de clorofila A para a cultura do feijão é observada uma pequena concentração dos valores entre 35,5 e 36,5 na região norte e sudoeste do mapa, e esta é classificada como zona de maior clorofila. Na porção centro norte do mapa, observa-se uma pequena predominância da concentração da faixa de menor de clorofila A, crescendo progressivamente em direção ao sul. (26 a 32).

Para índice de clorofila B no mapa temático é observada uma pequena concentração dos valores entre 20 e 22 na região norte, nordeste e sudoeste do mapa, e está classificada como zona de maior clorofila. Na porção sudoeste do mapa, observa-se uma pequena predominância da concentração da faixa de menor de clorofila B, acendendo progressivamente até a direção central do mapa.

Já os resultados para o mapa temático do índice de clorofila Total é observado que as maiores concentrações dos valores entre 54 e 58 encontram-se na região norte e nordeste, sudoeste e centro sul do mapa com uma pequena predominância não entanto classificadas como zonas de maior clorofila Total presente no mapa. Na porção centro norte do mapa, observa-se uma pequena predominância da concentração da faixa de menor de clorofila Total, acrescendo progressivamente em direção ao sul (entre 26 a 53). Os maiores e menores teores de clorofila A, B e Total encontrada nos mapas possivelmente podem estar influências pelas dosagens de fósforo utilizadas na cultura (0 – 150 kg ha^{-1}), pelo fato

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

que as concentrações de clorofila nas folhas possivelmente podem aumentar com a maior ou menor presença de fósforo. Souza et al. (2011) verificaram que o teor de clorofila aumentou com as doses de P e Silva et al. (2010) revelaram que os valores mínimos estimados para a leitura da clorofila foram nas menores dosagens de P_2O_5.

Observa-se ainda na Figura 4 que o índice de clorofila A foi maior em relação à clorofila B, tal observação pode ser possível pelo fato que uma maior proporção do fotossistema I é mais rico em clorofila A, esse fator está diretamente relacionado com a capacidade das plantas em maximizar a captura de luz em condições normais de luminosidade (Critchley, 1999).

A avaliação da concentração de clorofila (Chl) é muito importante, pois esta estrutura molecular controla o potencial fotossintético e, por consequência, a produção primária de uma cultura (Marschner, 1995).

CONCLUSÕES

Os valores das clorofilas A, B e Total apresentam-se autocorrelacionados no espaço. Vale destacar que o diâmetro de caule apresenta um moderado grau de dependência espacial que corresponde a 31 %, para os dados analisados. Diante disso, a altura de planta apresentou uma fraca grau de dependência espacial que equivale apenas 9% e efeito pepita ocorreu para os dados analisados.

O presente estudo mostrou a importância de uma amostragem de solo bem realizada e em maiores quantidades para minimizar os efeitos de manchas de fertilidade. A produtividade está atrelada a homogeneização da fertilidade, pois os parâmetros analisados estão correlacionados com a fertilidade do solo. Vale destacar que os mapas de Krigagem apresentaram resultados satisfatórios, com excelente precisão nos dados informados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, a Universidade Federal do Tocantins – UFT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barreto HBF, Amaral Junior VP de, Lira JFB de, Maia FEN, Miranda NO. Distribuição espacial do pH e condutividade elétrica em um solo aluvial no Rio Grande do Norte. ACSA – Agropecuária Científica no Semi-Árido, v.8, n.1, p. 28-33, 2012.

Cambardella CA, Moorman TB, Novak JM, Parkin TB, Karlen DL, Turco RF, Konopka AE. Field-scale variability of soil properties in Central Iowa Soils. Soil Science Society of America Journal, v.58, p.1501-1511, 1994.

CONAB. (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento da safra brasileira, V. 7- Safra 2019-2020 – N. 10. Décimo levantamento/2020. Disponível também em: < https://www.conab.gov.br/>.

Critchley C. Concepts in photobiology: photosinthesis and photomorphogenesis. New Delhi: Narosa publishing House, p.587, 1999.

Diggle PJ, Ribeiro JR. Model-based geostatistics. New York: Springer, p. 228, 2007.

Frota KDMG, Soares RAM, Arêas JAG. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. Food Science and Technology, v. 28, p. 470-476, 2008.

Golden Software. Surfer for Windows version 8.0. Colorado: Golden, 2002.

GS+: Geostatistics for environmental sciences (2004) 7ª ed. Plainwell, Gamma Desing Software, p.159, 2004.

Hurtado SMC, Resende AV, Silva CA, Corazza EJ, Shiratsuchi LS. Variação espacial da resposta do milho à adubação nitrogenada de cobertura em lavoura no Cerrado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.44, n.3, p.300-309, 2009.

Landim PMB. Sobre geoestatística e mapas. Terra e Didática n.2, p.19–33, 2006.

Leite OC. Disponibilidade hídrica nos sistemas hidrográficos dos rios Tocantins e Araguaia no estado do Tocantins. Ano de obtenção: 2015. 73p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais)–Universidade Federal do Tocantins, Gurupi. (Dissertação).

Lundgren WJC, Souza ID, Lundgren GA. Krigagem na construção de mapa pluviométrico do Estado de Sergipe. Revista Brasileira de Geografia Física, v.10, n.1, p.13-22, 2017.

Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. New York: Academic Press, p.889, 1995.

Miranda NO, Oliveira TS, Medeiros JF, Silva CA. Variabilidade espacial da produtividade do meloeiro em áreas de cultivo fertirrigado. Horticultura Brasileira, v.23, n.2, p.260-265, 2005.

Pimentel-Gomes F. Curso de estatística experimental. 14 ed. Piracicaba: Degaspari/ ESALQ. São Paulo, p.477, 2000.

Ribeiro LDS, Oliveira IRD, Dantas JS, Silva CVD, Silva GBD, Azevedo JRD. Variabilidade espacial de atributos físicos de solo coeso sob sistemas de manejo convencional e de plantio direto. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 51, p.1699-1702, 2016.

Santos HG, Almeida J, Oliveira JD, Lumbreras J, Anjos LD, Coelho M, Jacomine P, Cunha TD, Oliveira VD. Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa. 353p., 2013.

SEPLAN. Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da gestão territorial. Governo do Estado do Tocantins. 2012. Disponível em:<http://zoneamento.sefaz.to.gov.br/TO_AtlasTocantins

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

2012_1/Atlas_do_Tocantins_2012.pdf >. Acesso em 27 Jul. 2021.

Silva EFL, Araújo ASF, Santos VB, Nunes LAP, Carneiro R FV. Fixação biológica do N² em feijão-caupi sob diferentes fontes e doses de fósforo solúvel. Biosci. J., v.26, n.3, p.394-402, 2010.

Silva Neto SP, Santos AC, Leite RLL, Dim VP, Neves Neto DN, Cruz RS. Dependência espacial em levantamentos do estoque de carbono em áreas de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Acta Amazonica, v.42, p.547-556, 2012.

Silva VR, Reichert JM, Storck L, Feijó S. Variabilidade espacial das características químicas do solo e produtividade de milho em um Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico arênico. R. Bras. Ci. Solo, v.27, p.1013-1020, 2003.

Souza GS, Silva JS, Santos AR, Gomes DG, Oliveira UC. Crescimento e produção de pigmentos fotossintéticos em alfavaca cultivada sob malhas coloridas e adubação fosfatada. Enciclopédia Biosfera, v. 7, n. 13, 2011.

Vieira SR. Geoestatística em estudos de variabilidade espacial do solo. In: Novais, R. F.; Alvarez, V. H.; Schaefer, C. E. G. R. (eds). Tópicos em ciência do solo. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.1, p.1-53, 2000.

Webster R. Statistics to support soil research and their presentation. European Journal of Soil Science, v.52, p.331- 340, 2001.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.santos

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Secagem de toras de clones de *Eucalyptus urograndis* em estufa solar

Matheus Alexandrino José da Silva[a], Dáfilla Yara Oliveira de Brito[b], Jaltiery Bezerra de Souza[c], João Paulo Silva Gomes[a], Lucas Jean Nunes[a], João Gilberto Meza Ucella-Filho[d*], Tatiane Kelly Barbosa de Azevêdo[a]

[a] Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil
[b] Universidade Federal de Lavras, Brasil
[c] Universidade Federal da Paraíba, Brasil
[d] Universidade Federal do Espírito Santos, Brasil
[*] Autor correspondente (16joaoucella@gmail.com)

INFO

Keyworks
natural factors
saturation of fibers
moisture

ABSTRACT

Drying logs of Eucalyptus urograndis clones in a solar greenhouse.
Drying is an important stage in the wood industrialization process, with the purpose of improving the quality of the material. However, it is an expensive process, and there is a need to reduce its costs by using methods that require less investment. Thus, the objectives of this study were to evaluate the efficiency of a solar drying oven for drying *Eucalyptus urograndis* clone logs installed in the municipality of Macaíba, state of Rio Grande do Norte, in order to check whether the region is suitable for this practice; and ii) to evaluate the influence of different log diameter classes in the drying process. 1.50m logs were sectioned and separated according to four diametric classes. They were then weighed and placed in a solar oven, with daily measurements of air temperature and relative humidity and biweekly weighings during the observation period until they reached the fiber saturation point. The data were submitted to regression analysis, applying the variable selection procedure. At 35 days, all logs had already reached the PSF. However, the diameter measurements did not significantly affect the drying process, which proved to be efficient when compared to conventional and natural methods. Therefore, the solar kiln drying of logs becomes a viable method for the region.

Palavras-chaves
fatores naturais
saturação das fibras
umidade

RESUMO

A secagem é uma etapa importante no processo da industrialização da madeira, tendo como finalidade melhorar a qualidade do material. Porém, é um processo oneroso havendo a necessidade da redução dos seus custos, por meio de métodos que demandem menos investimento. Desse modo, os objetivos deste estudo foram avaliar a eficiência de estufa solar na secagem de toras de clones de *Eucalyptus urograndis* instalada no município de Macaíba, estado do Rio Grande do Norte, com o intuito de verificar se a região é adequada para esta prática; e ii) avaliar a influência de diferentes classes de diâmetro das toras no processo de secagem. Foram seccionadas toras de 1,50m e separadas em função de quatro classes de diamétricas. Em seguida foram pesadas e acondicionadas em estufa solar, sendo realizado medições diárias da temperatura e umidade relativa do ar e pesagens quinzenais durante o período de observação até que atingissem o ponto de saturação das fibras. Os dados foram submetidos a análise de regressão, aplicando-se o procedimento de seleção de variáveis. Aos 35 dias, todas as toras já haviam atingido o PSF. Entretanto, as medidas do diâmetro não afetaram significativamente na secagem, que se demonstrou eficiente quando comparada aos métodos convencionais e naturais. Portanto a secagem de toras em estufa solar torna-se um método viável para região.

Received 15 April 2021; Received in revised from 09 May 2021; Accepted 19 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por madeira de plantios florestais do gênero *Eucalyptus* vem proporcionando o aumento das áreas cultivadas, segundo a Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF), em 2018 esses plantios ocuparam cerca de 5,7 milhões de hectares, ocorrendo nos útimos sete anos um crescimento médio de 1,1% da área plantada ao ano (IBÁ, 2019). Diante da demanda do setor indústrial por madeira e seus derivados, há a necessidade de aprimoramento dos processos que envolvem a industrialização da madeira.

A secagem é importante processo para agregar valor ao material lignocelulósico, além disso, a redução da umidade da madeira diminue o gasto com transporte, aumenta a resistência mecânica do material, reduz o ataque por agente xilófagos, além de reduzir a movimentação dimensional (Galvão e Jankowsky, 1985; Malladi e Sowlati, 2017). Podendo acontecer de forma natural ou artificial, ambos os processos manejam a capacidade higroscópica da madeira (Silva et al., 2017).

Na secagem natural, não há o controle das variáveis, isso garante longos períodos para se atingir o teor de umidade adequado, em contrapartida, apresenta um baixo custo de instalação, por não necessitar de equipamentos sofisticados para a realização do processo (Simpson, 1983; Erber et al., 2015; Tomczak et al., 2020).

Já na secagem artificial é possível obter maiores velocidades de secagem e menores teores de umidade em menor tempo, tendo em vista que faz uso de sistemas de aquecimento e circulação forçada do ar, no entanto, os elevados custos com instalação e manutenção de estufas convencionais tornam o processo inviável (Oliveira, 2015).

A secagem da madeira em estufa solar apresenta-se como método intermediário entre a secagem ao ar livre e a convencional, já que é considerada como uma alternativa para substituir métodos que demandam elevados custos de manutenção, investimento e consumo energético (Santos, 2012). Embora a qualidade da madeira seja semelhante tanto na secagem ao ar livre como na secagem em estufa solar (Susin et al., 2014; Stangerlin, 2009), do ponto de vista ecnômico Stangerlin et al. (2012) afirmam que a secagem em estufa solar apresenta melhores indicadores financeiros, sendo menos sensível às variações nas taxas de juros.

Fatores ambientais atrelados às características da madeira propiciam melhores resultados da secagem. No momento da definição do método a ser empregado, o diâmetro das peças de madeira é um parâmetro fundamental na perda de umidade, em peças de maior diâmetro a água precisa percorrer maiores distâncias para ser evaporada (Pinheiro, 2013).

Do ponto de vista climático, as altas temperaturas durante todo o ano em conjunto com a baixa umidade relativa do ar, constituem-se de grandes aliados ao processo natural de secagem. Este clima é tipico do estado do Rio Grande do Norte, onde o clima tropical, característico da região, contribui para a frequente elevação da temperatura e médio índice pluviométrico. Nesse contexto, esta pesquisa visou utilizar os atributos edafoclimáticos da região como recurso facilitador na secagem de madeira. Desse modo, este trabalho teve por objetivos: i) avaliar a eficiencia de estufa solar na secagem de toras de clones de *Eucalyptus urograndis* instalada no estado do Rio Grande do Norte, com o intuito de verificar se a região é adequada para esta prática; e ii) avaliar a influência de diferentes classes diamétricas das toras no processo de secagem.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material

Foram utilizadas nove toras de madeiras de clones *de Eucalyptus urograndis*, com 7 anos de idade, provenientes de plantio experimental localizado na Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias (UAECIA), da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), município de Macaíba, estado do Rio Grande do Norte, entre as coordenadas centrais 05° 53’ 57” S e 35° 21’ 33” W, com altitude de 56 m em relação ao nível do mar. O clima local é caracterizado, de acordo com a classificação de Köppen, como tropical chuvoso, do tipo As (quente e úmido), temperatura média anual de 26°C, umidade relativa de 76% e precipitação pluviométrica média anual de 1.140 mm (Alvares et al., 2014).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

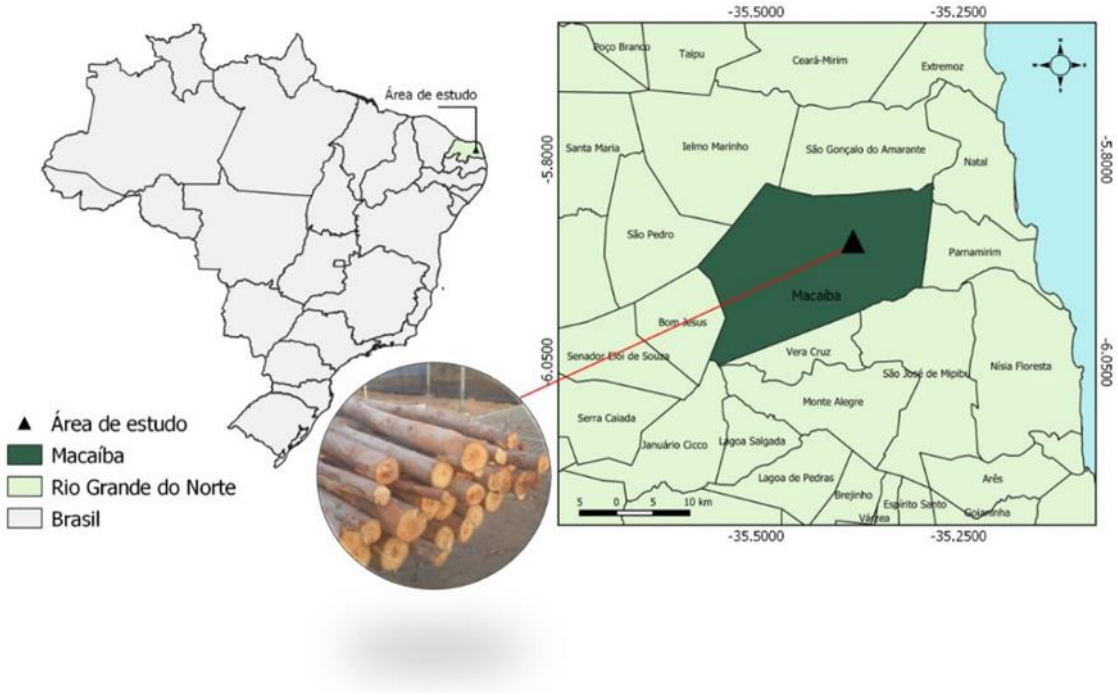


Figura 1 – Localização da área de estudo.

Preparo das amostras

As árvores amostradas foram seccionadas em toras de 1,50 m e classificadas em função de quatro classes de diâmetro, previamente estabelecidas (Quadro 1). Posteriormente, esses materiais foram identificados, pesados e destinados para a secagem em estufa solar, onde ficaram acondicionadas sem separação por classes de diâmetro sobre um estrado de ferro a 1m do solo. Durante o período de secagem, seguiu-se com a medição diária da temperatura e umidade da estufa solar.

Quadro 1 – Classificação das classes diamétricas.

Classes	Diâmetros (cm)
1	15 - 19,9
2	20 - 24,9
3	25 - 29,9
4	30 - 35

Determinação da umidade

Para a determinação da umidade inicial foi retirado um disco de 3 cm de espessura de cada extremidade da tora, seguindo as recomendações da norma NBR 11941/2003. Onde, o material foi identificado, pesado e submetido a secagem em estufa de circulação forçada a 103±2°C até que atingissem massa constante.

A estimativa da umidade inicial das toras deu-se conforme metodologia proposta por Pizetta (2011) para secagem gravimétrica, isto é, a média dos dois discos correspondentes. Sob essa perspectiva, a umidade inicial dos discos foi determinada a partir da equação 1.

$$U=\left(\frac{M_U-M_S}{M_S}\right)\times 100 \qquad 1$$

Diante da obtenção da massa inicial das toras, adquiridas através de pesagens individuais com auxílio de uma balança mecânica com capacidade de 20 kg e precisão de 0,2 kg, foi estabelecido, a partir de pesagens quinzenais, a variação da umidade das toras até que atingissem o ponto de saturação das fibras (30%), conforme a Equação.

$$U_A=M_A\times\left(\frac{U_I+100}{M_U}\right)-100 \qquad 2$$

Em que:

U_A= umidade atual (%);
M_A= massa atual da tora (kg);
U_I= umidade inicial média estimada dos discos (%);
Mu= massa úmida inicial da tora (kg)

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de regressão utilizando o pacote estatístico "Statistical Analysis System" (SAS, 1993) no qual foi aplicado o procedimento de seleção de variáveis – Stepwise. O modelo foi definido pela umidade (U), em porcentagem, em função do tempo de secagem (t), em dias, pelas equações 3-8.

$$U = f(t) \quad (3)$$
$$U = f(1/t) \quad (4)$$
$$U = f(t^2) \quad (5)$$
$$U = f(1/t^2) \quad (6)$$
$$U = f(\ln t) \quad (7)$$
$$U = f(\sqrt{t}) \quad (8)$$

O melhor modelo foi selecionado quanto às condicionantes da regressão com base no coeficiente de determinação ajustado (R2 aj.), coeficiente de variação (CV), erro padrão da estimativa (Sxy) e análise da distribuição dos resíduos.

Após esse procedimento, foram adicionadas variáveis Dummy, que assumiram valores de 0 e 1, conforme a classe de diâmetro, da seguinte forma: Di = 1, se a árvore estiver presente na classe de diâmetro i; e Di = 0, se a árvore não estiver presente na classe de diâmetro i.

Com esse método, foi possível expressar as regressões individuais ajustadas para as quatro classes de diâmetro estudadas, valendo-se de uma regressão linear múltipla representada pelas variáveis independentes descritas na Equação 4.

$$U = f(X) \quad (9)$$
$$U = f(Di) \quad (10)$$
$$U = f(Di.X) \quad (11)$$

Em que:

U= umidade da tora, em porcentagem;

X= tempo de secagem selecionado pelo procedimento Stepwise de regressão, em dias;

Di= Dummy (classes diametricas, em que i = 1,2, 3 e 4;

Di.X= interação entre as variáveis Di e X.

Os dados obtidos foram tabulados no programa estatístico Microsoft Excel® versão 2016 para geração dos gráficos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A insolação e a umidade relativa do ar e da madeira interferiram de forma significativa na temperatura da estufa de energia solar durante o processo de secagem. Notou-se que a temperatura interna aumentou proporcionalmente às horas e intensidade de insolação. Portanto, à medida que as horas de insolação aumentavam, a temperatura interna também se ampliava. Ressalta-se que a diferença de umidade entre o ambiente e as toras ajudou na formação de um gradiente de concentração no interior das toras, esse efeito foi intensificado naquelas que apresentavam menor diâmetro, como às dispostas nas classes 1 e 2. Oliveira et al. (2017) realizaram a secagem da madeira de *Eucalyptus urophylla* em toras a altas temperaturas e observaram que o aumento da temperatura promove o aumento da taxa de secagem, sendo maior para as toras de menor diâmetro em relação às toras de maior diâmetro. Após realizarem a secagem ao ar livre de *Eucalyptus globulus* Labill, Pertuzzatti et al. (2013) demonstraram que toras pertencentes à menor classes de diâmetro (5-10cm) atingiram o ponto de saturação das fibras 40 dias antes daquelas de maior diâmetro (20-25cm).

Durante o dia, a temperatura cresce em seu início e decresce em seu final, sendo as temperaturas máximas registradas aproximadamente às 13 horas. A maior temperatura interna registrada nessa estufa solar foi 54,5ºC. A partir dos valores obtidos, por meio da aferição da temperatura e umidade da estufa solar diariamente, realizou-se o cálculo da média aritméticas das temperaturas registradas semanalmente, conforme o observado na figura 2.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

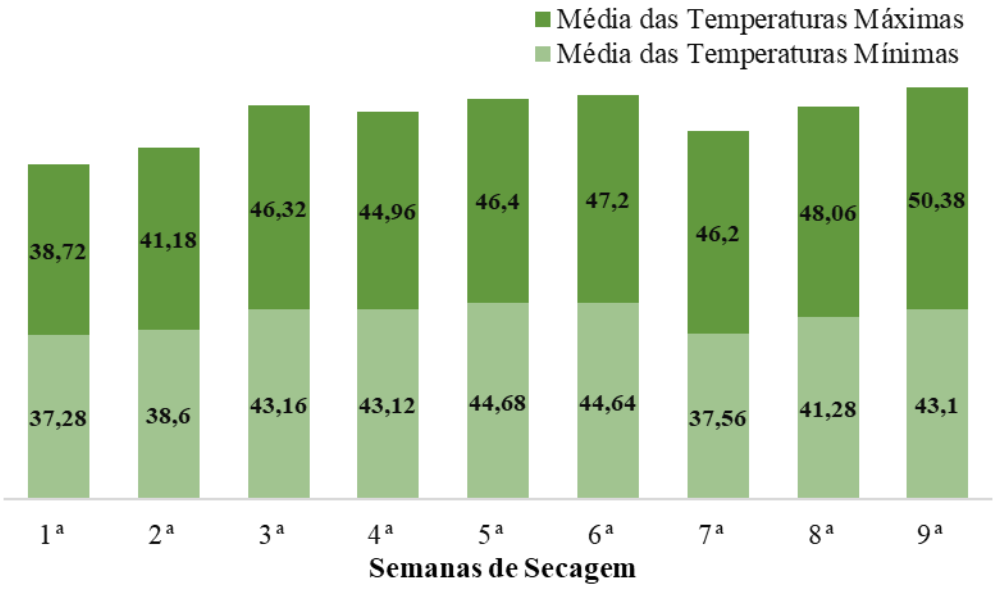


Figura 2 – Média das temperaturas (°C) máximas e mínimas da estufa solar em que se realizou a secagem de clones de *Eucalyptus urograndis*.

Na figura 3 encontram-se as curvas de secagem médias para toras de diferentes classes em estufa solar, durante 135 dias. Foi observado que nas primeiras semanas de secagem houve a maior perda de umidade, reduzindo-se nas semanas posteriores, semelhante ao relatado por Rezende (2010), que realizou a secagem ao ar livre de *Eucalyptus grandis* em Lavras, MG. Zen et al. (2019) observaram em seu estudo com madeira de Eucalipto que o teor de umidade final foi alcançado com 65 dias de secagem, sendo este teor pouco variável dentro da pilha de madeira. Os autores ainda observaram que a secagem ao ar livre apresentou baixoa índices de defeitos tornando a madeira de alta qualidade. Esta perda de umidade acentuada nas primeiras semanas de secagem ao ar livre é justificada devido a madeira perder água livre por capilaridade, diferente da água de impregnação, pois estar associada a parede celular, sendo sua retirada mais lenta (Duarte et al., 2015; Nascimento et al., 2019; Zen et al., 2019).

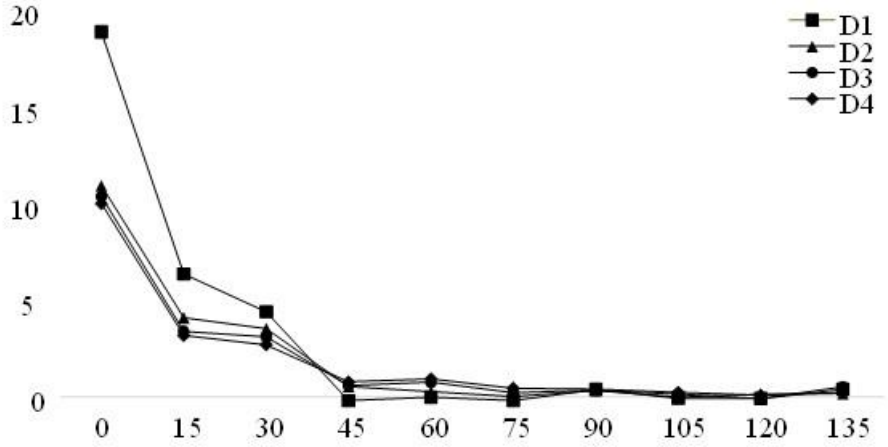


Figura 3 – Teor de umidade de toras de *Eucalyptus urograndis*, avaliadas em diferentes classes diamétricas (D) em função do tempo decorrido em estufa de secagem solar.

Durante as duas primeiras semanas, a perda de umidade em relação a umidade inicial nas toras da classe de menor diâmetro (D1) foi de 68% e nas demais classes (D2, D3 e D4) 66%, os valores demonstram que as toras de maior umidade inicial perderam menos umidade quando comparadas as demais, conforme o observado na literatura existente. Abrahão et al. (2016) avaliaram o efeito do diâmetro e comprimento das toras na secagem natural de lenha de clones híbridos de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus camaldulensis*, verificaram que aos 47 dias, as toras que apresentavam menores

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

diâmetros, independente do comprimento, haviam atingido umidade próximo ao Ponto de Saturação das Fibras (PSF), enquanto as toras de maiores diâmetros apresentavam umidade de aproximadamente 70%.

A partir da 4ª semana, as classes apresentaram comportamento semelhante quanto a variação de umidade, ficando praticamente uniforme na 12ª semana de secagem em que a diferença máxima de umidade foi de 0,49 pontos percentuais.

Aos 35 dias todas as classes atingiram o ponto de saturação das fibras. Souza (2015) obteve resultados semelhantes ao secar madeiras de *Eucalyptus dunni* e *Pinus elliottii*, alcançando um teor de umidade satisfatório em apenas 15 dias chegando a 12,04%, enquanto o *E. dunni* precisou de 30 dias para chegar a 12,84%. Corroborando com o observado por Stangerlin et al. (2009) que utilizou estufa solar para secagem de madeira serrada e constatou que este método foi mais eficiente, apresentando tempo de secagem de duas a cinco vezes menores que a secagem ao ar livre e com teor de umidade final mais baixo.

Na sétima semana de secagem, a ocorrência de chuvas acompanhadas com o aumento da umidade relativa do ar foi responsável pela variação da umidade máxima e mínima da estufa solar (Figura 4).

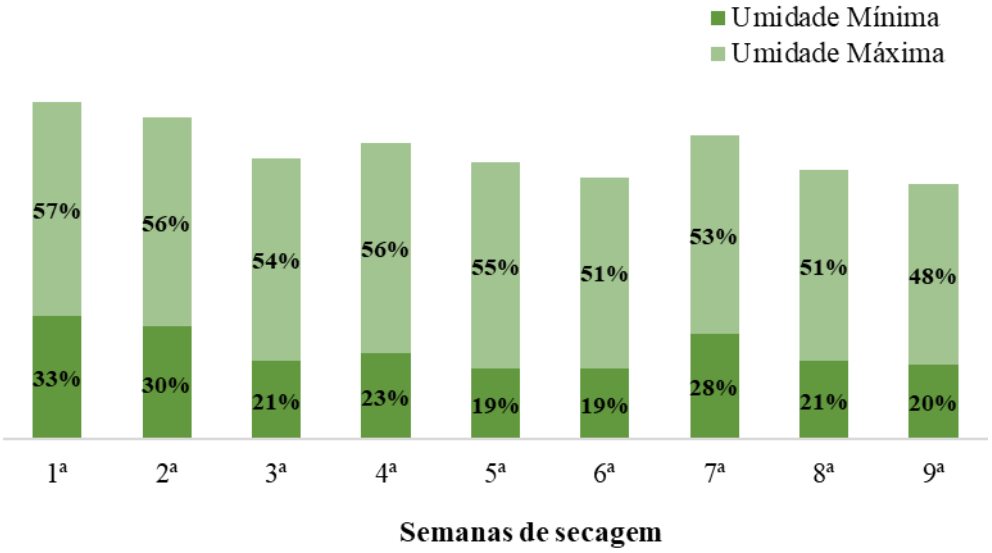


Figura 4 - Média semanal das umidades mínimas e máximas da estufa solar durante o período de secagem das toras de *Eucalyptus Urograndis*

Como consequência da variação de umidade na estufa solar, as toras apresentaram um acrescido em seu teor de umidade, adquirindo uma variação média de aproximadamente 1,3 pontos percentuais. No entanto, esse aumento pode ser considerado superficial, visto que foi rapidamente superado. O processo de secagem está intimamente associado com a umidade. Desse modo, à medida que as condições climáticas mudam, a madeira exposta a secagem em condições pouco controladas, reagirá de acordo com as alterações do ambiente.

CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos com a secagem de madeira da espécie *Eucalyptus urograndis* em estufa solar, foi possível concluir:

- As diferentes classes diamétricas não influenciaram na secagem das toras, pois atingem em tempo semelhante o PSF;
- A secagem das toras na estufa solar por 35 dias foi suficiente para que todas atingissem o PSF.
- O estado do Rio Grande do Norte possui potencial para implementação deste método de secagem de madeira, favorecido, principalmente, pelas condições climáticas da região.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) por fornecer apoio financeiro, laboratórios e instalações, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por subsidiar a pesquisa e a Bolsa de estudos através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica para o Ensino Médio (PIBIC-EM).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahão CP, Rocha LCS, Paula H, Trindade EGB, Andrade HB, Santana RC. Efeito do diâmetro e do comprimento das toras na secagem de lenha de um clone de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus camaldulensis.* Scientia Florestalis, v.44, n.109, p.85-93, 2016. http://dx.doi.org/10.18671/scifor.v44n109.08

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM, Sparovek G. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift, v.22, n.6, p.711-728, 2014. http://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507

Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas (ABRAF). Anuário estatístico da ABRAF. Brasília: ABRAF, 2013. 167 p. Disponível em: http://www.abraflor.org.br/estatísticas

dos Santos SRCA. Histórico e evolução dos equipamentos de secagem da madeira para uso estrutural. 2012. 116 f. Dissertação (Mestrado-em Engenharia Civil) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Campinas-São Paulo.

Duarte MM, Trevisan R, Susin F, Zen LR, Valerius J. Drying curve and defects of Eucalyptus sp. wooden submitted to air drying. Spanish Journal of Rural Development, v.5, n.3, p.161-170, 2015. http://dx.doi.org/10.5261/2015.GEN3.14

Erber G, Kanzian C, Stampfer K. Modelling natural drying of European beech (*Fagus sylvatica* L.) logs for energy based on meteorological data. Scandinavian Journal Of Forest Research, v. 31, n. 3, p. 294-301, 2015. http://dx.doi.org/10.1080/02827581.2015.1080294

Galvão APM, Jankowsky IP. Secagem racional da madeira. Nobel, 1985.

Indústria Brasileira de Árvores (IBÀ). Relatório Anual. p.24, 2019. Disponível em: https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf. Acesso em: 21 de novembro de 2019.

Malladi KT, Sowlati, T. Optimization of operational level transportation planning in forestry: a review. International Journal Of Forest Engineering, v. 28, n. 3, p. 198-210, 2017. http://dx.doi.org/10.1080/14942119.2017.1362825

Nascimento TM, Monteiro TC, Baraúna EEP, Moulin JC, Azevedo AM. Drying influence on the development of cracks in *Eucalyptus* logs. Bioresources, v.14, n.1, p.220-233, 2019. http://dx.doi.org/10.15376/biores.14.1.220-233

Oliveira AC. Secagem de toras de eucaliptos. 2015. 81f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Oliveira AC, Pereira BLC, Carneiro ACO, Fialho LF, Figueiro CG, Vital BR, Magalhães MA. Secagem da madeira de Eucalipto em toras a altas temperaturas. Revista Árvore, v. 41, n.2, p. e410207, 2017. https://doi.org/10.1590/1806-90882017000200007

Pertuzzatti A, Trevisan R, Fioresi T, Rabuske JE, Trautenmüller AV, Motta CI, Netto CC. Influência do diâmetro das toras na secagem ao ar livre de *Eucalyptus globulus* Labill. Ciência da Madeira (Braz. J. Wood Sci.), Pelotas/RS, v.04, n.02, p.191-201, 2013. https://doi.org/10.12953/2177-6830.v04n02a05

Pinheiro MA. Influência das dimensões da madeira na secagem e nas propriedades do carvão vegetal. 2013. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) -Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Pizetta RT. Determinação da melhor metodologia de utilização de um aparelho resistivo medidor de umidade. 2011. 43 f. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo.

Rezende RN, Lima JT, Paula REL, Faria ALR. Secagem ao ar livre de toras de toras de *Eucalyptus grandis*. Revista Cerne, Lavras, v. 16, n.1, p.41-47, 2010.

Silva DA, Da Róz AL, Pires AAF., Carvalho AM, Nakashima GT, Pádua FA, Yamaji FM. A influência da umidade em propriedades mecânicas de briquetes produzidos com resíduos de madeira (*Eucalyptus sp. e Pinus sp.).* Revista Virtual de Quimica, v.9, n.3, p.1078-1086, 2017.

Souza JT, Lima E, Silva GL, Baldin T, Menezes WM. Avaliação da secagem em estufa solar de madeiras de *Eucalyptus dunnii* Maiden e *Pinus elliottii* Engelm. Enciclopédia Biosfera, Goiania, v.11, n.21, p.277-286, 2015.

Stangerlin, DM, Melo RR, Santini EJ, Cordeiro SA. Comparação econômica entre os métodos de secagem de madeira ao ar livre e em estufa solar. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.7, p.850-856, 2012. https://doi.org/10.5039/agraria.v7isa1986

Stangerlin DM, Santini EJ, Susin F, Melo RR, Gatto DA, Haselein CR. Uso de estufa solar para secagem de madeira serrada. Ciência Florestal, v.19, n.4, p.461-472, 2009. https://doi.org/10.5902/19805098900

Simpson WT. Drying Wood: a review - part i. Drying Technology, v. 2, n. 2, p. 235-264, 1983. http://dx.doi.org/10.1080/07373938308959827

Susin F, Santini EJ, Stangerlin DM, Morais WWC, Melo RR. Taxa de secagem e qualidade da madeira serrada de *Hovenia dulcis* submetida a dois métodos de secagem. Floresta e Ambiente, v.21, n.2, p.243-250, 2014. https://doi.org/10.4322/floram.2014.016

Tomczak K, Tomczak A, Jelonek T. Effect of Natural Drying Methods on Moisture Content and Mass Change of Scots Pine Roundwood. Forests, v. 11, n. 6, p. 668, 2020. http://dx.doi.org/10.3390/f11060668

Zen LR, Monteiro TC, Schaffer W, Kaminski JL, Klitzke RJ. Secagem ao ar livre de madeira de Eucalipto. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v.7, n.2, p.291-298, 2019. https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v7n2.zen

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.josedasilva

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Modulation of hemostasis by inhibiting enzymes with the extract of *Averrhoa carambola* leaves

Daniela Aparecida Oliveira[a], Pedro Henrique Souza Cesar[a], Marcus Vinicius Cardoso Trento[a], Mariana Aparecida Braga[a*], Silvana Marcussi[a]

[a] Universidade Federal de Lavras, Brasil

[*] Autor correspondente (marybraga07@yahoo.com.br)

INFO

Keyworks
enzymes inhibitors
natural products
medicinal plants
phenolic compounds
venoms as tools

ABSTRACT

Herbal medicines represent an advantageous alternative for the prevention and treatment of several diseases when compared to allopathic medicines. *Averrhoa carambola* (Oxalidaceae) is a plant rich in phenolic compounds and popularly known for its medicinal properties such as anti-inflammatory, antioxidant, and hypoglycemic. Different enzymes of the human organism participate in physiological processes which involve hemostasis, inflammation, and formation of new tissue. These enzymes are highlighted as pharmaceutical targets for the treatment of numerous pathologies. The present work evaluated the aqueous and ethanolic extracts from *A. carambola* leaves on phospholipase, hemolytic, caseinolytic, thrombolytic, coagulant, and fibrinogenolytic activities induced by phospholipases A_2 and proteases. Phenolic compounds and total flavonoids were quantified in the aqueous and ethanolic extracts of the leaves of *Averrhoa carambola*. These extracts were evaluated, in vitro, on phospholipase, proteolytic, hemolytic, thrombolytic and fibrinogenolytic activities induced by snake venoms. The results confirm the pharmacological potential of *A. carambola* since the extracts were able to modulate all evaluated activities related to hemostasis through inhibitions or potentiation of the enzymatic activities (phospholipases A_2 and proteases). The constituents of *A. carambola* may act interfering in processes such as coagulation, thrombus dissolution, and fibrinogenolysis.

Palavras-chaves
inibidores enzimáticos
produtos naturais plantas
medicinais compostos
fenólicos peçonhas como
ferramentas

RESUMO

Modulação da hemostasia por inibição enzimática exercida por folhas de Averrhoa carambola
Os medicamentos fitoterápicos representam uma alternativa vantajosa para a prevenção e tratamento de diversas doenças quando comparados aos medicamentos alopáticos. *Averrhoa carambola* (Oxalidaceae) é uma planta rica em compostos fenólicos e popularmente conhecida por suas propriedades medicinais como anti-inflamatória, antioxidante e hipoglicêmica. Diferentes enzimas do organismo humano participam de processos fisiológicos que envolvem hemostasia, inflamação e formação de novos tecidos. Essas enzimas são destacadas como alvos farmacêuticos para o tratamento de inúmeras patologias. O presente trabalho avaliou os extratos aquoso e etanólico das folhas de *A. carambola* sobre as atividades fosfolipásica, hemolítica, caseinolítica, trombolítica, coagulante e fibrinogenolítica induzidas por fosfolipases A_2 e proteases. Compostos fenólicos e flavonoides totais foram quantificados nos extratos aquoso e etanólico das folhas de *A. carambola*. Esses extratos foram avaliados, *in vitro*, sobre as atividades fosfolipásica, proteolítica, hemolítica, trombolítica e fibrinogenolítica induzidas por peçonhas de serpentes. Os resultados confirmam o potencial farmacológico de *A. carambola* uma vez que os extratos foram capazes de modular todas as atividades avaliadas relacionadas à hemostasia por meio de inibições ou potencialização das atividades enzimáticas (fosfolipases A_2 e proteases). Os constituintes de *A. carambola* podem atuar interferindo em processos como coagulação, dissolução de trombos e fibrinogenólise.

Received 07 May 2021; Received in revised from 01 June 2021; Accepted 28 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUCTION

The most popular and ancient method in the treatment of diseases is using herbal medicine. Plants constitute a rich source of bioactive compounds, and many drugs that are available in the market were obtained directly or indirectly from them (Dehelean et al., 2021). Approximately 50% of all medicines have their origin from plants, which demonstrate their essential role in the development of the pharmaceutical industry (Glasl and Khan, 2018). Data from the World Health Organization (WHO) show that more than 80% of the world population depends on herbal medicines for disease prevention and treatment. Many herbal medicines have advantages compared to the allopathic ones, such as low cost to obtain, greater safety in their use, and fewer adverse effects (Ahmad and Sharma, 2020).

One of the aggravating factors of ophidian accidents is the local effect, which is conditioned to tissue damages such as necrosis, edema, myotoxicity, and hemorrhage. Envenoming is caused by the collective action of different classes of toxins, such as phospholipases A_2, metalloproteases, serine proteases, L-amino acid oxidases, and hyaluronidases (Gutiérrez et al., 2007).

Some plants are rich in bioactive compounds that are responsible for inhibiting the toxic and pharmacological effects induced by snake venoms, acting as enzymatic inhibitors (Urs et al., 2013). Due to the large number of biological activities induced by these toxins and the high degree of homology that many of them present with enzymes of the human organism, numerous researches have been developed using snake toxins and venoms as tools to induce pharmacological effects and simulate the modulation of human enzymes (Romero et al., 2010).

Several investigations involve mechanisms of action of natural compounds that act as enzymatic inhibitors, and the main classes of toxins used as targets are those involved in inflammatory response and hemostasis (phospholipases A_2, metalloproteases, and serine proteases) (Bijak et al., 2014; Braga et al., 2019; Marques et al., 2019). However, mechanisms of interaction between enzymes and natural compounds are poorly described and require extensive studies of structural and functional characterization (Moura-da-Silva et al., 2016), thus enabling future applications of these compounds in the therapy of human diseases.

Studies point out to different parts of *Averrhoa carambola* L. to have pharmacological properties such as antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, and anti-ulcer activity in leaves and stems (Cabrini et al., 2011). Phytochemical analyses of the leaves revealed the presence of bioactive compounds such as saponins, alkaloids, flavonoids, and tannins (Thomas et al., 2008).

The objective of this study was to perform the toxicological and pharmacological characterization of the aqueous and ethanolic extracts of *A. carambola* leaves, evaluating their action on hemostasis and enzymatic activities (exerted by phospholipases A_2 and proteases). Venoms of different snakes were used as tools once they are rich sources of these enzymes and are already broadly characterized.

MATERIAL AND METHODS

Collection and identification of plant material

Leaves of *Averrhoa carambola* (Oxalidaceae) were collected in an orchard in the city of Lavras, MG, Brazil (altitude 845 m, latitude 21.15 ° S, and longitude 45.22 ° W), in December of 2015. The leaves were dried on a forced air oven at 35 °C and then milled in a Willey type mill. The powder obtained was kept at room temperature. The exsiccates of the species were deposited at the Herbarium of the Federal University of Lavras, Brazil, under registration no. 24201.

Preparation of aqueous and ethanolic extracts

The powder obtained from the leaves of *A. carambola* was used to prepare extracts in two different solvents: water (infusion for 30 minutes of 40 g in 400 mL of freshly boiled water) and ethanol (percolation at 92.8 °C and room temperature). The residual solvent in the ethanolic extract was removed in a rotary evaporator at 40 °C. After this process, the aqueous and ethanolic extracts were frozen and then lyophilized. Both extracts were weighed and dissolved in PBS for analysis.

Total phenolic compounds

The determination of the total phenolic compounds of the aqueous and ethanolic extracts from *A. carambola* leaves was performed according to the method of Folin-Denis (Anvisa, 2010). The results were expressed as mg compounds/100 g of sample. The analytical curve was performed with five concentrations of tannic acid (4, 8, 12, 16, and 20 μg mL^{-1}).

Total flavonoids

The methodology described by Woisky and Salatino (1998) was used for the determination of flavonoid contents. Lyophilized (0.1 g) samples of the aqueous and ethanolic extracts from *A.*

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

carambola leaves were weighed and dissolved in 25 mL of methanol. Aliquots of 50, 200, and 400 µL of each extract were added to 500 µL of a methanolic solution of aluminum chloride 2% ($w:v^{-1}$) and the volume filled with methanolic acetic acid solution 5% ($v:v^{-1}$). After 30 minutes, absorbances were read at 425 nm. The analytical curve was performed with aliquots of 50, 100, 200, 300, 400, and 500 µL of quercetin (QE) at 100 µg mL^{-1}.

Snake venoms

Venoms of *Bothrops, Crotalus durissus terrificus* (*C.d.t.*), and *Lachesis muta* were used as the source of enzymes to induce the different activities. They were purchased from the serpentarium Bioagents (Batatais city, state of São Paulo, Brazil) and previously evaluated in different doses to define the minimum effective dose adequate for each activity. The venoms were weighed and dissolved in PBS, pH 7.4, to perform the assays.

Obtaining human blood

The blood was obtained from healthy volunteers, and collected in tubes containing heparin (hemolytic activity), citrate (coagulant activity), and without anticoagulant (thrombolytic activity).

All tests using human blood or its components were carried out with the previous authorization of the Ethics Committee on Human Research (COEP) of the Federal University of Lavras, under the registration number: CAAE: 56619816.6.0000.5148.

Phospholipase and hemolytic activity

The phospholipase and hemolytic activities were evaluated in a solid medium, as described by Gutiérrez et al. (1988). The gel for the evaluation of the phospholipase activity was prepared with 0.01 mol L^{-1} $CaCl_2$, egg yolk lecithins 1:3 v:v, PBS (pH 7.4), 1% bacteriological agar, and 0.005% sodium azide. The medium was poured into Petri dishes at 45-50 °C. After gel solidification, the treatments were applied in 0.5 cm diameter holes, and the dishes were maintained in a cell culture chamber for 12 hours at 37 °C.

The gel was made, for the hemolytic activity, replacing the egg yolk lecithins with a human erythrocyte concentrate calculated to get a hematocrit of 1%. The newly collected blood was centrifuged at 900 *g* for 5 minutes to obtain the erythrocytes. The erythrocytes was then suspended in 5 mmol L^{-1} of PBS (pH 7.4) and centrifuged under the same conditions, repeating this washing step twice.

The inhibition of phospholipase (*Bothrops jararacussu*, *B. moojeni*, and *B. alternatus*) and hemolytic (*B. moojeni*, *B. atrox*, and *Crotalus durissus terrificus (C.d.t.)*) activities induced by snake venoms was evaluated by their previous incubation with extracts from *A. carambola* leaves for 30 minutes at 37 ºC in different proportions (venom: extract, w:w). Controls containing only venoms or extracts were also performed.

Caseinolytic activity

A gel was prepared following the methodology of the phospholipase activity described by Gutiérrez et al. (1988), replacing egg yolk lecithins with a casein solution. The casein concentration was adjusted to 1% per test. The venoms of *B. jararacussu*, and *B. moojeni* (30 µg) and *A. carambola* leaf extracts were preincubated in the proportions of 1:0.5, 1:1, 1:2, 1:4, and 1:8 (venom: extract, w:w) for 30 minutes at 37 °C. Samples were then applied to orifices made in the gel, followed by incubation for a period of 12 hours at 37 °C in a cell culture chamber.

The activities described in phospholipase, hemolytic, and caseinolyticwere evaluated by measuring the diameters of the translucent halos formed in the gel around the holes. The results were expressed in percentage, in which the controls containing snake venom corresponded to 100% of activity.

Thrombolytic activity

The thrombolytic activity was assessed on human blood clots formed *in vitro*, according to the methodology described by Cintra et al. (2012). The clots were incubated for 24 hours at 37 ºC with the samples containing *B. atrox*, *B. moojeni*, and *Lachesis muta* (40 µg) venoms, PBS, or the venoms previously incubated (30 minutes at 37 ºC) with *A. carambola* leaf extracts in the proportions of 1:0.5, 1:1, 1:2, and 1:4 (venom: extract, w:w). The activities were calculated by measuring the volume of fluid released by each thrombus. The data were converted in percentage, and the controls containing only venoms were considered as 100% activity.

Coagulant / anticoagulant activity

The evaluation of clotting time was performed according to Rodrigues et al. (2000). The leaf extracts from *A. carambola* were previously incubated with the *C.d.t.*, *L. muta*, and *B. atrox* venoms for 10 minutes at 37 °C in the proportions of 1:0.1, 1:0.25, 1:0.5, 1:1, 1:2, and 1:4 (venom: extract, w:w). Tubes containing citrated plasma were kept in a 37 °C bath. The incubated samples were added to the plasma (200 µL), and then the

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

time until the formation of a rigid clot was measured. The minimum coagulant dose was previously defined, which was the lowest amount of venom capable of inducing plasma coagulation in a range between 50 and 180 seconds.

Fibrinogenolylis activity

The protease inhibition assays were performed through the preincubation of *B. moojeni* venom (60 µg) with leaf extracts of *A. carambola* in the proportions of 1:2.5, 1:5, and 1:10 (venom: extract, w:w), for 30 minutes at 37 °C. Then, the fibrinogen (60 µg) was added to the samples, and they remained at the same temperature for another 90 minutes. The samples were analyzed in 12% polyacrylamide gel (w:v), allowing observation of the α, β, and γ fibrinogen chains (Laemmli, 1970). Controls containing venom and fibrinogen were also carried out.

Statistical analysis

The results were presented as the mean of triplicates ± standard deviation. The data were evaluated by analysis of variance, and the means were compared using the Scott Knott test ($p < 0.05$) (R Core Team, 2012).

RESULTS AND DISCUSSION

Total phenolic compounds and total flavonoids

The leaves of *Averrhoa carambola* are rich in flavonoids (Cazarolli et al., 2012; Islam et al., 2020), and their medicinal properties are largely attributed to these compounds. *A. carambola* is scientifically proven to contain properties such as antioxidant, anti-inflammatory, and antihyperglycaemic (Moresco et al., 2012; Siddika et al., 2020; Yang et al., 2020) The ethanolic extract from leaves of *A. carambola* presented the highest total phenolic content (72.49 mg tannic acid/g) and total flavonoids (67.95 mg quercetin/g) (Table 1). In the literature, it was found that the ethanolic extract of *A. carambola* leaves produced 79.07 mg GAE/g for phenolic compounds and 35.25 mg QE/g for flavonoids (Moresco et al., 2012). However, in the present work, the flavonoid content was higher than in the literature. The different percentage of flavonoid concentration observed is possibly due to climatic disturbances and other regional variables to which the plants are subjected.

Table 1 - Contents of yields, total phenolic compounds, and total flavonoids in extracts of leaves of *Averrhoa carambola*

Extracts	Yield %	mg phenolic/ 100g sample	mg flavonoids /100g sample
Aqueous	18.48	4950	1628
EtOH	7.10	7249	6795

Flavonoids are the most relevant products derived from plant material. Many of the biological activities reported for flavonoids (antitumor, antioxidant, and anti-inflammatory) (Ansari and Akhtar, 2019; Jucá et al., 2020), make these compounds to be pharmacologically active. They may interfere in the cell growth regulating pathways, energy metabolism, apoptosis, cell division, transcription, repair genes, inflammation, stress response, and may act on tumor formation (Havsteen, 2002). Thus, flavonoids are promising molecules in the treatment of tumors (Kapoor et al., 2021).

Flavonoids act on cells that are involved in inflammation by inhibiting the proliferation of T lymphocytes, inhibit the production of proinflammatory cytokines (TNF-α and IL-1). They also act by modulating the activity of enzymes on the arachidonic acid pathways such as phospholipases A_2, cyclooxygenase, and lipoxygenase (López-Posadas et al., 2008), which are essential mediators of the inflammatory response (Kim et al., 2004). Quercetin was the first flavonoid to inhibit the phospholipase A_2 activity of human neutrophils. Other flavonoids, such as hesperetin, naringenin, kaempferol, and myricetin, also inhibited the activity of phospholipase A_2 (Lättig et al., 2007). The flavonoid luteolin inhibited the activity of the enzyme cyclooxygenase (COX) (Baumann et al., 1980). Flavonols such as baicalin and catechin are inhibitors of the enzyme lipoxygenase (Burnett et al., 2007).

Phospholipase activity

The aqueous extract inhibited 30% of the phospholipase activity induced by *B. moojeni* venom in 1:0.5 and 1:2 (w:w) ratios and 40% and 25% in the proportions of 1:1 and 1:8 (w:w), respectively. The ethanolic extract inhibited the activity induced by the same venom by 25% when evaluated in the ratios of 1:1 and 1:2 (w:w) and 30% in 1:4 (w:w) ratio (Figure 1).

When using the *B. alternatus* venom, the aqueous extract was responsible for 25% of inhibition after incubation at 1:1 and 1:2 (w:w)

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

ratios, and 32% at 1:4 and 1:8 (w:w). Meanwhile, the ethanolic extract reduced 25% of phospholipase activity at 1:0.5 and 1:1 (w:w) ratios, and 32% in 1:2, 1:4, and 1:8 (w:w) ratios (Figure 1).

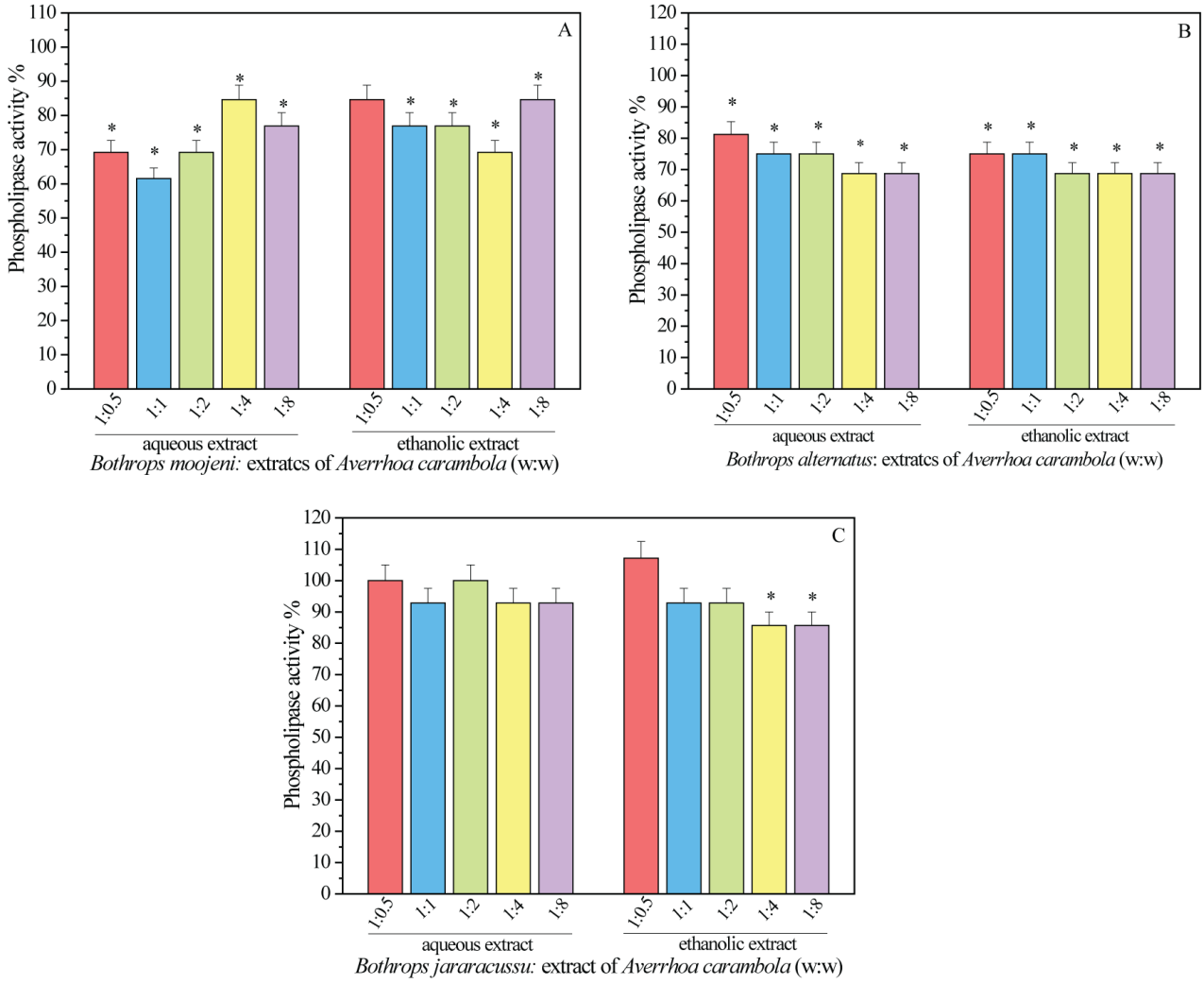


Figure 1 - Phospholipase activity (%) induced by *Bothrops moojeni*, *B. alternatus*, and *B. jararacussu* venoms, previously incubated with the extracts of *Averrhoa carambola*. Control (+) containing only venom (10 µg) was considered as 100% activity. The results correspond to the means of triplicates obtained in each proportion (venom: extract, w:w) and their calculated standard deviations
*Statistically different from the positive control.

The inhibition of phospholipases A_2 by natural compounds is substantial in the scientific context, mainly when aiming at the prospecting mechanisms of action of plant molecules present in therapeutically-used formulations for the treatment of numerous diseases. In addition, this inhibition is related to physiological processes involving inflammatory responses and blood coagulation (Dey and Nath, 2012; Hage-Melim et al., 2013).

One of the inhibition mechanisms suggested in the literature demonstrate the action of plant compounds in the formation of complexes with calcium ions, interfering in their binding to the phospholipases A_2 and, consequently, in the performance of their function as cofactors (Dey and Nath, 2012).

Polyhydroxylated flavonoids are inhibitors of PLA_2s (Kim et al., 2004). They can bind to amide groups of different proteins by strong hydrogen bonds (Mors et al., 2000). This interaction might be one of the possible mechanisms of inhibition that explains the reductions of the phospholipase activity observed in the present work.

Hemolytic activity

The extracts of *A. carambola* did not induce hemolysis under the conditions, concentrations,

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

and incubation time evaluated.

The ethanolic extract showed inhibitory activity on the *B. atrox* venom, reducing 22% of its hemolytic activity at the 1:0.25 (w:w) ratio. On the other hand, the aqueous extract reduced 30% of the activity induced by the same venom at the 1:0.1 and 1:0.25 ratios and 38% in the ratio of 1:0.5 (w:w) (Figure 2A). 37% of the hemolytic activity induced by the venom of *C.d.t.* was reduced after incubation with the aqueous extract at the ratio of 1:0.5 (w:w), and 50% at 1:0.1 and 1:0.25 (w:w) ratios (Figure 2B). The *B. moojeni* venom had its activity inhibited in 22% when previously incubated with the aqueous extract in the ratio of 1:0.1 (w:w), and 27% when incubated with the ethanolic extract at the 1:0.25 and 1:0.5 (w:w) ratios (Figure 2C).

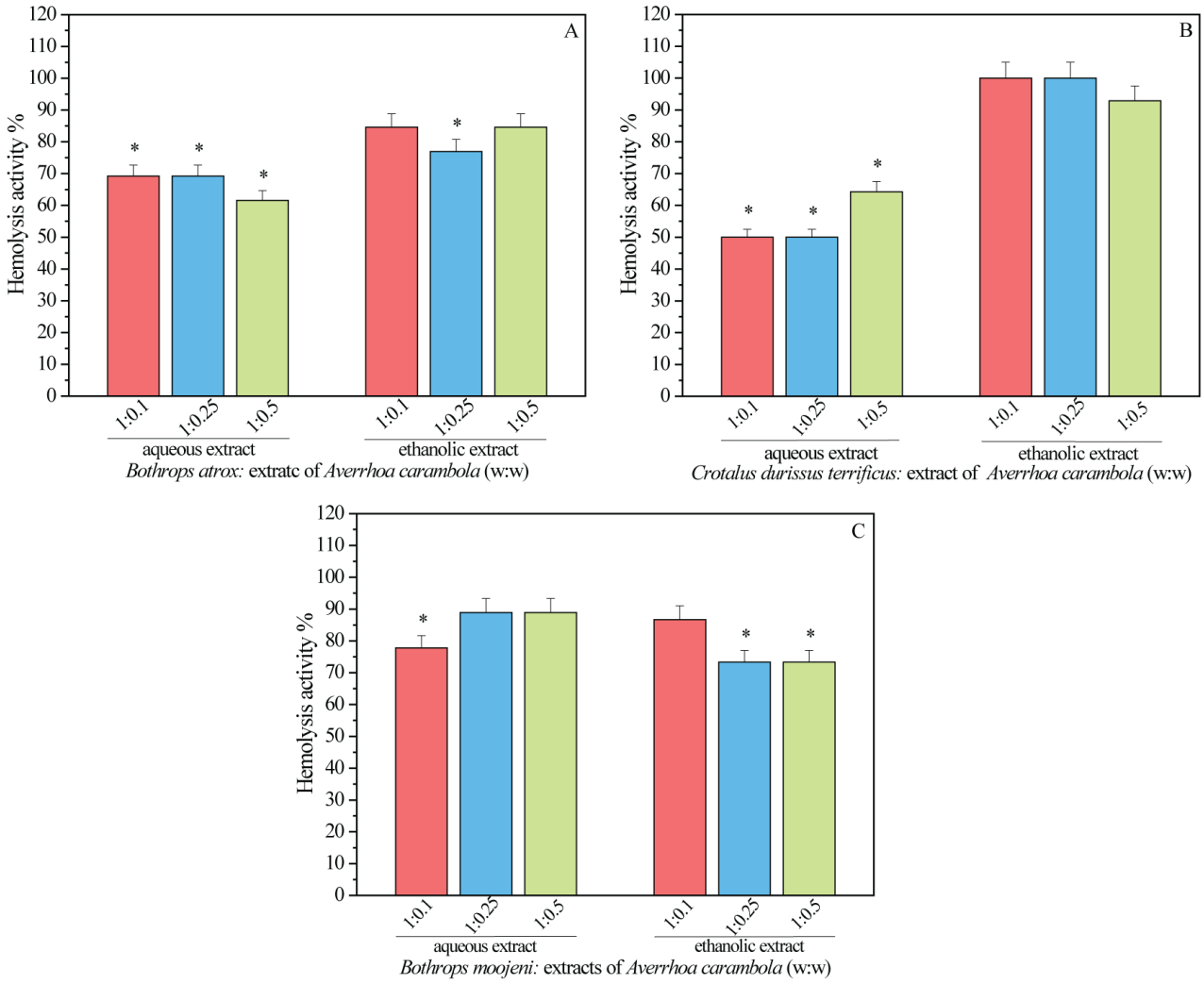


Figure 2 - Hemolytic activity (%) induced by *Bothrops atrox* (A), *Crotalus durissus terrificus* (*C.d.t.*) (B), and *B. moojeni* (C) venoms, previously incubated with the extracts of *Averrhoa carambola*. Controls (+) containing only venom were considered as 100% activity (*B. atrox*, 30 µg, *C.d.t.*, 30 µg, and *B. moojeni*, 60 µg). The results correspond to the means of triplicates obtained in each proportion (venom: extract, w:w) and their calculated standard deviations
*Statistically different from the positive control.

Félix-Silva et al. (2014), when evaluating the aqueous extract of leaves of *Jatropha gossypiifolia* L., observed the absence of hemolytic activity. In this type of extraction, a considerable amount of molecules are primary metabolites (e.g., proteins, amino acids, and carbohydrates), and would justify the absence of toxicity even when the extracts are evaluated in high concentrations.

The hemostatic system components are the main physiological targets of venom toxins (Queiroz et al., 2017). It is suggested that the inhibitory effects presented by these extracts are due to the action of metabolites as enzymatic inhibitors, chemical inactivators, or

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

immunomodulators that interacted with target macromolecules (Mors et al., 2000).

Caseinolytic activity

The most significant inhibitions of the caseinolytic activity were observed for the *B. moojeni* venom, with an inhibition of 20% in the ratio of 1:8 (w:w) by the aqueous extract and 20 to 27% in the ratios of 1:0.5; 1:4, and 1:8 (w:w) by the ethanolic extract (Figure 3A). Only the ethanolic extract, in the ratios 1:1 and 1:2 (w:w), exerted inhibition on the proteolytic activity induced by the *B. alternatus* venom (Figure 3B).

The aqueous extracts potentiated the proteolytic activity induced by *B. jararacussu* venom in the 1:1, 1:2, 1:4, and 1:8 (w:w) ratios and inhibited the proteolysis in 1:0.5 (w:w). The ethanolic extract, when previously incubated with the same venom, potentiated the activity by inducing 10% more proteolysis at the ratios of 1:4 and 1:8 (w:w) (Figure 3C).

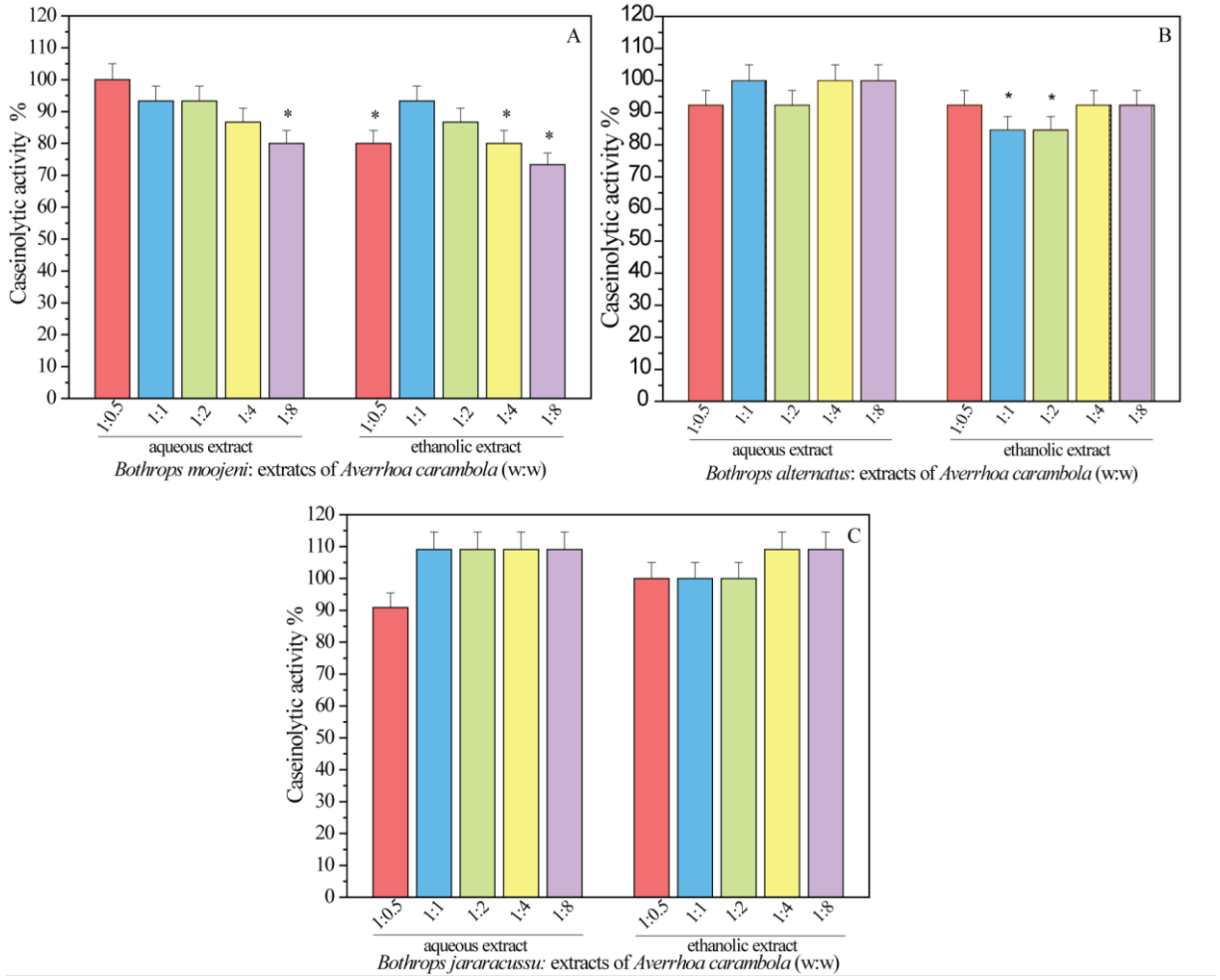


Figure 3 - Caseinolytic activity (%) induced by *Bothrops moojeni* (A), *B. alternatus* (B), and *B. jararacussu* (B) venoms, previously incubated with the extracts of *Averrhoa carambola*. Controls (+) containing only venom (10 µg) were considered as 100% activity. The results correspond to the means of triplicates obtained in each proportion (venom: extract, w: w) and their calculated standard deviations
*Statistically different from the positive control.

The aqueous extracts from *Lannea acida* and *Bauhinia thonningii* and the ethanolic extracts from *Grewia mollis*, *Waltheria indica*, and *Pentanisia prunelloides* inhibited 90% of the proteolysis activity induced by *Bitis arietans* venom. In these extracts were found significant amounts of polyphenols, such as tannins (Molander et al., 2014). They have vast medical applications and can interact with enzymes present in venoms, inactivating or reducing their activities (Pithayanukul et al., 2010).

The ethanolic extract from the leaves of *Renealmia alpinia* inhibited a metalloprotease isolated from the venom of *B. atrox* by 25.9%, 35.2%, 48.4%, 65.1%, and 75.8% in the proportions of 1:1, 1:2.5, 1:5, 1:10, and 1:20

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

(w:w), respectively. Flavonoids, terpenoids, and coumarins were found in this extract (Patiño et al., 2013). The flavonoids gallocatechin and myricetin-3-o-glycoside were inhibitors of the metalloprotease activity (Vale et al., 2011).

The direct action on enzymes present in venoms, through weak interactions, as well as interactions of plant compounds with cofactors essential for the catalytic activity of these enzymes, have already been described as mechanisms of action (Núñez et al., 2005). Plant extracts containing significant amounts of flavonoids can act as metal chelators and sequestration of zinc ions, which are essential for the catalytic activity of several proteases present in venoms (Mira et al., 2002).

Thrombolytic activity

The aqueous extract from leaves of *A. carambola* resulted in a significant increase in the thrombolytic activity induced by *B. atrox* venom [75%, 85%, and 50% in the proportions of 1:0.5, 1:1, and 1:2 (w:w), respectively]. The ethanolic extract also increased the thrombolytic activity by 80%, 120%, 140%, and 40% in the ratios of 1:0.5, 1:1, 1:2, and 1:4 (w:w), respectively (Figure 4A).

Differently, the thrombolytic activity induced by *L. muta* venom was reduced in 30%, 43%, and 45% after incubation with the aqueous extract in the ratios of 1:0.5, 1:2, and 1:4 (w:w), respectively. Significant inhibitions were also observed to the ethanolic extract, with reduced activity of 20% and 50% for the proportions 1:0.5 and 1:4 (w:w), respectively (Figure 4B).

The aqueous extract significantly increased the thrombolysis induced by *B. moojeni* venom in 50% and 70% in the proportions of 1:1 and 1:2 (w:w), respectively. However, when evaluated at the ratio of 1:0.5 (w:w), the aqueous extract inhibited 50% of the thrombolytic activity. The ethanolic extract, in the proportions of 1:1, 1:2 and 1:4 (w:w), induced a significant increase (between 30 and 48%) under the same conditions (Figure 4C).

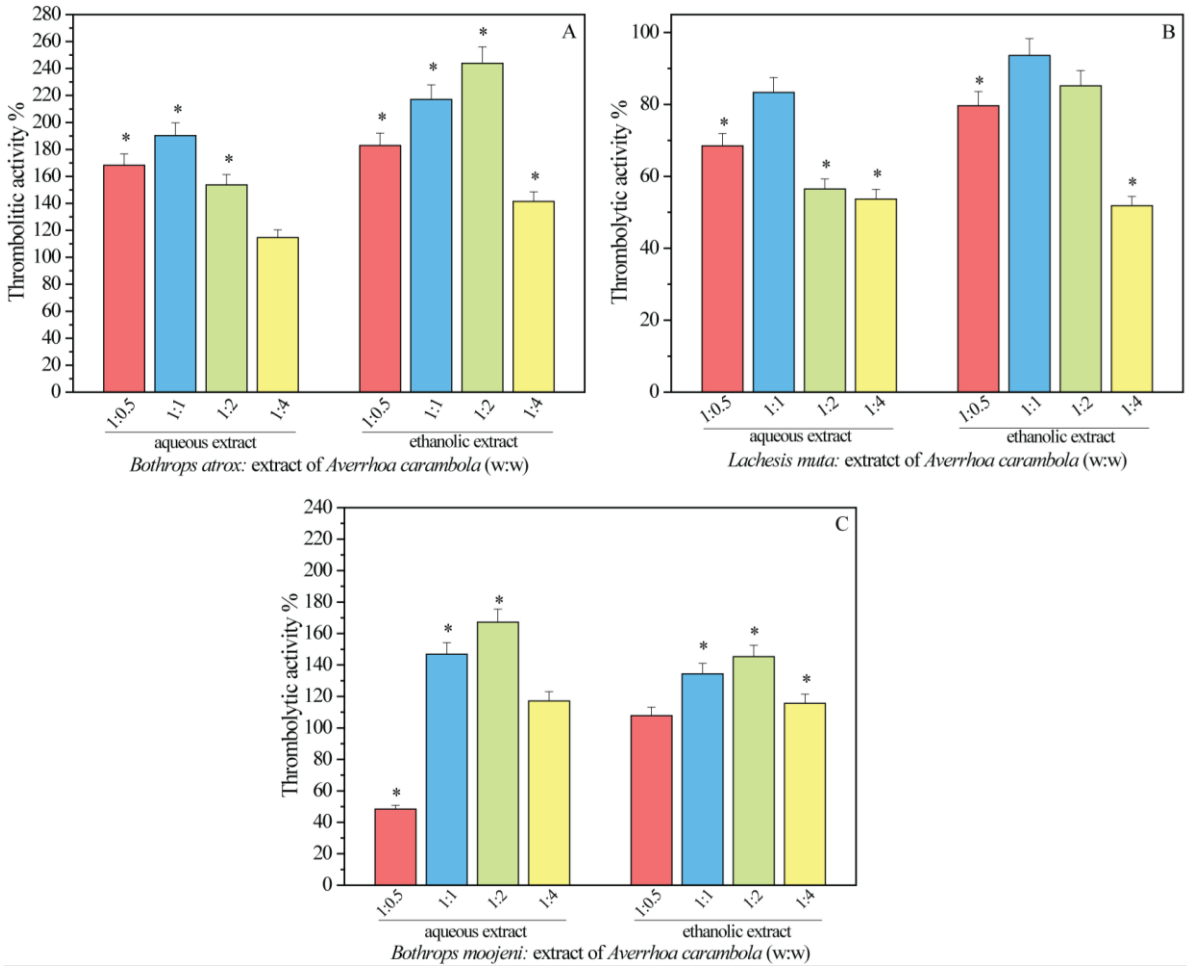


Figure 4 - Thrombolytic activity (%) induced by the venoms from *Bothrops atrox* (A), *Lachesis muta* (B), and *B. moojeni* (C), previously incubated with the extracts of *Averrhoa carambola*. Controls (+) containing only venom (40 µg) were considered as 100% activity.The results correspond to the means of data triplicates obtained in each proportion (venom: extract, w:w) and their calculated standard deviations
*Results are statistically different from the positive control.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

The inhibition by natural compounds of some proteases present in snake venoms simulates the anticoagulant effects of these compounds on animal organisms since these proteases act on the factors of the coagulation cascade and exert similar thrombin function, exhibiting high homology with human enzymes (Marsh, 1994).

The metalloproteinases in the *Bothrops* snakes venoms induce mainly hemorrhage and debridement of tissues, and these enzymes require bivalent ions as cofactors (e.g., zinc, calcium, magnesium) (Fox and Serrano, 2008). Tannins and flavonoids present in plant extracts inhibit metalloproteases by zinc chelation (Castro et al., 1999), consequently preventing the degradation of the components responsible for the hemostatic balance.

Some authors suggest the use of plant extracts in local administration to allow their inhibitory action in metalloproteases (Assafim et al., 2011).

In the present study, the aqueous and ethanolic extracts of *A. carambola* showed anticoagulant activity (Table 2). In addition to the proposed mechanisms related to enzymatic inhibition, the inhibiyion may also be the result of the activity exerted by the flavonoids present in *A. carambola* leaves on the production of nitric oxide in blood platelets, inhibiting platelet aggregation and delaying the formation of blood clots (Bhowmick et al., 2014).

Different proportions of the *A. carambola* extracts incubated with *B. atrox* and *B. moojeni* venoms presented thrombolytic activity (Figure 4A and 4C), suggesting that flavonoids contained in the extracts may be acting as inhibitors of thrombin. Therefore, they have great potential for application in the treatment of thrombotic diseases (Bijak et al., 2014).

On the other hand, when observing the results obtained for the activity of the extracts on the *C.d.t.* venom in the coagulation test (Table 2) and on the *L. muta* venom in the thrombolytic test (Figure 4B), it is suggested their potential application in the treatment of hemorrhagic diseases, since they accelerated the formation of a clot (procoagulant action) and significantly decreased the thrombolytic activity.

Coagulant/anticoagulant activity

The aqueous extract from *A. carambola* leaves exerted procoagulant activity, reducing the clotting time by 8 to 50 seconds, when previously incubated with the *C.d.t.* at the ratios 1:0.1, 1:0.25, 1:1, 1:2, and 1:4 (w:w). The ethanolic extract showed procoagulant activity in the proportions of 1:0.1, 1:0.25, and 1:1 (w:w), with reductions between 6 and 24 seconds. It also demonstrated anticoagulant activity at the ratios 1:2 and 1:4 (w:w), which increased the clotting time by 15 and 38 seconds, respectively (Table 2).

Table 2 - Effect of the extracts from *Averrhoa carambola* leaves on the coagulant activity induced by different snake venoms

		Clotting time (s)		
		Crotalus durissus terrificus	*Lachesis muta*	*Bothrops atrox*
*Control		175.00 ± 8.75	76.00 ± 3.80	51.00 ± 2.55
Sample	Ratio (w:w)			
Aqueous extract	1:0.1	136.00 ± 6.80 a	85.00 ± 4.25 b	90.00 ± 4.50 b
	1:0.25	167.00 ± 8.35 a	51.00 ± 2.55 a	49.00 ± 2.45
	1:1	125.00 ± 6.25 a	77.00 ± 3.85	50.00 ± 2.50
	1:2	153.00 ± 7.65 a	96.00 ± 4.80 b	88.00 ± 4.40 b
	1:4	158.00 ± 7.90 a	90.00 ± 4.50 b	69.00 ± 3.45 b
Ethanolic extract	1:0.1	151.00 ± 7.55 a	85.00 ± 4.25 b	57.00 ± 2.85 b
	1:0.25	155.00 ± 7.75 a	94.00 ± 4.70 b	39.00 ± 1.95 a
	1:1	169.00 ± 8.45 a	81.00 ± 4.05 b	65.00 ± 3.25 b
	1:2	190.00 ± 9.50 b	72.00 ± 3.60	83.00 ± 4.15 b
	1:4	213.00 ± 10.65 b	74.00 ± 3.70	81.00 ± 4.05 b

a – Differ from the positive control ($p < 0.05$) - reduces time.
b – Differ from the positive control ($p < 0.05$) - increases time.
*The controls were carried out with 10 µg of each evaluated venom.
The results are presented as the average of triplicates ± standard deviation $p < 0.05$.

Incubations of *L. muta* venom with the aqueous extract increased the clotting time by 9 up to 20 seconds, characterizing an anticoagulant action at the ratios of 1:0.1, 1:2, and 1:4 (w:w). It was observed procoagulant action only in the ratio of 1:0.25 (w:w), with a reduction of 25 seconds in

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

clotting time (Table 2). The ethanolic extract was responsible for increasing the clotting time induced by the venom of *L. muta* when evaluated at the proportions of 1:0.1, 1:0.25, and 1:1 (w:w), with values between 5 and 18 seconds higher than the positive control (Table 2).

Previous incubations of the aqueous extract with the *B. atrox* venom in the ratios 1:0.1, 1:2, and 1:4 (w:w) resulted in anticoagulant activity, with the clotting time increasing by 18 to 39 seconds (Table 2). Similarly, the ethanolic extract increased the clotting time up to 32 seconds in the proportions of 1:0.1, 1:1, 1:2, and 1:4 (w:w). However, it induced procoagulant activity when evaluated at the ratio of 1:0.25 (w:w) (Table 2).

Procoagulant and anticoagulant activities observed for the same extract (in different proportions) acting on the same venom suggests the presence of active substances that inhibits some classes of proteases or molecules that potentiate some classes of enzymes. Some hemorrhagic metalloproteinases act as anticoagulants, and the fibrinogenolytics ones act as procoagulants, generating fibrin networks. Serine proteases are responsible for forming friable clots that can also act as anticoagulants but with less efficiency. In addition, phospholipases A_2 can act as pro-coagulants (Lu et al., 2005).

Whether the extracts will be used to form a clot to stagnate hemorrhages or in the dissolution of clots, acting as anticoagulant agents of wide application in the treatment of cardiovascular diseases, knowing the different enzymes that act in blood coagulation is necessary to evaluate different concentrations of the extracts. Once that is properly done, defining the appropriate amounts of active substances that will provide a given plant's expected action is much easier.

Fibrinogenolysis activity

The two extracts evaluated were efficient in inhibiting fibrinogen molecules' degradation, induced by the *B. moojeni* venom, in all ratios evaluated (Figure 5).

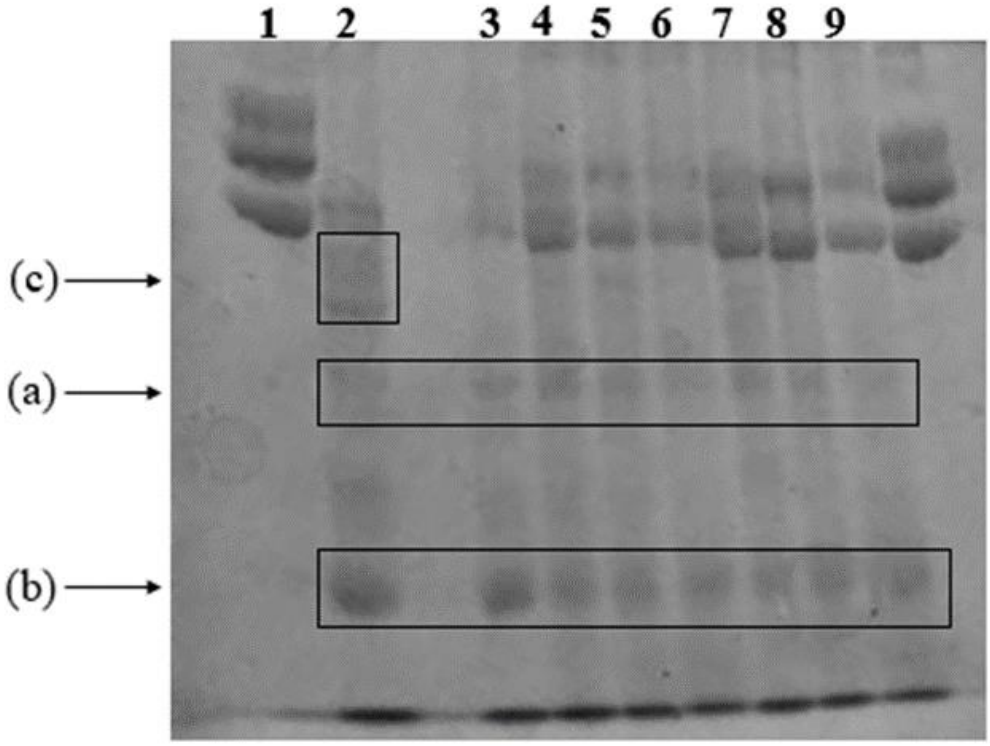


Figure 5 - Electrophoretic profile (SDS-PAGE) of the proteolytic action of *Bothrops moojeni* venom on fibrinogen. Effect of extracts from *Averrhoa carambola* leaves on the activity of the venom. 1- Fibrinogen (60 µg); 2- *B. moojeni* (60 µg) + fibrinogen; 3- *B. moojeni*; 4- *B. moojeni* + fibrinogen + aqueous extract of *A. carambola* (1:2.5 w:w); 5- *B. moojeni* + fibrinogen + aqueous extract of *A. carambola* (1:5 w:w); 6- *B. moojeni* + fibrinogen + aqueous extract of *A. carambola* (1:10 w:w); 7- *B. moojeni* + fibrinogen + ethanolic extract of *A. carambola* (1:2.5 w:w); 8- *B. moojeni* + fibrinogen + ethanolic extract of *A. carambola* (1:5 w:w); 9- *B. moojeni* + fibrinogen + ethanolic extract of *A. carambola* (1:10 w:w). (a) Proteases present in the venom. (b) Phospholipases A_2 present in the venom. (c) Fibrinopeptides released from the breakdown of the α and β chains of the fibrinogen molecules.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

In our study, the extracts prevented the breakdown of fibrinogen (Figure 5) by proteolytic enzymes present in the venom, which results in the non-formation of the fibrin networks and consequently reducing the formation of clots. The coagulant activity results corroborate the inhibition presented in the fibrinogenolysis activity since clotting time prolongations were observed for the extracts in different ratios (Table 2).

One of the proposed mechanisms of action for plant molecules involves the formation of complexes with zinc ions in the binding sites present in the structures of metalloproteases, resulting in the inhibition of these enzymes (Moura-da-Silva et al., 2016). Thus, the inhibitions observed in the caseinolytic, thrombolytic, fibrinogenolytic, and coagulant activities of the present study, whose proteases play a fundamental role, can be partially attributed to the formation of ionic complexes with plant compounds.

The ability of flavonoids to bind to amide groups of proteins by hydrogen bonds (Pithayanukul et al., 2010) can result in structural alterations that lead to a partial or total loss of activities performed by enzymes. This is one more type of mechanism of action that would explain the inhibitions of proteases observed in the present work.

CONCLUSIONS

The extracts of *Averrhoa carambola* leaves present bioactive coumpounds that have the therapeutic potential to treat several diseases related to hemostasis disorders. The present work highlights the high content of phenolic compounds and total flavonoids present in the extracts, which are probably related to the enzymes inhibition observed. The leaves of *A. carambola* significantly inhibit phospholipases A_2 and proteases (mainly fibrinogenolytic and thrombin-like). These classes of enzymes presented in the venoms have high structural and functional homology with human enzymes and are involved in processes such as blood coagulation cascade, platelet aggregation, tissue regeneration, and inflammatory and immune responses. Thus, the *A. carambola* leaves extract have a grea grerat potential for future use as therapeutic drugs. However, it is still needed further studies for the refinement of doses and the development of a suitable formulation for human consumption.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors gratefully acknowledge the financial support by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES). The authors express their gratitude to the Federal University of Lavras for the structural and logistical support.

REFERENCES

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia brasileira. Brasília, 5.ed., v.1, 545p. 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm>. Acesso em: 12 dez. 2020.

Ahmad AS, Sharma R. Comparative analysis of herbal and allopathic treatment systems. European Journal of Molecular & Clinical Medicine, v.7, n.7, p.2869-2876, 2020.

Ansari IA, Akhtar MS. Recent insights on the anticancer properties of flavonoids: prospective candidates for cancer chemoprevention and therapy. Natural Bio-Active Compounds, p.425-448, 2019. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7154-7_13.

Assafim M, de Coriolano EC, Benedito SE, Fernandes CP, Lobo JFR, Sanchez EF, Rocha LM, Fuly AL. *Hypericum brasiliense* plant extract neutralizes some biological effects of *Bothrops jararaca* snake venom. Journal of Venom Research, v.2, p.11-16, 2011.

Baumann J, von Bruchhausen F, Wurm G. Flavonoids and related compounds as inhibition of arachidonic acid peroxidation. Prostaglandins, v.20, n.4, p.627–639, 1980. https://doi.org/10.1016/0090-6980(80)90103-3.

Bhowmick R, Sarwar MS, Dewan SMR, Das A, Das B, Uddin MMN, Islam MdS, Islam MS. *In vivo* analgesic, antipyretic, and anti-inflammatory potential in Swiss albino mice and *in vitro* thrombolytic activity of hydroalcoholic extract from *Litsea glutinosa* leaves. Biological Research, v.47, n.1, 56, 2014. https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-56.

Bijak M, Ponczek MB, Nowak P. Polyphenol compounds belonging to flavonoids inhibit activity of coagulation factor X. International Journal of Biological Macromolecules, v.65, p.129–135, 2014. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.01.023.

Braga MA, de Abreu TS, Trento MVC, Machado GHA, Pereira LLS, Simão AA, Marcussi S. Prospection of enzyme modulators in aqueous and ethanolic extracts of *Lippia sidoides* Leaves: genotoxicity, digestion, inflammation, and hemostasis. Chemistry & Biodiversity, v.16, n.3, e1800558, 2019. https://doi.org/10.1002/cbdv.201800558.

Burnett BP, Jia Q, Zhao Y, Levy RM. A medicinal extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu* acts as a dual inhibitor of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase to reduce inflammation. Journal of Medicinal Food, v.10, n.3, p.442–451, 2007. https://doi.org/10.1089/jmf.2006.255.

Cabrini DA, Moresco HH, Imazu P, Silva CD da, Pietrovski EF, Mendes DAGB, Prudente AS, Pizzolatti MG, Brighente IMC, Otuki MF. Analysis of the potential topical anti-

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

inflammatory activity of *Averrhoa carambola* L. in mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.2011, 908059, 2011. https://doi.org/10.1093/ecam/neq026.

Castro O, Gutiérrez JM, Barrios M, Castro I, Romero M, Umaña E. Neutralización del efecto hemorrágico inducido por veneno de *Bothrops asper* (Serpentes: Viperidae) por extractos de plantas tropicales. Revista de Biología Tropical, v.47, n.3, p.605–616, 1999. https://doi.org/10.15517/RBT.V47I3.19215.

Cazarolli LH, Kappel VD, Pereira DF, Moresco HH, Brighente IMC, Pizzolatti MG, Silva FGMB. Anti-hyperglycemic action of apigenin-6-C-β-fucopyranoside from *Averrhoa carambola*. Fitoterapia, v.83, n.7, p.1176–1183, 2012. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.07.003.

Cintra ACO, De Toni LGB, Sartim MA, Franco JJ, Caetano RC, Murakami MT, Sampaio SV. Batroxase, a new metalloproteinase from *B. atrox* snake venom with strong fibrinolytic activity. Toxicon. v.60, n.1, p.70–82, 2012. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.03.018.

Dehelean CA, Marcovici I, Soica C, Mioc M, Coricovac D, Iurciuc S, Cretu OM, Pinzaru I. Plant-derived anticancer compounds as new perspectives in drug discovery and alternative therapy. Molecules, v.26, n.4, p.1109, 2021. https://doi.org/10.3390/molecules26041109.

Dey A, Nath De J. Phytopharmacology of Antiophidian Botanicals: A Review. International Journal of Pharmacology, v.8, n.2, p.62–79, 2012. https://doi.org/10.3923/ijp.2012.62.79.

Félix-Silva J, Souza T, Menezes YAS, Cabral B, Câmara RBG, Silva-Junior AA, Rocha HAO, Rebecchi IMM, Zucolotto SM, Fernandes-Pedrosa, MF. Aqueous leaf extract of *Jatropha gossypiifolia* L. (Euphorbiaceae) inhibits enzymatic and biological actions of *Bothrops jararaca* snake venom. PLoS One, v.9, n.8, e104952, 2014. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104952.

Fox JW, Serrano SMT. Insights into and speculations about snake venom metalloproteinase (SVMP) synthesis, folding and disulfide bond formation and their contribution to venom complexity. The FEBS Journal, v.275, n.12, p.3016–3030, 2008. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06466.x.

Glasl S, Khan IA. Quality control of herbal drugs and preparations. Planta Medica, v.84, n.6-7, p.348–349, 2018. https://doi.org/ 10.1055/a-0578-0271.

Gutiérrez J, Avila C, Rojas E, Cerdas L. An alternative *in vitro* method for testing the potency of the polyvalent antivenom produced in Costa Rica. Toxicon, v.26, n.4, p.411–413, 1988. https://doi.org/10.1016/0041-0101(88)90010-4.

Gutiérrez J, Lomonte B, León G, Rucavado A, Chaves F, Angulo Y. Trends in snakebite envenomation therapy: scientific, technological and public health considerations. Current Pharmaceutical Design, v.13, n.28, p.2935–2950, 2007. https://doi.org/10.2174/138161207782023784.

Hage-Melim LIS, Sampaio S V, Taft CA, Silva CHTP. Phospholipase A_2 inhibitors isolated from medicinal plants: alternative treatment against snakebites. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, v.13, n.9, p.1348–1356, 2013. https://doi.org/ 10.2174/1389557511313090009.

Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics, v.96, n.(2–3), p.67–202, 2002. https://doi.org/10.1016/s0163-7258(02)00298-x.

Islam S, Alam MB, Ahmed A, Lee S, Lee S-H, Kim S. Identification of secondary metabolites in *Averrhoa carambola* L. bark by high-resolution mass spectrometry and evaluation for α-glucosidase, tyrosinase, elastase, and antioxidant potential. Food Chemistry, v.332, 127377, 2020. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127377.

Jucá MM, Cysne Filho FMS, de Almeida JC, Mesquita DS, Barriga JRM, Dias KCF, Barbosa TM, Vasconcelos LC, Leal LKAM, Honório Júnior JER,Vasconcelos SMM. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. Natural Product Research, v.34, n.5, p.692-705, 2020. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1493588.

Kapoor B, Gulati M, Gupta R, Singh SK, Gupta M, Nabi A, Chawla PA. A review on plant flavonoids as potential anticancer agents. Current Organic Chemistry, v.25, n.6, p.737-747, 2021. https://doi.org/10.2174/1385272824999201126214150.

Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS. Anti-inflammatory Plant flavonoids and cellular action mechanisms. Journal of Pharmacological Sciences, v.96, n.3, p.229–245, 2004. https://doi.org/10.1254/jphs.crj04003x.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, v.227, n.5259, p.680–685, 1970. https://doi.org/10.1038/227680a0.

Lättig J, Böhl M, Fischer P, Tischer S, Tietböhl C, Menschikowski M, Gutzeit HO, Metz P, Pisabarro MT. Mechanism of inhibition of human secretory phospholipase A_2 by flavonoids: rationale for lead design. Journal of Computer-Aided Molecular Design, v.21, n.8, p.473–483, 2007. https://doi.org/10.1007/s10822-007-9129-8.

López-Posadas R, Ballester I, Abadía-Molina AC, Suárez MD, Zarzuelo A, Martínez-Augustin O, Sánchez de Medina F. Effect of flavonoids on rat splenocytes, a structure–activity relationship study. Biochemical Pharmacology, v.76, n.4, p.495–506, 2008. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.06.001.

Lu Q, Clemetson JM, Clemetson KJ. Snake venoms and hemostasis. Journal of Thrombosis and Haemostasis, v.3, n.8, p.1791–1799, 2005. https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01358.x.

Marques TR, Braga MA, Cesar PHS, Marcussi S, Corrêa AD. Jabuticaba (*Plinia jaboticaba*) skin extracts as inhibitors of phospholipases A_2 and proteases. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.91, n.2, e20180248, 2019. https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180248.

Marsh NA. Snake venoms affecting the haemostatic mechanism--a consideration of their mechanisms, practical applications and biological significance. Blood Coagulation & Fibrinolysis, v.5, n.3, p.399–410, 1994.

Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florêncio MH, Jennings KR. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. Free Radical Research, v.36, n.11, p.1199–1208, 2002. https://doi.org/10.1080/1071576021000016463.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

Molander M, Nielsen L, Søgaard S, Staerk D, Rønsted N, Diallo D, Chifundera KZ, Staden JV, Jäger AK. Hyaluronidase, phospholipase A_2 and protease inhibitory activity of plants used in traditional treatment of snakebite-induced tissue necrosis in Mali, DR Congo and South Africa. Journal of Ethnopharmacology, v.157, p.171–180, 2014. https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.027.

Moresco HH, Queiroz GS, Pizzolatti MG, Brighente IMC. Chemical constituents and evaluation of the toxic and antioxidant activities of *Averrhoa carambola* leaves. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.22, n.2, p.319–324, 2012. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000217.

Mors BW, Nascimento CM, Pereira MRB, Pereira AN. Plant natural products active against snake bite — the molecular approach. Phytochemistry, v.55, n.6, p.627–642, 2000. https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00229-6.

Moura-da-Silva AM, Almeida MT, Portes-Junior JA, Nicolau CA, Gomes-Neto F, Valente RH. Processing of snake venom metalloproteinases: generation of toxin diversity and enzyme inactivation. Toxins (Basel), v.8, n.6, 183, 2016. https://doi.org/10.3390/toxins8060183.

Núñez V, Castro V, Murillo R, Ponce-Soto LA, Merfort I, Lomonte B. Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic phospholipases A_2 from *Bothrops* snake venoms: Isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. Phytochemistry, v.66, n.9, p. 1017–1025, 2005. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.03.026.

Patiño AC, Benjumea DM, Pereañez JA. Inhibition of venom serine proteinase and metalloproteinase activities by *Renealmia alpinia* (Zingiberaceae) extracts: Comparison of wild and in vitro propagated plants. Journal of Ethnopharmacology, v.149, n.2, p.590–596, 2013. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.033.

Pithayanukul P, Leanpolchareanchai J, Bavovada R. Inhibitory effect of tea polyphenols on local tissue damage induced by snake venoms. Phytotherapy Research, v.24, n.Suppl 1, p.S56–62, 2010. https://doi.org/10.1002/ptr.2903.

Queiroz MR, Sousa BB, Pereira DFC, Mamede CCN, Matias MS, Morais NCG, Costa JO, de Oliveira F. The role of platelets in hemostasis and the effects of snake venom toxins on platelet function. Toxicon, v.133, p.33-47, 2017. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.04.013.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Viena, R Foundation for Statistical Computing, 2012.

Rodrigues VM, Soares AM, Guerra-Sá R, Rodrigues V, Fontes MR, Giglio JR. Structural and functional characterization of neuwiedase, a nonhemorrhagic fibrin(ogen)olytic metalloprotease from *Bothrops neuwiedi* snake venom. Archives of Biochemistry and Biophysics, v.381, n.2, p.213–224, 2000. https://doi.org/10.1006/abbi.2000.1958.

Romero L, Marcussi S, Marchi-Salvador DP, Silva FP, Fuly AL, Stábeli RG, da Silva SL, González J, Del Monte A, Soares AM. Enzymatic and structural characterization of a basic phospholipase A_2 from the sea anemone *Condylactis gigantea*. Biochimie, v.92, n.8, p.1063–1071, 2010. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.05.007.

Siddika A, Zahan T, Khatun L, Habib MR, Aziz MA, Tareq ARM, Rahman MH, Karim MR. *In vivo* the antioxidative extract of *Averrhoa carambola* Linn. leaves induced apoptosis in Ehrilch ascites carcinoma by modulating p53 expression. Food Science and Biotechnology, v.29, n.9, p.1251-1260, 2020. https://doi.org/10.1007/s10068-020-00775-x.

Thomas S, Patil DA, Patil A, Gand NC. Pharmacognostic evaluation and physicochemical analysis of *Averrhoa carambola* L. fruit. Journal of Herbal Medicine & Toxicology, v.2, n.2, p.51-54, 2008.

Urs NAN, Yariswamy M, Joshi V, Nataraju A, Gowda TV, Vishwanath BS. Implications of phytochemicals in snakebite management: present status and future prospective. Toxin Reviews, v.33, n.3, p.60-83, 2013. https://doi.org/10.3109/15569543.2013.854255.

Vale LHF, Mendes MM, Fernandes RS, Costa TR, Hage-Melim ISL, Sousa MA, Hamaguchi A, Homsi-Brandeburgo MI, Franca SC, Silva CHTP, Pereira PS, Soares AM, Rodrigues VM. Protective effect of *Schizolobium parahyba* flavonoids against snake venoms and isolated toxins. Current Topics in Medicinal Chemistry, v.11, n.20, p.2566–2577, 2011. https://doi.org/10.2174/156802611797633438.

Woisky RG, Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal of Apicultural Research, v.37, n.2, p.99–105, 1998. https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961.

Yang Y, Xie H, Jiang Y, Wei X. Flavan-3-ols and 2-diglycosyloxybenzoates from the leaves of *Averrhoa carambola*. Fitoterapia, v.140, 104442, 2020. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104442

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.oliveira

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Principais cadeias produtivas para o desenvolvimento da agroenergia no Norte do Brasil: limitações e perspectivas

Micaele Rodrigues de Souza[a*], Gabriel Duarte de Oliveira[a], Rosinete Nogueira de Sousa[a], Tamyres Siglya Sousa de Almeida[a], Ana Elisa Esteves dos Santos[a], Solange Aparecida Ságio[a]

[a] Universidade Federal do Tocantins, Brasil

[*] Autor correspondente (micaele.souzasp@gmail.com)

INFO

Keyworks
bioenergy
feedstock
ethanol
biodiesel

ABSTRACT

Main production chains for the development of agroenergy in Northern Brazil: limitations and perspective. Research focused on bioenergy has been intensified in an attempt to meet the targets which were defined through the Kyoto Protocol (1997). Representing one of the branches of bioenergy are biofuels and among the links in the biofuel production chains, the agricultural link stands out for being the main component of the formulation of the final fuel price, thus there is a need to seek raw materials that collaborate to reduce prices, in addition to enabling the decentralization of production. The northern region of the country specifically, holds a wide variety of species which present themselves as viable options for reducing dependence on fossil fuels. Thus, studies aimed at the study of these chains and, especially, these links, are necessary in order to verify limiting factors as well as potential factors. Therefore, the objective was to elaborate a bibliographic review on the biodiesel and ethanol production chain, both focused on the limiting factors, potentials and perspectives for the development of agroenergy in the North region. It is concluded that the perspectives are positive for the development of agroenergy in the North region, through the verified cultures. However, factors contribute to the limitation of bottlenecks that demand technological development, planning and government incentives, in order to expand a biofuels production chain in the North region.

Palavras-chaves
bioenergia
matérias-primas
etanol
biodiesel

RESUMO

Pesquisas voltadas para a bioenergia foram intensificadas na tentativa de cumprir as metas definidas pelo Protocolo de Kyoto (1997). Os biocombustíveis representam um dos ramos da bioenergia e entre os elos da cadeia produtiva dos biocombustíveis, o elo agrícola se destaca por ser o principal componente da formulação do preço final do combustível, havendo assim a necessidade de se buscar matérias-primas que colaborem para a redução dos preços, além de possibilitar a descentralização da produção. A região Norte do Brasil, especificamente, detém uma ampla variedade de espécies, que se apresentam como opções viáveis para a redução da dependência de combustíveis fósseis. Desta forma, trabalhos voltados para o estudo das cadeias do biodiesel e do etanol, principalmente desses elos, são essenciais, a fim de verificar fatores limitantes, bem como suas potencialidades. Portanto, objetivou-se elaborar uma revisão bibliográfica sobre a cadeia produtiva do biodiesel e etanol, visando apontar os principais fatores limitantes, potenciais e perspectivas para o desenvolvimento da agroenergia na região Norte. Sendo possível concluir que as perspectivas são positivas para o desenvolvimento da agroenergia na região Norte, por meio das culturas descritas. No entanto, fatores contribuem para a limitação de gargalos que demandam desenvolvimento tecnológico, planejamento e incentivo governamental, a fim de expandir a cadeia produtiva de biocombustíveis na região Norte.

Received 27 February 2021; Received in revised from 20 April 2021; Accepted 07 October 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com os efeitos provenientes do uso de combustíveis fósseis, em razão de sua grande dependência, tem proporcionado nas últimas duas décadas, estudos mais intensos sobre biocombustíveis, bem como a diversificação de matérias-primas (Cremonez et al., 2015; Da Silva et al., 2015; Da Silva et al., 2019). A diversificação de matérias-primas tem entre algumas de suas vantagens a descentralização da produção, o que permite maior participação do pequeno agricultor, como também reduz o preço do produto final, além de incluir na cadeia produtiva, regiões com diferentes condições edafoclimáticas (Da Silva et al., 2015). Outra vantagem de grande relevância que resulta em maior diversidade de matérias primas é a não competição entre o uso de culturas para fins alimentícios e bioenergéticos (Gerhardt e Santos, 2015; Ramos et al., 2017).

Compreende-se como cadeia produtiva a soma de agentes e atividades econômicas que interagem gradualmente desde a formação do produto, como também seu processamento, comercialização, além das unidades de apoio. Assim, é importante entender a dependência da integração de forma estratégica dos elos que constituem a cadeia do biodiesel e do etanol para se alcançar um crescimento sustentável (ME, 2017).

O Brasil reúne vantagens comparativas que lhe permitem ambicionar a liderança do mercado internacional da cadeia de biocombustíveis e implementar ações de promoção dos produtos energéticos derivados da agroenergia. O país encontra-se em situação privilegiada por situar-se, predominantemente, na faixa tropical e subtropical do planeta, recebendo intensa radiação solar, pela sua extensão e localização geográfica; também apresenta diversidade de clima e detém um quarto das reservas superficiais e subsuperficiais de água doce (MAPA, 2006).

A região Norte do Brasil, em especial, é caracterizada por sua vasta extensão, com 42,27% do território nacional, no qual apresenta um clima equatorial, que é caracterizado por altas temperaturas ao longo de todo o ano e é constituída por sete estados: Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, onde o bioma predominante é o da Amazônia, com exceção do estado do Tocantins que apresenta apenas 8,99% do seu território neste bioma e o restante no Cerrado (EMBRAPA, 2016).

Por deter a maior extensão territorial, mesmo que parte desse território seja constituído por floresta nativa, a região Norte reúne uma ampla variedade de espécies, como por exemplo, palmáceas que se apresentam como opções viáveis para a redução da dependência de combustíveis fósseis (Balan et al., 2019; Makkawi et al., 2019).

Entre os elos das cadeias produtivas do biodiesel e etanol, o elo agrícola se destaca por ser o principal componente da formulação do preço do biodiesel e etanol, pois, na maior parte dos casos, respondem por um percentual de 80 a 85% do preço final do combustível (Torres e Chaves, 2019).

Desta forma, trabalhos voltados para o estudo das cadeias do biodiesel e do etanol, sobretudo, desses elos, são necessários. Assim, objetivou-se elaborar uma revisão bibliográfica sobre a cadeia produtiva do biodiesel e etanol, visando apontar os principais fatores limitantes, potenciais e perspectivas para o desenvolvimento da agroenergia da região Norte.

MATERIAL E MÉTODOS

A busca de dados foi realizada por meio das plataformas *Web of Science* e *Scopus*, utilizando os seguintes termos: ethanol; biodiesel; energy; biofuel; feedstock; sucrose e starch. Foram também utilizados o nome científico e comum (em inglês) das culturas aqui pesquisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cadeia produtiva de etanol

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol (Coleti e Oliveira, 2019), atrás apenas dos Estados Unidos. O impulso da produção do etanol no país se deu com a criação do Programa Nacional do Álcool (Pro-Álcool), criado em 1975, logo após a crise do petróleo (1973-1974) (Guimarães et al., 2019). O intuito da criação desse programa era estimular a produção de álcool como alternativa à gasolina, pois, além de ser um combustível de origem renovável, polui menos durante a combustão e, ainda, detém um preço inferior em relação aos demais combustíveis (Serpa et al., 2019).

A principal matéria-prima utilizada para a produção desse biocombustível no país, é a cana-de-açúcar, no entanto várias outras culturas vêm se mostrando atrativas para tal finalidade (Márquez et al., 2020). O tipo de matéria-prima empregada na geração do etanol determina o seu processo de produção (Figura 1), sendo mais oneroso, quando se faz uso de fontes amiláceas e celulósicas, por exigirem etapas como a de hidrólise, que é essencial para a quebra das moléculas, resultando em açúcares fermentáveis (Pratto et al., 2020).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

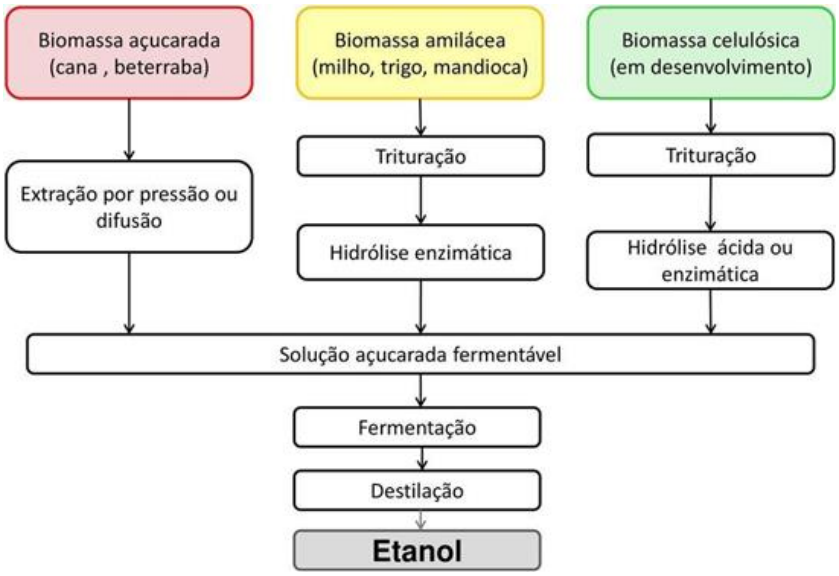


Figura 1 - Fluxograma dos processos para a produção de etanol a partir de diferentes matérias-primas. Fonte: Processos químicos e industriais II - USP, 2011.

Cultura da mandioca

Visando à disponibilidade de matéria-prima, para a viabilidade da produção de etanol, a cultura da mandioca (*Manihot esculenta)* é indicada como uma boa opção para a região Norte, visto que seu cultivo nesta região é considerado constante e representativa (EMBRAPA, 2016). Além de ser uma das principais culturas de raízes e tubérculos dos trópicos; bem adaptada às diversas condições ambientais e do solo e a uma ampla variedade de sistemas agrícolas (FAO, 2019). Também se apresenta como uma cultura pouco exigente em nitrogênio (EMBRAPA, 2011), que corresponde ao maior conteúdo energético dos fertilizantes (Salla et al., 2010). A espécie se encontra entre os cultivos amiláceos de grande potencial e competitividade na produção de biocombustíveis renováveis (Garcia-Velasquez et al., 2020).

Tanto no estado do Acre como em Roraima, a cultura da mandioca é o produto de maior representatividade na produção agrícola, e o estado do Pará é indicado como o maior produtor nacional da cultura (Fulgêncio, 2015; Correia, 2017; Soares, 2018).

Pesquisas voltadas ao custo energético da produção agrícola e industrial de um litro de etanol, a partir da cultura da mandioca, mostram que, como matéria-prima amilácea, a mandioca apresenta características significativas e até mesmo superiores em relação a outras fontes energéticas (Cabello, 2006; Salla et al., 2010).

Contudo, assim como no uso de outras amiláceas para a obtenção de etanol, o processo de hidrólise/sacarificação/tratamento do caldo é o mais representativo, quanto aos custos energéticos nas etapas industriais, podendo ser apontado como um dos gargalos (Santiago e Rodrigues, 2017).

Outro fator limitante para o uso da cultura, especialmente na região Norte, é o fato de ela ser amplamente empregada na dieta alimentar dos nortistas (EMBRAPA, 2016), o que gera uma preocupação na oferta do produto. Entretanto a utilização dos resíduos, como a casca e a parte aérea, podem ser viáveis, mostrando-se como matéria-prima para a produção não somente de etanol, mas também de eletricidade, visto que comercialmente é feito uso somente da raiz da mandioca, seja para consumo in natura ou fabricação de farinha ou fécula (Serra et al., 1978; Boog et al., 2007; Pattiya, 2011; Sivamani et al., 2018). Estudos realizados por Aso et al. (2019) estabeleceram que resíduos de cascas, provenientes de 1000 kg de raiz de mandioca, podem gerar energia suficiente para processar 1000 kg de mandioca, tornando a cadeia mais sustentável.

No território demarcado pela região Norte, há cinco usinas/destilarias (UDOP, 2020). Nenhuma dessas usinas/destilarias, assim como as demais distribuídas pelo país, faz uso da mandioca para a produção de etanol, sendo, então, necessária a implantação de usinas com tecnologia apropriada para atender as necessidades desse processo, ou a adequação das usinas já existentes, uma vez que o processo entre fontes açucaradas e amiláceas diferem-se somente nas etapas iniciais (Figura 1).

Cultura da batata-doce

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.)) é uma planta de origem ocidental adaptada ao clima tropical (Gonçalves, 2018). O Brasil é o principal produtor da América do Sul com uma produção de

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

aproximadamente 805,412 mil toneladas (IBGE, 2019). Ademais, a batata-doce é apontada como uma opção de matéria-prima para a produção de etanol na região Norte (Silveira et al., 2008), pois é capaz de produzir grandes quantidades de biomassa em um curto período de tempo (4 a 5 meses). Dessa maneira, a cultura permite o cultivo de até 2 ciclos reprodutivos por ano. Logo, a sua produtividade global por ano pode ser superior à de outras culturas agroenergéticas que necessitam de um período maior para produzirem como a cultura da cana-de-açúcar (12 e 18 meses) e a da mandioca (10 a 20 meses) (Magalhães et al., 2012). Além do alto potencial produtivo, a cultura apresenta aspecto rústico, possui ampla adaptação climática e é uma espécie de fácil produção, tolerante à seca e baixo custo produtivo (Cavalcante et al., 2012). Além disso, tendo em vista a fácil flutuação de preços do etanol no mercado, pelo grande porte brasileiro de produção de etanol, recorrente da cana-de-açúcar, a produção de batata-doce poderá ajudar a estabilizar o mercado, com a vantagem de ser cultivada em áreas restritas e nas entre safras da cana-de-açúcar (Erthal et al., 2018).

Estudos voltados para o custo energético da produção, em escala agrícola e industrial de etanol a partir da cultura da batata-doce, demonstram que, como fonte de matéria-prima amilácea, a batata-doce pode suprir de forma expressiva a produção de etanol com viabilidade econômica. É uma alternativa que se compreende como sustentável (Risso, 2014; Erthal et al., 2018). Magalhães et al. (2012), avaliando a viabilidade econômica da cadeia produtiva do etanol, a partir da batata-doce, demonstraram que, na produção primária, o cultivo da batata-doce apresenta maior vantagem que o da cana-de-açúcar.

Todavia, da mesma maneira que outras amiláceas, para a obtenção de etanol, o processo de hidrólise/sacarificação/tratamento do caldo é a etapa que mais onera a produção (Salla et al., 2010). Quanto aos custos energéticos nas etapas industriais, apresenta claras desvantagens com relação ao processamento, a partir da cana-de-açúcar, que, de fato, ainda tem uma rentabilidade unitária e maiores ganhos de escala (Erthal et al., 2018; Maino et al., 2019). Por essa razão, são necessários mais estudos com relação às técnicas de hidrólise do material, eficiência energética, produção da cultura, fermentação e custos desses processos (Risso, 2014).

Não obstante, apesar de haver cinco usinas/destilarias na região Norte, nenhuma delas faz uso da batata-doce para a produção de etanol. Dessa maneira, existe a mesma necessidade de implementação ou adaptação das usinas para atender as exigências do processo como foi citado para cultura da mandioca.

A falta de herbicidas seletivos eficientes é outro fator limitante de produção, tendo em vista as dificuldades para o controle manual e o mecanizado das plantas infestantes da cultura. Desta forma, a ausência de logística pode interferir na produção de batata-doce em larga escala (Gonçalves, 2018).

Apesar de haver gargalos a serem superados, há a possibilidade real de uma expressiva produção de etanol pela cultura da batata-doce. A utilização de resíduos oriundos do processo de produção de biocombustível é viável, a produção de etanol por meio da batata-doce é uma alternativa que se compreende como sustentável. Assim sendo, a implantação de microusinas para a produção de etanol torna-se uma alternativa exequível em pequenas propriedades, tendo como intuito a criação de cooperativas e APLs (Arranjos Produtivos Locais) de etanol, havendo assim um fortalecimento da agricultura familiar (Maino et al., 2019).

Cultura do sorgo

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), é uma monocotiledônea da família poaceae. Apresenta-se como uma espécie bem adaptada a ambientes de elevados estresses abióticos, especialmente de temperatura do ar e umidade do solo, sendo esse comportamento de rusticidade uma vantagem em relação a outras espécies comerciais (Nascimento et al., 2017; Fernandes et al., 2018).

Deste modo, é considerada uma matéria-prima de grande potencial para a produção de etanol, pois possui altos níveis de açúcares fermentáveis, como sacarose, glicose e frutose, além de elevado rendimento de biomassa verde (Nuanpeng et al., 2018). Sua composição inerente ao setor de bioenergia condiz com uma série de parâmetros indicados no quadro 1.

A classificação do sorgo, em geral, dá-se em quatro grupos: granífero, sacarino, forrageiro e vassoura (May et al., 2014). O sorgo sacarino, com características semelhantes à cana-de-açúcar, destaca-se pelo aproveitamento tanto do caldo, quanto do bagaço para a produção de etanol e, consequentemente, geração de energia na planta industrial (Durães et. al., 2016; Silva et al., 2016).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB (2020), a área total plantada de sorgo no Brasil corresponde a 835,2 mil hectares, sendo que a produtividade estimada de grãos condizente à safra 2020/2021 corresponde a 3.111 kg/ha.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

Quadro 1 – Parâmetros de interesse industrial para sorgo sacarino

*Parâmetros	Sorgo Sacarino
Brix Caldo	15 – 19
Pureza	60 -75
Fibra (%)	12 – 20
Sacarose caldo (%)	8 – 13
AR caldo (%)	1 – 3
Glicose caldo (%)	0,5 – 2
Frutose caldo (%)	0,5 – 1,5
ART caldo (%)	12 – 17
Amido caldo (%)	Até 0,5

Brix - indica a quantidade de sólidos solúveis presentes na amostra, em peso. Pureza - relação entre a porcentagem em massa de sacarose e a de sólidos solúveis contida em uma solução açucarada. Fibra - porcentagem em massa de matéria seca insolúvel presente na biomassa. AR (Açúcares Redutores) - determinam a quantidade de açúcar invertido, compreendendo glicose, frutose e demais substâncias redutoras presentes na amostra. ART (Açúcares Redutores Totais) - determinam a quantidade de açúcares redutores totais presentes na amostra, obtida pela hidrólise total da sacarose
Fonte: EMBRAPA (2012)

Na região Norte, o Tocantins destaca-se com maior área de cultivo da referida cultura, a produção já ultrapassa 40 mil toneladas do grão por ano. O aumento na produção tem impulsionado o mercado de exportação para Estados das regiões Nordeste, Centro Oeste e Centro Sul (CONAB, 2019).

Deste modo, a cadeia produtiva do sorgo tem auferido crescimento no setor agroenergético por suas diversas vantagens no sistema de produção, além de se justificar a posição de destaque da cultura, por reduzir a ociosidade das indústrias canavieiras na produção de etanol, ocupando o espaço de entressafra da cana-de-açúcar (Menezes et al., 2015; Parrella et al., 2017).

No entanto alguns entraves contribuem para que a cultura não se expanda na região Norte, como as dificuldades na comercialização e no armazenamento, tornando-se um produto marginal, assim como o controle de plantas daninhas, visto que a escassez de herbicidas registrados e o lento crescimento inicial da cultura tornam o manejo de plantas daninhas um dos pontos principais para o correto estabelecimento da cultura (Custódio e Karam, 2016; May et al., 2018).

Nesse contexto, outro empecilho é o pouco conhecimento sobre o material genético propício à área de cultivo, uma vez que tal fato pode gerar perdas de produtividade (EMBRAPA, 2015; Fernandes et al., 2018). Neste âmbito, o aumento dos rendimentos de biomassa e de etanol decorrem do desenvolvimento e do melhoramento de variedades e híbridos de sorgo sacarino e da adequada utilização de insumos no sistema de produção (Sousa e Parrella, 2018).

Entretanto as perspectivas para o maior desenvolvimento da cadeia produtiva do sorgo para a produção de etanol é favorável, visto que programas de melhoramento de cultivares de sorgo sacarino foram retomados no Brasil e, incluindo o potencial de contribuição de empresas privadas produtoras de sementes, há uma crescente concepção de oferta no mercado, em um futuro próximo, o que geraria impactos positivos no aumento da operacionalidade das usinas e na oferta de etanol, além de um melhor aproveitamento de resíduos e coprodutos (Parrella et al., 2017).

Cadeia produtiva de biodiesel

De forma geral, o biodiesel tornou-se um biocombustível em potencial, em virtude das metas de redução de emissões de gases do efeito estufa (GEE) definidas pelo Protocolo de Kyoto, no final dos anos 90. Os principais países europeus, liderados pela França e Alemanha, impulsionaram o mercado de biodiesel (Miyamoto e Takeuchi, 2019).

No Brasil, em 2004, surgiu o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), com o intuito de incentivar maior participação de energias renováveis na matriz energética brasileira, visando implementar, de forma sustentável, técnica e econômica, a produção e o uso do biodiesel, com foco na inclusão social e no desenvolvimento regional (Vargas et al., 2017). Nesse panorama, a Lei 11.097 de 13 de janeiro de 2005 introduziu oficialmente o biodiesel na matriz energética brasileira, sendo que o percentual mínimo obrigatório de sua adição ao diesel derivado do petróleo foi fixado em 5% (Tapanes et al., 2013; Ribeiro et al., 2015).

Esse percentual deverá atingir a taxa de adição de 15% até 2023, conforme a Resolução CNPE nº 16 de 29 de outubro de 2018, que aborda sobre a evolução da adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel vendido ao consumidor final (CNPE, 2018). Dessa forma, a produção de matéria-prima é estimulada com o propósito de suprir a procura por óleos vegetais para a produção de biodiesel.

Atualmente, a cultura da soja desponta como a principal fonte de óleo para a produção de biodiesel

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

no Brasil (EMBRAPA, 2019). Além da soja, outras culturas como dendê, macaúba e babaçu podem ser produzidas na região Norte e são vistas como potenciais fontes de óleo para a produção de biodiesel, em razão de sua alta produtividade (Brandão e Schoneveld, 2015; Ponte et al., 2017).

Cultura da soja

A cultura da soja (*Glycine max)*, atualmente, configura-se como a principal fonte de matéria-prima para a cadeia produtiva de biodiesel no Brasil sendo a oleaginosa mais produzida no País (USDA, 2020). Em 2020, as projeções iniciais apontam para a produção de até 125 milhões de toneladas (ANUÁRIO BRASILEIRO DA SOJA, 2019).

O seu sucesso pode ser atribuído, em parte, ao óleo de soja ser um subproduto do processamento do farelo de soja, possibilitando a diversificação de produtos e geração de vantagens econômicas. Consequentemente, a cultura da soja, além de líder na indústria de alimentação animal, tornou-se também um dos líderes mundiais no mercado de óleos vegetais (Gollo et al., 2010). No contexto nacional, a indústria processadora brasileira é fortemente adaptada à cultura da soja que corresponde a mais de 80% da produção de óleo vegetal no Brasil (EMBRAPA, 2019).

Além disso, as perspectivas para os próximos anos são animadoras. A associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais projeta, para a safra de 2020/2021, um aumento na produção, atingindo em torno de 133,7 milhões de toneladas. Ademais, o processamento de soja em grão deverá atingir 44,5 milhões de toneladas, volume significativo para a indústria brasileira (ABIOVE, 2020).

No contexto da região Norte, o estado de Tocantins apresenta potencial de crescimento de área, por possuir preços de terras mais baixos que o restante dos estados produtores, clima e a possibilidade de implantação de grandes áreas e o relevo favorável. Outros fatores como melhoria das condições de logística, aliados à perspectiva da redução de custos de transporte pelos projetos de implantação de novos modais de transporte: a Ferrovia Norte-Sul, em estágio mais avançado, e a hidrovia Araguaia-Tocantins, ainda na fase de análise da viabilidade de sua implantação, favorecem a região (Rodrigues e Lunckes, 2011).

Além da melhora da logística, pautas políticas, como a promoção do uso de carros a diesel e a liberação do óleo vegetal como combustível são elementos que se relacionam à dinâmica do mercado de energia. Elementos como desenvolvimento tecnológico dos veículos, níveis de emissões, novas tecnologias de produção de biocombustíveis e redução de preços seguramente farão parte das discussões acima referidas. Com a grande oferta industrial existente no setor, o Governo está sendo pressionado a aprovar novos incrementos nos percentuais de mistura (Bueno et al., 2015).

Embora as perspectivas positivas para esta matéria-prima, pode-se citar o planejamento Governamental com um dos fatores limitantes da utilização da soja para produção de biodiesel na região Norte. Isso ocorre porque o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) buscou diversificar matérias-primas para a produção e, deste modo, priorizar culturas agroenergéticas específicas para cada região. No entanto, não se levou em conta, porém, a sua heterogeneidade. Logo usinas anteriormente projetadas, para produzir biodiesel pela mamona e dendê, utilizam a soja como matéria-prima atualmente. Demonstra, desta forma, um claro erro de planejamento (Zuniga, 2015).

Cultura do dendê

O dendê, conhecido cientificamente por *Elaeis guineensis*, é o fruto do dendezeiro (Brazilio et al., 2012). O azeite de dendê também chamado de óleo de palma é caracterizado como uma importante atividade econômica em países tropicais, como o Brasil, principalmente ao fazer referência à agroindústria na Amazônia, por ser um sistema agrícola ecologicamente estável, altamente valorizado e com produção sustentada (MAPA, 2018; SEDAP, 2020).

O Governo Federal reconhece o potencial do dendê na efetivação da produção de biocombustíveis na Amazônia, definindo-o como a espécie com aptidão para a região Norte, podendo ser utilizada no âmbito do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), (Brandão e Schoneveld, 2015). Contudo, apesar de constar como prioridade do PNPB para a região Norte, desde a sua criação em 2004, o dendê passou a receber investimentos mais consideráveis, a partir do lançamento do Zoneamento Agroecológico do Dendê e do Programa de Produção de Palma de Óleo, em 2010 (Glass, 2013).

Em países como a Malásia, a mistura de biodiesel de palma com diesel de petróleo tornou-se obrigatória em uma proporção de mistura de 10 % de biodiesel de palma (B10) (Ng e Yung, 2019). Atualmente a Indonésia é a maior produtora de óleo de palma, entretanto o Brasil apresenta grande potencial mundial para a produção desse óleo (Simas e Pereira, 2019), posicionando-se como 5° maior produtor mundial, e o Pará responde por 85% da produção nacional, seguido pelos Estados da Bahia (11%) e de Roraima (1%) (ABRAPALMA, 2018). Em plantios comerciais com cultivares de alto desempenho, sob condições climáticas

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

favoráveis e manejo adequado, são obtidas de 5 a 8 toneladas de óleo de palma por ha (MAPA, 2018).

O Brasil, ainda apresenta-se como um importador líquido que se dá pela necessidade que o país tem quanto a avanços importantes, em agendas de desenvolvimento tecnológico, regularização fundiária, crédito e melhoria da infraestrutura de armazenagem e transporte (MAPA, 2018).

Referindo-se ao setor de transporte e logística, verifica-se que o sucesso de um empreendimento depende desses e, atualmente, toda a região Norte conta com apenas três usinas de biodiesel e duas estão localizadas no Tocantins e uma em Rondônia (Biodieselbr, 2018).

O ciclo da cultura pode ser apontado também como um fator limitante, pois normalmente inicia sua produção no terceiro ano e com baixos níveis de produtividade, alcançando o ápice no sexto ou sétimo ano de cultivo. A falta de linhas de crédito adequadas a essa cultura acaba se apresentando como outro empecilho (BIODIESELBR, 2018).

Além disso, a cadeia produtiva do dendê possui elevada demanda de mão de obra, em comparação a outras oleaginosas, que possuem mecanização intensiva. O custo da mão de obra é um dos mais altos, em relação aos principais países produtores, o que eleva, significativamente, o custo de produção (MAPA, 2018).

Outro fator que tem grande impacto é a produção do dendê estar relacionada ao alto risco de desmatamento (BIODIESELBR, 2019), todavia a ABRAPALMA (2018) afirma que dos 44 países palmeiros, o Brasil possui a mais exigente lei ambiental e trabalhista e é o único a ter Zoneamento Agroecológico, para a cultura, o que permite o seu uso com respeito ao meio ambiente.

Portanto as perspectivas para o setor são otimistas. Pauta de discussões políticas, a promoção do uso de carros a diesel, além do potencial produtivo da palma, a legitima como alternativa (MAPA, 2018; SEDAP, 2020). Para isso, são necessários programas de melhoramentos voltados para o aperfeiçoamento do ciclo reprodutivo e redução do custo de mão de obra.

Cultura da macaúba

A *Acrocomia aculeata* (macaúba), como é mais conhecida, é uma palmeira rústica e está presente, em quase todo o território nacional (Teixeira et al., 2018), podendo ser encontrada em áreas abertas e relativamente secas, margens de rodovias, pastagens, áreas degradadas e consórcio com outras culturas como as perenes e anuais (Santos, 2016).

Seu fruto possui uma cor marrom amarelada, quando maduro (Costa e Oliveira, 2018) e é composto por quatro partes: casca, polpa, endocarpo e a amêndoa. As partes que possuem um valor agregado maior são a amêndoa, que apresenta 68% de óleo, e a polpa que possui 60 % de óleo, sendo extraídos e destinados à produção de biodiesel (Lieb et al., 2019).

Além de ser utilizada para a produção de biodiesel, a referida cultura também pode ser empregada para fins alimentícios, tanto humano quanto animal e cosméticos, aproveitando-se tudo do processo da cadeia produtiva e, consequentemente, gera-se uma reduzida quantidade de resíduos, atestando assim a sua eficiência e economia (Da Silva et al., 2015).

Mesmo com todo o aproveitamento da macaúba, ainda existem pontos limitantes para o estabelecimento dessa cadeia produtiva. O principal fator limitante é o tempo em que a palmeira leva para produzir seus frutos, que, aproximadamente, correspondem a 3 a 5 anos, podendo chegar até 8 anos, para atingir a sua produção máxima, o que significa um longo período para o produtor obter o retorno financeiro (Costa et al., 2019). Assim sendo, há falta de linhas de crédito que se adequem às características dessa cultura, dessa forma, apresenta-se como mais um fator limitante, pois há uma grande diferença em relação ao período de produção para que o agricultor tenha o retorno financeiro e possa sanar seus empréstimos (Moreira e De Sousa, 2009).

Outro fator limitante dessa cultura é a falta de cultivo, em larga escala, que acaba não favorecendo a colheita de forma uniforme dos frutos, podendo resultar em sua perda ou na desuniformidade da maturação dos frutos coletados. Contudo, para que haja a coleta de forma uniforme, ainda é necessário o desenvolvimento de tecnologias para a realização da colheita e técnicas para tratamento pós-colheita (Fernández-Coppel et al., 2018).

Além disso, o material genético disponível da macaúba não foi domesticado, o que significa que ainda não há uma cultivar com um maior potencial de produtividade e teor de óleo e também que apresente um menor porte para facilitar a colheita (Miguel et al., 2016).

Cultura do babaçu

O babaçu é um tipo de palmeira da família botânica Arecaceae. Dentre as espécies de babaçu, as mais conhecidas e que têm o uso mais difundido são *Attalea phalerata* e *Attalea speciosa*. A palmeira pode medir entre 10-30 metros de altura e entre 20-50 cm de diâmetro (caule). Começa a dar frutos a partir do oitavo ano. Cada safra pode gerar entre 3 e 5 cachos, por planta, e cada cacho pode produzir de 300 a 500 cocos (Cazarra et al., 2012).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

O fruto apresenta: epicarpo (camada mais externa e bastante rija), mesocarpo, endocarpo e amêndoas, sendo 3-4 por fruto (Sobrinho et al., 2015; Saraiva et al., 2019).

O babaçu é considerado a maior fonte oleífera do mundo em florestas nativas (Gouveia et al., 2017). O teor de óleo presente na amêndoa pode chegar a mais de 60% (Carrazza, et al., 2012), sendo que essa porcentagem, também, é a quantidade de amido geralmente presente na farinha do mesocarpo (Pavlak et al., 2007).

O óleo apresenta excelentes propriedades físico-químicas que favorecem sua utilização como matéria-prima para a produção de biodiesel (Nascimento et al., 2009; Silva et al., 2014). Seu composto majoritário é o ácido láurico, o que é vantajoso, quando se fala em produção do biodiesel, por facilitar a reação de transesterificação, já que ésteres láuricos são compostos de cadeias curtas que interagem mais eficaz e efetivamente com o agente transesterificante e com o catalisador (Lima et al., 2007).

Além de ser empregado como matéria-prima, para a produção de biodiesel (Ponte et al., 2017), estudos apontam que o fruto também pode ser utilizado para a produção de etanol, por meio do uso do mesocarpo (Pavlak et al., 2007; Cardoso et al., 2018). O endocarpo também pode dar origem ao carvão, enquanto que da amêndoa, além do óleo, gera a torta (que é o que resta após a extração do óleo) podendo ser utilizada para a alimentação animal (Campelo Filho et al., 2018).

Uma das limitações dessa cadeia produtiva se apresenta logo na coleta do fruto, que, geralmente, é realizada por grupos de mulheres, popularmente conhecidas como quebradeiras de coco, que trabalham em precárias condições. Vêm ganhando representatividade, por meio do Movimento Interestadual das Quebradeiras de Coco Babaçu (MIQCB) (Campelo Filho et al., 2018), criado em 1990, que tem por intuito lutar em favor da conservação dos babaçuais e do extrativismo do coco babaçu (Rego e Andrade, 2005).

As quebradeiras de coco encontram dificuldades de ter acesso aos babaçuais, pois muitos fazendeiros não permitem que elas entrem em suas propriedades para fazer a extração dos frutos (Matos et al., 2015; Neto, 2017). Grande parte permite ao cobrar uma alta porcentagem dos lucros. Visto isso, o MIQCB vem reivindicar o direito de livre acesso aos babaçuais.

Um outro fator limitante é a falta de um equipamento para a quebra mecânica do fruto. Desde 1920 busca-se o desenvolvimento de equipamentos que facilitem tal quebra (Porto, 2004). Contudo, ainda nos dias de hoje, os principais instrumentos utilizados, para a quebra do coco, são o machado e o porrete de madeira (Saraiva et al., 2019). De acordo com Homma et al. (2014), para médios e grandes produtores, atividades altamente intensivas em mão de obra não são tão atrativas e, por isso, tendem a ser abandonadas, o que coloca em risco a cadeia produtiva do babaçu.

Há vários tipos de máquinas que facilitam a retirada da amêndoa do coco, entretanto, em razão de fatores como: alto valor de aquisição, baixo rendimento proporcionado, dificuldade de manutenção e altos níveis de ruído, a grande maioria desses equipamentos ainda não tem encontrado aceitação no mercado (Carrazza et al., 2012).

A falta de subsídio do governo para a produção e sistema de colheita não mecanizado são limitantes para o desenvolvimento da produção de babaçu, em larga escala, além dos custos relacionados à logística, já que os babaçuais dar-se-ão de maneira dispersa nas regiões produtivas e é preciso realizar transporte desses frutos até as indústrias (Putti et al., 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível concluir que as perspectivas são positivas para o desenvolvimento da agroenergia na região Norte, por meio das culturas descritas. Para a cadeia de etanol, destaca-se o elo agrícola das culturas da mandioca e batata-doce, que possuem alta capacidade de produção de biomassa por área, bem como, a vantagem de seu cultivo em áreas restritas e nas entressafras da cana-de-açúcar, já para a cultura do sorgo, o elo industrial é o principal fator favorável pois permite reduzir a ociosidade das indústrias canavieiras. Para a cadeia de biodiesel, evidencia-se o domínio, logística e a indústria fortemente adaptada da cultura da soja como potenciais, já para a cultura do dendê, ressalta-se a inclusão da cultura no Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel como cultura apta para a região Norte, e para as culturas da macaúba e babaçu destaca-se a alta produção de óleo por área. Constata-se também que o processo de hidrólise/sacarificação/tratamento do caldo são as principais limitações econômicas da produção de etanol das culturas amiláceas estudadas neste trabalho. Já para o sorgo, os entraves na produção, armazenamento e comercialização devem ser superados. Para a cadeia de biodiesel nota-se como a principal barreira o custo de obtenção, que é subsidiado pela obrigatoriedade da mistura com o diesel. Para as culturas perenes, é necessário mais estudo visando o melhoramento genético, mecanização e logística.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Federal do Tocantins e ao Mestrado em Agroenergia por possibilitar os meios para o desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE. Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Projeção de safra de soja para 2020 – 2020. Disponível em: https://www.biodieselbr.com/noticias/materia-prima/soja1/abiove-eleva-projecao-de-safra-de-soja-para-2020-140220. Acesso em março de 2020.

ABRAPALMA. Associação Brasileira de Produtores de Óleo de Palma. Retrospecto e projeções da palma de óleo no brasil 2018 - 2019. Edição n°002. 2018.

ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Biodiesel. 2018. Disponível em: http://www.anp.gov.br/perguntas/283-produtos-regulados-faq/biodiesel/3753-biodiesel-faq#:~:text=No%20Brasil%2C%20s%C3%A3o%20produzidos%20o,prima%20para%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20etanol. Acesso em novembro de 2020.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA SOJA. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta disponível em:http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wp-content/uploads/2019/11/SOJA_2019.pdf. v. 30, p. 156, 2019. Acesso jan. 2020.

Aso SN, Pullammanappallil PC, Teixeira AA, Welt BA. Biogasification of Cassava Residue for On-Site Biofuel Generation for Food Production with Potential Cost Minimization, Health and Environmental Safety Dividends. Environmental Progress & Sustainable Energy, v. 38, n. 4, p. 13138, 2019. https://doi.org/10.1002/ep.13138

Balan KN, Yashvanth U, Booma Devi P, Arvind T, Nelson H, Devarajan Y. Investigation on emission characteristics of alcohol biodiesel blended diesel engine. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, v. 41, n. 15, p. 1879-1889, 2019. https://doi.org/10.1080/15567036.2018.1549166

BIODIESELBR - Biodiesel de dendê, uma alternativa ecológica - 2018. Disponível em: www.biodieselbr.com/noticias/biodiesel. Acesso em fevereiro de 2020.

BIODIESELBR. Biodiesel de óleo de palma deixa de ser renovável na União Europeia. Disponível em: https://www.biodieselbr.com. Acesso em outubro de 2019.

Boog EG, Bizzo WA, Valle TL. Avaliação do Potencial Energético dos Resíduos de Campo da Cultura da Mandioca. Revista RAT, v. 3, 2007.

Brandão F, Schoneveld G. "The state of oil palm development in the Brazilian Amazon: Trends, value chain dynamics, and business models". Bogor: CIFOR, 2015. 54 p. (Working paper, 198).

Brazilio M, Bistachio NJ, Silva VC, Nascimento DD. O Dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) - Revisão. Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN: 2236-9171), v. 2, n. 1, p. 27-45, 2012.

Bueno ODC, Esperancini MST, Takitane IC. Produção de biodiesel no Brasil: aspectos socioeconômicos e ambientais. Revista Ceres, 56(4). 2015.

Cabello C. Produtos derivados de fécula de mandioca-etanol. In: Workshop sobre Tecnologias em Agroindústrias de Tuberosas Tropicais, 4, 2006, Botucatu. Anais Botucatu: UNESP, 2006. p.02-06.

Campelo Filho E, Rosa AGF, Lopes Júnior RM, Caselli FTR. Economia solidária: a realidade das quebradeiras de coco babaçu no interior do Brasil. Revista em Agronegócio e Meio Ambiente. v. 11, n. 4, p. 1239-1257, 2018. https://doi.org/10.17765/2176-9168.2018v11n4p1239-1257

Cavalcante JT, Ferreira PV, Soares L. Correlações fenotípicas, genotípicas e de ambiente em clones de batata-doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.), Rio Largo - Alagoas. Revista Ciência Agrícola, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2012.

Cardoso ZS, Rodrigues IA, Mendonça CJS, Rodrigues JRP, Ribeiro WRA, Silva WO, Marciel AP. Evaluating the Electrochemical Characteristics of Babassu Coconut Mesocarp Ethanol Produced to Be Used in Fuel Cells. Journal of the Brazilian Chemical Society. v. 29, n. 8, p. 1732-1741, 2018. https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180048

Carrazza LR, Silva ML, Ávila JCC. Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Babaçu. Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil, 2012.

Coleti JC, Oliveira ALR. A Intermodalidade no Transporte de Etanol Brasileiro: aplicação de um modelo de equilíbrio parcial. Revista de Economia e Sociologia Rural, v. 57, n. 1, p. 127-144, 2019. https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790570108

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Observatório agrícola: acompanhamento da safra brasileira 2016/2017 (Grão). Brasília, DF, v. 4, n. 2, p. 156, 2019.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra bras. grãos, v. 7 - Safra 2019/20 - Sexto levantamento, Brasília, p. 89, março, 2020.

CNPE-Conselho Nacional de Política Energética. Resolução Nº 16, de 29 de outubro de 2018. Disponível em: http://www.mme.gov.br/documents/36074/265770/Resolucao_16_CNPE_29-10-18.pdf/03661cf7-007d-eb99-10b4-61ee59c30941. Acesso em novembro de 2020.

Correia LG. Roraima gerou quase meio bilhão de reais em produção agrícola. 2017. Disponível em: https://folhabv.com.br/noticia/Roraima-gerou-quase-meio-bilhao-de-reais-em-producao-agricola/33066. Acesso em outubro de 2019.

Costa JMC, Oliveira DM, Costa Luis EC. Macauba Palm—Acrocomia aculeata. Exotic Fruits, [S.L.], p. 297-304, 2018. Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-803138-4.00039-3.

Costa ASV, Silva SP, Rodrigues JP. A desarticulação governamental do pró-macaúba na agenda do estado de Minas Gerais. Economia & Região, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 93-113, 29 ago. 2019. Universidade Estadual de Londrina. http://dx.doi.org/10.5433/2317-627x.2019v7n2p93.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

Cremonez PA, Feroldi M, Nadaleti WC, De Rossi E, Feiden A, De Camargo MP, Cremonez FE, Klajn FF. Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 42, p. 415-428, 2015. https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.004

Custódio IG, Karam D. Desenvolvimento e aperfeiçoamento de sistemas de produção de sorgo sacarino em área de reforma de canaviais. In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016.

Da Silva CA, De Azedias Almeida F, De Souza RP, Silva GC, Atabani A E.The prospects of using Acrocomia aculeata (macaúba) a non-edible biodiesel feedstock in Brazil. Renewable and Sustainable Energy Reviews, *49*, 1213-1220, 2015. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.125

Da Silva CA, Conejero MA, Ribeiro ECB, Batalha MO. Competitiveness analysis of "social soybeans" in biodiesel production in Brazil. Renewable energy, v. 133, p. 1147-1157, 2019. https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.08.108

Durães FOM, May A, Parrella RA. Sistema agroindustrial do sorgo sacarino no Brasil e a participação público-privada: oportunidades, perspectivas e desafios. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 138).

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Mandioca no Cerrado: Orientações Técnicas. Embrapa-Cerrados- Brasília, 2011.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistema Embrapa de Produção Agroindustrial de Sorgo Sacarino para Bioetanol Sistema BRS1G. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. Sete Lagoas – MG, 120p. 2012.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Sistemas de Produção Embrapa – Cultivo de Sorgo, 2015.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria. Brasília, 2016.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Árvore do conhecimento da soja: Socioeconomia. Brasília, 2019.

Erthal ES, Zamberlan JF, Salazar RF. A batata-doce (ipomoea batatas) como biomassa alternativa para produção de biocombustíveis frente aos combustíveis fósseis. Ciência & tecnologia, 2(1), 44-63. 2018.

Fernandes F, Silva CS da, Santos MVB, Lima CJB de. Estudo da produção de etanol a partir de sorgo biomassa (*Sorghum Bicolor* (L.) Moench). III Congresso Nacional de Engenharia de petróleo, gás natural e biocombustíveis. 2018.

FAO. Food and Agriculture Organization, 2019. Protecting cassava, a neglected crop, from pests and diseases. Disponível em: http://www.fao.org/3/ca7117en/CA7117EN.pdf. Acesso em dezembro de 2019.

Fernández-Coppel IA, Barbosa-Evaristo A, Corrêa-Guimarães A, Martín-Gil J, Navas-Gracia LM, Martín-Ramos P. Life cycle analysis of macauba palm cultivation: a promising crop for biofuel production. Industrial Crops And Products, [S.L.], v. 125, p. 556-566, dez. 2018. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.036.

Fulgêncio C. Mandioca representa 66% da produção agrícola do AC, diz estudo. 2015. Disponível em: http://g1.globo.com/ac/acre/noticia/2015/05/mandioca-representa-66-da-producao-agricola-do-ac-diz-estudo.html. Acesso em outubro de 2019.

García-Velásquez, CA, Daza L, Cardona CA. Economic and Energy Valorization of Cassava Stalks as Feedstock for Ethanol and Electricity Production. BioEnergy Research, p. 1-14, 2020. https://doi.org/10.1007/s12155-020-10098-8

Gerhardt CH, Santos C. Agrocombustíveis versus segurança alimentar: o incerto lugar da agricultura familiar nas políticas de incentivo à produção de etanol no sul do Brasil. Guaju, v. 1, n. 2, p. 59-95, 2015. http://dx.doi.org/10.5380/guaju.v1i2.48388

Glass V. Expansão do dendê na Amazônia brasileira: elementos para uma análise dos impactos sobre a agricultura familiar no nordeste do Pará. São Paulo: Repórter Brasil, [2013], 2013.

Gollo SS, Medeiros JF, Padilha ACM. Configuração da cadeia produtiva do biodiesel, a partir da matéria-prima soja, no Rio Grande do Sul/Brasil. In: Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 48., 2010, Campo Grande. Anais. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2010.

Gonçalves FB. Efeitos da deriva simulada do glyphosate na fisiologia e produção da batata-doce (cv. Duda). 2018.62p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.

Gouveia VM, Matricardi EAT, Angelo H. Dinâmica espaço-temporal da produção de amêndoas de babaçu e da utilização das terras no Maranhão. Embrapa Cocais. Documentos 02. p. 1-35, 2017.

Guimarães AF, Colavite AP, Da Silva EA. A rede de produção de biocombustíveis da região sul do Brasil. Revista de Geografia (Recife), v. 36, n. 3, 2019.

Homma AKO, Santos JC, Sena ALS, Menezes AJEA. Pequena produção na Amazônia: conflitos e oportunidades, quais os caminhos? Revista Amazônia: Ciência e Desenvolvimento. v. 9, n. 18, p. 137-154. 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2018. Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes - PAM. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10193. Acesso em janeiro de 2020.

Lieb VM, Schex R, Esquivel P, Jiménez VM, Schmarr HG, Carle R, Steingass CB. Fatty acids and triacylglycerols in the mesocarp and kernel oils of maturing Costa Rican Acrocomia aculeata fruits. Nfs Journal, [S.L.], v. 14-15, p. 6-13, mar. 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.nfs.2019.02.002.

Lima JRO, Silva RB, Silva CCM, Santos LSSS, Santos Júnior JR, Moura EM, Moura CVR. Biodiesel de babaçu (Orbignya sp.) obtido por via etanólica. Química Nova. v. 30, n. 3, p. 600-603, 2007. https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300019

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

Magalhães KB, Rodrigues W, Silveira MA. Análise custo-benefício social da cadeia produtiva de etanol de batata-doce no Estado de Tocantins. Custo e @gronegócio online, v.8 n. 1, 2012.

Maino SC, Júnior ES, Dal Pozzo DM, Santos RF, Siqueira JAC. Batata-doce (Ipomoea batatas) dentro do contexto de culturas energéticas, uma revisão. Revista Brasileira de Energias Renováveis, v. 8, n. 4, 2019. http://dx.doi.org/10.5380/rber.v8i4.65754

Makkawi Y, EL Sayed Y, Salih M, Nancarrow P, Banks S, Bridgwater T. Fast pyrolysis of date palm (Phoenix dactylifera) waste in a bubbling fluidized bed reactor. Renewable energy, v. 143, p. 719-730, 2019. https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.028

Márquez JP, de Oliveira Ribeiro C, Santoyo ER, Fernández VF. Predicción de la demanda de etanol en Brasil utilizando un enfoque de Redes Neuronales Recurrentes de tipo LSTM. IEEE Latin America Transactions, v. 100, n. 1e, 2020.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011. 2. ed. rev. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diagnóstico da produção sustentável da palma de óleo. 1° Edição. Brasília, 2018.

Matos F, Shiraishi J, Ramos V. Acesso à terra, território e recursos naturais: a luta das quebradeiras de coco babaçu. Action Aid Brasil. p. 1-28, 2015.

May A, Parrella RAC, Damasceno CMB, Simeone MLF. Sorgo como matéria-prima para produção de bioenergia: etanol e cogeração. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 35, n. 278, p. 14-20, 2014.

May A, Mendes SM, Silva DD, Parrella RA da C, Silva AF da, Pacheco TF, Aquino LA de, Cota LV, Costa RV da. Manejo cultural de sorgo sacarino em áreas de reforma de canaviais. In: Embrapa Meio Ambiente-Resumo em anais de congresso (ALICE). Brasília, DF: Embrapa, 2017. v. 2, pt. 6, cap. 1, p. 574-587, 2018.

ME-MINISTÉRIO DA ECONOMIA. Integração Produtiva e Competitividade internacional: Conceituação, 2017. disponível em: http://www.mdic.gov.br/index.php/competitividade-industrial/acoes-e-programas-11/conceituacao. Acesso em dezembro de 2020.

Menezes CB, Ribeiro AS, Tardin FD, Carvalho AJ, Bastos EA, Cardoso MJ, Portugal AF, Silva KJ, Santos CV, Almeida FHL. Adaptabilidade e estabilidade de linhagens de sorgo em ambientes com e sem restrição hídrica. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 14, n. 1, p. 101-115, 2015.

Miguel L, Santos LDC, Laviola B, Alves A, Rosado T. Estudo da diversidade genética de famílias segregantes de macaúba (acrocomia aculeata). In: Embrapa Agroenergia-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 6.; CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 9., 2016, Natal, RN. Biodiesel: 10 anos de pesquisa, desenvolvimento e inovação no Brasil: anais. Lavras: UFLA, 2016.

Miyamoto M, Takeuchi K. Climate agreement and technology diffusion: Impact of the Kyoto Protocol on international patent applications for renewable energy technologies. Energy policy, v. 129, p. 1331-1338, 2019. https://doi.org/10.1016/j.enpol.2019.02.053

Moreira JMMAP, De Sousa TCR. Macaúba: oportunidades e desafios. Embrapa Cerrados-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E), 2009.

Nascimento UM, Vasconcelos ACS, Azevedo EB. Otimização da produção de biodiesel a partir de óleo de coco babaçu com aquecimento por micro-ondas. Eclética Química. vol. 34, n. 4, p. 37-48, 2009. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702009000400004

Nascimento MF, Campos MCC, da Silva DMP, Mantovanelli BC, Gomes RP, Weckner FC, Jordão HWC. Avaliação de cultivares de sorgo sacarino (Sorghum bicolor (L.) Moench) na região amazônica, Brasil. Revista Nativa, *5*(6), 381-385, 2017. http://dx.doi.org/10.5935/2318-7670.v05n06a01

Neto JS. Quebradeiras de coco: "babaçu livre" e reservas extrativistas. Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável. v. 14, n. 28, p. 147-166, 2017. https://doi.org/10.18623/rvd.v14i28.920

Ng MH, Yung CL. Nuclear magnetic resonance spectroscopic characterisation of palm biodiesel and its blends. Fuel, v. 257, p. 116008, 2019/12/01/ 2019. ISSN 0016-2361. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116008

Nuanpeng S, Thanonkeo S, Klanrit P, Thanonkeo P. Ethanol production from sweet sorghum by Saccharomyces cerevisiae DBKKUY-53 immobilized on alginate-loofah matrices. Brazilian Journal of Microbiology, v. 49, p. 140-150, 2018. http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2017.12.011

Parrella RAC, May A, Silva DD, Santos FC. Cultivo do sorgo biomassa para cogeração de energia elétrica. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 65 p., 2017.

Pattiya, A. Thermochemical Characterization of Agricultural Wastes from Thai Cassava Plantations. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, v. 33, n. 8, p. 691-701, fev 2011. https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1704410

Pavlak MCM, Zuniga AD, Lima TLA, Arévalo-Pinedo A, Carreiro SC, Fleury CS, Silva DL. Aproveitamento da farinha do mesocarpo do babaçu (*Orbignya martiana*) para obtenção de etanol. Evidência. v. 7, n. 1, p. 7-24, 2007. https://doi.org/10.18593/eba.26304

Ponte FAF, Rodrigues JS, Malveira JQ, Ramos Filho JAS, Albuquerque MCG. Avaliação físico-química dos óleos de babaçu (Orbignya speciosa) e coco (Cocos nucifera) com elevado índice de acidez e dos ácidos graxos (C6 a C16). Scientia Plena. v. 13, n. 8, 2017. https://doi.org/10.14808/sci.plena.2016.071301

Porto MJF. Estudo preliminar de dispositivo de quebra e caracterização dos parâmetros físicos do coco babaçu. São Luiz, MA. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas- UEC; 2004.

Pratto B, Rocha MSRS, Longati AA, Júnior RS, Cruz AJG. Experimental optimization and techno-economic analysis of bioethanol production by simultaneous saccharification and fermentation process using sugarcane

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

straw. Bioresource technology, v. 297, p. 122494, 2020. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122494

Putti FF, Ludwig R, Ravazi AS. Análise da viabilidade e rentabilidade do uso do babaçu para a produção do biodiesel. Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista. v. 8, n. 7, p. 127-142, 2012. http://dx.doi.org/10.17271/19800827872012

Ramos LP, Kothe V, César-Oliveira MAF, Muniz AS. Biodiesel: matérias-primas, tecnologias de produção e propriedades combustíveis. Revista Virtual de Química, v. 9, n. 1, p. 317-369, 2017. http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170001

Rego JL, Andrade MP. História de mulheres: breve comentário sobre o território e a identidade das quebradeiras de coco babaçu no Maranhão. Agrária. n. 3, p. 47-57, 2005. https://doi.org/10.11606/issn.1808-1150.v0i3p47-57

Ribeiro VS, Finco MVA, Ribeiro JB, Nunes JF. Cadeia produtiva da soja e a produção de biodiesel no Tocantins: uma análise do uso da terra pela agricultura familiar. Cadernos de Ciência & Tecnologia, v. 32, n. 1/2, p. 173-189, 2015. ttp://dx.doi.org/10.35977/0104-1096.cct2015.v32.23310

Risso RDS. Etanol de batata-doce: otimização do pré-processamento da matéria-prima e da hidrólise enzimática. 2014. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

Rodrigues W, Lunckes JF. Economic profitability of the production of biodiesel from castor in the Tocantins State. 2011.

Salla DA, Furlaneto FP, Cabello C, Kanthack RA. Análise energética de sistemas de produção de etanol de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 14, n. 4, p. 444-448, 2010. https://doi.org/10.1590/S1415-43662010000400015

Santiago BLS, Rodrigues FA. Processamento de biomassa lignocelulósica para produção de etanol: Uma Revisão. 2017.

Santos LF, De Paula Lana R, Guimarães G, Trindade PC, Teixeira CRV. Avaliação do desenvolvimento de Macaúba em sistema silvipastoril. Cadernos de Agroecologia, v. 10, n. 3, 2016.

Saraiva AFS, Oliveira NM, Filho MXP, Lopes WS. Cadeia produtiva do babaçu em Cidelândia - MA: uma análise a partir da abordagem de cadeia global de valor. Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional. v. 15, n. 2, p.13-23, 2019.

SEDAP. Secretaria de Estado de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca. Dendê. Governo do Estado do Pará. 2020. Disponível em: http://www.sedap.pa.gov.br/content/dend%C3%AA. Acesso out. 2021.

Serpa ECA, Rangel YP, De Oliveira BF, De Alvarenga SDD, Da Silva SETP. Avaliação da performance de um motor de combustão interna do ciclo otto utilizando gasolina e uma mistura gasolina-etanol. Exatas & Engenharias, v. 9, n. 26, p. 01-22, 2019. https://doi.org/10.25242/885X92620191777

Serra GE, Goldonberg J, Moreira JR, Carvalho CM. Estudo Energético de Alternativas Brasileiras para Produção de Energia Renovável. XV Convención UPADI 1º - Santiago – Chile, 7 Octobre, 1978.

Silva MGS, Ferreira KJN, Teixeira MM, Silva FC, Maciel AP. Estudo de viabilidade técnica da produção de biodiesel de babaçu: uma revisão crítica. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 12, n. 2, p. 434-443, 2014. http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v12i2.1514

Silva WT, Schio LA, Wagner PK, Modanese BP, Karam D, Silva AF. Tolerância de genótipos de sorgo sacarino a herbicidas pré-emergentes. XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves – RS, 2016.

Silveira MA, Dias LED, Alvim TC, Tavares IB, Santana WR, Souza RS. A Cultura da Batata-doce como Fonte de Matéria-prima para Etanol. Boletim técnico- UFT. Palmas, 64 p. 2008.

Simas JP, Pereira CLC. Energia e sustentabilidade: análise da viabilidade do cultivo de dendê para o desenvolvimento regional endógeno da Amazônia. Boletim de Geografia, v. 37, n. 1, p. 184-198, 2019. https://doi.org/10.4025/bolgeogr.v37i1.39256

Sivamani S, Chandrasekaran AP, Balajii M, Shanmugaprakash M, Hosseini-Bandegharaei A, Baskar R. Evaluation of the potential of cassava-based residues for biofuels production. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, v. 17, n. 3, p. 553-570, 2018. https://doi.org/10.1007/s11157-018-9475-0

Soares FMS. Conjuntura de Mercado Mandioca. 44ª Reunião Câmara Setorial Mandioca, 17 de julho de 2018.

Sobrinho OPL, Da Silva LFB, Pereira ÁIS, Cantanhede EDKP, Carlos MDAS, Da Silva JR, Siqueira LFS. Uma proposta de aula experimental utilizando mesocarpo de babaçu (*Orbignya speciosa*) na remoção do azul de metileno de soluções aquosas. Educación química. v.26, n.4, p.314-318, 2015. https://doi.org/10.1016/j.eq.2014.12.001

Sousa LOS, Parrella RAC. Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de sorgo sacarino. In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018.

Tapanes NLCO, Aranda DAG, Perez RS, Cruz YR. Biodiesel no Brasil: matérias primas e tecnologias de produção. Acta Scientiae & Technicae. v. 1, n. 1, jun. 2013. https://doi.org/10.17648/uezo-ast-v1i1.11

Teixeira VL, Carneiro ACO, Evaristo AB, Faria BFH, Donato DB, MAGALHÃES MA. Potential of macauba epicarp (Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Martius) for briquettes production. Floresta, [S.L.], v.48, n.4, p.563-600, 2 out. 2018. Universidade Federal do Paraná. http://dx.doi.org/10.5380/rf.v48i4.57397.

Torres NBD, Chaves GDLD. A bibliographic review of systems for biodiesel evaluation: a bibliometric review. Research, Society and Development, v. 8, n. 2, p. 182522, 2019. https://doi.org/10.33448/rsd-v8i2.522

UDOP. União Nacional da Bioenergia. Mapas Usinas/ Destilarias. Disponível em: https://www.udop.com.br/index.php?item=mapa_unidades. Acesso em dezembro de 2020.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Produção de Etanol. Processos Químicos Industriais II. Escola de Engenharia de Lorena–Universidade de São Paulo - USP, 2011.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Department of Agriculture, 2020. Disponível em:http://apps.fas.usda.gov/gats/. Acesso em janeiro de 2020.

Vargas BS, Lissner LA, Meth S. Biodiesel: Contexto, Características, Vantagens e Produção. Revista congrega-mostra de trabalhos de conclusão de curso-ISSN 2595-3605, n. 1, p. 253-269, 2017.

Zuniga ADG, Andrade AA, Gouvêa GRDSR, Amaral LCGS, Sodré LF, Novais TS, Pinedo AA, Vieira CFDS. Situação atual e perspectivas do biodiesel no Estado do Tocantins. Revista Desafios, v. 1, n. 1, p. 263-278, 2015. https://doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2014v1n1p263

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.souza

Journal of Biotechnology and Biodiversity

journal homepage: *https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/index*

Halófilos deteriorantes em produtos cárneos salgados

Eduardo Henrique Santos Guedes[a], André Leonardo dos Santos[b], Camila Mariane da Silva Soares[c], Aynaran Oliveira de Aguiar[a], Aloísio Freitas Chagas Junior[a*], Gessiel Newton Scheidt[a], Marcos Giongo[a], Lillian França Borges Chagas[a]

[a] Universidade Federal do Tocantins, Brasil
[b] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
[c] Universidade Federal de Lavras, Brasil
[*] Autor correspondente (chagasjraf@mail.uft.edu.br)

INFO

Keyworks
halophiles
archaea
salty meat foods
spoilage
control

ABSTRACT

Deterioration halophils in salty mear products. The use of sodium chloride in meat products, in addition to its sensory and preservative effect, gives them stability, as it reduces microbial growth and chemical degradation reactions, prolonging shelf life. Despite being used for the conservation of several products, when non-sterile salt can contain microorganisms adapted to high salt concentrations, called halophiles, which can cause deterioration problems, such as unpleasant odors and aromas. They are popularly known as vermilion for their colonial pigmentation, and can be an economic problem for meat and salty byproducts industries. The aim of this study is to present the main characteristics and control measures of deteriorating halophilic archaea in salted meat products through a bibliographic survey. Prokaryotes belonging to the Archaea domain and the Euryarchoaeota phylum are reported as the main halophilic organisms first described as Halobacterium growing ideally at 2 to 4 Mmol L^{-1} of NaCl. They do not suffer from dehydration, as they have a high intracellular concentration of salts (KCl) greater than the concentration of NaCl in their habitat, they are organisms of varied morphology, most are gram-negative, neutrophilic and mesophilic, with exceptions. To prevent the appearance of physicochemical barriers, they can be used, highlighting the vacuum packaging as well as the use of organic acids. Most studies on halophilic archaeas have focused on environmental and ecological research and few studies are focused on isolation and identification from salty foods, nor on control measures that can be used to combat spoilage species.

Palavras-chaves
halófilos
archaea
alimentos cárneos
salgados
deterioração
controle

RESUMO

A utilização de cloreto de sódio em produtos cárneos além do seu efeito sensorial e conservante confere a eles uma estabilidade, pois diminui o crescimento microbiano e as reações química de degradação, prolongando a vida de prateleira. Apesar de ser utilizado para conservação de vários produtos, o sal quando não estéril pode conter microrganismos adaptados a altas concentrações salinas, denominados halófilos, estes podem ocasionar problemas de deterioração, como odores e aromas desagraváveis. São popularmente conhecidos como vermelhão por sua pigmentação colonial, e podem ser um problema econômico a indústrias de carnes e derivados salgados. O objetivo deste estudo é apresentar as principais características e medidas de controle de archaeas halófilas deteriorantes em produtos cárneos salgados por meio de um levantamento bibliográfico. Os procariotos pertencentes ao domínio Archaea e ao filo Euryarchoaeota são relatados como os principais organismos halofílicos descritas primeiramente como *Halobacterium* crescendo idealmente a 2 a 4 Mmol L^{-1} de NaCl. Não sofrem desidratação, pois possui elevada concentração intracelular de sais (KCl) maior que a concentração de NaCl no seu habitat, são organismos de morfologia variada, maioria é gram-negativas, neutrófilas e mesófilas, havendo exceções. Para prevenir o aparecimento barreiras físico-químicas podem ser utilizadas destacando-se a embalagem a vácuo como também a utilização de ácidos orgânicos. A maior parte dos estudos sobre archaeas halofílicas tem se concentrado em pesquisas ambientais e ecológicas e poucos estudos são concentrados no isolamento e identificação a partir de alimentos salgados, nem tão pouco em medidas de controle que podem ser utilizadas para combater espécies deteriorantes.

Received 29 July 2021; Received in revised from 19 October 2021; Accepted 07 November 2021

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

Creative Commons License. All the contents of this journal, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution License.

INTRODUÇÃO

Relatos históricos evidenciam a utilização do sal cloreto de sódio (NaCl) desde a idade antiga, como meio de conservação para alimentos. Sabe-se que sua principal utilidade era a salga de carne crua de animais domésticos, sobretudo suínos e peixes, assim de forma empírica o homem descobriu os efeitos favoráveis desse processo (Ordoñez et al., 2005).

A técnica da salga em produtos de origem animal é um dos métodos mais longínquos para conservação desses alimentos, e consiste na retirada de uma quantidade de água da porção muscular com substituição de sal no processo conhecido por osmose, desencadeando a diminuição da atividade de água do produto e consequentemente ocorre um ganho da estabilidade microbiana, bioquímica e química além de contribuir nas alterações desejáveis de sabor e aroma do produto (Aiura et al., 2008; Rebouças et al., 2020).

O NaCl é um dos ingredientes que proporciona o sabor salgado disponível nas dietas, consiste em um elemento indispensável na formulação de produtos cárneos salgados tendo efeito direto nos componentes químicos da carne, principalmente nas proteínas, e influência positivamente a suculência, maciez, o sabor e a vida útil do produto (Rios-mera et al., 2020; Zhao et al., 2020). Segundo Armenteros et al. (2012), outros sais podem substituir o cloreto de sódio na salga de carnes, como o cloreto de potássio (KCl) que exibe características físicas semelhantes ao NaCl e apresenta melhores resultados em termo de qualidade sensorial e físico-químicos quando comparados a outros sais como o cloreto de cálcio ($CaCl_2$) e o cloreto de magnésio ($MgCl_2$).

No mundo e também no Brasil, a utilização de métodos de conservação combinado com a salga, como secagem por estufa e sol, refrigeração e embalagens a vácuo proporciona a elaboração de diversos produtos alimentícios cárneos salgados como linguiças, salames, presuntos, carne de sol e o charque, diferenciando-se pelo processo de obtenção e as quantidades de sal utilizadas na elaboração do produto (Silva et al., 2013).

Apesar do NaCl ser um ótimo inibidor de microrganismos, produtos cárneos salgados não estão insetos de sofrerem processos de deterioração microbiana, pois existe certas espécies capazes de sobreviverem em altas concentrações de sal, os halófilos, que quando presentes deterioram as carnes salgadas provocando alterações indesejáveis, a sua aparição pode ser caracterizada pelo surgimento de manchas avermelhadas ou rasadas além do forte odor de putrefação pois produzirem enzimas proteolíticas e ainda se desenvolverem idealmente em temperatura ambiente, tornando-se assim um problema econômico as indústrias que processam carnes e seus derivados salgados (Moschetti et al., 2006; Enquahone et al., 2020).

Neste contexto, o objetivo deste artigo é apresentar as principais características e medidas de controle de archaeas halófilas deteriorantes em produtos cárneos salgados por meio de um levantamento bibliográfico.

MATERIAL E MÉTODOS

Produtos Cárneos Salgados

A utilização de NaCl em produtos alimentícios de origem animal (POA) além do seu efeito conservante conferem a eles uma estabilidade em temperatura ambiente, o que se torna importante nas regiões com dificuldades de conservação pela utilização de temperaturas de refrigeração e congelamento (Nunes e Pedro, 2011).

Como ingrediente principal no preparo de carnes secas, o sal pode ser aplicado à carne de duas maneiras, em salga úmida onde ocorre a injeção ou imersão dos cortes em salmouras e na salga seca que consiste na formação de pilhas de carnes intercaladas por camadas de sal, acarretando alterações desejáveis nas propriedades texturais, aromáticas e conservantes (Shimokomaki et al., 2006; Brasil, 2020). A desidratação do tecido muscular, devido à difusão do sal nos tecidos, promove a redução da atividade de água levando a perda de água livre por osmose, que implicará na inibição do crescimento microbiano e diminuição de reações químicas de degradação (Aykin-Dinçer e Erbas, 2018).

A Biltong produzida na África do Sul, o Jerky e a Pemmican na América do Norte e o charque, Jerked beef e carne de sol encontradas no Brasil são exemplos de carnes salgadas, diferenciando-se na fabricação (Petit et al., 2014).

Além de proporcionar elevada eficiência proteica, excelente valor biológico e fácil digestão, no mercado mundial, diversos são os POA que utilizam o sal como ingrediente indispensável, tendo sua concentração variável de acordo com o produto: em almôndegas contém 0,62 g de NaCl por 100 g de produto, linguiça suína com 1,18 g por 100 g, embutidos fermentados com 1,5 g por 100 g, presunto maturado com 2,2 g por 100 g e o charque que com 5,85 g por 100 g de produto não dessalgado (Garcia et al., 2013).

O charque é um importante produto produzido desde a antiguidade em muitos países de importância econômica que utiliza como técnica de conservação a tecnologia das barreiras, a redução da atividade de água por adição de sal, secagem e

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

embalagem a vácuo (Vidal et al., 2019). Segundo Brasil (2020) charque é o produto cárneo obtido de carne bovina, com adição de sal e submetido a processo de dessecação seguindo as etapas de desossa e manteação, salga úmida ou salmouragem, salga seca, remoção do excesso de sal, secagem e embalagem.

Além de proporcionar alterações desejáveis no sabor e odor dos produtos cárneos a utilização do sal primitivamente foi utilizada para conservação a fim de evitar o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes nos alimentos (Ordoñez et al., 2005).

Eventualmente os microrganismos estão presentes por todo planeta habitando diferentes ambientes, inclusive em ecossistemas salinos, e muitas dessas espécies ainda não foram identificadas e estudadas. Organismos extremófilos tem ganhado notoriedade nos últimos tempos tendo seu metabolismo e filogenia cada vez mais pesquisado, como é o caso dos organismos halófilos (do grego halo - sal + filo – amigo) que podem causar deterioração em produtos cárneos salgados. Produtos alimentícios salgados e fermentados geralmente contêm archaea halofílicas que se desenvolve na presença de NaCl e conseguem ocasionar a deterioração do produto mesmo em altas concentrações de sal (Moschetti et al., 2006; Lee, 2013; Lorentzen et al., 2015; Tortora et al., 2017).

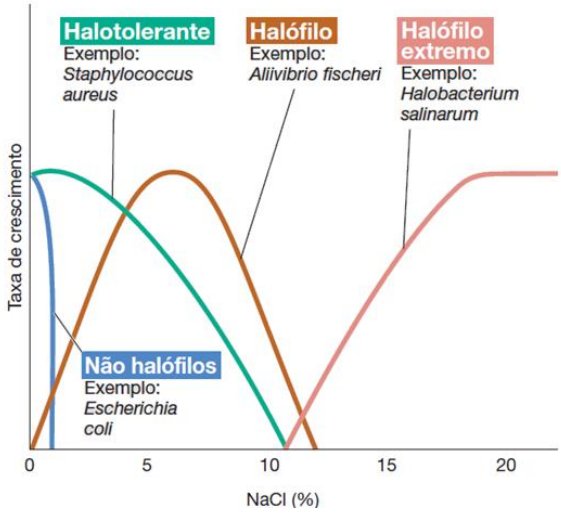
Deterioração Microbiana em Produtos Cárneos Salgados

Por possuir fatores intrínsecos tais como pH favorável, alta atividade de água, elevado teor de nutrientes e não possuir constituintes antimicrobiano, a carne *in natura* é meditada como um excelente meio de cultivo microbiano, divergindo-se das carnes salgadas que a tornam um ambiente pouco propicio para a proliferação microbiana por possuir barreiras como a alta concentração de sal, assim apenas organismos considerados extremófilos, com afinidade salina, consegue prosperar nesse habitat (Franco e Landgraf, 2008; Lee, 2013).

Organismos extremófilos são aqueles que vivem em ambientes com condições extremas de pH (>pH 8,5, <pH 5,0 5,0<pH<8,0), temperatura (>45 °C, <15 °C15<°C<45), pressão (>500 atmosferas), em altas concentrações de metais pesados e compostos recalcitrantes e salinidade (>58,4 g L^{-1} de NaCl). Por suportarem essas condições são considerados produtores de biomoléculas de potencial biotecnológico devido a sua estratégia de adaptação e a capacidade de biossíntese de diversos metabólitos (De Carvalho e Fernandes, 2010).

Os halófilos são classificados em três categorias, quanto a concentração ótima de NaCl que necessitam para o seu crescimento, os não halófilos tem crescimento ótimo em menos de 1% (0,2 Mmol. L^{-1}) de NaCl, halotolerantes com crescimento ótimo a 1-3% (0,2-0,5 Mmol. L^{-1}) de NaCl, halofílicos com crescimento ótimo a 3-15% (0,5-2,5 Mmol. L^{-1}) de NaCl e os halófilos extremos com crescimento ótimo a 15-30% (2,5-5,2 Mmol. L^{-1}) de NaCl. Os procariotos pertencentes ao domínio bactéria e archaea são relatados como os principais organismos com afinidade ao NaCl (Amoozegar et al., 2017).

Segundo Lorentzen et al. (2015), no sal para uso alimentar pode haver a existência de microrganismos viáveis, onde Petter (1931) utilizou o sal de qualidade alimentar da Trapani, Sicília (Itália), sendo o primeiro produto alimentar a partir do qual um membro da família Halobacteriaceae foi isolado, conhecido originalmente como *Halorubrum trapanicum*. Alguns exemplos de microrganismos em relação à salinidade tolerada podem ser vistos na Figura 1.



Fonte: Madigan et al. (2016).

Figura 1 - Taxa de crescimento de microrganismos em relação à salinidade.

Alimentos elaborados com altas concentrações de sal se tornam um ambiente propício para o desenvolvimento de organismos halófilos, visto que archaea extremamente halófilas são onipresentes na natureza onde a presença de NaCl é alta, como em lago salinos, salinas e alimentos salgados. Assim quando o sal não estéril é utilizado para conservar produtos alimentícios, a contaminação por microrganismos halófilos é inevitável e assim podem ocasionar diversos problemas de deterioração como em carnes salgadas e produtos pesqueiros. Essa deterioração é conhecida e caracterizada pelo aparecimento de

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

colônias pigmentadas de vermelho à rosa e por serem fortemente proteolíticas produzindo odores e aromas nesses produtos (Moschetti et al., 2006).

O autor supracitado elucida que na maior parte dos estudos está voltado com o envolvimento desses microrganismos na deterioração de carnes salgadas e produtos pesqueiros, mas estudos sistemáticos sobre a ocorrência de tais microrganismos em ecossistemas alimentares são raramente encontrados. Como é observado o frequente isolamento de cepas da família Halobacteriaceae, mas seu papel na salga destes produtos ainda é pouco investigado.

Segundo Akpolat et al. (2015), a coloração vermelha em produtos alimentícios salgados vem chamando à atenção desde 1880, onde manchas em bacalhau salgado, couro salgado e peixe salgado já era examinados, e devido ao seu valor comercial alguns cientistas propuseram a estudar a causa, efeito e prevenção do vermelhão nesses produtos que são comumente observados na porção exposta ao oxigênio e podendo variar a coloração, como manchas vermelhas brilhantes, marrom-alaranjadas, violeta-azuladas, manchas extensas e estrias, presentes em áreas geralmente úmidas e pegajosas. A Figura 2 apresenta a contaminação de organismos halófilos pigmentados de vermelho em charque.

Figura 2 - Charque bovino em estado de deterioração ocasionado por microrganismos halófilos.

Diversos procariotos halófilos veem sendo descoberto após a evolução da filogenética, aumentando continuamente o número de gêneros e espécies conhecidos tanto no domínio bactéria quanto no archaea. A maior parte são as archaeas que são altamente halofílicas necessitando de 1,5 M a 2,5 M de NaCl para seu desenvolvimento (Lee, 2013; Amoozegar et al., 2017).

A descoberta e as ideias propostas por Woese et al. (1990), dos três domínios, fizeram com que o domínio archaea se tornasse um campo de pesquisa fascinante para microbiologia moderna pela sua peculiaridade metabólica e de sobrevivência, atrelada ao dificultoso trabalho em cultivar archaea em laboratório. Antimicrobianos, enzimas, pigmentos solutos compatíveis e lipídeos estáveis podem ser fornecidos por esses archaea halófilos e podem apresentar potencial biotecnológico (Brochier-Armanet, 2011; Quadri et al., 2016).

Domínio Archaea

Um novo tipo de organismo celular procarioto foi encontrado no final da década de 1970. O fato espantoso foi descobrir que sua parede celular se diferenciava das demais bactérias por não conter peptideoglicano, como também eles não compartilhavam inúmeras sequencias de rRNA as quais eram sequencias diferentes do domínio bactéria e dos eucariotos. Com essas novas descobertas significativas, os cientistas propuseram a criação de um novo domínio para incluir esses novos organismos em grupos taxonômicos semelhantes, criando o Domínio Archaea (Tortora et al., 2017).

Domínio Archaea, do grego significa antigo, primitivo, são células procarióticas, com predominância de lipídios na membrana, diéteres de glicerol isoprenóide ou tetraéteres de diglicerol, com ribossomos contendo um tipo de archaeal de rRNA, diferenciando-se quando comparadas ao domínio bactéria em relação as características moleculares, fisiológicas e estruturais (Woese et al., 1990).

Nas primeiras tentativas em caracterizar as descobertas sobre o domínio archaea, erroneamente foram denominados de ancestrais das bactérias (reino Archaeabacteria), entretanto ao logo da evolução da biologia celular e molecular e com a descoberta de características peculiares e exclusivas foi evidenciado que as archaea compartilham um ancestral comum entre Eucarya e a Bacteria (Pires, 2012). A Figura 3 apresenta um esquema da árvore filogenética universal dos três domínios proposta na década de 1990.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

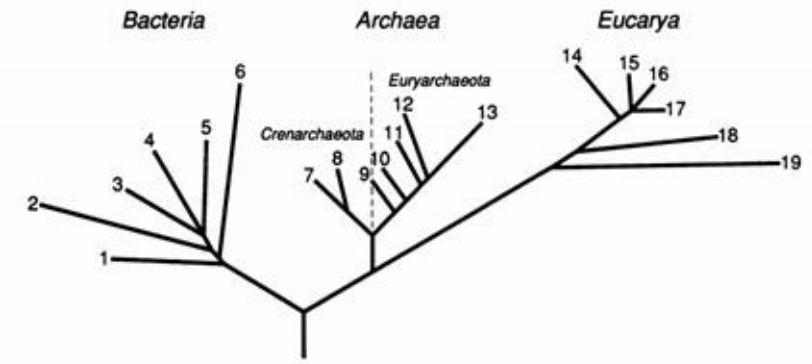


Figura 3 - Árvore filogenética universal na forma enraizada dos três domínios primeiramente proposta por Woese et al. (1990)

Segundo Madigan et al. (2016), a cerca de 2,8 bilhões de anos, ocorreu uma bifurcação, quando archaea e eukarya divergiram como domínios distintos e assim mediante a evolução das linhagens diversas características biológicas fixaram-se especificadamente em cada grupo originando diferenças genéticas entre os três domínios. Apesar de mais de 4 bilhões de anos de evolução, hoje evidencia-se a semelhança celular entre os domínios, mas por outro lado têm histórias evolutivas distintas e próprias.

As archaea apresentam características metabólicas extraordinárias e filogenia particular, sendo considerados únicos a sobreviverem em condições extremas de temperatura, pH, osmolaridade e outros, assim por apresentar determinadas funções de organização do genoma, expressão gênica, composição celular e filogenia são organismos evolutivamente distintos das demais bactérias do domínio Bactéria (Paixão et al., 2015). A Tabela 1 apresenta as principais características celulares dos três domínios.

Tabela 1 - Diferenças celulares entre os três domínios

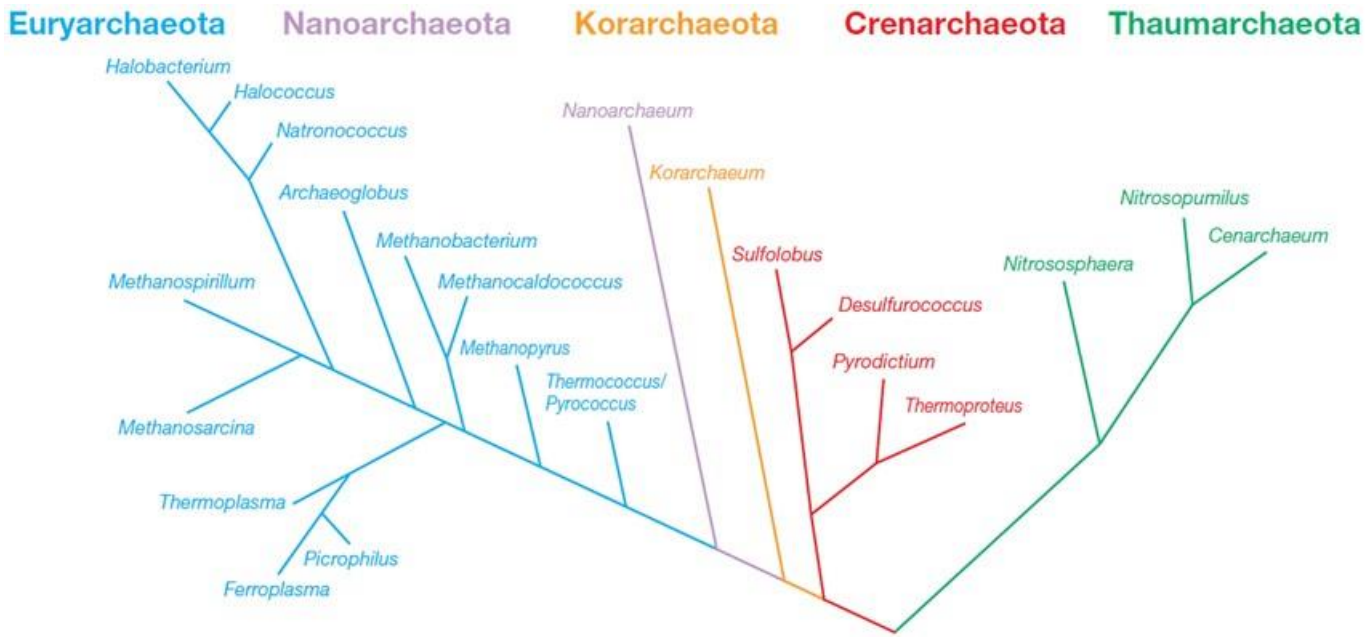
Características	Núcleo	Parede celular	Lipídeos membrana	Cromossomos	Plasmídeos	Ribossomos
Bactéria	Não	Pepitideoglicano	Ligação éter	Circular	sim	70 S
Archaea	Não	Não contém peptideoglicano	Ligação éter	Circular	Sim	70 S
Eukarya	Sim	Varia na composi-ção; contém carboidratos.	Ligação éter	Linear	Não	80 S

Fonte: Adaptado de Madigan, et al. (2016)

Os microrganismos pertencentes ao domínio archaea são comumente encontradas em ambientes extremos, por isso, de modo geral são classificadas em três grupos principais por suas características peculiares: os halofílicos são aqueles que sobrevivem em ambientes onde as concentrações de NaCl são altas, os metanogênicos produzem metano como resultado da respiração, e por fim os termofílicos (*termo* = quente), organismos que suportam sobreviver em águas sulfurosas e quentes. Apesar de serem microrganismos extemófilos até o momento não foi relatado espécie que cause nenhuma patologia aos humanos (Tortora et al., 2017).

Quando propôs o domínio archaea Woese et al. (1990) sugeriram a divisão desse domínio em dois filos, Euryarchaeota e Crenarchaeota, mas com o advento da ciência atualmente os organismos desse domínio são classificados dentre os filos o Euryarchaeota, Crenarchaeota e os novos, Thaumarchaeota (Brochier-Armanet et al., 2008), Korarchaeota (Barns et al., 1996; Elkins et al., 2008) e Nanoarchaeota (Hohn et al., 2002). Com isso periodicamente novos organismos veem sendo descobertos e incluídos a um desses filos a partir da análise filogenética moleculares. Vale ressaltar que os filos Euryarchaeota e Crenarchaeota são aqueles onde ocorre a maioria das espécies descritas e estudadas, enquanto apenas algumas espécies nos filos Nanoarchaeota, Korarchaeota e Thaumarchaeota. A Figura 4 apresenta uma atual árvore filogenética do domínio archaea baseada na comparação das sequências de proteínas ribossomais (Madigan et al., 2016).

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes



Fonte: Madigan et al. (2016)

Figura 4 - Árvore filogenética detalhada de Archaea, baseada na comparação de proteínas ribossomais provenientes de genomas sequenciados.

Os filos Korarchaeota e Nanoarchaeota são representados por uma única espécie conhecida de cada (Madigan et al., 2016). O filo Korarchaeota foi proposto por Barns *et al.* (1996) após uma análise filogenética de sequências de RNA ribossomal obtidas de um organismo não cultivado de uma fonte termal no Parque Nacional de Yellowstone (EUA), onde seus resultados revelou um novo grupo de archaea, que pode ter divergido antes da divisão das linhagens de Crenarchaeota e Euryarchaeota. Elkins et al. (2008) relatam primeiramente a caracterização de um membro da Korarchaeota com o nome proposto *Candidatus Korarchaeum cryptofilum*, que exibe uma morfologia filamentosa ultrafina anaeróbios hipertermofílicos. Até o momento, membros desse filo foram encontrados apenas em ambientes com altas temperaturas como fontes termais terrestres.

O Nanoarchaeota que inicialmente foi relatado pela primeira vez por Hohn et al. (2002), como um único organismo simbionte ou parasita obrigatório (de genoma altamente reduzido, e capacidade biosintética reduzida) tendo como hospedeiro um organismo do filo Crenarchaeota hipertermofílico marinho o *Ignicoccus hospitalis*. Segundo Munson-Mcgee et al. (2015), a inclusão desse novo filo foi parcialmente aceita e relatam no seu manuscrito que os organismos do filo Nanoarchaeota habitam diferentes ambientes além das fontes termais marinhas, onde outros autores expõem a evidência deste filo em fontes termais terrestres e ambientes hipersalinos mesófilos.

Já o Filo Thaumarchaeota (Brochier-Armanet et al., 2008), os organismos estão presentes em águas marinhas e doces, solos e ambientes quentes, e tiveram bastante atenção após a descoberta de que alguns deles são capazes de oxidar aerobiamente a amônia demostrando ser o primeiro organismos do domínio archaea no processo de nitrificação, habilidade anteriormente restrita e conhecida a algumas linhagens proteobacterianas, como principal gênero tem-se o *Nitrosopumilus*, *Nitrososphaera* (Brochier-Armanet et al., 2012).

Os microrganismos pertencentes ao filo Crenarchaeota são extemófilos e são caracterizados por incluir espécies com temperaturas ótimas de crescimento próximo a 100 ºC, os hipertermófilos, que podem ser quimiolitotróficos e autotróficos, sem nenhum fototrófico. São capazes de metabolizar o enxofre e viverem em ambientes tanto alcalinos ou ácidos, entretanto a maioria vive em ambientes neutros ou moderadamente ácidos como os gêneros *Sulfolobus* e *Acidianus.* Por fim, tem-se o filo com maior quantidade de organismos conhecidos, e englobam indivíduos fenotipicamente heterogêneos, o filo Euryarchoaeota que consiste em um grupo diverso onde acomoda organismos hipertermófilos *Thermococcus* e *Pyrococcus*, o metanogênico hipertermófilo *Methanopyrus* e *Thermoplasma*, um organismo desprovido de parede celular, fenotipicamente similar aos micoplasmas, como

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

também archaeas extremamente halófilas, que crescem bem em altas concentrações de sal (Woese et al., 1990; DeLong, 1992; Madigan et al., 2016).

Archaea Halófilas Extremofilas

A habilidade de habitarem ambientes com altas concentrações de NaCl é visto em organismos membros do domínio Bactéria como também da Archaea, e são distinguidos como "halobacteria" e "haloarchaea" (Krzmarzick et al., 2018). Logo ambientes hipersalinos são habitats colonizados por uma diversidade microbiana em função de fatores ambientais, incluindo a concentração de sal. Podem existir em lagoas, bacias submarinas, desertos de sal, e em salinas solares construídas pelo homem para a exploração comercial de sal (Ghanmi et al., 2020).

Pertencente ao filo Euryarchoaeota as archaeas halófilas foram descritas primeiramente como *Halobacterium*, esse termo foi utilizado anteriormente ao descobrimento das archaea, assim além do termo haloarchaea, essas archaea são comumente denominadas "halobactérias", gênero este bem mais estudado dentre o domínio. Eles estão incluídos na classe Halobacteria, dividida em três ordens: *Halobacteriales*, *Haloferacales* e *Natrialbales*, e uma das espécies mais estudadas é *Halobacterium salinarum* e é usada como modelo em vários estudos de archaea (Gupta et al., 2015). Os gêneros *Natribaculum*, *Halosiccatus*, *Halocalculus* e *Halovarius* ainda não foram categorizados de acordo com os marcadores filogenéticos (Amoozegar et al., 2017). Na Tabela 2 são descritos a ordem, família e principais gêneros da classe Halobacteria atualmente conhecidos.

Tabela 2 - Principais gêneros pertencentes à classe Halobacteria

Classe:	Ordem	Família	Gênero
Halobacteria	Halobacteriales	Halobacteriaceae	*Halobacterium*
		Haloarculaceae	*Haloarcula*
		Halococcaceae	*Halococcus*
	Haloferacales	Haloferacaceae	*Haloferax*
		Halorubraceae	*Halorubrum*
	Natrialbales	Natrialbaceae	*Natrialba*

Fonte: Adaptado: Gupta et al. (2015) e Euzéby (2021)

Os halófilos extremos são aqueles adaptados às altas concentrações de sal, denominados halófilos obrigatórios, pois só se desenvolve em elevadas concentrações de sal. Esses organismos requerem concentrações de no mínimo 1,5 Mmol L^{-1} (9%), mas em concentrações de 2 a 4 Mmol L^{-1} de NaCl (12-23%) são valores ótimos para seu crescimento, entretanto algumas espécies são capazes de crescer em 5,5 Mmol L^{-1} de NaCl (Madigan et al., 2016).

A desidratação e o estresse osmótico são os principais desafios para microrganismos halófilos extremos, entretanto sua adaptação ocorre pelas proteínas permanentemente expostas à baixa atividade de água e com condições iônicas extremas. Os halófilos extremos têm uma elevada concentração intracelular de sais (KCl), tão alta quanto a concentração de NaCl no seu habitat, tal fato previne a desidratação e mantem o equilíbrio osmótico ao seu redor. Assim , as adaptações bioquímicas das proteínas da membrana dos halófilos extremos são adaptadas para suportar altas concentrações salina, influenciando diretamente os mecanismos de resistência a diferentes efeitos deletérios encontrado nesses ambientes salinos (Oren, 2014).

A elevada concentração de NaCl e sais de magnésio é muito importante para desenvolvimento e manutenção celular. Quando ocorre a redução nas concentrações menor que 2 mol L^{-1} ocorre o processo de lise celular que é a destruição ou dissolução da celular por ruptura da membrana plasmática. Dessa forma, as altas concentrações intracelulares de K^+ são mantidas pela célula (4 mol L^{-1}) o qual é análogo à concentração de Na^+ que exerce uma função importante na manutenção do equilíbrio osmótico. Nesses organismos as proteínas e ribossomos são estabilizados pelo bombeamento de K^+ do meio extracelular para o citoplasma, diferentemente do que ocorrem em organismos não halófilos por não exigir K^+ para estabilizar o ribossomo, e possivelmente ocorrer à agregação de proteínas, precipitação e desnaturação quando submetidos a altas condições salinas (Klein et al., 2005; Falb et al., 2008; Madigan et al., 2016).

Haloarchaea exibe enorme diversidade em termos de sua morfologia, fisiologia e outras características, são relatados como bastonetes no gênero *Halobacterium*, cocos em *Halococcus*, discos achatados no *Haloferax* e outras formas que variam de triângulos achatados em *Haloarcula* a quadrados em *Haloquadratum* e *Natronorubrum*.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

Seu habitat pode variar de alcalifílicos a acidofílicos e ou psicrotolerantes e eles podem ser móveis ou não móveis, e ser Gram-negativos ou Gram-positivos. Metabolicamente são, em sua maioria, aeróbios obrigatórios e quimioheterotróficos oxidando compostos como ácidos carboxílicos, açúcares, álcoois e aminoácidos, mas existem espécies autotróficas fotossintéticos providos de bacteriorodopsina, uma proteína da membrana pigmentada, que age como uma bomba de prótons acionada pela luz como a espécie *Halobacterium salinarum* (Oesterhelt e Krippahl, 1983; Grant et al., 2001; Oren, 2002).

Em relação à temperatura ótima de crescimento diversos autores como Lee (2013), Cui et al. (2017) e Sahli et al. (2020) relatam a temperatura de 37 a 42 °C, podendo variar de 20 a 56 °C em algumas espécies segundo Amoozegar et al. (2017).

A parede celular das haloarchaea é constituída por subunidades de glicoproteínas, em vez de peptidoglicano que é característico das bactérias, entretanto alguns organismos podem ter parede celulares quimicamente constituída por polissacarídeos complexos ou por unidades repetidas de L-glutamina e por essas diferenças podem exibir coloração Gram-negativa (a maioria), mas essa coloração é variável em algumas espécies (Grant et al., 2001; Oren, 2006; Guan et al., 2012). A Figura 5 apresenta a microscopia de algumas espécies de Haloarchaea.

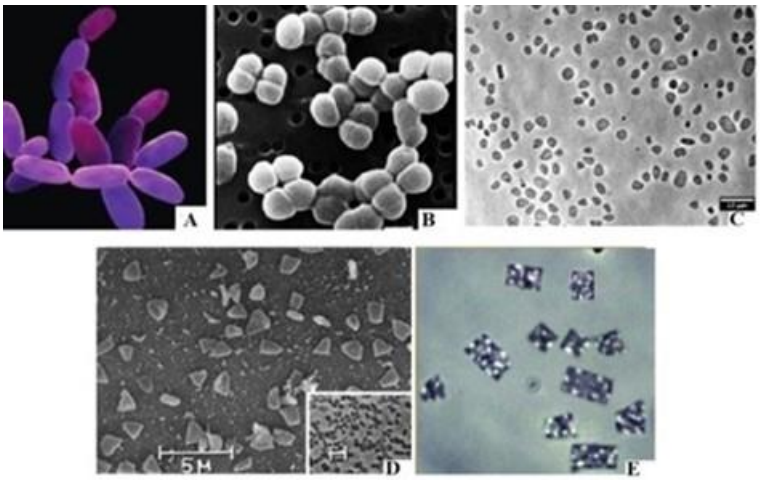


Figura 5 - Micrografia de Haloarchaea. (A) *Halobacterium salinarum*, (B) *Halococcus*, (C) *Haloferax*, (D) *Haloarcula* e (E) *Haloquadratum walsbii*.

Fonte: (A) Disponível em: <https://sites.google.com/site/groupaprokaryoticdiversity/home/halobacterium-salinarum>. Acesso em 02 ago. 2021. (B) Namwong et al., (2007). (C) Disponível em: <https://alchetron.com/Haloferax>. Acesso em 02 ago. 2021. (D) Oren et al., (1999). (E) Disponível em <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Haloquadra>. Acesso em 02 ago. 2021.

Há mais de 100 anos os membros dessa classe foram identificados, pois habitam em ambientes aquáticos, e em alguns alimentos salgados de origem animal, e com resultado da colonização apresentam coloração que pode variar entre vermelho, rosa e roxa (Capes et al., 2012). A coloração vermelha dos lagos hipersalinos (Figura 6) como o lago Hillier na Austrália (A), Masazirgol no Azerbaijão (B), Salinas de Torrevieja na Espanha (C) é devido à abundância de pigmentos carotenóides encontrados nas membranas celulares das halobactérias (Oren, 1994).

Figura 6 – Exemplos naturais de ambientes hipersalinos colonizados por haloarchaeas.

Fonte: (A) Disponível em: < https://rotasdeviagem.com.br/descubra-o-lago-hillier-uma-surpresa-da-natureza-no-oeste-da-australia/>. Acesso em 02 ago. 2021. (B) Disponível em: < https://glamurama.uol.com.br/sete-impressionantes-lagos-cor-de-rosa-que-parecem-coisa-de-outro-planeta/>. Acesso em 02 ago. 2021. (C) Disponível em <https://www.tripadvisor.com.br/ShowUserReviews-g187527-d3500008-r317182394-Las_Salinas_de_Torrevieja-Torrevieja_Costa_Blanca_Province_of_Alicante_Valencian.html >. Acesso em 02 ago. 2021.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

Diversos pigmentos estão presentes em plantas, algas e microrganismos, como os carotenoides (pigmentos de cores amarela, laranja e vermelha), que são obtidos por via biossintética dos terpenos e diferenciados de acordo com o número de estruturas de carbono (C_{30}, C_{40} e C_{50}). Nas haloarchaea esses pigmentos estão presentes sendo expressas na cor rosa ou vermelho por razão da alta produção de carotenóides C_{50}, com bacterioruberina (BR) e seus precursores - monoanidrobacterioruberina (MABR), bisanidrobacterioruberina (BABR) e 2-isopentenil-3,4-desidrorodopsina (IDR) (Borowitzka, 2010; Tobias e Arnold, 2006; Yatsunami et al., 2014).

Os carotenoides são produzidos como metabólico secundário pela haloarchaea e apresenta função biológica de reforço e rigidez a membrana celular, proteção ao DNA contra alta incidência de luz (protetores contra os danos da radiação ultravioleta) e ainda diminui a permeabilidade à água nas células desses organismos (Hwang et al., 2021).

Ghanmi et al. (2020), relatam que as haloarchaeas produzem compostos antimicrobianos, entre os quais peptídeos antimicrobianos chamados halocinas.

Em comparação com outros microrganismos, as haloarchaea representam a menor parte dos estudos, são pouco difundidas, mas podem trazer avanços industriais favoráveis. Deste modo a partir da década de 1990 diversos estudiosos centralizam suas pesquisas na produção de carotenoides, degradação de hidrocarbonetos, potencial na produção de enzimas hidrolíticas, potencial em processos de biorremediação, estudo da biodiversidade das comunidades microbianas aquáticas e de solo, e sua relação como contaminante em produtos cárneos salgados e suas medidas de controle (Moschetti et al., 2006; Lee, 2013; Krzmarzick et al., 2018).

Medidas de Controle

A deterioração de produtos alimentícios pode ocorrer por alterações físicas, químicas e microbiológicas. As alterações microbiológicas são aqueles onde microrganismos colonizam o alimento e alteram suas características, texturas, aromas, sabor, podendo ocasionar patologia aos humanos (Franco e Landgraf, 2008).

A conservação de carne por salga originou-se desde os primórdios e vem sendo utilizada até hoje principalmente em produtos regionais brasileiros como o *jerked Beef*, a carne de sol e o charque juntamente com alternativas para aumentar a vida de prateleira destes produtos (Ishihara e Madruga, 2013).

Os métodos físicos (calor, frio, embalagens com atmosfera modificada - EAM) e químicos (aditivos alimentares) de preservação têm como finalidade principal a inibição da deterioração microbiana como também minimizar as alterações sensoriais e química (Zhou et al., 2010).

Mantilla et al. (2010) reportam que tradicionalmente esses produtos além de contar com barreiras como salga e dessecação utilizam também a EAM como a embalagem a vácuo que reduz o nível de O_2 para menos de 1%, impedindo o crescimento de aeróbios deteriorantes como as archaea halófilas. Entretanto um produto embalado a vácuo que porventura sofra alguma ação mecânica ocasionando perfurações na embalagem, a proliferação microbiana poderá ocorrer pelo aumento das concentrações de O_2.

Assim, apesar das técnicas de conservação disponíveis utilizadas, a segurança microbiológica ainda é uma preocupação, causando assim um incentivo à busca de novas técnicas, processos e substâncias (como aditivos) para garantir a inocuidade (Hayouni et al., 2008).

Para charque, além das barreiras de salga, dessecação e embalagem a vácuo uma nova barreira ficou autorizado que é a utilização de aditivos intencionais com acidulante pela sua Instrução Normativa Nº 92, de 18 de setembro de 2020, que até então era proibido o uso. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 272, de 14 de março de 2019 para industrializados secos são permitidos o uso de acidulantes ácido lático, ácido cítrico e glucono-delta-lactona tendo como limite máximo *quantum satis*.

O ácido lático, é um produto natural de uso industrial obtido como produto resultante do metabolismo de microrganismos, um ácido orgânico fraco de ação antimicrobiana (reduzir o pH do meio), antioxidante que aumenta a vida de prateleira por proporcionar estabilidade sensorial dos produtos (Campêlo, 2016). O ácido cítrico é outro ácido orgânico fraco encontrado nos citrinos principalmente no limão e laranja, sua acidez é devido à presença de três grupos carboxílicos que em soluções perdem prótons formando-se o íon citrato, considerado um bom controlador de pH em soluções ácidas. Para uso industrial sua obtenção se dá por fermentação fúngica aeróbica (Freiberger, 2016). O acidulante glucono-delta-lactona (GDL) é obtido em condições naturais a partir do mel, uva e outras frutas de sabor adocicado encontrado em estado sólido cristalino que em contato com a água converte-se em ácido glucônico promovendo a redução do pH, sendo bastante utilizado em produtos cárneos (Soltoft-Jensen e Hansen, 2005).

Assim o estudo da utilização de ácidos orgânicos em produtos cárneos salgados, como antimicrobianos veem sendo largamente

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

pesquisado com o intuito de inibir a presença de deteriorantes e patogênicos é consequentemente aumentar a vida de prateleira dos produtos (Lin et al., 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos envolvendo archaeas halófilas vem ocorrendo principalmente nas áreas ecológica e ambiental, mas novas espécies estão sendo descoberta a partir de alimentos salgados como também a recente descoberta da sua inter-relação com a vida humana, entretanto os relatos das relações entre archaea em alimentos e humanos ainda são escassos devido à falta de interesse dos pesquisadores no isolamento desses organismos peculiares. Técnicas de cultivo para archaeas halofílicas devem ser mais desenvolvidas principalmente por métodos dependentes de cultura pura em vez de descobertas de DNA através de métodos independentes da cultura, pois o sucesso em cultivo acarretara no melhor entendimento para compreensão dos mecanismos de adaptação desses microrganismos, além de utiliza-las para produção de enzimas, substâncias para a indústria de alimentos, e conhecimento nas medidas de controles para inibir a contaminação em produtos cárneos salgados desde a elaboração até o produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aiura FS, Carvalho MRB, Viegas EMM, Kirschnik PG, Lima TMA. Conservação de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em salga seca e salga úmida. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.60, p.1531-1537, 2008.

Akpolat C, Ventosa A, Birbir M, Sanchez-Porro C, Caglayan P. Molecular identification of moderately halophilic bacteria and extremely halophilic archaea isolated from salted sheep skins containing red and yellow discolorations. Journal of the American Leather Chemists Association, v. 110, no. 07, p. 211–226, 2015.

Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H, Ventosa A. Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. Microbiology, v.163, n.5, p.623–645, 2017. https://doi.org/10.1099/mic.0.000463

Armenteros, M.; Aristoy, M.C.; Barat, J.M.; Toldrá, F. Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts, Meat Science, v. 90, p. 361–367, 2012.

Aykın-Dinçer E, Erbaş M. Drying kinetics, adsorption isotherms and quality characteristics of vacuum-dried beef slices with different salt contents. Meat Science, v.145, p.114–120, 2018. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.007

Barns SM, Delwiche CF, Palmer JD, Pace NR. Perspectives on archaeal diversity, thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.93, n.17, p.9188–9193, 1996. https://doi.org/10.1073/pnas.93.17.9188

Borowitzka MA. Carotenoid Production Using Microorganisms. Single Cell Oils: Microbial and Algal Oils: Second Edition, p.225–240, 2010. https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-73-8.50015-3

Brasil. Instrução Normativa Nº 92, de 18 de setembro de 2020. Dispõe Sobre a Identidade e os Requisitos de Qualidade do Charque, da Carne Salgada Curada Dessecada, do Miúdo Salgado Dessecado e do Miúdo Salgado Curado Dessecado. 2020. Disponível em https://in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normatia-n-92-de-18-de-setembro-de-2020-278692460. Acesso em 03 ago. 2021.

Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, Forterre P. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. Nature Reviews Microbiology 2008 6:3, v.6, n.3, p.245–252, 2008. https://doi.org/10.1038/nrmicro1852

Brochier-Armanet C, Gribaldo S, Forterre P. Spotlight on the Thaumarchaeota. The ISME Journal. v.6, n.2, p.227–230, 2012. https://doi.org/10.1038/ismej.2011.145

Brochier-Armanet C, Forterre P, Gribaldo S. Phylogeny and evolution of the Archaea: one hundred genomes later. Current Opinion in Microbiology, v.14, n.3, p.274–281, 2011. https://doi.org/10.1016/J.MIB.2011.04.015

Campêlo MC. S Uso de conservadores naturais na elaboração de carne de sol com teores reduzidos de cloreto de sódio. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.

Capes MD, Dassarma P, Dassarma S. The core and unique proteins of haloarchaea. BMC genomics, v.13, n.1, p.1-12, 2012. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-39

Cui HL, Lü ZZ, Li Y, Zhou Y. *Salinirussus salinus* gen. nov., sp. nov., isolated from a marine solar saltern. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.67, n.9, p.3622-3626, 2017. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002182

De Carvalho CCCR, Fernandes P. Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment. Marine Drugs, v.8, n.3, p.705–727, 2010. https://doi.org/10.3390/md8030705

DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.89, n.12, p.5685–5689, 1992. https://doi.org/10.1073/PNAS.89.12.5685

Elkins JG, Podar M, Graham DE, Makarova KS, Wolf Y, Randau L, Hedlund BP, Brochier-Armanet C, Kunin V, Anderson I, Lapidus A, Goltsman E, Barry K, Koonin E, Hugenholtz P, Kyrpides N, Wanner G, Richardson P, Keller M, Stetter KO. A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.105, n.23, p.8102–8107, 2008. https://doi.org/10.1073/PNAS.0801980105

Enquahone S et al. Molecular identification and evaluation of the impact of red heat damage causing halophilic microbes on salted hide and skin. International Biodeterioration & Biodegradation, v.150, p.104940, 2020.

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

Euzéby JP. LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em: https://lpsn.dsmz.de/. Acesso em 23 de junho de 2021

Falb M, Müller K, Königsmaier L, Oberwinkler T, Horn P, von Gronau S, Gonzalez O, Pfeiffer F, Bornberg-Bauer E, Oesterhelt D. Metabolism of halophilic archaea. Extremophiles 2008 12:2, v.12, n.2, p.177–196, 2008. https://doi.org/10.1007/S00792-008-0138-X

Franco BDG, Landgraf M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 182p. 2008.

Freiberger RCDP. Utilização de ácidos orgânicos como conservantes em linguiças curadas cozidas embaladas a vácuo. Ano de obtenção: 2016. 77 p. Dissertação (mestrado Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

Garcia CER, Bolognesi VJ, Shimokomaki M. Aplicações tecnológicas e alternativas para redução do cloreto de sódio em produtos cárneos. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v.31, n.1, p.139–150, 2013. https://doi.org/10.5380/CEP.V31I1.32715

Ghanmi F, Carré-Mlouka A, Zarai Z, Mejdoub H, Peduzzi J, Maalej S, Rebuffat S. The extremely halophilic archaeon *Halobacterium salinarum* ETD5 from the solar saltern of Sfax (Tunisia) produces multiple halocins. Research in Microbiology, v.171, n.2, p.80–90, 2020. https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2019.09.003

Grant WD. Class III. Halobacteria class nov. Bergey's manual of systematic bacteriology, v.1, p.294-301, 2001

Guan Z, Naparstek S, Calo D, Eichler J. Protein glycosylation as an adaptive response in Archaea: growth at different salt concentrations leads to alterations in Haloferax volcanii S-layer glycoprotein N-glycosylation. Environmental microbiology, v.14, n.3, p.743-753, 2012. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02625.x

Gupta RS, Naushad S, Baker S. Phylogenomic analyses and molecular signatures for the class Halobacteria and its two major clades: a proposal for division of the class Halobacteria into an emended order Halobacteriales and two new orders, Haloferacales ord. nov. and Natrialbales ord. nov., containing the novel families Haloferacaceae fam. nov. and Natrialbaceae fam. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.65, p.1050–1069, 2015. https://doi.org/10.1099/IJS.0.070136-0

Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau J. Y, Mohammed H, Hamdi M. Tunisian. *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology, v.125, n.3, p.242–251, 2008. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2008.04.005

Hohn MJ, Hedlund BP, Huber H. Detection of 16S rDNA sequences representing the novel phylum "Nanoarchaeota": Indication for a wide distribution in high temperature biotopes. Systematic and Applied Microbiology, v.25, n.4, p.551–554, 2002. https://doi.org/10.1078/07232020260517698

Hwang CY, Cho ES, Yoon DJ, Seo MJ. (*Halobellus ruber* sp. nov., a deep red-pigmented extremely halophilic archaeon isolated from a Korean solar saltern. Antonie van Leeuwenhoek 2021 114:7, v.114, n.7, p.997–1011, 2021. https://doi.org/10.1007/S10482-021-01571-1

Ishihara YM, Madruga MS. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. Semina: Ciências Agrárias, v.34, n.2, p.3721–3737, 2013. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3721

Klein C, Garcia-Rizo C, Bisle B, Scheffer B, Zischka H, Pfeiffer F, Siedler F, Oesterhelt D. The membrane proteome of *Halobacterium salinarum*. Proteomics, v.5, n.1, p.180–197, 2005. https://doi.org/10.1002/PMIC.200400943

Krzmarzick MJ, Taylor DK, Fu X, McCutchan AL. Diversity and niche of archaea in bioremediation. Archaea, v.2018, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/3194108

Lee HS. Diversity of Halophilic Archaea in Fermented Foods and Human Intestines and Their Application. Journal of Microbiology and Biotechnology, v.23, n.12, p.1645–1653, 2013. https://doi.org/10.4014/JMB.1308.08015

Lin L, Hu JY, Wu Y, Chen M, Ou J, Yan WL. Assessment of the inhibitory effects of sodium nitrite, nisin, potassium sorbate, and sodium lactate on *Staphylococcus aureus* growth and *Staphylococcal enterotoxin* a production in cooked pork sausage using a predictive growth model. Food Science and Human Wellness, v.7, n.1, p.83–90, 2018. https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2017.12.003

Lorentzen G, Wesmajervi Breiland MS, Østli J, Wang-Andersen J, Olsen RL. Growth of halophilic microorganisms and histamine content in dried salt-cured cod (*Gadus morhua* L.) stored at elevated temperature. LWT - Food Science and Technology, v.60, n.1, p.598-602, 2015. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.08.035

Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. Microbiologia de Brock: Artmed. 1006p. 2016.

Mantilla SPS, Mano SB, de Carvalho Vital H, Franco RM. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. Revista Acadêmica Ciência Animal, v.8, n.4, p.437-448, 2010. http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v8i4.11000

Moschetti G, Aponte M, Blaiotta G, Casaburi A, Chiurazzi M, Ventorino V, Villani F. Characterization of halophilic Archaea isolated from different hypersaline ecosystems. Annals of Microbiology, v.56, n.2, p.119–127, 2006. https://doi.org/10.1007/BF03174992

Munson-McGee JH, Field EK, Bateson M, Rooney C, Stepanauskas R, Young MJ. Nanoarchaeota, their Sulfolobales Host, and Nanoarchaeota virus distribution across Yellowstone National Park hot springs. Applied and Environmental Microbiology, v.81, n.22, p.7860-7868, 2015. https://doi.org/10.1128/AEM.01539-15

Nunes ML, Pedro S. Tecnologias tradicionais: Salga do pescado. In: Gonçalves et al. Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. São Paulo: Atheneu, 156-165p. 2011.

Oesterhelt D, Krippahl G. Phototrophic growth of halobacteria and its use for isolation of photosynthetically-deficient mutants. In: Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie. Elsevier Masson, 137-150p. 1983. https://doi.org/10.1016/S0769-2609(83)80101-X

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

Ordoñez JA, Rodrigues MIC, Alvarez LF, Sanz MLG, Miguillon G. Componentes dos Alimentos e Processos-Tecnologia de Alimento. Porto Alegre: Artmed, 294p. 2005.

Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v.28, n.1, p.56-63, 2002. https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000176

Oren A. Taxonomy of halophilic Archaea: current status and future challenges. Extremophiles, v. 18, n. 5, p. 825–834, 2014. https://doi.org/10.1007/S00792-014-0654-9

Oren A. The ecology of the extremely halophilic archaea. FEMS Microbiology Reviews, v.13, n.4, p.415–439, 1994. https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.1994.TB00060.X

Oren A. The order *Halobacteriales*. In The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria, v.3, p.113-164, New York: Springer, 2006.

Paixão GC, Pantoja LDM, Brito EHS, Mourão CI. Desvendando o mundo invisível da microbiologia. 2ª Ed. Fortaleza: EdUECE, 215p. 2015.

Petit T, Caro Y, Petit AS, Santchurn SJ, Collignan A. Physicochemical and microbiological characteristics of biltong, a traditional salted dried meat of South Africa. Meat Science, v.96, n.3, p.1313–1317, 2014. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.11.003

Pires ECC. Riqueza do domínio Archaea no solo do bioma Cerrado. Ano de obtenção: 2012. 83p. Dissertação (Mestrado em Biologia molecular) - Universidade de Brasília, Brasília.

Quadri I, Hassani II, l'Haridon S, Chalopin M, Hacène H, Jebbar M. Characterization and antimicrobial potential of extremely halophilic archaea isolated from hypersaline environments of the *Algerian sahara*. Microbiological Research, v.186-187, p.119–131, 2016. https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2016.04.003

Rebouças L. de OS, Figueiredo JP. do V, Alves VCF, Campêlo MC da S, Oliveira PVC de, Souza JT, Firmino SS, Pereira G da S, Silva JBA, Lima PO. Diferentes processos de salga na qualidade de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Research, Society and Development, v.9, n.10, p. e1029108251, 2020. https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.825

Rios-Mera JD, Selani MM, Patinho I, Saldaña E, Contreras-Castillo CJ. Modification of NaCl structure as a sodium reduction strategy in meat products: An overview. Meat Science, v.174, p. 108417, 2021. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108417

Sahli K, Gomri MA, Esclapez J, Gómez-Villegas P, Ghennai O, Bonete MJ, Kharroub K. Bioprospecting and characterization of pigmented halophilic archaeal strains from Algerian hypersaline environments with analysis of carotenoids produced by Halorubrum sp. BS2. Journal of Basic Microbiology, v.60, n.7, p.624-638, 2020. https://doi.org/10.1002/jobm.202000083

Silva M., Solidônio EG, Vivalvi MCV, Silva GR, Sena KXRF, Colaço W. Efeito da irradiação gama na redução da carga microbiana em Jerked Beef. Scientia Plena, v.9, n.8, p.1-7, 2013.

Søltoft-Jensen J, Hansen F. New Chemical and Biochemical Hurdles. Emerging Technologies for Food Processing, p. 387–416, 2005. https://doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50017-7

Tobias AV, Arnold FH. (Biosynthesis of novel carotenoid families based on unnatural carbon backbones: A model for diversification of natural product pathways. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, v.1761, n.2, p.235–246, 2006. https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2006.01.003

Tortora G, Case C, Funke B. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed, 962p. 2017.

Vidal VAS, Biachi JP, Paglarini CS, Pinton MB, Campagnol PCB, Esmerino EA, da Cruz AG, Morgano MA, Pollonio MAR. Reducing 50% sodium chloride in healthier jerked beef: An efficient design to ensure suitable stability, technological and sensory properties. Meat Science, v.152, p.49–57, 2019. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.02.005

Woese CR., Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.87, n.12, p.4576–4579, 1990. https://doi.org/10.1073/PNAS.87.12.4576

Yatsunami R, Ando A, Yang Y, Takaichi S, Kohno M, Matsumura Y, Ikeda H, Fukui T, Nakasone K, Fujita N, Sekine M, Takashina T, Nakamura S. Identification of carotenoids from the extremely halophilic archaeon Haloarcula japonica. Frontiers in Microbiology, v.5, p.100, 2014. https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00100

Zhao X, Sun Y, Zhou Y. Modeling the NaCl diffusion in beef during brining process. Journal of Food Science, v.85, n.9, p.2852–2856, 2020. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15382

Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. Meat Science, v.86, n.1, p.119-128, 2010. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.04.033

© 2021 Journal of Biotechnology and Biodiversity
ISSN: 2179-4804
DOI: https://doi.org/10.20873/jbb.uft.cemaf.v9n4.guedes

ISSN: 2179-4804

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY AND BIODIVERSITY

JBB

Universidade Federal do Tocantins - Campus de Gurupi
Centro de Monitoramento Ambiental e Manejo do Fogo - CeMAF

CeMAF www.cemaf.org

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS