

DIÁLOGOS & CIÊNCIA

PERIÓDICO MULTIDISCIPLINAR DA REDE FTC

Volume 2 N° 40 Julho/2017 - ISSN 1678-0493

sustentabilidade
tecnologia
inovação
ciência

ALTERAÇÕES POSTURAIS EM CRIANÇAS FREQUENTADORAS DE ESCOLAS MUNICIPAIS DA CIDADE DE SALVADOR – BAHIA

Priscila C. Silva^{1*}, Aline Bomfim², Ângela Sampaio², Denise Mota², Eliana Reis² & Leiliane Pires²

¹Faculdade de Tecnologia e Ciências, Salvador, Bahia.

²Graduando do curso de Fisioterapia da Faculdade de Tecnologia e Ciências, Salvador, Bahia

*E-mail: pris_correia@hotmail.com

Abstract. The body posture consists of the position taken by the body in space with the goal of establishing a balance of anatomical components of the spine. Some postural deviations are proper growth while others is acquired, arising, for example, from sitting for a long time and / or poor posture position in the school environment. It is a descriptive and cross-sectional study aimed to identify the major postural changes in children enrolled in municipal schools in the city of Salvador, aged 8 and 9 years, duly enrolled and without any kind of disability. The participant population consisted of 64 students, where each of these was evaluated in the planes anterior coronal, sagittal and posterior coronal. We used a questionnaire and a postural exam with symmetrograph method based on Kendall. The male population corresponded to 51.56% (33). As the main postural change in each view analyzed, it was found that the head has owned 42.19% of the variances in anterior view, getting the shoulder region with 82.81% of the findings in the side view and the trunk with 42.19% of deviations in the anterior and posterior views. It was concluded that there is a high prevalence of postural changes in students in this age group making necessary an early intervention by the Physiotherapy in schools, thus enabling the non-progression of changes.

Keywords: Child, Posture, Physical Therapy Specialty.

Resumo. A postura corporal consiste na posição adotada pelo corpo no espaço com o objetivo de estabelecer um equilíbrio dos componentes anatômicos da coluna vertebral. Alguns desvios posturais são próprios do crescimento, enquanto outros são adquiridos, decorrentes, por exemplo, da posição sentada por longo tempo e/ou das posturas inadequadas no ambiente escolar. Trata-se de um estudo descritivo e de corte transversal que teve como objetivo identificar as principais alterações posturais em crianças frequentadoras de escolas municipais da cidade de Salvador, com idade entre 8 e 9 anos, devidamente matriculadas e sem nenhum tipo de deficiência. A população participante foi composta por 64 escolares, onde cada um destes foi avaliado nos planos coronal anterior, sagital e coronal posterior, através de um conjunto de instrumento de investigação composto por um questionário e um exame postural com simetrógrafo baseado no método Kendall. A população masculina correspondeu a 51,56% (33). Como principal alteração postural em cada vista analisada, identificou-se que a cabeça possuiu 42,19% dos desvios na vista anterior, ficando a região do ombro com 82,81% dos achados na vista lateral e o tronco com 42,19% de desvios nas vistas anterior e posterior. Concluiu-se que existe uma alta prevalência de alterações posturais em escolares nesta faixa etária fazendo-se necessária uma intervenção precoce por parte da Fisioterapia nas escolas, possibilitando assim a não progressão das alterações.

Palavras-chave: Criança. Postura. Fisioterapia.

1 INTRODUÇÃO

A posição que o corpo adota no espaço, com o objetivo de estabelecer um equilíbrio dos componentes anatômicos da coluna vertebral, é definida como postura corporal. Uma postura adequada é aquela em que o indivíduo está confortável em todos os sentidos físicos, psíquicos e sociais, sendo importante para o bom equilíbrio e exercício das atividades diárias, e pode sofrer influência de hábitos assumidos pelo ser humano, como sedentarismo ou realização de atividades físicas, algumas doenças e ainda outros fatores (NOLL et al., 2011; KENDALL et al., 1995).

No que se refere à comparação da postura em diferentes idades, o alinhamento padrão conferido ao adulto não se aplica às crianças, por diversas razões, mas principalmente porque o indivíduo em desenvolvimento possui uma maior mobilidade e flexibilidade em relação ao indivíduo adulto. É na fase compreendida entre os 7 e 12 anos que a criança está apta a refinar seus controles neuromusculares, o que ajuda na melhor realização das atividades cotidianas. Em virtude das adaptações e mudanças corporais é comum encontrar em crianças alterações posturais no período de crescimento e desenvolvimento (KENDALL et al., 1995; RAPPAPORT et al., 1981-1982; PENHA et al., 2008).

As alterações posturais decorrem da desarmonia na postura da coluna vertebral em virtude da não manutenção da posição adequada do corpo e ocasionam desconforto, dor e/ou incapacidade funcional. Nas crianças, são categorizadas como desvios de desenvolvimento, e se habituais, podem resultar em defeitos posturais. Estes desvios, muitas vezes surgem e desaparecem, ou melhoram sem nenhum tratamento corretivo, mesmo com influências ambientais desfavoráveis. Na criança pequena, a probabilidade de defeitos habituais é menor, sendo desnecessária qualquer medida corretiva que, neste caso, pode ser prejudicial ao seu desenvolvimento (KENDALL et al., 1995).

As forças externas, como o peso da mochila, por exemplo, podem interferir no crescimento, no desenvolvimento e na manutenção do alinhamento corporal, podendo a postura na adolescência, sofrer influências tanto de forças internas como externas. O período de permanência na postura sentada dos escolares, assim como o peso, o modo de transporte e o modelo da mochila são fatores que merecem destaque como causas de alterações posturais e dores da coluna vertebral tanto em crianças como em adolescentes (FERNANDES et al., 2008).

A vulnerabilidade das crianças e adolescentes em relação às alterações posturais no ambiente escolar se deve aos desvios momentâneos do alinhamento corporal e adoção de posturas habituais inadequadas, tornando a escola um ambiente adequado para a realização de

ações de promoção e prevenção da saúde, além daquelas de caráter corretivo, considerando-se o enorme potencial adaptativo das estruturas relacionadas à postura corporal (LAPIERRE, 1982).

A adoção de posturas inadequadas em sala de aula pode levar ao desequilíbrio de grupos musculares e consequentes desvios posturais. Dentre as diversas deformidades instaladas existentes, a escoliose é a alteração de tronco mais comumente encontrada em crianças e adolescentes, sendo a sua origem quase sempre idiopática. (JUNIOR et al, 2011).

Diante do exposto e da escassez de publicações relacionadas a esse contexto na cidade de Salvador – Bahia, além da importância da detecção e da intervenção fisioterapêutica na progressão das possíveis deformidades encontradas, este trabalho teve como objetivo identificar as principais alterações posturais em crianças frequentadoras de escolas municipais de Salvador-BA.

2 MATERIAL & MÉTODOS

O estudo é descritivo e de corte transversal, onde participaram alunos do ensino fundamental, devidamente matriculados em escolas municipais da cidade de Salvador - Bahia. Os pais e/ou responsáveis foram informados através da direção da escola sobre o procedimento de avaliação postural para permissão do evento. Os critérios de inclusão foram: alunos com faixa etária de 8 a 9 anos, que possuíam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos pais/responsáveis no ato da matrícula para autorização das intervenções no ambiente escolar. Foram excluídos os escolares que possuíam alterações congênitas, algum tipo de deficiência física previamente adquirida, além dos que não desejaram participar ou faltaram no dia da avaliação.

Como instrumento de investigação, utilizou-se uma ficha produzida pelos autores constando dados como: nome, idade, sexo, peso, altura, bairro, modo de transportar o material escolar e dominância de membros superiores. Além disso, cada participante foi submetido a um exame postural baseado no método de Kendall, que consiste na visualização da postura corporal em três planos: coronal anterior, observando-se a inclinação e a rotação cervical, a elevação de ombro e inclinação pélvica, a rotação de tronco e fêmur e a angulação do joelho e pés; coronal posterior, observando-se o alinhamento da coluna, o posicionamento dos pés e a confirmação de algumas alterações vistas no plano coronal anterior e por fim, no plano sagital, observando-se retificação e protrusão da cabeça, ombro, alinhamento torácico e lombar, rotações pélvicas e a hiperextensão de joelho.

Utilizou-se no momento da avaliação um simetrorógrafo, uma ferramenta usada para auxiliar na visualização da simetria do avaliado e um fio de prumo, que é um instrumento que

serve para conferir o alinhamento corporal, tendo como referência os pontos anatômicos que devem corresponder à postura padrão.

A avaliação postural aconteceu numa sala fechada, bem iluminada, disponibilizada pela própria escola onde estavam presentes dois avaliadores, um profissional da instituição e as crianças. Os indivíduos avaliados precisaram trajar roupas adequadas, como short e top para as meninas e short ou sunga para os escolares do sexo masculino. Todos permaneceram descalços e adotaram a postura em ortostase.

O estudo piloto foi realizado no mês de maio de 2014 numa escola municipal da cidade de Salvador-Ba. Foram avaliados cinco alunos do ensino fundamental com idade entre 8 e 9 anos, sob supervisão de um funcionário da escola.

Durante a coleta foram observadas mais alterações posturais nas crianças menos ativas e percebeu-se a necessidade de incluir no instrumento de investigação perguntas sobre práticas de esportes e/ou outras atividades de lazer. Identificou-se também a necessidade de reorganizar a ordem da ficha de avaliação postural.

O banco de dados foi criado no Word 2013 e analisado no software SPSS (versão 22.0). Foi realizada uma análise descritiva (frequência) com a finalidade de identificar as características gerais e específicas da amostra estudada. Os resultados obtidos foram apresentados na forma de gráficos e tabelas comparativas formuladas em Microsoft Excel e Word 2013.

Foram respeitados os aspectos éticos segundo resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e este projeto foi submetido ao comitê de ética e pesquisa da Faculdade de Tecnologia e Ciências da cidade de Salvador – Bahia, com parecer de número: 683.511, aprovado em 03 de junho de 2014.

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

A população participante desse estudo foi composta por 64 escolares, sendo 33 (51,56%) do sexo masculino e 31 (48,44%) do sexo feminino. Destes, 39 tinham 8 anos (69,94%) e 25 (39,06%) 9 anos de idade. Como média de peso corporal obteve-se $26,55 \pm 5,65$ kg e média de altura de $1,30 \pm 0,05$ m. (Tabela 1)

As alterações posturais encontradas nesse trabalho foram classificadas nos planos anterior, lateral e posterior e foram categorizadas por região de cabeça, ombro, tronco, pelve, joelho e pé. Na cabeça, encontrou-se uma maior prevalência de alterações posturais na vista anterior (42,19%). Divergindo do presente estudo, Lima (2006) destacou a cabeça na vista

lateral como segmento com maior desvio encontrado nos estudantes de 8 e 9 anos no município de Florianópolis. Já no que diz respeito aos ombros, pôde-se observar 82,81% de alterações na vista lateral. Quanto à avaliação do tronco, foi encontrada uma igualdade de 42,19% de alterações nas vistas anterior e posterior.

Back e M.Sc. (2009) num estudo sobre Fisioterapia nas escolas, concluíram que o ombro foi a região com maior prevalência de desvios no plano lateral, quando avaliado um grupo de 44 alunos, concordando com os achados encontrados no presente estudo para tal região. Minguelli (2009) apresentou achados diferentes no que se refere aos desvios de tronco, com prevalência de alterações posturais em crianças e adolescentes de escolas do Algarve de apenas 18,4%.

No que tange à avaliação da pelve, notou-se uma predominância de alterações na vista lateral (32,81%) e semelhança com os achados de Minguelli, 2009, que encontrou desvios da cintura pélvica em 53,6% da sua amostra.

Já no que se refere à articulação do joelho, observou-se uma prevalência menos relevante (26,56%) dos desvios na vista lateral. Em contrapartida, Santos (2009) encontrou uma maior proporção de desvios no joelho na vista lateral (57,3%), quando avaliados escolares do ensino público fundamental de Jaguariúna.

Considerando a avaliação do pé, 53,12% das alterações encontradas se deram na vista anterior (Ver Figura 1), porém não foram encontrados dados na literatura consultada para fins de comparação deste achado.

Durante a avaliação postural por segmentos corpóreos na vista anterior, observou-se que em relação à cabeça, 37 (57,81%) dos avaliados estavam alinhados e 12 (18,75%) apresentaram flexão à direita como maior desvio para esse segmento. Santos (2009) num estudo com objetivo semelhante, sobre ocorrência de desvios posturais em 52 escolares com idades entre 8 e 9 anos, afirmou que apenas 10,6% dos avaliados apresentaram inclinação cervical de cabeça.

Na descrição da vista anterior de ombros, encontrou-se maior índice de elevação à direita, presente em 21 (32,81%) dos escolares, enquanto 26 (40,63%) dos casos estavam com ombros simétricos. No que diz respeito à assimetria nesta vista, Penha (2005) ao avaliar postura de meninas com idade entre 7 e 10 anos, chegou a diferentes conclusões no seu estudo, quando afirmou que este desvio pode estar relacionado com o lado dominante do escolar, sendo o ombro mais baixo o mais atuante, o que leva o ombro direito a ser constantemente mais baixo que o esquerdo.

Em relação ao tronco 37 (57,81%) dos escolares estavam alinhados e 16 (25%) apresentaram como maior desvio desse segmento a inclinação para direita. Back e M.sc, (2009)

trouxeram achados semelhantes aos encontrados aqui, quando afirmaram a existência de uma dominância de inclinação de tronco à direita na metade da amostra analisada. Contudo, no estudo realizado por Minguelli (2009) sobre prevalência de alterações posturais em crianças e adolescentes em escolas do Algarve, verificou-se uma predominância de 81,6% de tronco alinhado numa amostra de 364 alunos.

Quanto à avaliação das cristas ilíacas, 50 (78,13%) apresentaram simetria na região, existindo uma igualdade de achados em relação à elevação à direita e à esquerda, presente em 10,94% dos alunos acometidos. Em seu estudo sobre incidência de desvios posturais em escolares do 2º ao 5º ano do ensino fundamental, Contri (2009) revelou a existência de alterações de crista ilíaca em 17% dos 465 alunos investigados.

No que concerne a avaliação da patela, notou-se 48 (75%) casos de alinhamento na vista anterior e 12,5% dos alunos apresentaram elevação da estrutura à direita. Na região de antepé, 30 (46,88) das crianças estudadas não apresentaram qualquer alteração, porém 45,31% da amostra foi caracterizada por pés abduzidos. Também para este dado não foram encontrados na literatura achados para comparação, em virtude da escassez de publicações sobre a avaliação específica desta região.

Na avaliação dos indivíduos na vista lateral, 41 (64,06%) dos escolares apresentaram as cabeças alinhadas, enquanto 13 (20,31%) revelaram projeção anterior do segmento, sendo esta a terceira alteração postural mais encontrada na vista em questão. Para Santos (2009) que estudou ocorrência de desvios posturais em escolares do ensino público fundamental de Jaguariúna, isto acontece como mecanismo compensatório da postura, decorrente dos desequilíbrios musculares, onde há prevalência de forças e flexibilidades entre grupos musculares diferentes, atuantes em uma mesma articulação.

Em relação aos ombros, pôde-se observar a rotação medial como a alteração postural mais incidente, observada em 31 (48,44%) dos alunos, enquanto 11 (17,19%) possuíam ombros alinhados. Mais uma vez, Santos (2009) , afirmou que este defeito postural faz parte do desenvolvimento natural da criança, tendendo a diminuir progressivamente a partir dos dez anos de idade. Detsch e Candotti (2001) também encontraram rotação medial em ombros de meninas de 6 a 17 anos de uma escola da cidade de Novo Hamburgo, alteração está presente em 22,73% da amostra avaliada.

Hiperlordose lombar e anteversão pélvica foram alterações posturais frequentes na vista lateral, identificadas em 19 (29,69%) dos alunos. Mais da metade 37 (57,81%), dos escolares apresentaram curvaturas vertebrais consideradas normais. Segundo Santos (2009) a presença da hiperlordose lombar é considerada normal no desenvolvimento infantil, até os 9 anos, já que

ainda não há estabilidade postural, o que gera necessidade de inclinação pélvica e protrusão do abdômen na busca pelo equilíbrio.

Para o segmento do joelho na vista lateral, identificou-se alinhamento normal em 47 (73,44%) dos indivíduos, enquanto 15 (23,44%) dos pesquisados apresentaram joelhos hiperextendidos. Penha (2005), ao avaliar postura de meninas com idade entre 7 e 10 anos, relacionou a hiperextensão do joelho, assim como a hiperlordose lombar, com o trabalho abdominal deficiente, o que melhora a partir dos dez anos, em virtude da redução da protrusão de abdômen e a consequente diminuição da hiperlordose. Outros estudos, como o de Santos (2009) demonstraram a prevalência de joelhos em hiperextensão na população escolar, com percentuais de 19% de suas amostras.

Por fim, na avaliação dos indivíduos na vista posterior, 40 (62,5%) escolares apresentaram cabeça alinhada e a flexão à direita dessa região foi a alteração mais prevalente, presente em 10 (15,62%) dos estudantes. Back e M. Sc. (2009) por sua vez, num estudo com objetivos semelhantes, não encontraram incidência da referida alteração, trazendo com isso dados discordantes da presente pesquisa.

Em relação aos ombros, o principal desvio evidenciado foi a elevação à esquerda em 22 (34,37%) dos avaliados. Vinte e sete (42,19%) estudantes mostraram-se alinhados na avaliação dessa porção corporal. Back e M. Sc, apresentaram em (2009) dados convergentes com o presente estudo, quando evidenciaram uma prevalência de 91% de elevação à esquerda de ombros nos escolares investigados.

No que diz respeito às espinhas íliacas nessa vista, encontrou-se simetria em 50 (78,13%) avaliados e elevação à esquerda em 9 (14,06%) indivíduos, alteração mais prevalente nesse segmento. Da mesma forma, Minguelli (2009) verificou simetria das espinhas íliacas em 68,6% entre crianças e adolescentes de escolas do Algarve.

O desvio mais prevalente na região da coluna vertebral foi a escoliose torácica à esquerda, presente em 3 (4,69%) dos avaliados, porém 50 (78,13%) avaliados apresentaram alinhamento postural na região da coluna.

Num estudo epidemiológico em escolares da rede pública da cidade de Ribeirão Preto, realizado por Ferriani (2000) de um total de 378 avaliados, evidenciou-se escoliose em 109 (28,8%) indivíduos. Da mesma forma, Minguelli (2009) encontrou uma prevalência correspondente a 32,3% dos 364 alunos entre crianças e adolescentes das escolas do Algarve. Já Gracioli e Gatti (2005), apresentam dados mais alarmantes, quando trazem em seu estudo a influência do peso do material escolar sobre os desvios posturais em 43 escolares, e apontam a presença da escoliose em 100% das crianças analisadas.

A única alteração encontrada na região dos joelhos foi valgismo em 15 (23,44%) alunos, enquanto 49 (76,56%) deles apresentaram esse segmento alinhado. Santos (2009) também obteve prevalência considerável de joelhos valgus, correspondente à 21,8% dos 52 estudantes com idade entre oito e nove anos. Já no estudo de Minguelli (2009), teve-se como desvio predominante de joelho o varismo, presente em 9,5% indivíduos avaliados na sua pesquisa.

Quanto ao retropé, 48 (75%) escolares exibiam alinhamento, 6 (9,37%) revelaram varismo e 10 (15,63%) apresentaram a postura em valgo do segmento (ver Quadro 1). Back e M.sc (2009) apresentaram resultados semelhantes em seu estudo, onde o pé valgo foi encontrado em 3 (6,82%) dos avaliados o varismo revelou-se apenas em um indivíduo (2,27%) das crianças avaliadas entre 8 e 9 anos.

Além da avaliação postural, investigou-se neste estudo, os principais hábitos e comportamentos dos avaliados no ambiente escolar e no cotidiano através de um questionário anexo a ficha de avaliação cujas perguntas admitiam mais de uma resposta dos avaliados. No que se refere ao lazer, 12 (18,75%) dos entrevistados preferiram o uso do computador, 12 (18,75%) responderam que jogavam videogame, 28 (43,80%) praticavam alguma atividade física, enquanto 32 (50%) preferiam assistir televisão.

Numa revisão de literatura sobre alterações posturais em escolares, Oshiro (2007) relatou que nas horas de folga das atividades educacionais, a maioria dos alunos afirmou preferir assistir televisão, o que se assemelha ao presente estudo.

No que se refere ao calçado, notou-se que o mais utilizado foi o tênis, representando a opção de 62 (96,88%) dos alunos entrevistados. 01 entrevistado (1,56%) afirmou o uso de sandália e outro (1,56%) respondeu que utilizava outros tipos de calçados. Quanto a forma de transporte do material escolar, 01 (1,56%) respondeu carregar a mochila no ombro esquerdo, 02 (3,13%) carregavam na frente com uma alça em 1 dos ombros, 03 (4,69%) levavam o objeto no ombro direito e outros 04 (6,30%) levavam o material escolar na mão. Onze (17,19%) dos entrevistados ainda transportavam a mochila sobre rodas e por fim, 43 (67,19%) deles, ou seja, a maioria transporta a mochila nas costas com as duas alças nos ombros.

Candotti e Roth (2012) fizeram um estudo sobre avaliação do peso e do modo de transporte do material escolar em alunos do ensino fundamental e encontrou resultados semelhantes, onde a maior parte dos avaliados também preferia transportar a mochila com duas alças apoiadas simetricamente sobre os ombros. Riter e Souza (2011) também apontaram o uso bilateral da mochila nas costas por 90,8% dos escolares avaliados na rede municipal de ensino fundamental de Porto Alegre- RS. Já no estudo realizado por Casarotto (2008) sobre os efeitos

de sessões educativas referente ao uso das mochilas escolares em estudantes do ensino fundamental, encontrou-se predominância do uso das mochilas no modelo carrinho.

Quanto às posturas habituais durante as aulas 5 (7,81%) alunos afirmaram ficar com as pernas cruzadas, 5 (7,81%) preferiam sentar afastados do encosto da cadeira, 7 (10,94%) apoiavam os pés na cadeira da frente. Ainda no que tange às posturas adotadas, 19 (29,69%) escolares apoiavam os braços na cadeira e inclinavam o tronco para frente, 40 (62,50%) passavam o maior tempo encostado na cadeira e 49 (76,56%) apoiavam os pés no chão. (Ver Figura 2).

A preferência em sentar-se com a coluna encostada na cadeira foi encontrada também no estudo de Benini e Karolczak (2010) sobre os benefícios de um programa de educação postural para alunos de uma escola municipal de Garibaldi. Neste estudo, em contrapartida, 18 (37,6%) apenas dos avaliados adotavam a postura com os pés pendentes no chão. Oshiro (2007) atribui a alta prevalência de desvios posturais em escolares às posturas inadequadas adotadas em casa e na escola, o que também é relatado no presente estudo.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Rotação medial e desnível de ombro, hiperlordose lombar, valgo de joelho e abdução de antepé foram as principais alterações posturais encontradas nos indivíduos participantes desse estudo.

Considerou-se a avaliação postural nas vistas anterior, lateral, e posterior, hábitos de lazer dos escolares, calçados utilizados, forma de transporte de material escolar e postura adotada na posição sentada na cadeira, contudo, houve dificuldade no comparativo dos dados da presente pesquisa com outros estudos, devido à escassez de publicações que avaliassem os mesmos segmentos corporais nas três vistas e na faixa etária específica do presente estudo.

Entende-se que a intervenção precoce pode possibilitar a não progressão das alterações compensatórias, bem como, a persistência das alterações fisiológicas, evidenciando a necessidade da avaliação fisioterapêutica e estudos mais aprofundados, a fim de identificar possíveis alterações posturais e a sua correção precoce.

REFERÊNCIAS

BENINI, J; KAROLCZAK, APB. Benefícios de um programa de educação postural para alunos de uma escola municipal de Garibaldi, RS. *Fisioter. Pesqui. Rev de Fisioterapia da Universidade de São Paulo*, vol.17 no. 4. São Paulo Oct./Dec. 2010.

CANDOTTI, CT; NOLL, M; ROTH, E. Avaliação do peso e do modo de transporte do material escolar em alunos do ensino fundamental. *Rev. paul. Pediatr*, vol.30 no. 1. São Paulo, 2012.

CONTRI, DE; PETRUCCELLI, A; PEREA, DCBNM. Incidência de desvios posturais em escolares do 2º ao 5º ano do Ensino Fundamental, *Rev ConScientiae Saúde*, 2009; 8(2) P 219-224.

COSTA, T B; GIANTORNO, JB; SUZUKI, FS; OLIVEIRA, D L. Análise postural em escolares do ensino fundamental. *Revista brasileira de ciência da saúde*, São Paulo, vol.16, nº 2, p. 219-222, 2012.

DETSCH, C; CANDOTTI, CT. A incidência de desvios posturais em meninas de 6 a 17 anos da cidade de Novo Hamburgo. *Revista Movimento*, Porto Alegre, vol. 7, nº 15, p.43-56, 2001.

FERNANDES, SMS; CASAROTTO, RA; JOÃO, SMA. Efeitos de sessões educativas no uso das mochilas escolares em estudantes do ensino fundamental I. *Revista brasileira de Fisioterapia*, São Carlos. 2008.

FERRIANI, M GC; CANO, MAT; CANDIDO, GT; KANCHINA, AS. Levantamento epidemiológico dos escolares portadores de escoliose da rede pública de ensino de 1º grau no município de Ribeirão Preto. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, Goiânia, v.2, n.1, jan/jun. 2000.

GRACIOLI, AS; GATTI, V L. A influência do peso do material escolar sobre os desvios posturais em escolares de 09 a 17 anos na cidade de Porto Alegre. 2005. 12 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização)- Curso de Pós-Graduação em Reestruturação Corporal Global. Universidade Gama Filho, Porto Alegre, 2005.

JUNIOR, JVS; SAMPAIO, RMM; AGUIAR, JB; PINTO, FJM. Perfil dos desvios posturais da coluna vertebral em adolescentes de escolas públicas do município de Juazeiro do Norte – CE. *Revista Fisioterapia e Pesquisa*, São Paulo, v. 18, n.4, p.311-6, out/dez.2011.

KENDALL, FP; MCCREARY, E K; PROVANCE, PG. *Músculos, provas e funções*. São Paulo: Manole, 1995.

LAPIERRE, A. *A reeducação física: cinesiologia, reeducação postural, reeducação psicomotora*. v. 2. São Paulo: Manole, 1982.

LIMA, IAX. Estudo da prevalência de alterações posturais em escolares do ensino fundamental do município de Florianópolis/SC. 2006. Dissertação (Mestrado em Educação Física) Programa de Pós Graduação em Educação Física, UFSC, Florianópolis.

MINGHELLI, B; ABÍLIO, FDG; GÓIS, AA; TIMÓTEO, AL; FLORENÇA, HÁ . Prevalência de alterações posturais em crianças e adolescentes em escolas do Algarve, *Rev Saúde & tecnologia* 2009 vol. 4 P. 33–37.

NOLL, M; ROSA, BN; CANDOTTI, C T; FURLANETTO, T; GONTIJO, KNS.; S JA. Alterações posturais em escolares do ensino fundamental de uma escola de Teutônia/RS. Revista Brasi-leira Ci. E Mov. 2012; 20(2): 32-42.

OSHIRO, VA; FERREIRA, PG; COSTA, RF. Alterações Posturais em escolares: Uma revisão de literatura. Revista brasileira de ciências da saúde, ano III, nº 13, jul/set 2007.

PENHA, PJ; JOÃO, SMA; CASAROTTO, RA; AMINO, CJ; PENTEADO, DC. Postural assessment of girls between 7 and 10 years of age. Clinics, vol. 60, nº 01, p. 9-16,2005.

PEREIRA, SHD; PERES, LS. Alterações posturais da coluna vertebral e fatores associados em escolares de 12 a 15 anos de idade, na cidade de Foz do Iguaçu. Tese de Doutora-do. Ms. Dissertation, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2008.

RAPPAPORT, CR; FIORI, WR; DAVIS, C. Psicologia do Desenvolvimento: A Idade Escolar e a Adolescência. São Paulo: EPU, 1981-1982.

RITTER, AL; SOUZA, JL. Transporte do material escolar por escolares da Rede Municipal de Ensino Fundamental de Porto Alegre – RS. Rev. bras. Ci. e Mov. 2011;19(4):5159.

SANTOS, CIS; CUNHA, ABN; BRAGA, VP; SAAD, IAB; RIBEIRO, MAGO; CONTI, PBM; OBERG, TD. Ocorrência de desvios posturais em escolares do ensino público fundamental de Jaguariúna. Revista Paulista de Pediatria, São Paulo, vol, 27, nº 1, p.74-80, 2009.

FIGURAS



Figura 1. Principais Alterações Posturais em crianças em escola municipal na cidade de Salvador-Ba

Fonte: Dados da Pesquisa, 2014

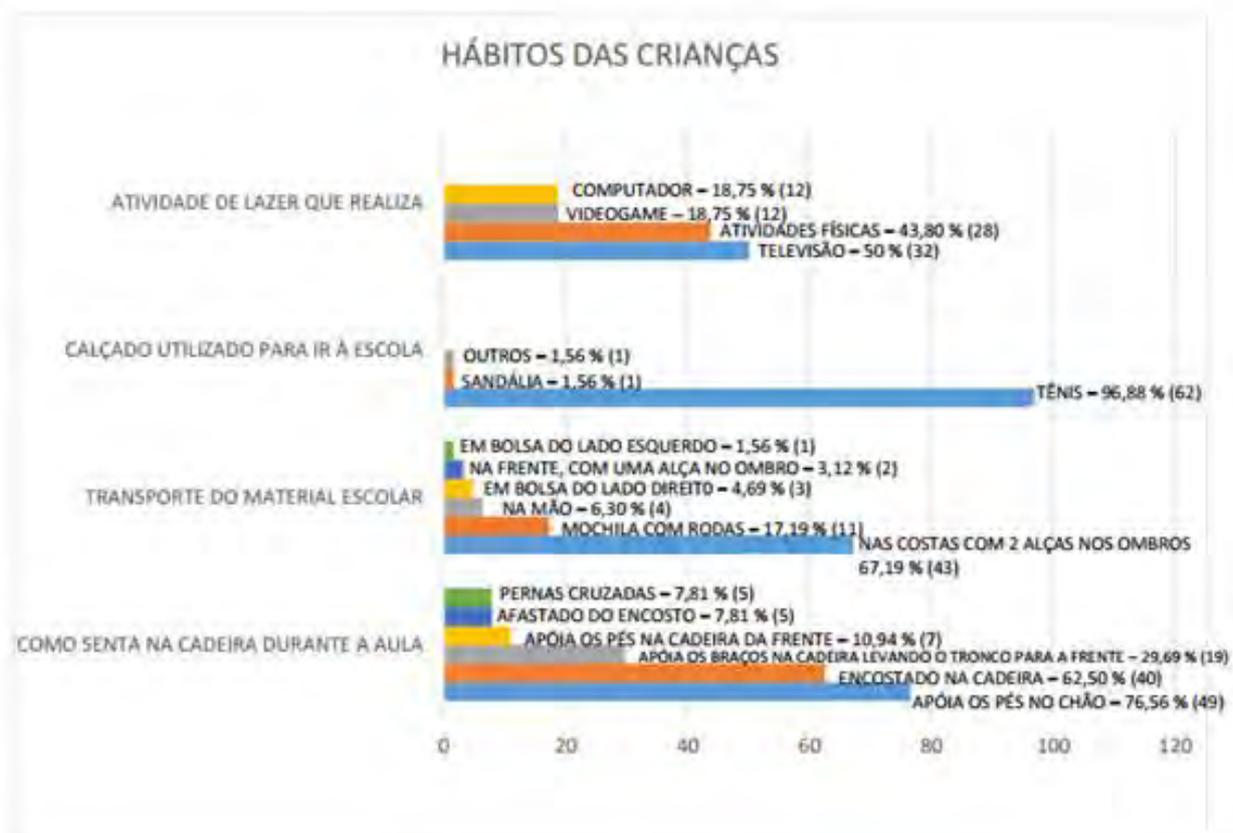


Figura 2. Principais hábitos das crianças em escola municipal na cidade de Salvador-Ba

Fonte: Dados da Pesquisa, 2014

TABELAS

Tabela 1. Perfil Individual das crianças avaliadas em escola municipal na cidade de Salvador-Ba

PERFIL INDIVIDUAL DAS CRIANÇAS AVALIADAS			
		n	%
Sexo	Masculino	33	51,56
	Feminino	31	48,44
Idade	08 anos	39	60,94
	09 anos	25	39,06
Peso	26,55 ± 5,63 Kg		
Altura	1,3 ± 0,05m		

Fonte: dados da pesquisa, 2014

Quadro 1. Avaliação postural de crianças em escola municipal na cidade de Salvador-Ba, nas vistas anterior, lateral e posterior

AVALIAÇÃO POSTURAL								
VISTA ANTERIOR			VISTA LATERAL			VISTA POSTERIOR		
	N	%		N	%		N	%
Cabeça			Cabeça			Cabeça		
Alinhada	37	57,81	Alinhada	41	64,06	Alinhada	40	62,5
Fletida à E	8	12,5	Protrusa	13	20,31	Fletida à E	7	10,94
Fletida à D	12	18,75	Retraída	10	15,63	Fletida à D	10	15,63
Rotação à E	1	1,56	Ombros			Rotação à E	2	3,12
Rotação à D	6	9,38	Alinhados	11	17,19	Rotação à D	5	7,81
Ombros			Protração	6	9,38	Ombros		
Alinhados	26	40,63	Retração	13	20,31	Alinhados	27	42,19
Elevado à E	17	26,56	Rotação medial	31	48,44	Elevado à E	22	34,37
Elevado à D	21	32,81	Rotação lateral	3	4,69	Elevado à D	15	23,44
Tronco			Coluna Vertebral			Coluna Vertebral		
Alinhado	37	57,81	Curvaturas normais	37	57,81	Alinhada	50	78,13
Inclinação à D	16	25	Hipercifose torácica	6	9,38	Escoliose lombar à E	1	1,56
Inclinação à E	11	17,19	Retificação cervical	2	3,12	Escoliose lombar à D	2	3,12
Crista Iliaca			Hiperlordose lombar	19	29,69	Escoliose torácica à D	8	12,5
Alinhada	50	78,13	Pelve			Escoliose torácica à E	3	4,69
Elevada à D	7	10,94	Alinhada	43	67,19	Crista iliaca		
Elevada à E	7	10,94	Anteversão	19	29,69	Alinhada	50	78,13
Linha Patelar			Retroversão	2	3,12	Elevada à D	5	7,81
Alinhada	48	75	Joelhos			Elevada à E	9	14,06
Elevada à D	8	12,5	Alinhados	47	73,44	Joelhos		
Elevada à E	7	10,94	Hiperextendidos	15	23,44	Alinhados	49	76,56
Rotação medial	1	1,56	Fletidos	2	3,12	Valgo	15	23,44
Antepé								
Alinhado	30	46,88						
Abduzido	29	45,31						
Aduzido	5	7,81						
						Retropé		
						Alinhados	48	75
						Varo	6	9,37
						Valgo	10	15,63

Fonte: dados da pesquisa, 2014

TAXA DE COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO NO CERRADO EM CANA-DE-AÇÚCAR

Jadson Belem de Moura^{1*}, Natalia Murielle Valentim¹, Matheus Vinicius Abadia Ventura¹ & Wagner Gonçalves Vieira Junior

¹Faculdade Evangélica de Goianésia. Goianésia, Goiás.

*E-mail: jadson.moura@evangelicagoianesia.edu.br

Abstract. The so-called mycorrhizal fungi (FMA) are the most important because they are associated with most of plants and when in combination, promote growth by greater absorption of water and nutrients, particularly phosphorus (P). This gives the plant a greater tolerance to biotic and abiotic stresses. The evaluations were conducted in Jalles Machado plant in the municipality of Goianésia, Goiás. The local climate is Tropical Estacional (Aw) as Koppen. The chosen experimental design was factorial randomized blocks with four repetitions, where the factors are three varieties of sugarcane: IACSP94-2101, IACSP95-5000 and CTC4; and two cultivation systems: conventional and organic. They were collected roots and rhizosphere soil during flowering of sugarcane. The soil samples containing roots were collected with a scratch depth of 20 cm. To determine the percentage of colonization, the roots were clarified and stained with 0.05% Blue-de-Trypan in lactoglycerol. The difference between varieties in sugarcane did not affect the colonization of mycorrhizal fungi, we conclude then that the mycorrhizal fungi are developed independent of the variety of sugarcane. Between conventional and organic system there was a minimum significant change in colonization of mycorrhizal fungi, then we conclude that due to a lower impact of using chemical products sanitary phyto the organic system there was a higher colonization mycorrhizal fungus compared to the conventional system.

Keywords: FMA. Organic. Rhizosphere.

Resumo. Os denominados fungos micorrizos (FMA) são os mais importantes, pois se associam à maioria das plantas e quando em associação, favorecem o crescimento pela maior absorção de água e nutrientes, principalmente fósforo (P). Isso proporciona à planta uma maior tolerância a estresses bióticos e abióticos. As avaliações foram conduzidas na área da usina Jalles Machado no município de Goianésia, Goiás. O clima do local é Tropical Estacional (Aw) conforme Köppen. O delineamento experimental escolhido foi fatorial de blocos casualizados com 4 repetições, onde os fatores são três variedades de cana-de-açúcar: IACSP94-2101, IACSP95-5000 e CTC4; e dois sistemas de cultivo: Convencional e Orgânico. Foram coletados raízes e solo rizosférico na época da floração da cana-de-açúcar. As amostras de solo contendo raízes foram coletadas a uma profundidade de zero a 20 cm. Para determinação da porcentagem de colonização, as raízes foram clarificadas e coradas com 0,05% de Azul-de-Trypan em lactoglicerol. A diferença entre as variedades na cana-de-açúcar não afetou a colonização de fungos micorrizos, concluímos então que os fungos micorrizos se desenvolvem independente da variedade de cana-de-açúcar. Entre o sistema convencional e orgânico houve uma alteração mínima significativa na colonização de fungos micorrizos, concluímos então que devido a um menor impacto do uso de produtos químico fito sanitário no sistema orgânico houve uma maior colonização de fungos micorrizos comparados ao sistema convencional.

Palavras-chave: FMA. Orgânico. Rizosfera.

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar tem avançado em todo território nacional. Este aumento ocorreu após o advento dos veículos bicomustíveis e, ainda, pelas perspectivas futuras do mercado internacional de combustíveis renováveis (ALVES, 2013). Os fungos micorrizos realizam associação simbiótica mutualística com a maioria das plantas cultivadas e nativas, beneficiam o desenvolvimento da planta pela maior absorção de nutrientes, principalmente o P que possui baixa mobilidade no solo (GEORGE, 1995).

Os denominados fungos micorrizos (FMA) são os mais importantes, pois se associam à maioria das plantas e quando em associação, favorecem o crescimento pela maior absorção de água e nutrientes, principalmente fósforo (P). Isso proporciona à planta uma maior tolerância a estresses bióticos e abióticos (MOREIRA e SIQUEIRA 2002). Essa associação torna-se de extrema importância em solos de baixa fertilidade ou degradados, onde micorrizas do tipo FMA favorecem o estabelecimento das plantas, maximizam o uso de nutrientes no solo, como fósforos (P), cobre (Cu) e zinco (Zn), aumentam a fixação biológica de nitrogênio nas leguminosas e promovem a sustentabilidade do ambiente (JOHNSON e PFLEGER, 1992).

Os fungos micorrizicos arbusculares ocupam um importante nicho ecológico nos ecossistemas, e são influenciados pelas práticas de manejo do solo como aração e adubação, as monoculturas extensivas e os agrotóxicos, que podem reduzir a incidência de algumas espécies de FMA (SIQUEIRA et al. 1995). Isso adquire relevância no bioma Cerrado devido à fragilidade e grande diversidade edáfica e biológica. O preparo do solo convencional (aração e gradagem) rompe a rede de hifas, esporos e raízes colonizadas, as altas temperaturas, excesso de oxigênio (oxidação) e a predadores, tornando-os inviáveis (KABIR et al. 1997).

É, portanto, de grande importância avaliar a influência de sistemas de manejo de solo sobre os fungos micorrízicos arbusculares no bioma Cerrado.

A escolha da espécie de vegetal a ser utilizada é importante, pois estas podem promover alterações quantitativas e qualitativas na população de fungos micorrízicos arbusculares nativos, pois a associação micorrízica é favorecida pela existência de exudatos radiculares que contém moléculas que estimulam a germinação de esporos e o crescimento de fungos micorrízicos (BÉCARD e PICHÉ, 1989).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de colonização micorrízica em variedades de cana-de-açúcar sob diferentes sistemas de produção.

2 MATERIAL & MÉTODOS

As avaliações foram conduzidas na área da usina Jalles Machado no município de Goianésia, Goiás. O clima do local é Tropical Estacional (Aw) conforme Köppen. O delineamento experimental escolhido foi fatorial de blocos casualizados com 4 repetições, onde os fatores são três variedades de cana-de-açúcar: IACSP94-2101, IACSP95-5000 e CTC4; e dois sistemas de cultivo: Convencional e Orgânico.

Foram coletados raízes e solo rizosférico na época da floração da cana-de-açúcar. De cada um dos tratamentos foi retirada uma amostra composta formada por três subamostras de pontos aleatórios do bloco. As amostras compostas foram homogeneizadas. As amostras de solo contendo raízes foram coletadas a uma profundidade de zero a 20 cm com trado holandês.

Para determinação da porcentagem de colonização, as raízes foram clarificadas e coradas com 0,05% de Azul-de-Trypan em lactoglicerol (PHILLIPS e HAYMAN, 1970, modificado) e a avaliação da colonização foi feita em microscópio estereoscópico, seguindo a técnica de interseção dos quadrantes (GIOVANNETTI e MOSSE, 1980).

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

Não houve interação entre os fatores analisados. De acordo com a análise estatística com teste Turkey a 5% de probabilidade, não houve diferença significativa entre as variedades. Evidenciando que os valores de taxa de colonização não são diferentes em relação à variedade de cana-de-açúcar implantado.

Na Figura 1 ao fazer a avaliação notamos que não houve diferenças significativas entre variedades de cana-de-açúcar de acordo com o teste Turkey a 5% de probabilidade, concluímos então que a colonização de fungos micorrizos se desenvolve independente da variedade da cana-de-açúcar. Resultado diferente ao encontrado no trabalho de Reis et. al. (1999), que apresentaram diferenças entre as taxas de colonização bastante significativo, que em solos cultivados com cana de açúcar, avaliando a presença de fungos micorrizicos arbusculares e bactérias diazotróficas sob diferentes tipos de manejo, observaram taxas de colonização das plantas entre 70% a 96% e 4% a 30%, para *Glomus* sp. e *Gigaspora* sp., respectivamente. Em estudos com cana de açúcar em campo, foram observados resultados de colonização micorrízica que variaram entre 20 a 60%, para *G. clarum* (GIOVANNETTI et. al., 1980; REIS et al., 1990; KELLY et. al., 2001 apud DE ANDRADE, 2013). Mas De Andrade (2013), afirma que a variação é dependente do manejo da cultura da cana de açúcar. Sendo que neste, o autor encontrou valores mais próximos aos resultados obtidos neste trabalho.

Na Figura 2 percebemos que os resultados apresentaram diferença mínima significativa entre sistemas de cultivo de acordo com o teste Turkey a 5% de probabilidade, o sistema

convencional apresentou valores inferiores de taxa de colonização micorrízica comparado ao sistema orgânico. Isso pode ser explicado pelo menor impacto de uso de produtos químicos fito sanitários no sistema orgânico, que influenciou positivamente a colonização micorrízica em plantas de cana-de-açúcar comparado ao sistema convencional.

4 CONCLUSÃO

1- A diferença entre as variedades na cana-de-açúcar não afetou a colonização de fungos micorrízicos, concluímos então que os fungos micorrízicos se desenvolvem independentemente da variedade de cana-de-açúcar.

2 - Entre o sistema convencional e orgânico houve uma alteração mínima significativa na colonização de fungos micorrízicos, concluímos então que devido a um menor impacto do uso de produtos químicos fito sanitários no sistema orgânico houve uma maior colonização de fungos micorrízicos comparados ao sistema convencional.

REFERÊNCIAS

ALVES, A. A situação atual do estado de Goiás em relação ao cultivo da cana-de-açúcar e o mercado de biocombustíveis. Federação da Agricultura e Pecuária de Goiás. Disponível em: <http://www.faec.org.br/webfaeg/conteudo.php?jane_la=informacao&info=14>. Acessado em: 9 de abril de 2013.

ANTONIOLLI, Z. I.; FACELLI, E.; O'CONNOR, P.; MILLER, D.; OPHEL-KELLER, K.; SMITH, S. Spore communities of arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhizal associations in different ecosystems, South Australia. *R. Bras. Ci. Solo, Viçosa*, v. 26, p. 627-635, 2002.

AUGÉ, R. M.; STODOLA, A. J. W.; TIMS, J. E.; SAXTON, A. M. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and Soil*, v. 230, p.87-97, 2001.

BODDEY, R. M. Biological nitrogen fixation in sugar cane: A key to energetically viable biofuel production. *Critical Reviews in Plant Sciences*, Boca Raton, v.14, p.263-279, 1995.

DE ANDRADE, P. A. M. A composição da comunidade bacteriana do solo como fator determinante na micorrização de cana-de-açúcar por *Glomus clarum*. 2013. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

GEORGE, E.; MARSCHNER, H.; JAKOBSEN, I. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. *Critical Review Biotechnology*, v. 15, p.257-270, 1995.

GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, London, v.46, p.235-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, Cambridge (Inglaterra), v. 84, p. 489-500, 1980.

GOICOECHEA N.; MERINO, S.; SÁNCHEZ-DÍAZ, M. Arbuscular mycorrhizal fungi can contribute to maintain antioxidant and carbon metabolism in nodules of *Anthyllis cytisoides* L. subjected to drought. *J. Plant Physiology*, v. 162, p. 27-35, 2005.

INVAM - International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi. Disponível em: < <http://invam.caf.wvu.edu/>>. Acesso em 05 de mar. De 2013.

JOHNSON, N. C. & F. L. PFLEGER. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. p. 71-97. In G. J. Bethlenfalvay & R. G. Linderman. (Ed.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA/CSSA/SSSA, Madison. 124 p.

KABIR, Z., I. P. O'BALLORAN, J. W. FYLES & C. HAWEL. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. *Plant and Soil*, 192 (3): 285-293.

MILLER, R. M. & J. D. JASTROW. 1992. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. p. 29-44. In G. J. Bethlenfalvay & R. G. Linderman. (Ed.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA/CSSA/SSSA, Madison. 124 p.

MOREIRA, F. M. S. & J. O. SIQUEIRA. 2002. *Microbiologia e Bioquímica do solo*. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 523 p.

PHILLIPS, J. M.; HAYMAN, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. *Transactions of the British Mycological Society*, Cambridge (Inglaterra), v. 55, n. 1, p. 158-161, 1970.

REIS, V. M.; PAULA, M. A. de; DÖBEREINER, J. Occurrence of arbuscular mycorrhizae and bacterium *Acetobacter diazotrophicus* in sugar cane. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 34, n. 10, p. 1933-1941, 1999.

SCHÜBLER, A., SCHWARZOTT, D., WILKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and Evolution. *Mycol. Res.* 105(12): 1413-1421. 2001.

SIQUEIRA, J. O. Micorrizas e micorrizologia. In: SIQUEIRA, J.O. (Ed.) *Microrganismos de importância agrícola*. Lavras, p.1-4, 1996.

SMITH S. E.; READ, D. J. *Mycorrhizal symbiosis* 3rd ed. Academic Press. London. 803 p, 2008.

VENZKE-FILHO, S. P. 1999. *Microbiota e sua atividade em uma cronosequência sob sistema de plantio direto*. Dissertação de Mestrado. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo. Piracicaba, São Paulo. 65 p.

65

FIGURAS

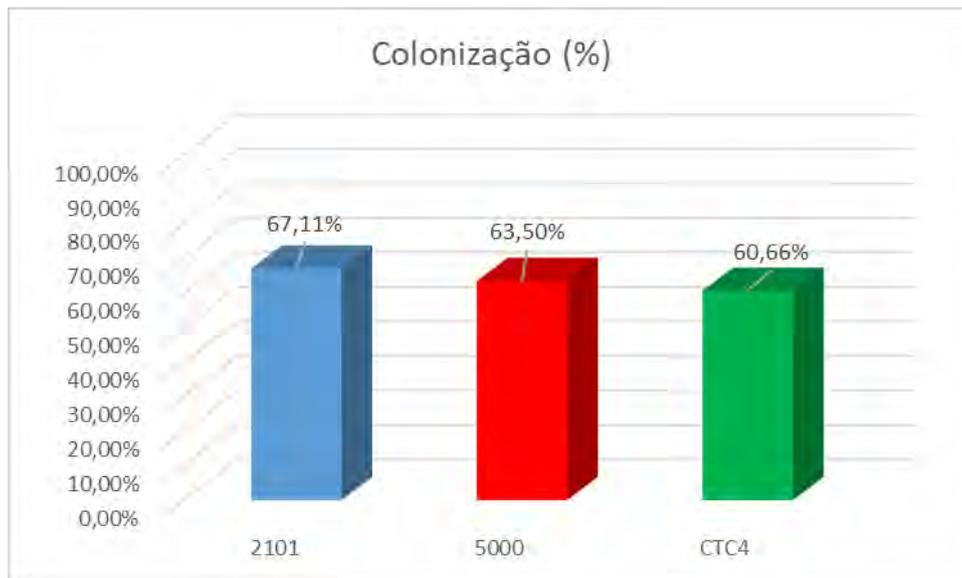


Figura 1. Taxa de colonização micorrízica em diferentes variedades de cana-de-açúcar.

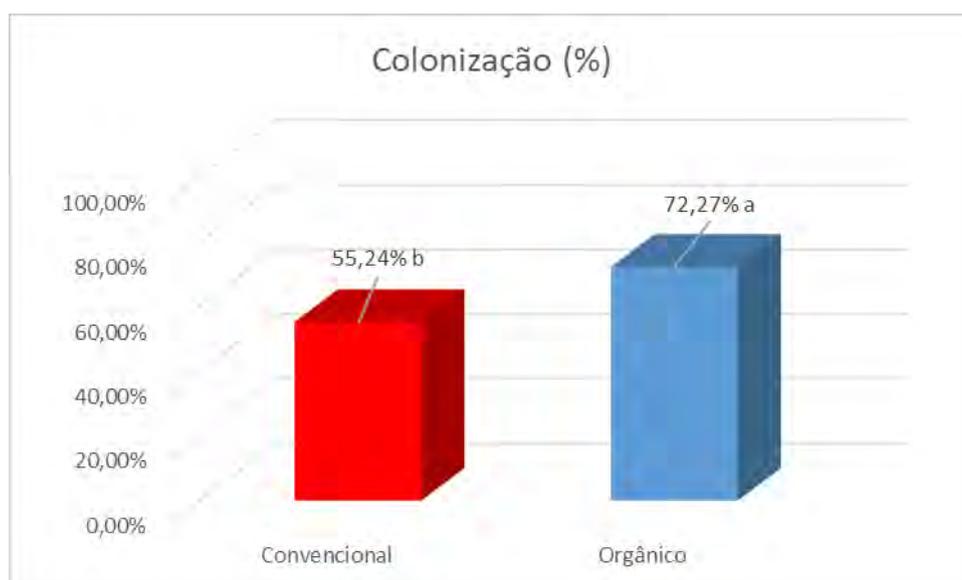


Figura 2. Taxa de colonização micorrízica em diferentes sistemas de cultivo de cana-de-açúcar.

O SELO COMBUSTÍVEL SOCIAL E SEU PAPEL COMO POLÍTICA PÚBLICA: UMA ANÁLISE SOBRE EXPECTATIVAS E PANORAMA DA AGRICULTURA FAMILIAR NO ESTADO DA BAHIA

Ricardo G. Kuentzer^{*1} & Astria D. Ferrão-Gonzales²

¹Mestrando do Mestrado Profissional de Bioenergia -FTC e docente do Instituto Federal da Bahia, Simões Filho, Bahia

²Docente Mestrado Profissional de Bioenergia – FTC e do Departamento de Ciências da Vida - UNEB, Salvador, Bahia

*E-mail: rkagro@me.com / agonzales@uneb.br

Abstract. Created in 2004 to stimulate the production of biodiesel, through the National Program for Production and Use of Biodiesel (PNPB), the Social Fuel Seal (SCS) became a reference for the demands on Family Agriculture (AF), which should foster its true social role. However, currently, it is the target of criticism and controversy, since the policy guidelines did not go as expected. Based on the current situation of biodiesel and the concepts used by formulators of Public Policies, geared to meet the family farmers in the context of biofuel production, this article provides an analysis of the expectations for the PNPB and the current situation of Family Farming in Bahia, in the last 10 years with the social seal fuel. The results show that, despite the expectations at the time of the PNPB publication, there were no socio-economic improvements in the population engaged in Family Farming addressed by the program. Thus, showing that this social strategy proved ineffective in promoting sustainable rural development and social inclusion, as planned. The method used for the preparation of this study was data collection through literature review of scientific articles available on the Internet on the topic, as well as publications and search in databases and public documents of the Federal Government (MMA, MDA, MAP, MME) and Bahia State Government (CONAB, SEAGRI).

Keywords: Seal Social Fuel. Social Inclusion. Family Agriculture. Biodiesel. Public Policy.

Resumo. Criado em 2004, para estimular a produção do biodiesel, por meio do Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB), o Selo Combustível Social (SCS) passou a ser referência para as demandas na Agricultura Familiar (AF), o que deveria fomentar seu verdadeiro papel social. No entanto, atualmente, é alvo de críticas e controvérsias, pois as diretrizes políticas não seguiram conforme o esperado. Tomando por base o cenário atual do biodiesel e os conceitos utilizados pelos formuladores das Políticas Públicas, voltadas para atender aos agricultores familiares no contexto da produção de biocombustíveis, este artigo traça uma análise entre as expectativas do PNPB e o panorama atual da Agricultura Familiar, na Bahia, nos últimos 10 anos, sobre o selo combustível social. Como resultado, verificou-se que, apesar das expectativas à época do lançamento do PNPB, não houve melhorias socioeconômicas na população inserida na Agricultura Familiar vinculada ao programa. Diante disso, pode-se perceber que essa estratégia social mostrou-se ineficaz para o desenvolvimento rural sustentável e a inclusão social, conforme o planejado. O método utilizado para a elaboração deste trabalho foi a coleta de dados, por meio de revisão bibliográfica de artigos científicos disponíveis na rede Internet, sobre o tema, assim como de publicações e de busca nos bancos de dados e nos documentos públicos do Governo Federal (MMA, MDA, MAPA, MME) e Estadual (CONAB, SEAGRI).

Palavras-chave: Selo Combustível Social., Inclusão Social. Agricultura Familiar. Biodiesel. Políticas Públicas.

1 INTRODUÇÃO

O estudo de temas relacionados à produção de biocombustíveis a partir do biodiesel no Brasil e no mundo vem ganhando destaque nos principais fóruns de discussão sobre a utilização de fontes de energias renováveis como um equilíbrio ao atual modelo da matriz energética mundial.

O Brasil lidera o movimento de países a favor do uso em grande escala dos biocombustíveis. É o país que tem a experiência mais antiga e relevante de produção e uso desses energéticos, graças principalmente às experiências com o etanol combustível, que foi estimulada pela crise energética na década de 1970, com o uso do Proálcool.

A produção de biodiesel é uma maneira de diminuir a dependência econômica e política em relação às nações líderes no fornecimento de combustíveis fósseis, as quais definem preços, políticas de comercialização e outras medidas. Os países capazes de viabilizar alternativas de energia renováveis ganharam destaque no cenário internacional, principalmente por oferecer novas oportunidades de investimentos vinculados ao desenvolvimento rural sustentável.

O governo brasileiro, compreendendo a importância dessas novas oportunidades, e na tentativa de cumprir e apresentar uma matriz energética mais limpa lançou, em dezembro de 2004, o programa que permitiu a criação de uma política nacional específica para o biodiesel, implementando o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Seu objetivo na etapa inicial foi introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira, dando um forte enfoque na inclusão social através do estímulo da agricultura familiar e no desenvolvimento regional, especialmente das regiões Norte e Nordeste do país (ABRAMOVAY, 2009). O principal resultado dessa primeira fase refere-se à definição de um arcabouço legal e o marco regulatório, com a edição de Leis, diversos atos normativos e a criação do Selo Combustível Social.

Dessa forma, o PNPB institucionalizou a base normativa para a produção e comercialização do biodiesel no País, envolvendo a definição do modelo tributário para este novo combustível e o desenvolvimento de mecanismos para inclusão da agricultura familiar, consubstanciado no Selo Combustível Social.

No entanto, diversos especialistas na área de biodiesel mantêm uma posição defensiva, decorrente dos questionamentos: Será que, de fato, o Selo Combustível Social permite um desenvolvimento rural sustentável e social dos agricultores familiares no Brasil? Teriam as políticas públicas de inclusão da agricultura familiar sido expressivas nesse programa?

A partir desses questionamentos, que ainda permanecem, buscou-se, neste artigo, encontrar algumas possíveis respostas num contexto atualizado e amplamente discutido, considerando-se as diretrizes determinadas na política de inclusão social estabelecidas pelo

PNPB, a segurança do Selo Combustível Social, a garantia da efetiva participação da agricultura familiar na produção de bioenergia e na busca da competitividade frente às novas políticas públicas na área dos biocombustíveis.

O artigo trata-se de uma pesquisa bibliográfica e exploratória, a partir de documentos publicados sobre a temática e teve como objetivo, demonstrar a importância através da análise entre as expectativas do PNPB e o panorama atual da Agricultura Familiar nos últimos 10 anos referente à participação do Selo Combustível Social no Estado da Bahia, comprovando-se que essa estratégia social foi infrutífera ao desenvolvimento rural sustentável e a inclusão social conforme fora planejado.

³São combustíveis produzidos a partir da biomassa (matéria orgânica), isto é, de fontes renováveis – produtos vegetais ou compostos de origem animal. As fontes mais conhecidas no mundo são cana-de-açúcar, milho, soja, semente de girassol, madeira e celulose. A partir destas fontes é possível produzir biocombustíveis, como álcool, etanol e biodiesel. Os biocombustíveis são biodegradáveis – por isso provocam menor impacto à natureza (Petrobras, 2007).

⁴A agricultura familiar no Brasil, conforme definido pela Lei no 11.326/2006, abrange os agricultores que: i) não detenham, a qualquer título, área maior que quatro módulos fiscais; ii) utilizem predominantemente mão de obra da própria família nas atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento; iii) tenham um percentual mínimo da renda familiar originada de atividades econômicas do seu estabelecimento ou empreendimento, na forma definida pelo Poder Executivo; e iv) dirijam seu estabelecimento ou empreendimento com sua família. A lei inclui também os silvicultores, aquicultores, extrativistas, pescadores artesanais, povos indígenas, integrantes de comunidades remanescentes de quilombos rurais e demais povos e comunidades tradicionais, desde que atendidas algumas condições.

2 MATERIAL & MÉTODOS

Segundo Gil (2008), a pesquisa científica é definida como o procedimento racional e sistemático que tem como objetivo proporcionar respostas aos problemas que são propostos. Ainda de acordo com o autor, a pesquisa é desenvolvida mediante o concurso dos conhecimentos disponíveis e a utilização cuidadosa de métodos, técnicas e outros procedimentos científicos.

Os métodos utilizados, quanto aos procedimentos técnicos, foram a pesquisa bibliográfica, desenvolvida com base em material já elaborado, principalmente livros e artigos científicos, e a pesquisa experimental, que determinou o objeto de estudo, selecionando-se as variáveis capazes de influenciar, definir as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produziu no objeto de estudo sobre o Selo Combustível Social e seu papel como política pública no Estado da Bahia. Na realidade, a pesquisa desenvolveu-se ao longo de um processo que envolveu inúmeras fases, desde a adequada formulação do problema até a satisfatória apresentação dos resultados.

Dada a importância do tema, procurou-se seguir a metodologia que se adequasse e que considerasse o maior número possível de informações. Portanto, a proposta deste trabalho foi desenvolver artigo de cunho bibliográfico cuja natureza dessa pesquisa é definida como aplicada, apresentando na abordagem do problema a forma qualitativa, caracterizada por análises a partir de um levantamento dos bancos de dados e documentos públicos do Governo Federal nos seguintes órgãos: Ministério Do Meio Ambiente (MMA), Ministério Do Desenvolvimento Social (MDS), Ministério Da Agricultura E Pecuária (MAPA), Ministério De Minas E Energia (MME) e no nível Estadual: Companhia Nacional De Abastecimento (CONAB) e a Secretaria De Agricultura Da Bahia (SEAGRI)

Analisaram-se as expectativas do PNPB e o panorama atual da Agricultura Familiar no Estado da Bahia, nos últimos 10 anos, no que se refere ao Selo Combustível Social e seu papel como política pública. Identificou-se que o PNPB, atualmente, é alvo de críticas e controvérsias, pois as diretrizes políticas não seguiram conforme o esperado.

Tomando por base o cenário atual do biodiesel e os conceitos utilizados pelos formuladores das Políticas Públicas, voltadas para atender aos agricultores familiares no contexto da produção de biocombustíveis, apresentaremos as ações a serem discutidas.

As ações, a partir dos dados desses órgãos oficiais, foram exploradas em todos os assuntos que, direta ou indiretamente, levassem aos resultados do objetivo da pesquisa, motivadas pelo fato de serem entidades responsáveis pela elaboração de políticas públicas dentro de sua área de competência.

Portanto, algumas descrições foram consideradas para a metodologia, sendo base de formulações para os resultados e considerações finais desse artigo. Foram realizadas descrições sobre, dados relativos das políticas e estratégias relacionadas com a agricultura familiar e da SAF - Secretaria da Agricultura Familiar do Ministério do Desenvolvimento Agrário - SAF/MDA, dados relativos às publicações e programas sociais voltados para a agricultura familiar no Brasil e na Bahia, boletins informativos sobre a agricultura familiar, com dados relativos às políticas energéticas, dos combustíveis renováveis e da matriz energética brasileira relativa ao PNPB, dados relativos aos Programas e Projetos realizados na Superintendência da Agricultura Familiar na Bahia, referente ao Selo Combustível Social, dados estatísticos do Censo Agropecuário da Agricultura Familiar 2010 e do Censo Agropecuário 2006 e dados relativos à agricultura familiar, ao agronegócio no Estado da Bahia e às leis do PNPB, voltadas para as diretrizes do Selo Combustível Social.

Todos os dados foram obtidos e analisados de forma exploratória e qualitativa e coletados entre março de 2015 a agosto de 2016, sendo que, para sua obtenção, consultaram-se os sistemas de cada um dos órgãos ligados ao PNPB.

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

3.1. O BIODIESEL E O PROGRAMA NACIONAL DE PRODUÇÃO E USO DO BIODIESEL

De 2004 até 2015, a participação da Bioenergia vem crescendo exponencialmente, tornando o Biodiesel brasileiro destaque na produção e consumo interno. Isso ocorreu em razão do incremento da mistura com maior percentual de Biodiesel no Diesel de petróleo, passando de B5 (5% Biodiesel) para B7 (7% Biodiesel), conforme, LEI Nº 13.033, de 24.9.2014, que dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final (ANP, 2015).

O biodiesel é apontado como uma grande oportunidade para o Brasil e isso se deve principalmente ao PNPB, que em função de Políticas Públicas se consolidou de forma geral, trazendo investimentos e recursos do Governo Federal, atendendo à participação das empresas privadas e, em especial, ao vínculo majoritário da agricultura familiar através do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (PRONAF) (MDA, 2015).

Atentos ao marco regulatório e às metas fiscais do programa, o desafio do Governo Federal era implantar um projeto energético auto-sustentável, considerando preço, qualidade e garantia de suprimento do biodiesel, propiciando a geração de renda com inclusão social e fazendo com que a fonte de energia, o biodiesel, se sustentasse nos pilares ambiental, social e de mercado, garantido na base tecnológica a inserção da cadeia agrícola, industrial e de uso do combustível (MME, 2015).

O biodiesel é um combustível renovável constituído por uma mistura de mono-alquil ésteres de ácidos graxos, obtidos por reação de transesterificação de triglicerídeos entre um óleo vegetal ou gordura animal e um álcool na presença de um catalisador (FERRARI et al., 2005; MARQUES et al., 2010; OLIVEIRA R.S et al., 2013; OLIVEIRA D.M et al., 2013).

⁵Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar - PRONAF, com a finalidade de promover o desenvolvimento sustentável do segmento rural constituído pelos agricultores familiares, de modo a propiciar-lhes o aumento da capacidade produtiva, a geração de empregos e a melhoria de renda. Decreto nº 1.946, de 28 de junho de 1996 (MDA, 2016).

Segundo Dabdoub et al. (2009), a transesterificação é o processo de transformação de um éster carboxílico em outro, pela troca do grupo RO- presente no éster original, por outro grupo semelhante, proveniente de um álcool na presença de um catalisador, ou não, (condições supercríticas), para dar origem à glicerina e a mono-álquil ésteres (Biodiesel).

A transesterificação de óleos vegetais é normalmente realizada com um álcool de cadeia curta (como metanol e etanol) e catalisadores ácidos ou básicos. A catálise ácida, frequentemente, usa o ácido sulfúrico e o ácido clorídrico como catalisadores, enquanto que os catalisadores básicos mais usados são os hidróxidos de potássio (KOH) e de sódio (NaOH), que na presença destes catalisadores, produz o glicerol (subproduto) e o éster metílico de ácido graxo (Biodiesel - conhecido pelo acrônimo em inglês FAME - fatty acid methyl ester); este, é um termo geral usado para descrever uma importante classe de reações orgânicas onde um éster é transformado em outro pela troca do resíduo alcóxila (Figura 1). É o processo mais utilizado atualmente para a produção de biodiesel (ARAUJO et al., 2008; GERIS et al., 2007; SOUZA, 2006; MOTA et al., 2009).

Segundo Souza (2006), após a reação, o produto é decantado e a glicerina, por diferença de densidade, precipita-se, sendo, então, retirada e restando o Biodiesel. Na transesterificação, o óleo vegetal reage com um álcool (metanol ou etanol) na presença de um catalisador, formando um éster (éster mono-álquilado de ácidos graxos de cadeia longa) denominado Biodiesel (Figura 2).

O biodiesel é um biocombustível derivado de biomassa para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão, que pode ser produzido a partir de diversas espécies vegetais, tais como a mamona, girassol, dendê (palma), babaçu, amendoim, pinhão manso, soja, algodão, entre outras. No Brasil o destaque para as matérias-primas utilizadas para a produção de biodiesel, vai para o óleo de soja, o qual respondeu por 78,66% do total da produção de biodiesel em julho de 2016 (MME, 2016) (Figura 3).

No Brasil, o Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB), com o principal objetivo de promover a produção de biodiesel, de maneira sustentável, se destacou entre as políticas públicas voltadas para o setor, e trouxe uma proposta de inclusão social, por meio da integração de pequenos produtores rurais à cadeia produtiva do biodiesel.

Entre os fundamentos do PNPB está o caráter social do programa, que busca o fortalecimento da agricultura familiar por meio da geração de empregos e aumento da renda dos agricultores, além do aproveitamento das aptidões regionais, com estímulo ao cultivo de novas oleaginosas, em especial naquelas áreas até então consideradas pouco atrativas à agricultura (MDA, 2015).

O marco regulatório e as metas fiscais passaram ser o desafio do Governo Federal como já mencionado. O programa precisava implantar um projeto energético auto-sustentável, considerando preço, qualidade e garantia de suprimento dessa nova fonte de energia, propiciando a geração de renda com inclusão social e fazendo com que o Biodiesel, se sustentasse nos pilares Ambiental, Social e de Mercado, garantido na base tecnológica a inserção da cadeia agrícola, industrial e de uso do combustível (Figura 4).

De acordo com o Ministério de Desenvolvimento Agrário (MDA, 2014) o Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel (PNPB) é um programa interministerial do Governo Federal, que objetiva a implementação de forma sustentável, tanto técnica, como econômica, da produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda. Além de monitorar o programa, propor os atos normativos que se fizerem necessários à implantação do programa, assim como analisar, avaliar e propor outras recomendações e ações, diretrizes e políticas públicas.

As diretrizes do programa deram ênfase a três ações prioritárias, a saber: a implantação de um programa sustentável, promovendo inclusão social; a garantia de preços competitivos, qualidade e suprimento; e, a produção do biodiesel a partir de diferentes fontes oleaginosas, fortalecendo as potencialidades regionais para a produção de matéria prima.

O programa consta ainda a indicação de um Grupo Gestor a quem compete a execução das ações relativas à gestão operacional e administrativa voltadas para o cumprimento das estratégias e diretrizes estabelecidas pela Comissão Executiva Interministerial (CEIB).

O MDA, que faz parte tanto da CEIB quanto do Grupo Gestor do PNPB, tem a responsabilidade de operacionalizar a estratégia social do programa, criando formas de promover a inserção qualificada de agricultores familiares na cadeia de produção do biodiesel.

Com a Lei nº 11.097/2005, o país deu um grande salto, criando normas que dispõem sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, modificando as leis e decretos afins, além de regularizar o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), cuja forma de implantação havia sido instituída por meio de um Decreto em dezembro de 2003. Em meio a vários aspectos legais, definiu-se que o Brasil passaria a estimular a mistura do biodiesel no óleo diesel comum na proporção inicial de 2% (B2), passando depois para 5% (B5) e, gradativamente, aumentando a mistura de todo o combustível comercializado no país.

⁶Estrutura Gerencial que Compete à Comissão Executiva Interministerial (CEIB) elaborar, implementar e monitorar programa integrado, propor os atos normativos que se fizerem necessários à implantação do programa, assim como analisar, avaliar e propor outras recomendações e ações, diretrizes e políticas públicas. Subordina-se à Casa Civil da Presidência da República (MME, 2016).

Atualmente, a Lei nº 13.033, de 24 de setembro de 2014, dispõe sobre a adição obrigatória de biodiesel ao óleo diesel comercializado com o consumidor final, estabelecendo que o percentual de adição obrigatória, a partir de 1º de julho de 2014, é 6%, e desde 1º de novembro de 2014, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 7% de biodiesel (B7) (Figura 5). Esta regra foi estabelecida pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), que aumentou de 5% para 7% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel em todo território nacional; podendo o Conselho Nacional de Política Energética - CNPE, a qualquer tempo, por motivo justificado de interesse público, reduzir esse percentual para até 6%, restabelecendo-o por ocasião da normalização das condições que motivaram a redução do percentual (PLANALTO, 2014).

Nestes mesmos modelos regulatórios, surgem os decretos nº 5.297/2004 e o nº 5.298/2004, que estabelecem os coeficientes de redução de PIS/COFINS sobre biodiesel e cria o Selo Combustível Social, também conhecido como Selo Verde, e define IPI com alíquota zero para biodiesel, respectivamente. Além das vantagens ambientais e econômicas, isso proporciona a viabilidade da inserção social na introdução do programa, com um olhar mais sensível para a produção agrícola e para o desenvolvimento do pequeno agricultor familiar.

Portanto, o MDA dentro do esforço interministerial de viabilização da produção e uso sustentável do biodiesel no Brasil, possui a responsabilidade de promover a inserção qualificada de agricultores familiares na cadeia de produção do biodiesel. Para isso, desenvolve o seu trabalho de forma prioritária no gerenciamento do componente promotor da inclusão produtiva e econômica da agricultura familiar no PNPB: o Selo Combustível Social.

3.2. O SELO COMBUSTÍVEL E O SEU PAPEL SOCIAL

O Selo Combustível Social é um componente de identificação criado por meio do Decreto Nº 5.297, de 6 de dezembro de 2004, concedido pelo Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA) ao produtor de biodiesel que cumpre os critérios descritos na Portaria do MDA nº 60 de 06 de setembro de 2012.

O Ministério de Desenvolvimento Agrário - MDA, por intermédio da Secretaria da Agricultura Familiar - SAF, integram as diretrizes do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), bem como as ações governamentais de apoio à agricultura, com ênfase na implementação do Selo Combustível Social no país e na consequência inserção social da agricultura familiar na cadeia produtiva do biodiesel (MDA, 2015).

O Selo Combustível Social, na análise de sua interpretação, não é somente um instrumento de inclusão social, mas, também, a afirmação da garantia de sucesso na cadeia produtiva do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, sendo assim, esse Selo, concedido pelo MDA à unidade industrial que trabalha em parceria com agricultores familiares, permite-lhes acessos a benefícios tributários e comerciais (MDA/SAF, 2015).

Ou seja, o SCS garante adquirir um percentual mínimo de matéria prima dos agricultores familiares no ano de produção de biodiesel, celebrar previamente contratos de compra e venda de matérias primas com os agricultores familiares ou com suas cooperativas e com anuência de entidade representativa da agricultura familiar daquele município e/ou Estado, além de assegurar capacitação e assistência técnica a esses agricultores familiares contratados (MDA, 2016).

As regras do SCS são estabelecidas atualmente pela Portaria do MDA nº 337 de 18 de setembro de 2015, que estabelece Compras, Contratos Prévios e Assistência Técnica Gratuita. Na sua publicação, que dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social, ocorreram mudanças mais relevantes a respeito da definição de regras para a inclusão de gorduras animais entre as matérias-primas que as usinas podem adquirir da agricultura familiar e especifica as obrigações relativas ao Selo Social.

O modelo de funcionamento é o seguinte: as Unidades Produtoras de Biodiesel (UPB) adquirem a matéria prima da agricultura familiar, por meio de compras, contratos, assistência técnica e/ou cooperativas agropecuárias (Figura 6). Com isso, as indústrias conseguem alíquotas diferenciadas de tributos federais incidentes sobre o biodiesel comercializado e a participação em lote reservado dos leilões de comercialização de biodiesel.

A concessão do direito de uso do Selo Combustível Social permite ao produtor de biodiesel ter acesso as alíquotas de PIS/Pasep e Cofins com coeficientes de redução diferenciados para o biodiesel, critérios que variam de acordo com a matéria-prima adquirida e região da aquisição, incentivos comerciais e de financiamento. Desses critérios, do Selo Combustível Social, para as aquisições da agricultura familiar o percentual mínimo de aquisições de matéria-prima do agricultor familiar, feitas pelo produtor de biodiesel para fins de concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social, fica estabelecido em: I - 15% (quinze por cento) para as aquisições provenientes das regiões Norte e Centro-Oeste; II - 30% (trinta por cento) para as aquisições provenientes das regiões Sudeste, Nordeste e Semiárido; e III - 40% (quarenta por cento) para as aquisições provenientes da região Sul (MDA, 2015).

Além disso, com o Selo, a empresa produtora se torna apta a participar dos leilões de compra de biodiesel para o mercado interno brasileiro, bem como tem acesso a melhores

condições de financiamento junto ao Banco Nacional do Desenvolvimento (BNDES) e outras instituições financeiras, podendo utilizar fomento da agricultura familiar, crédito rural, chamamentos e chamadas públicas, apoio a Projetos e Parcerias, tudo isso a fim de promover o fortalecimento da agricultura familiar na produção de biodiesel.

O Selo confere ao seu possuidor o caráter de promotor de inclusão social dos agricultores familiares enquadrados PRONAF (Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar), conforme descritas na Portaria nº 60 de 06 de setembro de 2012.

3.3. O SELO COMBUSTÍVEL SOCIAL E SUAS ALTERAÇÕES: BENEFÍCIOS OU INCERTEZAS?

3.3.1. Atualização do Selo Combustível Social

A nova portaria do Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA) nº 337, de 18 de setembro de 2015, que dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social, trazem em sua composição adequações em três pontos: o Cadastro Ambiental Rural (CAR), a área considerada para fins de aquisição de matérias primas da agricultura familiar e a aquisição de matérias primas de origem animal.

No Cadastro Ambiental Rural, a adequação deu-se a partir do novo Código Florestal Brasileiro (Lei nº 12.651/2012) que criou o Cadastro Ambiental Rural – CAR e estabeleceu que é obrigatório o cadastramento de todos os imóveis rurais no Sistema Nacional de Cadastro Ambiental Rural (Sicar). O prazo final terminou em 6 de maio de 2016, assim, os imóveis rurais dos proprietários e posseiros deveriam estar regularizados ambientalmente; desta forma, os imóveis rurais que participam do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) e do Selo Combustível Social deveriam também estar cadastrados no CAR.

A área considerada para fins de aquisição de matérias primas da agricultura familiar na nova portaria deixa claro que a quantidade de matéria prima declarada pelas empresas produtoras de biodiesel ou cooperativa será limitada pela área constante na Declaração de Aptidão ao Pronaf (DAP) do agricultor familiar. Esses procedimentos já eram adotados pelo MDA, nas avaliações de manutenção do Selo Combustível Social. A nova portaria apenas os tornou mais explícitos.

Já para aquisição de matérias-primas de origem animal, a portaria também trouxe maior clareza aos procedimentos técnicos e administrativos que devem ser adotados quando houver arranjos de aquisição de matéria prima de origem animal, em especial para o sebo bovino. Os procedimentos serão adotados tanto pelas empresas produtoras de biodiesel quanto pelo órgão gestor do Selo Combustível Social.

Com isso a portaria do MDA de nº 337/2015, para o PNPB desde o seu lançamento, altera regras importantes, na qual também, reafirma outras novas adequações dessa portaria, fortalecendo os critérios para os produtores e agricultores familiares. Destacamos na sequência pontos que foram discutidos em caráter de relevância para o posicionamento da nova portaria.

3.3.2. Selo Combustível Social

O selo fica destinado a mostrar quais as usinas brasileiras que estão promovendo o desenvolvimento social no país e quais têm importância fundamental para o programa do biodiesel.

3.3.3. Matérias-primas

O governo federal se preocupou em aumentar as chances das usinas comprarem matéria-prima dos agricultores familiares, especialmente nas regiões mais pobres do Brasil.

3.3.4. Especificação

A Resolução 07/08 da ANP é um marco para a indústria de biodiesel brasileira. A agência decidiu tornar mais rígida a especificação do combustível produzido no país, abandonando o padrão provisório (Resolução ANP nº 42, de 24.11.2004 – D.O.U. 9.12.2004 – retificada D.O.U. 19.4.2005), especialmente para que o nosso produto tenha melhor aceitação na Europa e nos Estados Unidos, facilitando a exportação.

A nova regra levou em consideração um estudo internacional que demonstra quais são as exigências de mercados em países com grande consumo do combustível. Na maior parte dos casos, a especificação brasileira já atendia o que era exigido, mas algumas mudanças foram necessárias.

3.3.5. Registro na ANP

A ANP decidiu mudar o sistema de autorizações necessárias para as empresas trabalharem com biodiesel. A agência colocou uma minuta de uma legislação mais rigorosa na internet e, depois de receber as colaborações da sociedade, editou a resolução n.º 25, que alterou as regras.

Desde então, há três tipos de autorização diferentes que as usinas precisam conseguir na ANP: uma serve apenas para a construção, para a modificação das instalações e para a ampliação de usinas; a segunda serve para a produção do combustível; e a terceira, finalmente, dá à empresa o direito de vender o biodiesel.

Entretanto, Nery do Prado (2015) ressalta a importância do governo estimular as empresas registrarem-se na ANP, por meio da nova portaria e das isenções fiscais, porém não ficar apenas no estímulo, mas trazer outros incentivos às empresas para o mercado de biodiesel, a fim de poder incluir os agricultores familiares como fornecedores de matéria-prima, e, desta

forma, implementar uma política social para os pequenos agricultores brasileiros, ao permitir a essas famílias o acesso à tecnologia e produtos financeiros, além de oferecer melhores formas de comercialização de sua produção.

3.4. AS LEIS QUE ACOMPANHAM O SELO COMBUSTÍVEL SOCIAL NO PNPB

No balanço do MDA em 2015, o programa do biodiesel passou por atualização periódica das regras do Selo Combustível Social. Em média, foram atualizadas as normas a cada 2 (dois) anos. Dentre as regras importantes, nesse contexto, estão a Instrução Normativa N° 01 de 05 de Julho de 2005, a Instrução Normativa N° 01 de 19 de Fevereiro de 2009, a Instrução Normativa N° 01 de 20 de Junho de 2011 (habilitação de cooperativas), a Portaria N° 60 de 06 de Setembro de 2012, Portaria N° 81 de 26 de Novembro de 2014 e a Portaria N° 337 de 18 de Setembro de 2015.

Outra criação importante foi a do Sistema de Gerenciamento das Ações do Biodiesel (SABIDO) e a Portaria N° 80 de 26 de novembro de 2014, que dispõem da criação da Câmara Técnica de Avaliação e Acompanhamento do SCS (ANP, 2015).

Todas essas atualizações no programa objetivaram a clareza de regras para aquisições de matéria-prima oriunda da agricultura familiar, valorizando não somente a diversificação de aquisição de matéria-prima, mas também, as especificidades regionais e o fortalecimento da organização produtiva, neste caso, o Cooperativismo.

O quadro 1 traz de forma resumida, um breve histórico do acompanhamento dos decretos que regulamentam o programa de biodiesel no país referente ao Selo Combustível Social. De forma sintetizada, abordamos por divisões as regras que prevalecem e/ou prevaleceram durante sua implantação, apresentando seus dispositivos legais correspondentes como decretos, portarias, resoluções e instruções normativas, marcos esses de referências para a condução do programa ao longo desses anos e o uso do Selo Combustível Social.

3.5. ENTENDENDO AS POLÍTICAS PÚBLICAS NA VISÃO DO SELO SOCIAL

A participação da agricultura familiar, no contexto da produção de biocombustíveis, era para, na prática, ser feita através da inclusão social, e que muito se deve pelas ações de políticas públicas de inserção promovida por diversos órgãos públicos e em todas as esferas da sociedade civil organizada.

Assim, é preciso relacionar e transformar o atual cenário entre as políticas públicas e o verdadeiro entendimento na prática do Selo Combustível Social. Neste aspecto, apresentamos tais conceitos para reflexão.

Para atingir resultados em diversas áreas e promover o bem-estar da sociedade, os governos se utilizam das Políticas Públicas que podem ser definidas da seguinte forma: “(...) Políticas Públicas são um conjunto de ações e decisões do governo, voltadas para a solução (ou não) de problemas da sociedade.” (SEBRAE, 2008, p.05).

Aqui o destaque é: Como estão acontecendo os conjuntos dessas ações? E os problemas enfrentados pelos agricultores familiares com a certeza de programas inclusivos como o Selo Combustível Social?

A sociedade engajou na trajetória das energias renováveis no Brasil e isso tem mostrado que a produção de Bioenergia, na contemporaneidade, desencadeou novas formatações, tanto para a pesquisa, quanto para o desenvolvimento. Porém, entre a produção de biodiesel e a relação com a agricultura familiar, existe ainda um distanciamento, o que coloca as ações do governo sob questionamentos.

Trazendo o Estado como sujeito de responsabilização do bem coletivo, Miki (2009), afirma que:

“Pode-se definir políticas públicas como ações desencadeadas pelo Estado, visando o bem coletivo. Nas diversas escalas, federal, estadual e municipal elas acontecem e mudam a forma de organização da sociedade. O Estado tem a responsabilidade de criar alternativas que diminuam o risco à sociedade, porém, sabe-se que diversas forças sociais estão envolvidas e na maioria das vezes, são antagônicas.” (MIKI, 2009, p. 20).

De acordo com Anjos et. al. (2013), conciliar políticas públicas às ações governamentais tem se tornado prática comum nos dias atuais. Essa exposição é elucidada pelos pretextos relacionados aos países em desenvolvimento e de democracia recente ou recém-democratizados - em especial aos países da América Latina, que ainda não conseguiram formar coalizões políticas capazes de equacionar a questão de como desenhar políticas públicas impulsionadoras do desenvolvimento econômico e de promover a inclusão social da população simultaneamente.

Porém, suas totalidades são os somatórios de um conjunto de ações, metas e planejamentos que o governo tem que apresentar, conforme menciona em destaque o SEBRAE:

“Dito de outra maneira, as Políticas Públicas são a totalidade de ações, metas e planos que os governos (nacionais, estaduais ou municipais) traçam para alcançar o bem-estar da sociedade e o interesse público. É certo que as ações que os dirigentes públicos selecionam (suas prioridades) são aquelas que eles entendem serem as demandas ou expectativas da sociedade.” (SEBRAE, 2008, p.05).

O que se percebe aqui é que a teoria difere da prática, podendo comparar e avaliar na figura 7 que mostra a quantidade de contratos com agricultores familiares correspondentes ao PRONAF entre as safras de 2004 até o ano de 2015. A relação entre os números de contratos estabelecidos no Brasil, em comparação com os números de contratos no Estado da Bahia, é desproporcional se comparados a outras regiões, nestes mesmos períodos.

Fica evidente que entre os períodos das safras de 2004 até 2015, a Bahia se manteve estável com uma média de aproximadamente 194.000 contratos, representando 10,4% dos dados nacionais. Já a média do Brasil ficou com 1.860.000 contratos, equivalentes a 89,6%.

A participação da agricultura familiar no abastecimento das matérias primas ao PNPB parece encontrar-se em situação precária semelhante, mesmo entre os estados no Nordeste, onde as condições fiscais são as mais vantajosas disponibilizadas pelo PNPB, supostamente, deveriam permitir uma maior participação destes, o que não foi constatado.

Segundo Seratto (2009), os números apresentados sobre a participação da agricultura familiar, pelo MME e MDA, órgãos corresponsáveis pela política pública estabelecida no PNPB, levantam inevitáveis controvérsias, seja pela omissão ou insuficiência de informação sobre seus resultados. Esse fato pode ser reflexo da provável falta de controle na gestão do Programa, instrumento indispensável para que se possa praticar boa gestão e correção de falhas no processo, bem como da falta de transparência e controle sociais, normalmente exigidos. Por outro lado, são inegáveis as dificuldades de gestão, coordenação e a fragilidade exposta na quase ausência de estratégia para que possa incluir agricultores familiares, em escala, na nova indústria brasileira do biodiesel.

A figura 8 mostra a evolução do número de estabelecimentos da agricultura familiar na participação do PNPB, traçando um panorama inverso do que foi anunciado pelo Governo. De acordo com o Ministério de Minas e Energia - MME (2015), o PNPB institucionalizou a base normativa para a produção e comercialização do biodiesel no Brasil, definindo o modelo tributário para este novo combustível e promovendo os mecanismos para inclusão da agricultura familiar no contexto do referido programa, consubstanciado no Selo Combustível Social, prometendo como meta a inclusão de 200.000 famílias no programa.

Da análise da figura 8, visualiza-se a evolução do número de famílias fornecedoras de matéria-prima nos arranjos do Selo Combustível Social, desde a sua implantação até o ano de 2015, as quais participaram diretamente no PNPB. Importante salientar que, em alguns anos, há relevância maior dessa evolução de número de famílias dentro do programa, em razão das metas iniciais de divulgação pelo Governo, que nunca chegaram a ser cumpridas, consoante a seguir.

Portanto, discutir as políticas públicas para a agricultura familiar é muito abrangente, pois envolve diferentes realidades e perfis de produtores. Tsukamoto (2010) conclui ainda que a filosofia dessas políticas públicas é interessante enquanto intenções, mas há que se aperfeiçoar muito, principalmente, em relação à burocracia institucional, destacando a instituição financeira como a que tem apresentado obstáculos para o bom andamento dos programas e projetos.

Observa-se que nos últimos 25 anos houve uma crescente demanda e interesses pela agricultura familiar no Brasil. De outra sorte, no ano de 2014, estabeleceu-se o Ano Internacional da Agricultura Familiar (AIAF), com o propósito de aumentar a visibilidade da agricultura familiar e dos pequenos agricultores, focalizando a atenção mundial em seu importante papel na erradicação da fome e pobreza, provisão de segurança alimentar e nutricional, melhoria dos meios de subsistência, gestão dos recursos naturais, proteção do meio ambiente e para o desenvolvimento sustentável, particularmente nas áreas rurais (AIAF, 2014).

Frente à importância da AF no país, materializou-se em políticas públicas, um dos principais programas neste setor, o PRONAF (Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar), que atualmente, como um programa do governo federal, destina-se a estimular a geração de renda e melhorar o uso da mão de obra familiar, por meio do financiamento de atividades e serviços rurais agropecuários e não agropecuários desenvolvidos em estabelecimento rural ou em áreas comunitárias próximas (MDA, 2015). O programa possui as mais baixas taxas de juros dos financiamentos rurais, além das menores taxas de inadimplência entre os sistemas de crédito do País.

Dados do MDA (2015) apontam que nos anos de 2004 e 2005 foram destinados R\$ 100 milhões como recursos do PRONAF para o Biodiesel. As linhas de crédito disponibilizadas atendem o financiamento tanto do custeio quanto de investimentos e estas linhas apresentam taxa de juros especiais, que colocam a agricultura familiar em posição de vantagem competitiva.

Com a criação do PNPB e tendo sua divulgação expressiva no ano de 2005, a quantidade de contratos do PRONAF, referente às safras 2005/2006 bateram os recordes em relação aos demais anos, gerando 2.546.517 contratos, aproximadamente 64% a menos nos anos 2014/2015.

O Estado da Bahia não se destacou com a participação do Selo Combustível Social, uma vez que o número de empresas e contratos se manteve abaixo da média nacional, não alcançando as metas de inserção de agricultores familiares no PNPB.

Segundo De Souza, et. al. (2015), inicialmente uma grande vantagem desse programa seria a possibilidade da inserção de famílias de agricultores no processo produtivo, priorizando as regiões Norte e Nordeste, no entanto, o que se observa é que a maioria das famílias inseridas era proveniente das regiões Sul e Sudeste.

Por outro lado, com finalidade de divulgação do programa de biodiesel, tendo como representação a agricultura familiar, o PNPB utilizou artifícios nos eixos norteadores de ações e instrumentos de políticas públicas, para fundamentar as estratégias de desenvolvimento rural sustentável (Tabela 1).

Analisando os dados do MDA, percebe-se que o número de cooperativas cresceu exponencialmente com a implementação do PNPB, através dos eixos norteadores, passando de 20 unidades, em 2008, para 78 em 2014. Segundo os dados na cartilha do PNPB - Inclusão Social e Desenvolvimento Territorial, desde o início do Programa, o número de cooperativas da agricultura familiar tem aumentado, partindo de quatro cooperativas em 2006 para 59 em 2010; por sua vez, das 59 atuais participantes, 42 são provenientes da região Sul do Brasil (MDA, 2010).

Atualmente o programa conta com 112 cooperativas habilitadas (Figura 9), sendo 51 usinas produtoras de biodiesel, das quais somente 42 possuem o Selo Combustível Social. A Bahia tem registrado apenas 2 usinas detentora do Selo Combustível Social (Figura 10). Mato Grosso, Rio Grande do Sul e Goiás são os Estados com maior número de usinas, com 11, 8 e 5 respectivamente (MDA, 2016).

Analisando, por sua vez, os dados do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA, 2010), após um amplo estudo do Programa do biodiesel em parceria com a Secretaria de Planejamento e Investimentos Estratégicos (SPI) do Ministério do Planejamento e com o Banco Nacional do Desenvolvimento (BNDES), observou-se que a dependência da produção da soja e o fato do Programa de biodiesel não atingir as suas metas junto à agricultura familiar demonstram que a meta da inclusão social estipulada para o programa nunca foi atingida, resultando desse fato as críticas e incerteza real do programa, inclusive no Estado da Bahia.

Outro significativo dado deste estudo foi que, embora o Selo Combustível Social seja “relevante” dentro do mecanismo do PNPB, ele não tem cumprido seu papel como fonte de estímulo para o pequeno produtor rural. Uma vez que o IPEA avalia o selo social da seguinte forma:

“Ele tem significado um mecanismo de incentivo para a indústria, mas não de suporte dos objetivos de inclusão do PNPB. Isto porque, em vez de alcançar o pequeno agricultor, que era o alvo inicial, o selo se torna uma credencial que permite acesso aos incentivos fiscais para as indústrias, além de facilitar o acesso delas ao mercado (IPEA, 2010. p. 38)”.

Embora os valores apresentados sejam crescentes em relação aos recursos adquiridos pela agricultura familiar, não foi representada a porcentagem de agricultores não inseridos corretamente no programa, inclusive os agricultores da Bahia. A figura 11 representa bem a evolução em aquisição em milhões de reais, ao longo dos últimos anos, contrapondo-se, na prática, ao que o MDA divulga como sendo realizado no Estado da Bahia.

Vale ressaltar que em 2014, houve a concessão do Selo Combustível Social para uma empresa do Rio Grande do Sul e 4 empresas produtoras de biodiesel tiveram o cancelamento do Selo Combustível Social. A última ocorreu em outubro do mesmo ano (MDA, 2014).

SCS beneficia agricultores familiares de 14 estados, distribuídos em 970 municípios. A Bahia apresenta somente 22 municípios beneficiados, ou seja, apenas pouco mais de 2,2% do total dos demais municípios. Encontra-se, portanto, muito aquém das metas propostas para a região, em especial o Estado da Bahia.

Os dados a seguir são referentes ao número de agricultores familiares produtores de biodiesel e que tiveram aquisições expressa por milhões de reais nos anos de 2005, compreendendo até 2014, fazendo, uma análise da evolução do valor de matéria prima adquirida da agricultura familiar no âmbito do Selo Combustível Social (Figura 11).

Infere-se que as aquisições da agricultura familiar realizadas por empresas detentoras do Selo Combustível Social apresentam um comportamento ascendente. Em 2006, 2007, 2008, 2009 até 2013 as empresas compraram da agricultura familiar, em todo país, R\$ 68,5 milhões, R\$ 117,5 milhões, R\$ 276,5 milhões, R\$ 677,34 milhões e R\$ 2.855 bilhões, respectivamente.

Essas aquisições apresentaram um crescimento de mais de 56% em relação ao ano anterior com uma marca de R\$ 1.058 bilhão em compras de matérias primas.

Somente nas últimas 4 safras de 2010 a 2014 foram gastos R\$ 158,8 milhões com ATER e R\$ 20,8 milhões com fomento a título de doações aos agricultores familiares. Em média, são gastos por safra R\$ 39,6 milhões com ATER e R\$ 5,2 milhões em fomento (MDA, 2016).

O Estado da Bahia teve seus índices abaixo dos outros Estados devido as grandes estiagens nos períodos de plantio entre os anos de 2011 a 2015, fazendo com que a média da

região Nordeste fosse baixa no quesito aquisição em milhões de reais e fornecimento de matéria-prima, tendo para estes anos uma queda drástica na participação do fornecimento de matéria-prima no âmbito do SCS. O número de famílias na Bahia se estabeleceu nas seguintes posições nos anos de 2011, 2012, 2013, 2014 e 2015 com 11.814, 7.790, 4.470, 988 e 664 respectivamente.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observando-se a relação entre o PNPB e a AF no Estado da Bahia, sob o viés da efetividade de participação do Selo Combustível Social e suas ações como políticas públicas, percebe-se a necessidade de um esforço no sentido de atender à produção de matéria-prima para o biodiesel, pois, a partir do momento em que essa inserção social deixa de ser atendida, isso acaba sendo descrédito, inviabilizando a realização do objetivo a que se propõe.

O Selo Combustível Social é, em sua essência, uma significativa política pública criada para promover a inclusão de agricultores familiares no mercado do biodiesel. Porém, é, sabido que a regulamentação do Selo já passou por algumas mudanças por causa de críticas e pressões de diversos setores ligados ao biodiesel, sobretudo, por parte das empresas produtoras deste biocombustível. Verificam-se deficiências e contradições existentes na legislação, como demonstrado anteriormente, que impedem alcançar a meta social do Programa, haja vista os entraves existentes nos setores público e privado de modo a impossibilitar verdadeiramente os subsídios para a agricultura familiar.

Nessa linha de raciocínio, arranjos únicos do programa de biodiesel, com ênfase na inclusão sócio produtiva, também são desafios a serem enfrentados, como, por exemplo, a predominância da soja na produção de biodiesel, que atualmente apresenta percentuais de capacidade ociosa do sistema de produção de biodiesel no Brasil, sem que haja diversificação, quando, na realidade, essa tendência econômica poderia se tornar uma alternativa para a verticalização direta da integração da indústria com agricultura familiar.

Entre outros obstáculos à diversificação, podemos destacar: a falta de conhecimento tecnológico para implantar e gerir sistemas diversificados que sejam eficientes e sustentáveis; a baixa disponibilidade de mão de obra para viabilizar sistemas que sejam mais intensivos em trabalho, face à maior dificuldade de mecanizar cultivos diversificados; as dificuldades de comercialização e de infraestrutura de beneficiamento, armazenamento e transporte, inerentes à menor escala de produção e a falta de capital para implementar as mudanças inovadoras.

Estabelecer a permanência do programa Selo Combustível Social, como ação do PNPB, abre grande oportunidade para que o governo deixe de visar o mercado de crédito e redirecione

recursos para produção de biocombustíveis, voltando-se para áreas destinadas à agricultura familiar, caso contrário, deve-se entender que, de fato, a produção de bioenergia, no atual modelo, não atende às necessidades da demanda do setor energético e, com isso, reduzindo-se o grau de dualidade neste setor.

É indicado, também, que a área governamental possa discutir a tradução da Política Pública, denominada Selo Combustível Social, em prática de Responsabilidade Social, destacando as possibilidades de que o Selo esteja contribuindo para o desenvolvimento de algumas regiões brasileiras e para fixação do homem no campo, gerando emprego e renda, e não apenas se orientando por dados de evolução que não condizem com a realidade.

Por conseguinte, a baixa competitividade de usinas cujo único negócio é o biodiesel sejam direcionadas a outros incentivos que não somente o que é apresentado pelo modelo tributário federal, que foi e é ineficiente, para a diversificação da cultura energética, a fim de incentivar a regionalização e o fortalecimento da agricultura familiar.

Outro desafio a enfrentar é a diversificação das matérias-primas como escala produtiva e preço, para não ficar somente na cultura da soja. Outras espécies nativas poderão ser alternativas viáveis, a médio prazo, e, dessa forma, criar oportunidade para traçar estratégias que incluam a agricultura familiar nesses segmentos.

Para isso, a agricultura familiar é capaz de atender plenamente as demanda no cenário proposto desde que haja acesso ao mercado de biodiesel e, principalmente, a credibilidade no programa, garantindo neste caso, para o acesso da agricultura familiar, a priorização do conjunto de políticas públicas (financiamento, assistência técnica e extensão rural – ATER, de uso da terra e de apoio à comercialização) voltadas à produção de biodiesel a partir da agricultura familiar e dos assentados da Reforma Agrária.

Neste contexto, ainda existem muitos obstáculos a serem superados para que seja alcançado o equilíbrio entre produção de bioenergia e participação da agricultura familiar, traduzindo-se em desafios para os produtores que detém o Selo Combustível Social. Desta forma, o recomendado é que a produção de biocombustíveis desenvolva vertentes com orientação aos pontos críticos e ao desenvolvimento rural sustentável de forma semelhante entre todos os Estados.

As posições controversas ao Programa Nacional da Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) e as incertezas críticas passam por caracterização dos cenários comentados, mas podemos registrar o efetivo papel que o Estado pode assumir, para fomentar e regulamentar esta atividade, ao promover a melhoria e o incentivo de políticas públicas para o contexto da Bioenergia na Bahia e sua caracterização com o Selo Combustível Social.

Portanto, e indiscutível a importância de uma fonte de energia renovável na matriz energética brasileira e o trabalho que a AF desenvolve na cadeia produtiva do biodiesel, nos últimos anos no PNPB, pelo menos no estado da Bahia, faz repensar suas metas originalmente criadas no programa, uma vez que não foram atingidas de maneira satisfatória. Na análise feita, afirmamos que houve alterações nas regras do Selo Combustível Social com o objetivo de reduzir disparidades regionais e ampliar a inclusão social no Nordeste. Contudo, essas alterações não ocorreram no mesmo sentido.

Concluiu-se então, pela pesquisa feita, que, quando comparadas as expectativas dos especialistas do PNPB sobre o Selo Combustível Social, à época do lançamento, ao panorama da Agricultura Familiar na Bahia, nos últimos 10 anos, pode-se constatar que não se observaram significativos avanços socioeconômicos na população inserida no programa, e que, portanto, a estratégia social adotada mostrou-se pouco apta a promover o desenvolvimento rural sustentável e a inclusão social, conforme havia sido planejado.

5 AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Tecnologia e Ciências – FTC e ao Mestrado Profissional em Bioenergia.

REFERÊNCIAS

ABRAMOVAY, Ricardo, FAVARETO, Arilson e KAWAMURA, Yumi. **Impactos do Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel nas economias do semi-árido nordestino**. São Paulo/Brasília, Março de 2009.

AIAF, Ano Internacional da Agricultura Familiar Camponesa e Indígena. 2014. <http://www.aiaf2014.gov.br/sitemda/agricultura-familiar>– **Comitê Brasileiro**, 2014.

ANJOS, F.H. – V SINAD – **Selo Combustível Social**: Traduzindo política pública em responsabilidade Social. Lavras, 7 a 9 de Novembro de 2013 Universidade Federal de Lavras – UFLA.

ANP, Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - ANP. **Biodiesel - Introdução**. Disponível em <http://www.anp.gov.br/?pg=73292&m=&t1=&t2=&t3=&t4=&ar=&ps=&cachebust=1418844341064> Acesso em 15 abr. 2016.

ANP, Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (2016). **Boletim mensal do biodiesel para produção de biodiesel**. Janeiro de 2016. (perfil nacional das matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel). Disponível em < www.anp.gov.br/?dw=79407>. Acessado em 18 mar. 2016.

ARAÚJO, L.R.R. et al. 2008. **Transesterificação etílica de óleo de soja via catálises básica e ácida**. 48º CBQ – Congresso Brasileiro de Química. Química na Proteção ao Meio Ambiente e à saúde. Rio de Janeiro set/out. 2008. Química ambiental. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/5/5-552-4873.htm>>

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. 2016. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília. v. Mensal. Acompanhamento da safra brasileira de grãos | Sexto levantamento - 03/2016. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_03_10_09_17_17_boletim_graos_marco_2016.pdf>. Acesso em 20 jun. 2016.

DABDOUB, Miguel J et al. 2009. **Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria**. Química Nova, Vol. 32, No. 3, 776-792, 2009. Ribeirão Preto - SP, Brasil.

DE SOUZA, V.H.A.; Dos Santos, L.T.; Campos, A.F.; Carolino, J.;. 2015. **Análise do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB): Resultados e Críticas**. Revista de Administração Geral, v.1, n.1, p.23 - 41, 2015. Artigo recebido em 03/10/2015. Última versão recebida em 10/11/2015. aprovada em 05/11/2015.

FERRARI, R.A, et al. 2005. **Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físicoquímica e consumo em gerador de energia**. Quim. Nova, Vol. 28, No. 1, 19-23, 2005 Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa – PR. 2005.

GERIS, R. et al. 2007. **Biodiesel de soja - reação de transesterificação para aulas práticas de química orgânica**. Química nova. Vol. 30 nº. 5. São Paulo set/out. 2007. On-line version ISSN 1678-7064. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000500053>. Acesso em 12 jun. 2016.

GIL, Antonio Carlos. **Métodos e técnicas de pesquisa social** / Antonio Carlos Gil. - 6. ed. - São Paulo: Atlas, 2008.

HOLANDA, Ariosto. **Biodiesel e inclusão social** / Ariosto Holanda. —Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações, 2004. 200 p. : il. color. — (Série cadernos de altos estudos; n. 1) Relatório do Deputado Ariosto Holanda que detalha o tema: “Biodiesel e inclusão social”, aprovado pelo Conselho de Altos Estudos e Avaliação Tecnológica, da Câmara dos Deputados. Brasília, 2004.

MARQUES M.V. et al, 2010. **Determinação do teor de ésteres graxos em Biodiesel metílico de soja por cromatografia gasosa utilizando oleato de etila como padrão interno**. Quím. Nova vol.33 no.4 São Paulo 2010. *Print version* ISSN 0100-4042. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040422010000400039>

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. **Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011** /, Secretaria de Produção e Agroenergia. 2. ed. rev. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 110 p.

MDA, Ministério de Desenvolvimento Agrário / SAF, **Programa de Biodiesel**. 2015. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/portal/saf/programas//Biodiesel>. Acesso em 06 fev. 2016.

MDA, Ministério de Desenvolvimento Agrário / SAF, Secretaria da Agricultura Familiar. **Relatórios para Brasil e Semiárido, Regiões, Estados, Territórios e Municípios**. Dados 2015. Disponível em: <<http://www.mda.gov.br/sitemda/pagina/acompanhe-a%C3%A7%C3%B5es-do-mda-e-incra#sthash.diKMkQxU.dpuf> dados2015>. Acesso em 11 abr. 2016.

MDA, Ministério de Desenvolvimento Agrário 2016. **Cooperativas habilitadas. Atualização: 17/06/2016**. <<http://www.mda.gov.br/sitemda/pagina/cooperativas-habilitadas>>. Acesso em 21 jun. 2016.

MDA, Ministério de Desenvolvimento Agrário 2016. Secretaria da Agricultura Familiar – SAF **Departamento de Geração de Renda e Agregação de Valor** – DGRAV Coordenação Geral de Biocombustível – CGBIO. <http://www.mda.gov.br/sitemda/sites/sitemda/files/user_img_21/Atualizacao_Empresas%20CS%20_28.01.2016.pdf>. Acesso em 11 abr. 2016.

MDA, Ministério do Desenvolvimento Agrário – MDA. **Portaria nº 60 de setembro de 2012**. Disponível em: http://portal.mda.gov.br/portal/saf/arquivos/view/biodiesel/arquivos-2012/PORTARIA_N%BA_60_2012.pdf. Acesso em 16 dez. 2015.

MDA, Ministério do Desenvolvimento Agrário – MDA. **Cartilha do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel - PNPB**. Disponível em: <http://www.mda.gov.br/sitemda/sites/sitemda/files/user_arquivos_64/Biodiesel_Book_final_Low_Completo.pdf> acesso em 23 abr. 2016.

MME, Ministério de Minas e Energia. **Boletim mensal dos combustíveis Renováveis**, Brasília, 2013.

MME, Ministério de Minas e Energia - **Boletim mensal dos combustíveis renováveis**, Ed. nº 94 novembro/2015.

MCT, Ministério de Ciência e Tecnologia - MCT. **O Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel - PNPB**. Brasília, jul. 2005. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em 03 dez. 2014.

MIKI, A.F. **Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel - PNPB: o discurso à prática**. 149 fls, Dissertação (Mestrado em Geografia). 2009.

PETROBRÁS, 2007. Livreto: **Biocombustíveis 50 perguntas e respostas sobre este novo mercado**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/matprima1_000g7pcetcc02wx5ok0wtedt32e6jis7.pdf> acesso em 25 de ago. 2016.

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. **Decreto Nº 5.297 de 06 de dezembro de 2004**. Disponível em <http://www.presidencia.gov.br>. Acesso em 10 abr. 2016

PRESIDÊNCIA DA REPUBLICA. **Lei 11.097 de 13 de janeiro de 2005**. Disponível em <<http://www.presidencia.gov.br>>. Acesso em 05 jun. 2016.

NERY DO PRADO, Jefferson. **Estudo sobre o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). : Uma análise sobre os municípios produtores de soja e as cooperativas**

de agricultura familiar / Jefferson Nery do Prado. -- 2015. 103 f. : il. Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Economia. Programa de Pós-Graduação em Economia Aplicada, 2015.

OLIVEIRA, Diogo Müller de et al. **Obtenção de Biodiesel por transesterificação em dois estágios e sua caracterização por cromatografia gasosa: óleos e gorduras em laboratório de química orgânica**. Quím. Nova [online]. 2013, vol.36, n.5, pp. 734-737. ISSN 0100-4042. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422013000500021>>.

OLIVEIRA, Renato Santana de. **Conversão catalítica heterogênea de Biodiesel de soja epoxidado via reação de acetoxilação: síntese e caracterização de novos produtos com potencial aplicação como aditivos**. 2013. x, 59 f., Il. Dissertação (Mestrado em Química)—Universidade de Brasília, Brasília, 2013. Disponível em: <http://repositorio.unb.br/handle/10482/14732>

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Políticas Públicas Conceitos e Práticas**. Série Políticas Públicas, Ficha Técnica 2008 Sebrae/MG, Volume 7. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>, acesso em 09 dez. 2014

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Cartilha de Biodiesel SEBRAE**. Ano 2007. Disponível em: <http://www.storck.com.br/site_Biodiesel/Figuras%20para%20site/Cartilha_Sebrae%20Biodiesel.pdf> Acesso em 29 jun. 2016.

SEAGRI, Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Reforma Agrária, Pesca e Aquicultura - **BAHIA AGRÍCOLA**, vol. 09, nº 03, dez. 2014. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/Bahia_Agricola_v9_n3_completa.pdf> Acesso em 19 jul. 2016.

SERATTO, C.D.; MICHELLON E.A. **Trajetória da política nacional de bioenergia e as oportunidades à agricultura familiar**. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Porto Alegre, 2009.

TSUKAMOTO, R.Y. Anais XVI Encontro Nacional de Geógrafos. **Políticas públicas e agricultura familiar: Considerações sobre o norte do Paraná**. Realizado de 25 a 31 de julho de 2010. Porto Alegre - RS, 2010. ISBN 978-85-99907-02-3.

FIGURAS

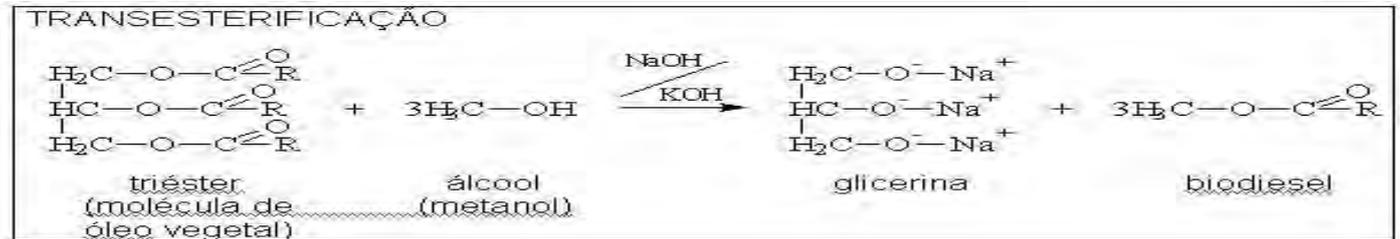


Figura 1. Reação de Transesterificação.

Fonte: Souza, 2006.



Figura 2. Processo da Transesterificação

Fonte: Souza, 2006.

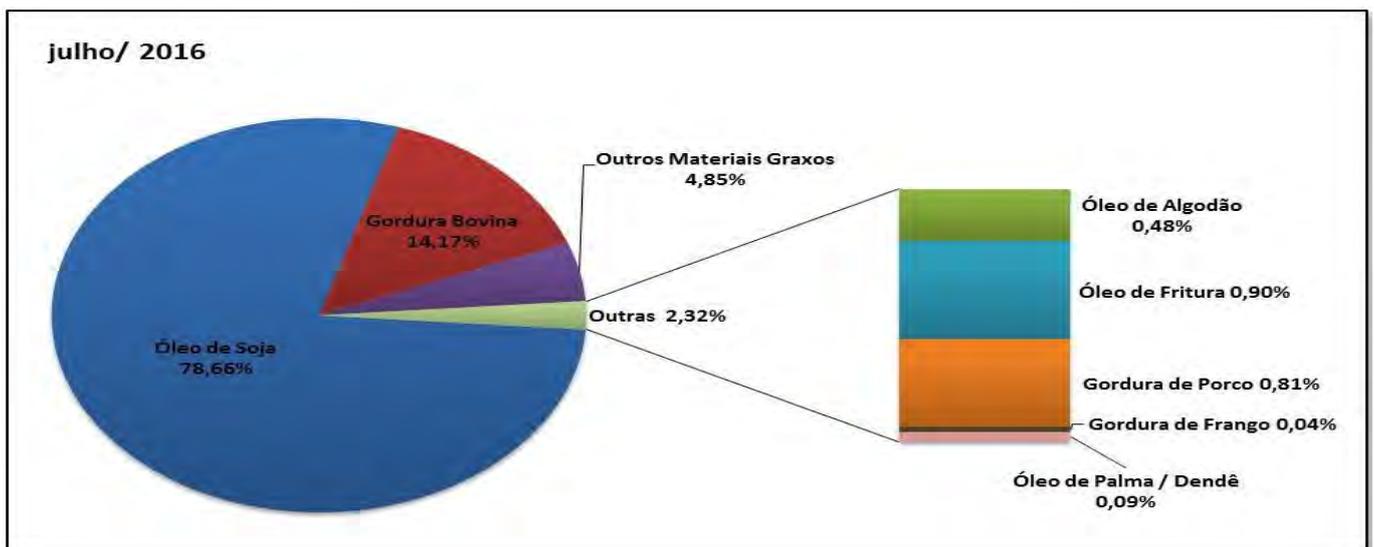


Figura 3. Matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel (perfil nacional)

Fonte: ANP, 2016. Boletim mensal do Biodiesel

PILARES DO PROJETO BIODIESEL NO BRASIL

DESAFIO: Implantar um projeto energético auto-sustentável, considerando preço, qualidade e garantia de suprimento do BIODIESEL, propiciando a geração de renda com inclusão social.

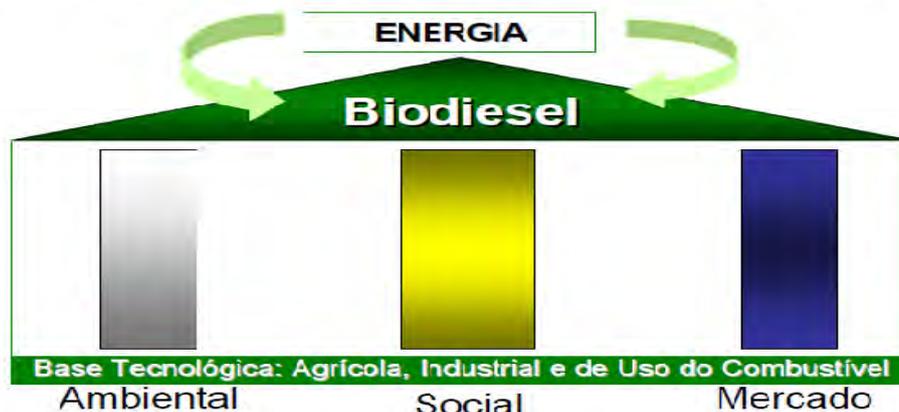


Figura 4. Pilares do PNPB.

Fonte: Brasil, Planalto - MME – PNPB 2015.



Figura 5. Marco Regulatório Atual no Brasil do Uso de Biodiesel

Fonte: SAF/MDA, 2015

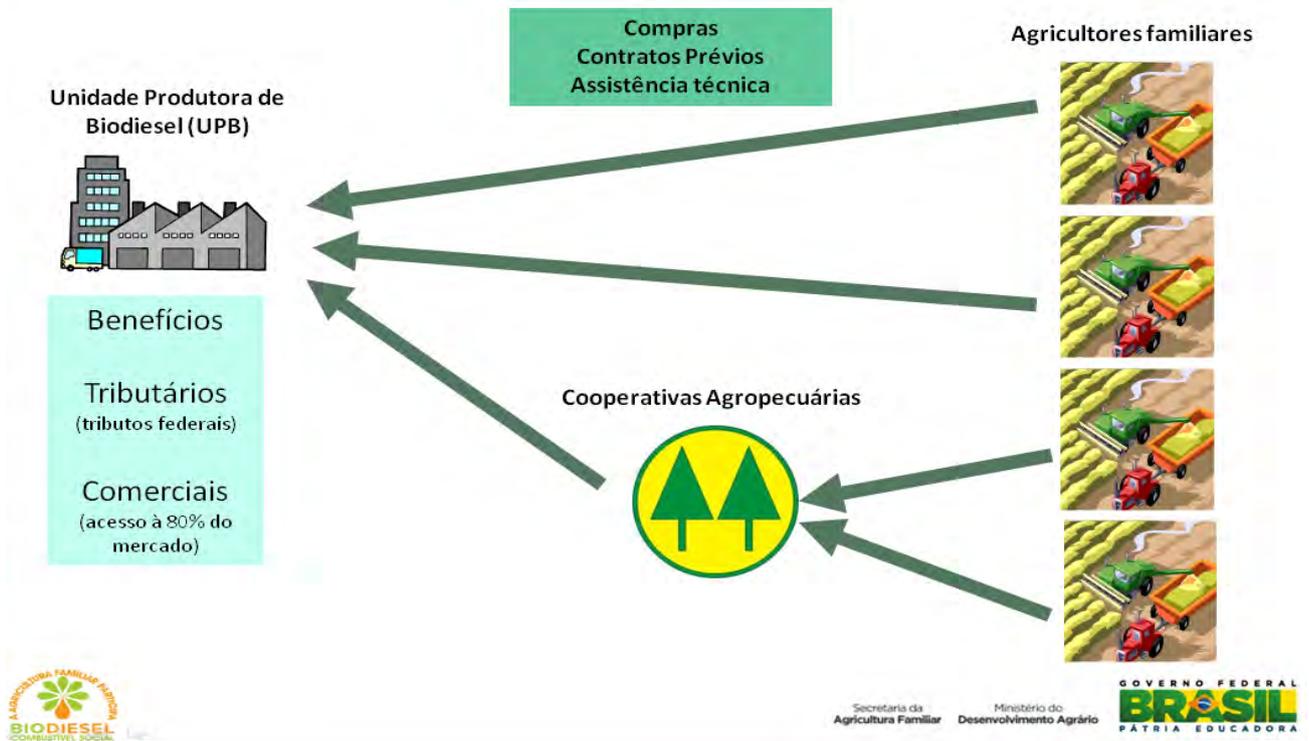


Figura 6. Funcionamento das Unidades Produtoras de Biodiesel e a agricultura familiar
Fonte: MDA/SAF – 2015.

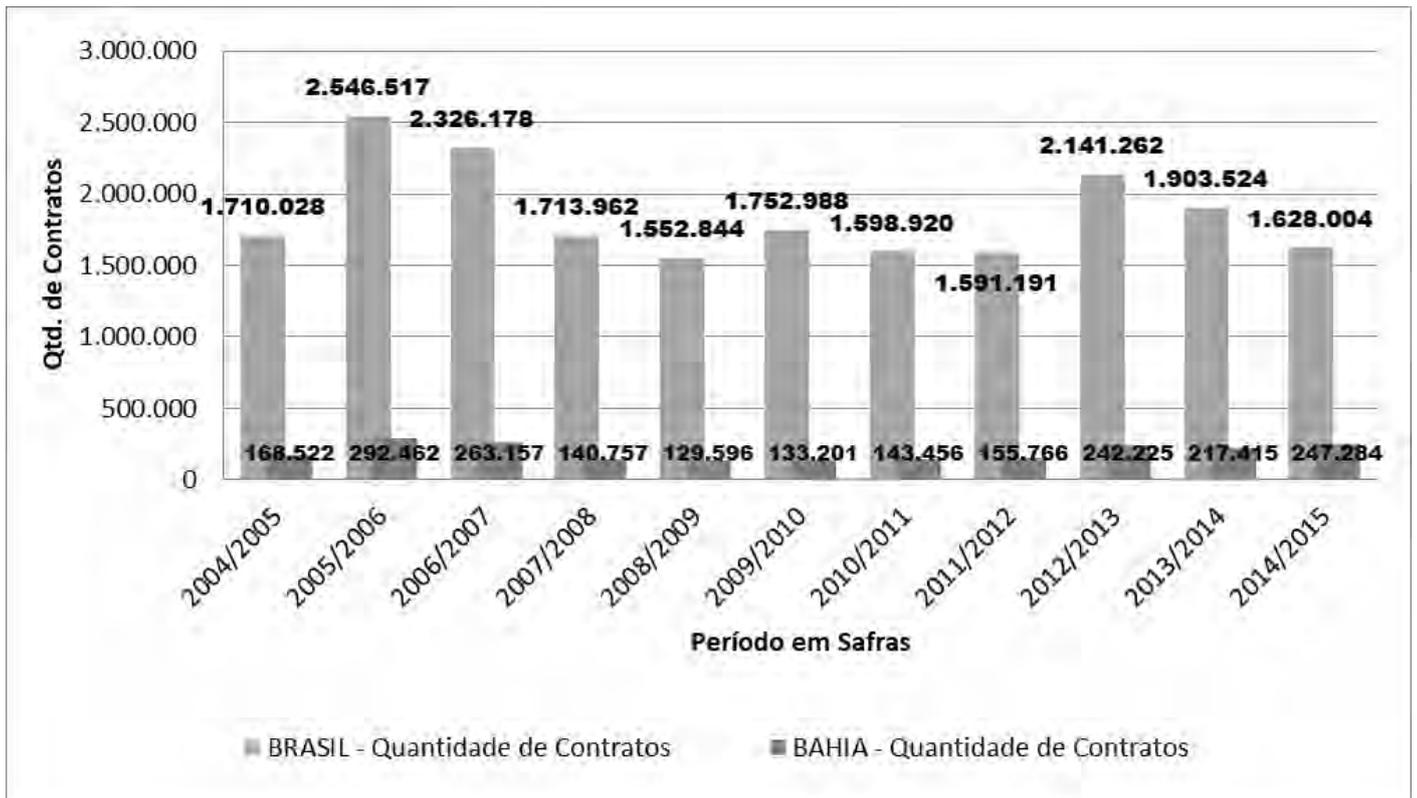


Figura 7. PRONAF – Evolução da Quantidade de Contratos no Brasil x Bahia.
Fonte: SAF/MDA, 2015.

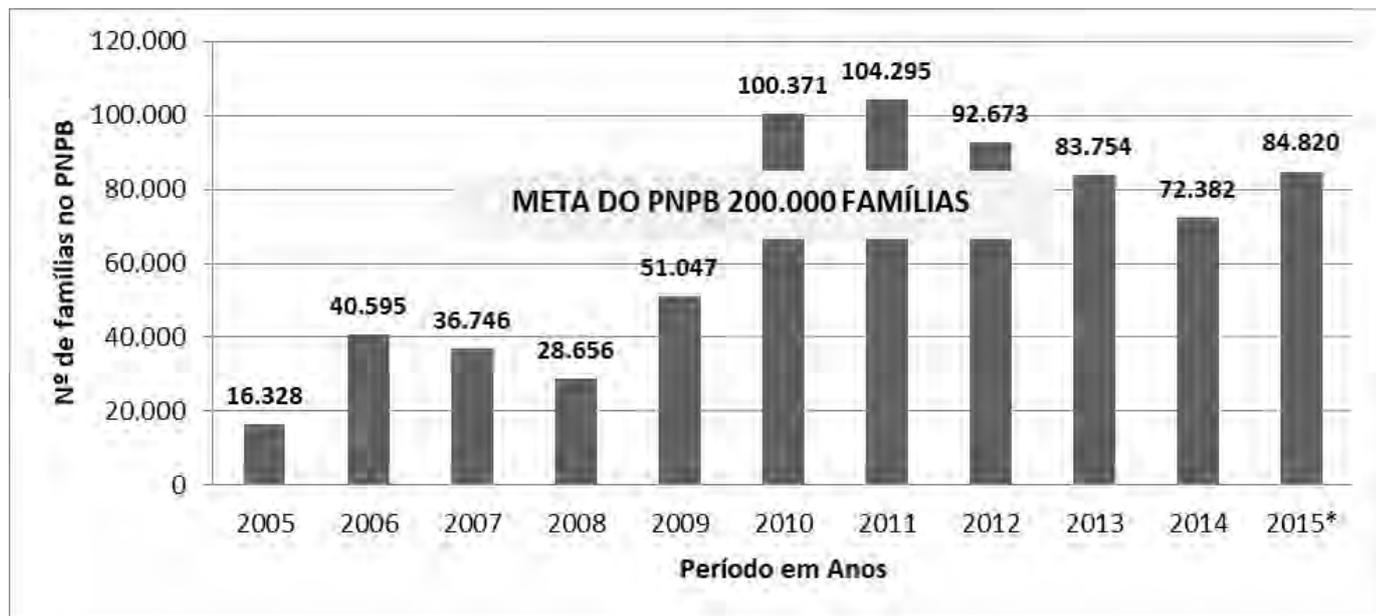


Figura 8. Evolução nacional do nº de Famílias Fornecedoras de Matérias-primas nos arranjos do Selo Combustível Social.

Fonte: SAF/MDA, 2015. *estimativa até novembro de 2015.

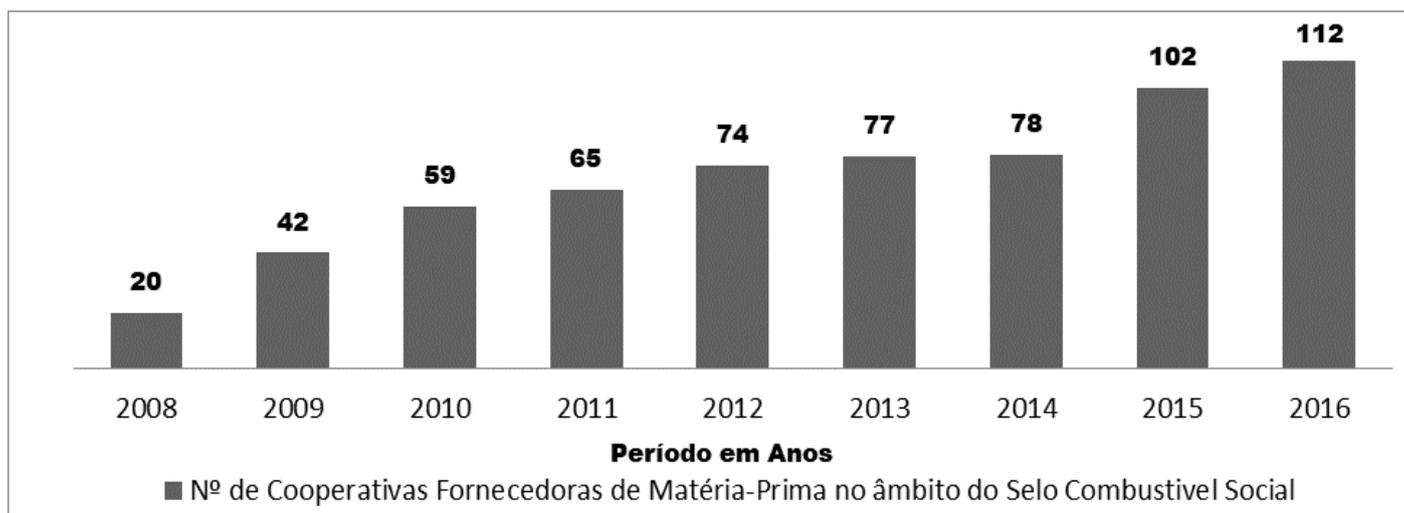


Figura 9. Evolução do nº de cooperativas habilitadas pelo MDA (conforme IN nº 01 de 20 de junho de 2011). Fornecedoras de matérias primas no PNPB: 2008 a 2016

Fonte: MDA, 2016. Atualização: 17/06/2016

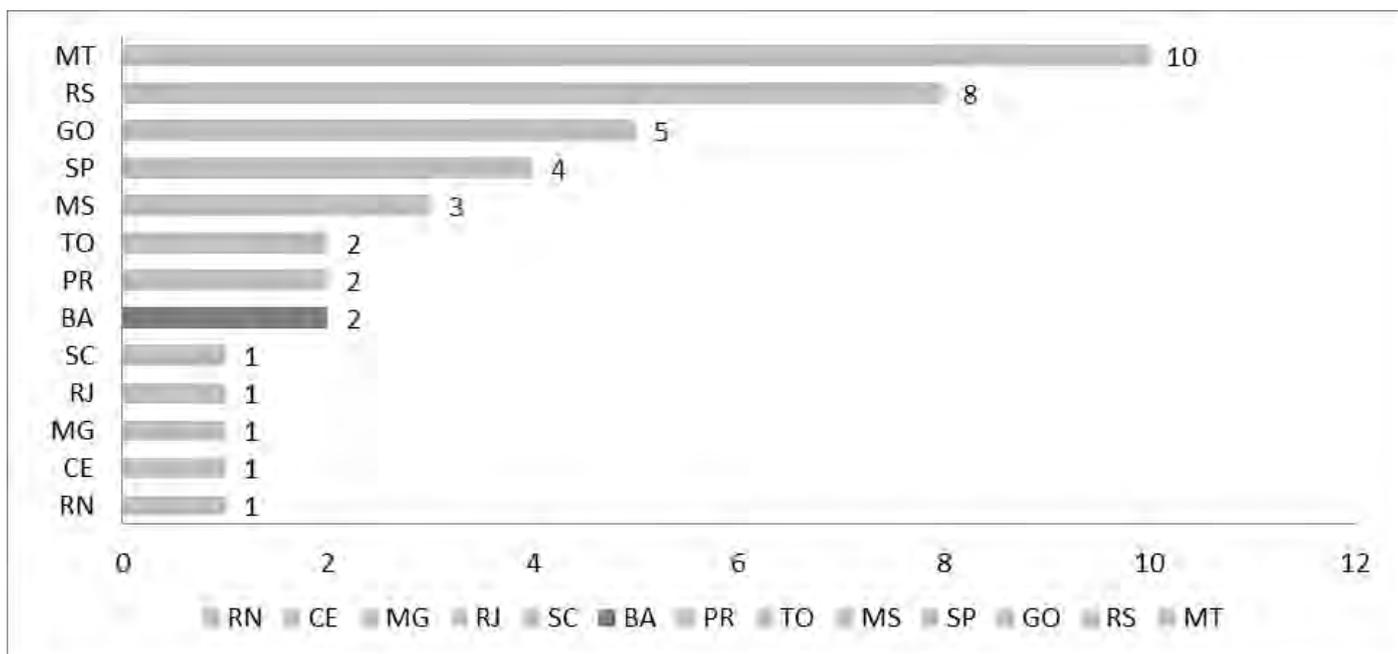


Figura 10. Número de Usinas Produtoras de Biodiesel com Selo Combustível Social por UF
Fonte: MDA, 2016. Última atualização em 28/01/2016



Figura 11. Valor de matéria prima adquirida da agricultura familiar no âmbito do Selo Combustível Social (milhões R\$)
Fonte: SAF/MDA, 2014.

QUADROS

QUADRO 1. Quadro resumido dos decretos, portarias e instruções normativas ligadas ao Selo Combustível Social.

DECRETOS	DISPOSIÇÃO
Decreto Nº 5.297, de 6 de dezembro de 2004	Institui o Selo Combustível Social a ser concedido a produtores de Biodiesel que promovam a inclusão social da agricultura familiar e dá outras providências.
PORTARIAS	DISPOSIÇÃO
Portaria nº 97, do MDA, de 14 de novembro de 2006	Estende às instituições que tenham concessão de uso do Selo Combustível Social , criado pela Instrução Normativa nº 01, do MDA, de 5 de julho de 2006, ou prestem serviço de assistência técnica à empresa com a referida concessão os termos e condições de prestação de Ater grupal aos agricultores do Pronaf B.
Portaria nº 60, de 06 de setembro de 2012	Dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social .
Portaria nº 81, de 26 de novembro de 2014	Dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social e revoga a Portaria nº 60, de 06 de setembro de 2012
Portaria nº 80, de 26 de novembro de 2014	Cria a Câmara Técnica de Avaliação e Acompanhamento do Selo Combustível Social .
Portaria do MDA nº 337, de 18 de setembro de 2015	Dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social
RESOLUÇÕES	DISPOSIÇÃO
Resolução Nº49, de 16 de novembro de 2004	Conselho Nacional do Desenvolvimento Rural Sustentável (Condraf), que aprova recomendações ao Programa Nacional de Biodiesel.
Resolução Nº 3, do CNPE, de 23 de setembro de 2005	Reduz o prazo de obrigatoriedade para o atendimento do percentual mínimo intermediário de dois por cento, em volume, cuja obrigatoriedade se restringirá ao volume de Biodiesel produzido por detentores do Selo Combustível Social .
Resolução Nº 7, do CNPE, de 5 de dezembro de 2007	Estabelece as diretrizes para a formação de estoques de Biodiesel no Brasil, com fornecimento restrito a produtores com concessão de uso do Selo Combustível Social .
INSTRUÇÕES NORMATIVAS	DISPOSIÇÃO
Instrução Normativa Nº 01 de 19-02-2009	Dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos à concessão, manutenção e uso do Selo Combustível Social .
Instrução Normativa Nº 02 de 30-09-2005	Dispõe sobre os critérios e procedimentos relativos ao enquadramento de projetos de produção de Biodiesel ao Selo Combustível Social
Instrução Normativa nº 1, de 20 de Junho de 2011	Dispõe sobre a participação de cooperativas agropecuárias do agricultor familiar como fornecedores de matérias primas aos produtores de Biodiesel para fins de concessão e manutenção do Selo Combustível Social .

Fonte: MDA/SAF/MME/ANP – Adaptado pelo autor.

TABELAS

Tabela 1. Eixos norteadores e suas ações e instrumentos de políticas públicas

EIXOS NORTEADORES	AÇÕES E INSTRUMENTOS DE POLÍTICAS
Combate à pobreza rural	Integrar e consolidar políticas, ações e programas, alicerçados na assistência técnica e extensão rural.
Segurança e soberania alimentar	Valorizar e organizar a oferta de alimentos produzidos pela agricultura familiar.
Sustentabilidade dos sistemas de produção	Oferecer apoio para ampliar o nº de unidades familiares que adotem práticas de agriculturas sustentáveis.
Geração de renda e agregação de valor	Fortalecer, alianças estratégicas e arranjos produtivos que promovam a cooperação e viabilidade econômicas dos empreendimentos rurais.

Fonte: MDA/SAF, 2015.

BRIOFLORA DO CENTRO URBANO DO MUNICÍPIO DE ALAGOINHAS-BAHIA, BRASIL

Milena Evangelista^{1*} & Gracineide Selma Santos de Almeida²

¹Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Estadual de Feira de Santana (PPG-Bot UEFS).

²Universidade Federal de Viçosa (UFV), docente da Universidade do Estado da Bahia (Campus II).

*E-mail: milenaevangelista16@gmail.com

Abstract. Because they are sensitive as environmental changes, such as bryophytes constitute potential bioindicators of environmental quality. The studies on an urban bryoflora allow a brief reflection on the conservation status of more anthropic areas from the presence or absence of indicator species. The present research had the objective to survey the bryophytes-occurrences in the urban center of the city of Alagoinhas Bahia, in order to know its composition and state of conservation from the species found. The urban center of the municipality is under the middle of coordinates S 12° 08' 08" and W 038° 25' 09". The material was collected between the months of March and July (2016), herborized and identified. At the end, a total of 28 samples were distributed in ten species, ten genera and eight families, of the total three species belonging to the Marchantiophyta division and seven of Bryophyta's division. A corticícola briocenosis was predominantly terrestrial. *Fabronia ciliaris* (Brid.) Brid. It was a more abundant species in the research. *Calymperes palisotii* Schwägr, *Frullania ericoides* (Nees) Mont. and *Hyophila involuta* (Hook.) A. Jaeger are indicators of disturbed environments. It is notice that is important to expand the knowledge of the urban bryoflora of the municipality of Alagoinhas in areas farther from the center, in order to obtain data more complete and later complementary with the existing studies in areas of Atlantic Forest in the municipality.

Keywords: Mosses. Hepatic. Floristics.

Resumo. Por serem sensíveis as mudanças ambientais, as briófitas se constituem em potenciais bioindicadoras da qualidade ambiental. Os estudos sobre a brioflora urbana permitem uma breve reflexão sobre o estado de conservação de áreas mais antropizadas a partir da presença ou ausência de espécies indicadoras. A presente pesquisa teve por objetivo realizar o levantamento das briófitas ocorrentes no centro urbano do município de Alagoinhas, Bahia, afim de conhecer a sua composição e estado de conservação a partir das espécies encontradas. O centro urbano do município encontra-se sob os pontos médios de coordenadas S 12° 08' 08" e W 038° 25' 09". O material foi coletado entre os meses de março a julho (2016) herborizado e identificado. Ao final, obteve-se um total de 28 amostras distribuídas em dez espécies, dez gêneros e oito famílias, do total de espécies três pertencem a divisão Marchantiophyta e sete da divisão Bryophyta. A briocenose corticícola foi predominante seguida da terrícola. *Fabronia ciliaris* (Brid.) Brid. foi a espécie mais abundante na pesquisa. *Calymperes palisotii* Schwägr, *Frullania ericoides* (Nees) Mont. e *Hyophila involuta* (Hook.) A. Jaeger são indicadoras de ambientes perturbados. É notório a necessidade em ampliar o conhecimento da brioflora urbana do município de Alagoinhas em áreas mais afastadas do centro, afim de se obter dados mais completos e posteriormente complementar com os estudos existentes em áreas de Mata Atlântica no município.

Palavras-chave: Musgos. Hepáticas. Florística.

1 INTRODUÇÃO

Os estudos sobre a brioflora dos centros urbanos possibilitam conhecer algumas adaptações das briófitas frente a ambientes com elevado nível de poluição ambiental. Os poluentes atmosféricos são responsáveis pelo desaparecimento de várias espécies e por serem mais suscetíveis a essas alterações as comunidades de briófitas tendem a diminuir em áreas mais urbanizadas. Em alguns habitats, a camada de briófitas assimila e estoca muito mais carbono que todo o caule das árvores, liberando para a atmosfera grande quantidade de oxigênio (SANTOS e LISBOA, 2008).

Por serem sensíveis às mudanças da umidade ambiental, contaminações nucleares, qualidade do ar e da água, elas se caracterizam como indicadoras de pequenas transformações climáticas, das condições ambientais e dos distúrbios no ecossistema (GRADSTEIN et al., 2001). Mesmo existindo outras ferramentas para avaliação dos contaminantes do meio, a técnica de bioindicação vem sendo atualmente a mais utilizada.

A poluição do ar atmosférico é mais acentuada em áreas urbanizadas, onde há uma liberação considerada de poluentes que contribuem para a proliferação de gases. De acordo com Rao (1982) os poluentes mais encontrados em briófitas urbanas são: dióxido de enxofre, monóxido de carbono, hidrocarbonetos e óxido nítrico. Algumas briófitas são muito sensíveis ao aumento da poluição do ar, podendo não tolerar o estresse químico. Câmara et al. (2003) afirmam que a presença ou ausência de determinada espécie nos permite inferir sobre a qualidade do ar e das perturbações advindas da urbanização.

Os levantamentos florísticos sobre a brioflora urbana no Brasil ainda são pouco explorados, em uma breve pesquisa pode-se contar com as colaborações de Visnadi e Monteiro (1990), Bastos e Yano (1993), Lisboa e Ilkiu-Borges (1995), Molinaro e Costa (2001), Câmara et al. (2003), Yano e Câmara (2004), Gentil e Menezes (2011) e Prudêncio et al. (2015).

Visando complementar o conhecimento sobre a brioflora urbana, a presente pesquisa teve por finalidade analisar as comunidades de briófitas encontradas no centro urbano do município de Alagoinhas possibilitando o conhecimento sobre a sua composição e estado de conservação das áreas florestadas a partir das espécies indicadoras de ambientes perturbados.

2 MATERIAL & MÉTODOS

A região do centro urbano do município de Alagoinhas, está sob os pontos médios de coordenada S 12° 08' 08" e W 038° 25'09". Foram realizadas excursões de coletas mensais durante o período de março a julho (2016) nas praças, canteiros e arboretos. As áreas selecionadas foram: Praça Castro Leal, Praça da Bandeira, Praça Dionísio e Evilásio, Praça do 8, Praça JJ Seabra, Praça Rio Branco, Praça Ruy Barbosa, canteiros localizados nas ruas 7 de setembro e Rua Judélio Carmo e os arboretos na avenida Luís Viana.

As espécies foram coletadas com parte do substrato, utilizando canivetes e acondicionadas em sacos de papel pardo (capacidade 1Kg) para o transporte. Nestes sacos, foram anotados dados de campo como data, local, substrato, número de coleta, coletor e coordenadas geográficas registradas com GPS. Posteriormente o material foi exposto a temperatura ambiente para desidratação seguindo a metodologia de Yano (1984). O período de desidratação do material é muito variável pois, depende do substrato no qual a briófitas foi coletada. Logo em seguida o material foi depositado no Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB).

As identificações taxonômicas foram realizadas através de estudos morfológicos e anatômicos com auxílio de estereomicroscópio (BEL Photonics STM Pro) e microscópio biológico binocular 1600 x (L1000B-AC). Quando necessário secções transversais foram confeccionados a mão livre e conservados em lâminas semi-permanentes com solução de água destilada e glicerina nas proporções 1:1 e vedadas com esmalte.

Foram utilizadas chaves de identificação encontradas nas seguintes obras: Buck (1998), Gradstein e Costa (2003) e Sharp et al. (1994). O material identificado está sendo catalogado e registrado no banco de dados do Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB). A distribuição geográfica foi baseada nos catálogos de Yano (2008, 2011) assim como consultas na plataforma online do Flora do Brasil.

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

Foram coletadas 28 amostras nas áreas no centro urbano distribuídas em dez espécies, dez gêneros e oito famílias (Tabela 1). Três espécies pertencem a divisão Marchantiophyta e sete a divisão Bryophyta. As famílias Lejeuneaceae e Bryaceae apresentaram maior número de espécies. Apenas duas espécies foram encontradas sobre o solo em pequenas populações enquanto que as demais foram encontradas formando densos tapetes sobre o córtex das árvores, sendo encontradas acima da altura do peito ou na copa.

O pequeno número de espécies encontradas pode estar associado ao elevado nível de estresse ambiental assim como a diminuição das áreas verdes no município de Alagoinhas, porém algumas espécies foram encontradas formando grandes populações, como se observou na Praça J.J. Seabra a espécie *Fabronia ciliaris* (Brid.) Brid. e no canteiro da Rua Sete de Setembro com a espécie *Calymperes palisotii* Schwägr. sendo esta última, indicadora de ambiente antropizado (LISBOA e ILKIU-BORGES, 1995).

De todos os pontos de coleta, o Canteiro Judélio Carmo e os Arboretos da Avenida Luís Viana, apresentaram maior número de amostras (Figura 1). Enquanto que as Praças da Bandeira, Dionísio e Evilásio e Rio Branco não apresentaram nenhum espécime. Deve-se considerar a grande exposição desses ambientes ao grande fluxo de pessoas, possuírem poucas árvores e pouco solo exposto.

Algumas espécies encontradas são fortes indicadoras de ambientes perturbados e outras são comumente encontradas em áreas urbanizadas. Dentre as hepáticas, a espécie *Frullania ericoides* (Nees) Mont. é comum em ambientes urbanos ou lugares onde a vegetação foi degradada (BEHAR et al., 1992; YANO e CÂMARA, 2004; BORDIN, 2009) e indicadora de ambientes antropizados (LISBOA e ILKIU-BORGES, 1995). Já foi coletada em lugares incomuns como túmulos (VITAL e BONONI, 2006) o que reflete a sua adaptabilidade frente aos substratos colonizados.

Bryum argenteum Hedw. é uma espécie comum em áreas urbanas (MOLINARO e COSTA, 2001; BORDIN, 2009) pode ser encontrada em substratos variados como troncos, solo, rochas, asfalto e calhas de alumínio (BASTOS e YANO, 1993; BORDIN e YANO, 2009). Já foi coleta em áreas menos impactadas associada com outras espécies, entretanto em Alagoinhas essa espécie foi encontrada em uma área bastante degradada em pequenos tufo não associada com outras espécies.

Fabronia ciliaris (Brid.) Brid. é amplamente registrada para áreas urbanas (BORDIN, 2009), nos trabalhos de Visnadi e Monteiro (1990) e Bordin e Yano (2009) foi encontrada em abundância e associada com outras espécies. Na presente pesquisa também ocorreu em grandes populações, possuindo maior número de amostras e em sua grande maioria associada com *Sematophyllum subpinnatum* (Brid.) E. Britton ou *Frullania ericoides* (Nees) Mont.

Hyophila involuta (Hook.) A. Jaeger é uma espécie frequentemente encontrada em ambientes urbanos como visto nos trabalhos de Bastos e Yano (1993), Molinaro e Costa (2001), Bordin e Yano (2009) e Gentil e Menezes (2011) é indicadora de ambientes antropizados (LISBOA e ILKIU-BORGES, 1995). Em Alagoinhas foi encontrada apenas em pequenos tapetes sobre o solo.

Sematophyllum subpinnatum (Brid.) E. Britton também é uma espécie bem citada nas pesquisas sobre a brioflora de áreas urbanas: Bastos e Yano (1993), Molinaro e Costa (2001), Bordin e Yano (2009), Gentil e Menezes (2011) e Prudêncio et al. (2015). É uma espécie que pode ser encontrada em áreas mais preservadas como a Mata Atlântica como observado nos trabalhos de Valente et al. (2009), Vilas-Bôas e Bastos (2009) e Rodrigues e Valente (2015).

Enquanto que a espécie *Myriocoleopsis minutissima* subsp. *myriocarpa* (Nees & Mont.) R.L. Zhu, Y. Yu & Pócs é comum em áreas florestais, entretanto já foi encontrada no jardim Botânico do Rio de Janeiro por Molinaro e Costa (2001) não sendo encontrado registros desta espécie para ambientes urbanizados. E *Lejeunea laetevirens* Nees & Mont. é uma espécie xerotolerante podendo ser encontrada em florestas, bosques, cerrado, caatinga e parques, não sendo comum o seu registro para áreas urbanizadas.

As briófitas possuem algumas adaptações que as permitem colonizar ambientes tão antropizados, como o tamanho diminuto, hábito cespitoso, refugiar-se em pequenos nichos para reter maior quantidade de água, reprodução vegetativa por fragmentação ou gemas (SORIA e RON, 1995). Sendo assim, pode-se afirmar que o desenvolvimento de espécies em zonas urbanas é fortemente influenciado pelos habitats e pelas propriedades químicas do substrato.

A briocenose predominante foi corticícola sendo registrada para a maioria das espécies seguida de terrícola (tabela 1). O pequeno número de espécies terrícolas se deve ao precário sistema de escoamento das águas e durante as chuvas ocorrem grandes enxurradas que arrastam o solo e criam grandes erosões, dificultando o estabelecimento das briófitas (CÂMARA et al., 2003). A constante limpeza e remoção dos galhos também diminuem na colonização de espécies epífitas. Assim como o calçamento das praças, resultando em pouco solo exposto para a proliferação e a compactação do solo devido ao elevado fluxo de pessoas.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição florística encontrada no centro urbano do município de Alagoinhas é composta de espécies indicadoras de ambientes antropizados. Algumas espécies possuem ampla distribuição, sendo encontradas em domínios fitogeográficos como a Mata Atlântica, refletindo a adaptação frente a ambientes mais severos.

O presente trabalho pode servir de subsídio para estudos posteriores e mais amplos sobre a brioflora de Alagoinhas.

5 AGRADECIMENTOS

Aos briólogos Dr.^o Cid José Passos Bastos e Dr.^a Silvana Brito Vilas Boas-Bastos pelo grande apoio nas identificações. As monitoras voluntárias do Herbário da Universidade do Estado da Bahia (HUNEB) que ajudaram nas coletas. E a Dr.^a Gracineide Selma Santos de Almeida pela confiança cedida para a execução da pesquisa.

REFERÊNCIAS

BASTOS, C. J. P.; YANO, O. Musgos da zona urbana de Salvador, Bahia, Brasil. *Hoehnea*. v. 20, n. 1, p. 23-33. 1993.

BEHAR, L.; YANO, O.; VALLANDRO, G. C. Briófitas da restinga de Setiba, Guarapari, Espírito Santo. *Boletim do Museu de Biologia Melo Leitão*. n. 1, p. 25-38. 1992.

BORDIN, J. Briófitas. São Paulo: Instituto de Botânica, 2009. p. 20.

BORDIN, J.; YANO, O. Briófitas do centro urbano de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. *Hoehnea*. v. 36, n. 1, p. 7-71. 2009.

BUCK, W. R.; *Pleurocarpus mosses of the West Indies*. New York: New York Botanical Garden, 1998. p. 409.

CÂMARA, P. E.; TEIXEIRA, R.; LIMA, J.; LIMA, J. Musgos urbanos do Recanto das Emas, Distrito Federal, Brasil. *Acta botanica brasílica*. v. 4, n. 14, p. 507-513. 2003.

GENTIL, K. C. S.; MENEZES, C. R. Levantamento de briófitas bioindicadoras de perturbação ambiental do campus Marco Zero do Equador da UNIFAP. *Biota Amazônia*. v. 1, n. 1, p. 63-73. 2011.

GRADSTEIN, S. R.; CHURCHILL, S. P.; SALAZAR-ALLEN, N. *Guide to the bryophytes of tropical America*. New York: New York Botanical Garden Press, 2001. p. 673.

GRADSTEIN, S. R.; COSTA, D. P. *The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil*. New York: New York Botanical Garden Press, 2003. p. 318.

LISBOA, R. C. L.; ILKIU-BORGES, A. L. Diversidade das briófitas de Belém (PA) e seu potencial como indicadoras de poluição. *Boletim do Museu Paranaense Emílio Goeldi, série Botânica*. v. 11, n. 2, p. 131-293. 1995.

MOLINARO, L. C.; COSTA, D. P. Briófitas do arboreto do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Rodriguésia*. v. 52, n. 81, p. 107-124. 2001.

PRUDÊNCIO, R. X. A.; DOMICIANO, T. R.; MELLO, Z. R.; Briófitas do parque Pérola da Serra, Ribeirão Pires, São Paulo, Brasil. *Pesquisas, Botânica*. n. 67, p. 119-130. 2015.

RAO, D. N. Responses of Bryophytes to air pollution. *Bryophyte Ecology*. v. 12, p. 445-446. 1982.

SANTOS, R. C. P.; LISBOA, R. C. L. Musgos (Bryophyta) da microrregião Salgado Paranaense e sua utilização como possíveis indicadores de ambientes perturbados. *Rodriguésia*. v. 9, n. 2, p. 415-422. 2008.

RODRIGUES, A. F. A. S.; VALENTE, E. B. Diversidade de musgos (Bryophyta) de um fragmento de floresta ombrófila do município de Barra do Choça, Bahia. *Pesquisas, Botânica*. n. 67, p. 143-148. 2015.

SHARP, A. J.; CRUM, H.; ECKEL, P. *The Moss Flora of Mexico*. New York: New York Botanical Garden Press, 1992 (1-2). p. 1113.

SORIA, A.; RON. M. E. Aportaciones al conocimiento de la brioflora urbana española. *Cryptogamie, Bryologie et Lichénologie*. v. 16, n. 4, p. 285-299. 1995.

VALENTE, E. B.; PÔRTO, K. C.; VILAS BÔAS-BASTOS, S. B.; BASTOS, C. J. P. Musgos (Bryophyta) de um fragmento de Mata Atlântica na Serra da Jibóia, município de Santa Terezinha, BA, Brasil. *Acta botânica brasílica*. v. 23, n. 2, p. 369-375. 2009.

VILAS BÔAS-BASTOS, S. B.; BASTOS, C. J. P. Musgos pleurocárpicos dos fragmentos de Mata Atlântica da Reserva Ecológica da Michelin, município de Igrapiúna, BA, Brasil. II Hypnales (Bryophyta: Bryopsida)¹. *Acta botânica brasílica*. v. 23, n. 3, p. 630-643. 2009.

VISNADI, S. R.; MONTEIRO, R. Briófitas da cidade de Rio Claro, Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea*. v. 17. n. 1, p. 71-84. 1990.

VITAL, D. M.; BONONI, V. L. Briófitas de tumbas de cemitérios da região metropolitana de São Paulo, SP. *Hoehnea*. v. 2, n. 33, p. 143-145. 2006.

YANO, O. Briófitas. In: FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. *Técnicas de coleta, conservação e herborização do material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânica, 1984. p. 27-30.

YANO, O.; CÂMARA, P. E. A. S. Briófitas de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*. v. 34, n. 3, p. 445-457. 2004.

YANO, O. *Catálogo de Antóceros e Hepáticas brasileiros: literatura original, basinômio localidade-tipo e distribuição geográfica*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2008. p. 109.

YANO, O. *Catálogo de musgos brasileiros: literatura original, basinômio, localidade – tipo e distribuição geográfica*. São Paulo: Instituto de Botânica, 2011. p. 182.

FIGURAS

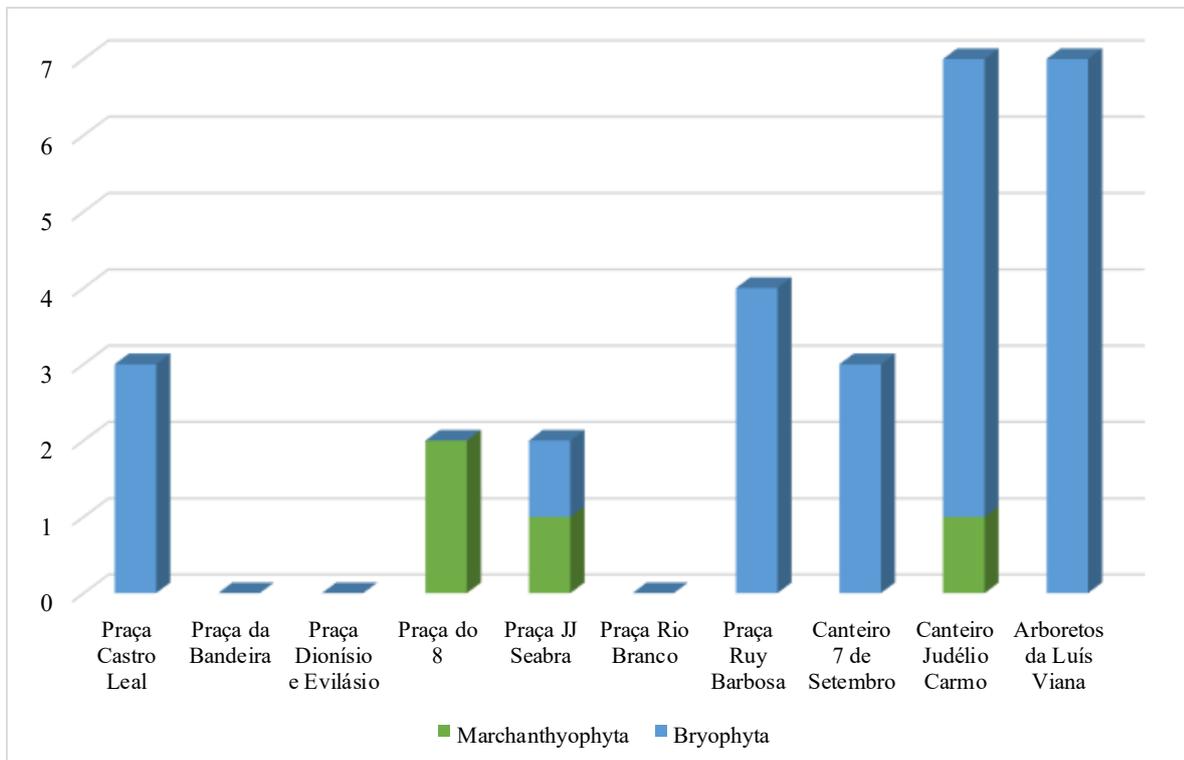


Figura 1. Distribuição dos táxons: número de espécies coletados por Praça, canteiros e arboreto no centro urbano do município de Alagoinhas, Bahia

TABELAS

Tabela 1. Espécies ocorrentes no centro urbano do município de Alagoinhas agrupadas quanto: divisão, família, espécie, briocenose e distribuição no Brasil

Divisão	Família	Espécie	Briocenose	Distribuição no Brasil
Marchantiophyta	Frullaniaceae	<i>Frullania ericoides</i> (Ness.) Mont	Corticícola	AC, AM, BA, CE, DF, ES, GO, MG, MS, MT, PB, PE, PR, RJ, RS, SC, SE, SP
	Lejeuneaceae	<i>Myriocoleopsis minutissima</i> subsp. <i>myriocarpa</i> (Nees & Mont.) R.L. Zhu, Y. Yu & Pócs	Corticícola	AM, BA, MG, MS, RJ, SP
		<i>Lejeunea laetevirens</i> Ness & Mont.	Corticícola	AC, AL, AM, AP, BA, CE, DF, ES, GO, MG, MS, MT, PA, PB, PE, RJ, RR, SC, SE, SP.
Bryophyta	Bryaceae	<i>Bryum argenteum</i> Hedw.	Corticícola	AL, AM, BA, CE, DF, ES, GO, MG, MT, PB, PE, PR, RJ, RR, RS, SC, SP
		<i>Gemmmabryum apiculatum</i> (Schwägr.) J.R. Spence & H.P. Ramsay	Terrícola	AC, AM, BA, CE, DF, ES, GO, MA, MG, PA, PB, RJ, RN, RS, SC, SP.
	Calymperaceae	<i>Calymperes palisotii</i> Schwägr.	Corticícola	AL, AM, AP, BA, CE, ES, FN, GO, MA, MT, PA, PB, PE, PI, RJ, RN, RO, RR, SE, SP, TO.
	Erpodiaceae	<i>Erpodium glaziovii</i> Hampe	Corticícola	AM, BA, ES, GO, MG, MS, PR, RJ, RS, SC, SP.
	Fabroniaceae	<i>Fabronia ciliaris</i> (Brid.) Brid.	Corticícola	AM, BA, ES, GO, MG, MS, PR, RJ, RS, SC, SP.
	Pottiaceae	<i>Hyophila involuta</i> (Hook.) A. Jaeger	Terrícola	AL, AM, BA, CE, DF, ES, GO, MA, MG, MS, MT, PA, PB, PE, PI, PR, RJ, RO, RS, SP.
	Sematophyllaceae	<i>Sematophyllum subpinnatum</i> (Brid.) E. Britton	Corticícola	AC, AL, AM, AP, BA, CE, DF, ES, GO, MG, MT, PA, PB, PE, PR, RJ, RO, RR, SC, SP, TO

ESTUDO FOTOQUÍMICO E AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DE EXTRATOS AQUOSOS DO *ILLICIUM VERUM* UTILIZADO PARA O TRATAMENTO DOS SINTOMAS CLÍNICOS DA DENGUE

Thainá C. Souza¹, Alessandra da S. Guedes¹ & Luciano C. S. Santos^{1*}

¹Faculdade de Tecnologia e Ciências

*E-mail: lcesar2008@gmail.com

Abstract. The use of plants in the treatment of diseases is as old as human civilization. According to WHO, 80% of the world's population uses traditional herbs to meet their primary health care. The consumption of medicinal plants in Brazil is characterized by the empirical use, can lead to conditions such as intoxication and allergic reactions due to inappropriate use or preparation of these plants or to the error in the identification of the species consumed. Thus, the use of medicinal plants has the function of combating various diseases, among them the symptoms of dengue. In these patient, the homeostatic balance was compromised and the use of medicinal plants that have hemolytic activity may further aggravate their clinical condition. The objective of this work was to perform the phytochemical study of the species *Illicium verum* (Magnoliaceae) and to evaluate in vitro the hemolytic activity of the aqueous with the objective of guiding the safe consumption of this phytotherapeutic. The results of phytochemical screening were obtained through qualitative chemical reactions and the evaluation of hemolytic activity was performed according to the methodology described by RANGEL (1997). The presence of several secondary metabolites, characteristic of the family, and hemolytic activity in the evaluated concentrations were detected in the phytochemical screening. With the results obtained it is concluded that more studies are needed to guarantee the safe use of the studied species, despite the finding of the therapeutic potential revealed as result of the identification of the metabolic classes.

Keywords: *Illicium verum*. Dengue. Hemolytic Agents.

Resumo. A utilização de plantas no tratamento de enfermidades é tão antiga quanto a civilização humana. Segundo a OMS, 80% da população mundial usa principalmente plantas medicinais tradicionais para suprir suas necessidades de assistência médica primária. O consumo de plantas medicinais no Brasil tem por característica o uso empírico e a ausência de comprovação adequada das ações farmacológicas, pode levar a quadros como intoxicação e reações alérgicas devido ao uso ou preparo inadequado dessas plantas ou ao erro na identificação das espécies consumidas. Assim, como os tratamentos convencionais, o uso de plantas medicinais tem a função de combater várias doenças, entre elas os sintomas da dengue. No paciente com dengue, o equilíbrio homeostático está comprometido e o uso de plantas medicinais que possuam atividade hemolítica podem agravar ainda mais o seu quadro clínico. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo fitoquímico da espécie *Illicium verum* (Magnoliaceae) e avaliar in vitro a atividade hemolítica dos extratos aquosos com a finalidade de orientar ao paciente com dengue o consumo seguro deste fitoterápico. Os resultados da triagem fitoquímica foram obtidos através de reações químicas qualitativas e a avaliação da atividade hemolítica foi realizada conforme metodologia descrita por RANGEL (1997). Foram detectados na triagem fitoquímica a presença de vários metabólitos secundários, característicos da família pertencente, e atividade hemolítica nas concentrações avaliadas. Com os resultados obtidos conclui-se que são necessários estudos mais aprofundados para garantir o uso seguro da espécie estudada, apesar da constatação do potencial terapêutico revelado em decorrência da identificação das classes metabólicas.

Palavras-chave: *Illicium verum*. Dengue. Hemolise.

1 INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença viral aguda transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*. Sendo a arbovirose de maior importância em Saúde Pública, visto que atinge anualmente cerca de 50 milhões de pessoas, possuindo assim um grande impacto em termos de morbimortalidade na população mundial, (OMS, 2015). As características clínicas e epidemiológicas peculiares da dengue no Brasil têm despertado o interesse de pesquisadores e órgãos nacionais e internacionais de Saúde Pública, tendo em vista a importância da identificação dos fatores que determinam as distintas formas de expressão individual e coletiva dessas infecções para o aperfeiçoamento do seu tratamento e controle, pois em termos de número de casos, representa a segunda mais importante doença transmitida por vetor no mundo (CALLAWAY, 2007).

No Brasil, em 2017, foram registrados 70.843 casos prováveis de dengue no país até a semana epidemiológica de 01/01/17 a 11/03/17, atingindo uma incidência de 34,4 casos/100 mil hab., e outros 35.403 casos suspeitos foram descartados. A região Sudeste teve o maior número de casos prováveis (26.758 casos, 37,8%) em relação ao total do país, seguida das regiões Nordeste (15.973 casos; 22,5%), Centro-Oeste (13.831 casos; 19,5%), Norte (10.443 casos; 14,7%) e Sul (3.838 casos; 5,4%) (BRASIL, 2017).

O espectro clínico da dengue inclui desde infecções inaparentes até quadros de hemorragia e choque, podendo evoluir para o óbito, sendo as manifestações hemorrágicas um dos sinais clínicos importantes que podem ser observadas durante o curso da doença (TAVARES; MARINHO, 2005).

Atualmente não há recurso terapêutico específico para dengue. O tratamento é apenas sintomático e baseia-se no uso de analgésicos e antitérmicos. Deve-se evitar os salicilatos e anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), pois o seu uso pode favorecer o aparecimento de manifestações hemorrágicas (BRASIL, 2002).

Segundo estimativa da OMS, 80% da população mundial busca o uso de plantas medicinais tradicionais (populares) para suprir suas necessidades de assistência médica primária (AKERELE, 1992). Devido a ausência de terapia específica para o tratamento da dengue, o uso de tratamentos alternativos utilizando-se de espécies vegetais pela população é bastante difundido.

O Brasil possui a maior diversidade genética vegetal do planeta. Apesar do potencial para a busca de novos fitofármacos ser inegável, estima-se que menos de 10% da flora nacional foi estudada com fins fitoquímicos e farmacológicos, visando a avaliação das propriedades terapêuticas. Encontram-se registradas no Ministério da Saúde, para comercialização com propósitos medicinais, cerca de 600 drogas vegetais de um total de aproximadamente 1.000

espécies que possuem a validação de suas atividades biológicas e de seus princípios bioativos avaliados cientificamente (ALMEIDA, M. Z. D., 2011).

No Nordeste brasileiro, cerca de 500 espécies vegetais, cuja maioria está constituída de plantas silvestres, são usadas como medicinais, especialmente pela população do meio rural e da periferia urbana (MATTOS, 1996).

Inúmeras plantas indicadas para fins medicinais possuem farta bibliografia sobre seus princípios bioativos e são os testes farmacológicos clínicos e pré-clínicos dos mesmos que validam sua eficácia e segurança. Segundo Almeida (1990), percebe-se a predominância de espécies com hábito herbáceo e arbustivo entre as plantas mais indicadas para fins medicinais no país. As classes de metabólitos especiais presentes em maior frequência são: alcalóides, terpenóides, flavonóides, taninos e cumarinas.

A exemplo de fitoterápico utilizado para o tratamento da dengue, segundo dados etnobotânicos, temos o anis estrelado (*Illicium verum*), pertencente a família Magnoliaceae (APG II, 2003). É nativa do sudoeste da China e do Vietnã e distribuída principalmente nas áreas tropicais e subtropicais da Ásia (CHEMPAKAM e BALAJI, 2008). Na tradicional medicina chinesa é utilizada principalmente no tratamento de dores reumáticas e nos processos anti-inflamatórios (COMMITTEE OF CHINESE PHARMACOPEIA, 2010; CHOUKSEY et al., 2010). A literatura científica descreve que *Illicium verum* possui diversas atividades farmacológicas como anti-inflamatória, antifúngica (HUANG et al., 2010); analgésica (NAKAMURA et al., 1996); antioxidante (GUO et al., 2008) e antibacteriana (YANG et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo fitoquímico da espécie *Illicium verum* (Magnoliaceae) e avaliar in vitro a atividade hemolítica dos extratos aquosos com a finalidade de orientar ao paciente com dengue, visto que o equilíbrio homeostático neste indivíduo está comprometido e o uso de plantas medicinais que possuam atividade hemolítica podem agravar ainda mais o seu quadro clínico.

2 MATERIAL & MÉTODOS

Aquisição dos espécimes vegetais e preparo dos extratos aquosos

Os frutos secos do *Illicium verum* foram adquiridos em estabelecimento comercial de Salvador (BA). O material foi pulverizado, em pequenas porções por 5 minutos, utilizando-se um liquidificador industrial até obtenção de um pó fino. Foi preparado extrato aquoso dos frutos utilizando dois tipos de metodologias para extração dos bioativos: maceração e digestão, segundo a FARMACOPÉIA BRASILEIRA (1959).

Para a obtenção do extrato macerado foram utilizados 295g do pó em 1400mL de água destilada em Erlenmeyer, sendo mantido durante três dias, sendo posteriormente filtrado em papel filtro qualitativo grau 1 e armazenado sob refrigeração (4°C) em um frasco âmbar estéril.

O extrato por digestão foi obtido através da adição de 238g do pó fino a 1000mL de água destilada aquecida por 60°C em Erlenmeyer, sendo mantido durante três dias, sendo posteriormente filtrado em papel filtro qualitativo grau 1 e armazenado sob refrigeração (4°C) em um frasco âmbar estéril.

Para avaliação da atividade hemolítica foi necessário a obtenção de extratos em estado sólido e foram utilizadas duas metodologias: nebulização e liofilização.

Para secagem do extrato aquoso (digerido e macerado) de *I. verum* por nebulização foi utilizando o spray dryer modelo MSD 0.5 (Labmaq). A atomização do material dentro da câmara foi realizada pelo emprego de uma bomba peristáltica e de um bico atomizador tipo duplo fluido com diâmetro de saída de 02mm. As condições operacionais empregadas nesse trabalho de temperatura e vazão foram 50°C e 0,30 litros/hora, respectivamente. A vazão do ar de secagem empregada durante o processamento foi calculada através da utilização de um tubo de Pitot acoplado a um manômetro de água, através da equação 1:

$$V_0 = A \sqrt{\frac{(\rho_m - \rho) \Delta h \cdot g}{\rho}} \quad (1)$$

Foram utilizados 150mL de cada extrato e obteve-se 2,28g do extrato por maceração e 1,09g do extrato por digestão.

Para obtenção do produto liofilizado, os extratos aquosos (digerido e macerado) de *I. verum* foram congelados em freezer convencional a -22°C por um período de 24h. posteriormente foram submetidos a secagem por liofilização, a uma pressão de vácuo de

130uHg com temperatura do condensador de -50°C . Foram utilizados 10mL e 25mL, do extrato por digestão e maceração respectivamente para obtenção dos extratos liofilizados, sendo obtidos 1,847g do extrato macerado e 0,342g do extrato preparado por digestão.

Triagem fitoquímica

Os testes consistiram em reações químicas qualitativas simples, que demonstraram a presença de compostos como: taninos, flavonóides, esteróides, saponinas e alcalóides. (COSTA, 1994).

Determinação de flavonóides

Foi adicionado em dois tubos de ensaio, 03mL dos extratos obtidos (digerido e macerado) 01 mL de HCl concentrado e alguns fragmentos de magnésio, em cada tubo. Considera-se um resultado positivo o desenvolvimento de uma coloração rósea a vermelha.

Determinação de taninos

Em cápsula de porcelana evaporou-se 05mL dos extratos por digestão e maceração. Após secagem, os resíduos foram ressuspensos em 10mL de água destilada e filtrados em algodão hidrófilo em tubo de ensaio sendo posteriormente adicionados 03 gotas de FeCl_3 (10%) em cada solução. A observação de coloração verde escuro na solução caracteriza a presença de taninos.

Determinação de alcalóides

Foram evaporados 20ml dos extratos em Becker e adicionados 10ml de HCl (10%) sendo estas soluções aquecidas durante 05 minutos. Posteriormente, filtrou-se em algodão e foram transferidos 3mL do filtrado para um tubo de ensaio e adicionado 5 gotas do reativo de Dragendorff.

Determinação de saponinas

Foram evaporados 5mL do extrato em Becker. Adicionou-se 10ml de água destilada fervida ao resíduo até completa dissolução. A solução foi transferida para tubo de ensaio e agitada vigorosamente manualmente. A formação de espuma persistente após 15 minutos indica a presença de saponinas.

Determinação de triterpenos e esteróides

O teste foi realizado segundo a reação de Lieberman-Burchard (anidrido acético + ácido sulfúrico concentrado), onde 10mL do extrato foi homogeneizado em 10mL de clorofórmio, sendo efetuado evaporação em placa de aquecimento, de 5ml do extrato clorofórmico em Becker de 50ml. O resíduo foi ressuspensionado em 01mL de anidrido acético e foi transferida a solução para um tubo de ensaio. Adicionou-se pela parede do tubo 01mL de ácido sulfúrico concentrado. A presença de coloração castanha na zona de contato indica resultado positivo para triterpenos e a coloração verde ou azul na zona de contato indica a presença de esteróides.

Avaliação da atividade hemolítica

Preparo das soluções dos extratos aquosos em estado sólido

Para a avaliação hemolítica, os extratos obtidos por nebulização e liofilização foram ressuspensos em solução de NaCl à 0,9% a fim de se obter uma concentração igual a 100 mg/ml. A partir desta solução, foram obtidas diluições com concentrações finais igual a 100, 50, 10, 1 e 0,1 mg/mL.

Preparo da solução de eritrócitos de carneiro a 10%

Uma alíquota de 03mL de sangue de carneiro desfibrinado (Newprov) foram suspensos em 10mL NaCl 0,9%. Esta solução foi centrifugada por 05 minutos a 3000rpm, sendo este processo repetido duas vezes. Após desprezar o sobrenadante, foram coletados 02mL de eritrócitos e suspensos em 18mL de NaCl 0,9%, obtendo-se uma solução a 10%. Posteriormente, coletou-se 500uL da solução de eritrócitos a 10% que foi ressuspensionado em 9,5mL de NaCl 0,9%, obtendo-se então a suspensão de eritrócitos a 0,5% (v/v).

Ensaio da atividade hemolítica in vitro

Para o ensaio hemolítico foram adicionados 200µl dos extratos com concentrações igual a 100, 50, 10, 1 e 0,1mg/mL a 1800µl da suspensão de eritrócitos a 0,5%. As soluções foram incubadas por 01h e centrifugadas a 2.500 rpm por 05 minutos. O sobrenadante foi avaliado por espectrofotometria em comprimento de onda de 540nm (RANGEL et al, 1997). Para o controle negativo foi utilizado solução de NaCl a 0,9% e o controle positivo foi obtido pela lise de eritrócitos em solução TWEEN 20 a 10% em NaCl a 0,9%.

A análise estatística dos resultados obtidos através da avaliação da atividade hemolítica in vitro, foi realizada utilizando o Software SPSS v. 20.

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica apresentou os seguintes resultados para alcalóides, saponinas, flavonóides, taninos e triterpenos (Tabela 1).

Em estudo realizado por Shan et al., (2005) com extrato metanólico a 80% dos frutos do *I. verum* foi constatado a presença de ácidos fenólicos, óleos voláteis fenólicos (anetol) e flavonóides. Em nosso estudo, observou-se que a extração por maceração não obteve resultado positivo para flavonóides. Segundo Souza-Sartori (2012), alguns fatores como o tipo de solvente, o pH e a temperatura afetam a quantidade de compostos a serem extraídos. As metodologias aplicadas para obtenção dos extratos aquosos neste experimento diferem-se uma da outra apenas na utilização da temperatura o que pode favorecer a extração de alguns metabólitos, como os flavonóides.

Estudos relacionam o potencial terapêutico do *I. verum* ao ácido chiquímico e seus metabólitos secundários, como os sesquiterpenos, fenilpropanóides, flavonóides, monoterpenos, lignanas (LIU et al., 2009; WANG et al., 2011). Ressalta-se que o ácido chiquímico, um dos precursores para biossíntese de flavonoides, é utilizado para a síntese do medicamento antiviral fosfato de oseltamivir (Tamiflu®), lançado em 1999 pela empresa Hoffmann (LIU et al., 2016). As ações antifúngicas, anti-inflamatórias (HUANG et al., 2010), antimicrobianas (YANG et al., 2010) do *I. verum* estão associadas à presença destes metabólitos.

Assim como os flavonóides, os taninos também possuem atividades bactericida, fungicida e antiviral. Algumas dessas atividades são devidas às propriedades antioxidante e sequestradora de radicais livres (SIMÕES et al., 2004).

Foi observado que no extrato aquoso dos frutos do *I. verum*, independentemente do método de extração, foram encontrados alcalóides. Este tipo de metabólito secundário é encontrado também em espécies de outras famílias filogenéticas relacionadas ao *I. verum*, como *Annonaceae*, *Piperaceae* e *Lauraceae*, entre outras (MONTEIRO et al., 2007). Sendo importante a comparação entre outras famílias filogenéticas devido a dificuldade em encontrar trabalhos realizados com a espécie estudada. Os alcalóides possuem alto potencial farmacológico, pois, atuam no sistema nervoso central provocando ações sedativas, analgésicas, anestésicas e adrenérgicas (LORENZI; MATOS, 2002).

Como foi observado, o extrato aquoso dos frutos do *I. verum* apresentou a presença de saponinas. Dentre as ações farmacológicas das saponinas destacam-se diuréticas e expectorantes

(SIEDENTOPP, 2008). Vale ressaltar que o seu mecanismo de ação não está bem elucidado, podendo apresentar efeitos indesejados como efeito hemolítico e alta toxicidade (SUN et al., 2009).

Aos triterpenos são associadas as seguintes ações farmacológicas: anti-hipertensiva, antitumoral, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória (MAHATO; SEN, 1997). Apesar do extrato aquoso dos frutos do *I. verum* utilizado neste estudo apresentarem estes metabólitos, não foi possível observar estas atividades descritas por não ser objeto deste trabalho, necessitando assim de estudos posteriores para comprovação destas atividades.

Avaliação in vitro da atividade hemolítica

Nas tabelas 2, 3, 4 e 5 estão representados os resultados do percentual de hemólise dos extratos aquosos dos frutos do *I. verum* obtidos por maceração e digestão, nas duas formas apresentadas: liofilizado e nebulizado.

Segundo Rangel et al., (1997), uma hemólise de até 40% considera-se baixa toxicidade, entre 40 e 80% toxicidade moderada, acima de 80% de alta toxicidade. De maneira geral, os extratos testados obtiveram variação de resultado dependente da concentração.

Nas figuras 1 e 2 demonstram gráficos comparativos da atividade hemolítica extrato aquoso liofilizado e nebulizado dos frutos do *I. verum* obtidos por digestão e maceração.

Avaliando-se estatisticamente através do teste do qui-quadrado e assumindo um nível de significância de $p < 0.05$, que não houve diferença significativa entre os percentuais de hemólise do extrato aquoso nebulizado e liofilizado ($p = 0,224$) dos frutos do *I. verum*, obtido através de digestão e maceração nas concentrações a partir de 10mg/mL. Entretanto observa-se um maior percentual de no extrato obtido por digestão devido a este método, por utilizar temperatura, favoreça a extração de mais metabólitos (SOUZA-SARTORI, 2012).

Comparando-se a atividade hemolítica dos extratos obtidos por digestão nas duas formas sólidas utilizadas no experimento, houve estatisticamente diferença significativa ($p = 0,019$) entre o extrato nebulizado e liofilizado.

O extrato nebulizado apresentou uma maior atividade devido provavelmente à dinâmica do processo de secagem por pulverização, visto que o tempo de residência do material no interior da câmara de secagem é relativamente pequeno, o que torna esse equipamento adequado para a secagem de produtos termo-sensíveis, como os extratos vegetais (SILVA, 2012; SANTO, 2013).

Ishikawa et al. (2008) avaliaram o extrato liofilizado das folhas de *Plinia edulis* quanto ao perfil fitoquímico e à atividade antimicrobiana. A triagem fitoquímica evidenciou a presença

de substâncias de interesse farmacológico tais como flavonóides, taninos, saponinas e terpenóides. No entanto, o extrato não inibiu o crescimento de *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* na concentração de até 1.000 mg/mL, sendo assim uma possível justificativa para uma menor atividade hemolítica do extrato liofilizado.

Um número significativo de compostos de diferentes fontes pode ser responsável pela hemólise in vitro. Entre estas substâncias são as derivadas de plantas (GANDHI; CHERIAN, 2000), metais pesados (RIBAROV; BENOVA, 1981) e farmacêuticos (YAMAMOTO et al., 2001). O efeito direto hemolítico de diferentes agentes tóxicos é devido a uma variedade de mecanismos não específicos. Por exemplo, surfactantes, como as saponinas, podem causar hemólise através da dissolução da membrana do plasma dos eritrócitos que se rompe devido ao aumento da fragilidade ou devido a lise osmótica provocada pelo aumento da permeabilidade da membrana plasmática (APARICIO et al., 2005).

Por outro lado, os compostos fenólicos têm a capacidade de promover hemólise através da oxidação da hemoglobina, formando metahemoglobina, podendo causar anemia hemolítica imunológica (BAIN, 2007; BUKOWSKA; KOWALSKA, 2004). No extrato detectou-se a presença de compostos fenólicos e estes na maioria das vezes podem proteger as células de alguns processos oxidativos. Porém, em determinadas circunstâncias eles podem apresentar atividade pró-oxidante. Alguns fatores podem influenciar a atividade antioxidante, como, os radicais livres, como e onde são formados, análise e métodos para identificação dos danos e doses ideais para obter proteção (BIANCHI et al., 2000). Sendo assim é possível que um antioxidante falhe na proteção, ou mesmo que aumente as lesões induzidas (HALLIWELL et al., 1995).

Provavelmente a atividade hemolítica apresentada nas amostras deve-se a presença de saponinas, pois estas possuem a capacidade de produzir hemólise, já que apresentam ação sobre os componentes da membrana celular dos eritrócitos, alterando sua permeabilidade, induzindo alteração na membrana, causando assim o extravasamento do conteúdo intracelular, a hemoglobina (GLAUERT et al., 1967; KARABALIEV et al., 2003). A liberação da hemoglobina no plasma pode ocasionar danos renais, hepáticos e cardíacos (CARVALHO et al., 2008). Esses danos aliados aos efeitos da dengue sobre o organismo do paciente podem agravar ainda mais o quadro clínico.

SANTO et al., 2007, avaliaram o efeito anticoagulante in vitro do extrato hidroetanólico de folhas e flores édulas de *Tropaeolum majus*, onde os resultados mostraram que a maior concentração de compostos fenólicos e de flavonoides foram responsáveis pela inibição da atividade coagulante da trombina. Tendo em vista que foi detectado a presença destes

metabólitos na triagem fotoquímica realizada da espécie em estudo, é necessário realizar a avaliação da agregação plaquetária devido as complicações hemorrágicas acometidas no paciente com dengue.

4 CONCLUSÃO

Através da realização da triagem fotoquímica do extrato aquoso dos frutos do *Illicium verum* foi observado a presença de vários metabólitos secundários característicos da família Magnoliaceae. A presença desses metabólitos pode justificar algumas atividades biológicas de seu uso popular.

A partir da avaliação da atividade hemolítica in vitro do extrato dos frutos do *Illicium verum* foi possível perceber uma elevada citotoxicidade, diretamente proporcional as concentrações testadas, independente da metodologia utilizada para extração e concentração utilizada para obtenção dos extratos.

Com os resultados obtidos conclui-se que são necessários estudos mais aprofundados para a identificação química dos compostos bioativos presentes nos frutos do *I. verum* e o isolamento dos mesmos. Assim como o uso de outras metodologias confirmatórias para a verificação das atividades biológicas dos metabólitos secundários em relação a sua ação sobre a membrana eritrocitária e hemostasia sanguínea, cujos parâmetros são importantes para o manejo do paciente com dengue.

REFERÊNCIAS

- AKERELE, O. WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. *Fitoterapia*, v. 63, p. 99-104, 1992.
- ALMEIDA, M. Z. D. Plantas medicinais. 1ª Salvador: EDUFBA, 2011. 192
- ALMEIDA, M. Z.; ARAÚJO, E. M. P. D.; CERQUEIRA, R. S. C. Levantamento da flora medicinal comercializada em Salvador – BA. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. João Pessoa 1990.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP (APG II). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- APARICIO, R. M. et al. In vitro studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 39, n. 5, p. 1063-1067, 2005.

- BAIN, B. Células sanguíneas: um guia prático. 4. ed. Porto Alegre: Artmed. p. 359, 2007
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*. v. 12, n. 2, p. 123-130, 2000.
- BRANDÃO, R. et al. Hemolytic effects of sodium selenite and mercuric chloride in human blood. *Drug Chem Toxicol*, v. 28, p. 397-407, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Dengue: Aspectos Epidemiológicos, Diagnóstico e Tratamento. Brasília 2002.
- BRASIL. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya até a Semana Epidemiológica 5. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Brasília. v.46 2015.
- BRASIL. Monitoramento dos casos de dengue e febre de chikungunya até a Semana Epidemiológica 10. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Brasília. v.48 2017
- BUKOWSKA, B.; KOWALSKA, S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicol Lett*, v. 152, n. 1, p. 73-84, Aug 30 2004.
- CALLAWAY, E. Dengue fever climbs the social ladder. *Nature*, v. 448, n. 7155, p. 734-735, 2007.
- CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Braz. Journal of Pharmacognosia*. v. 18, p. 314-319, 2008.
- CHEMPAKAM, B., BALAJI, S., 2008. *Chemistry of Spices*. CABI publishing, London, UK, pp. 319–330.
- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 4.ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa (POR), 1994, 1117 p.
- DIDELON J, et al. Osmotic fragility of the erythrocyte membrane: Characterization by modeling of the transmittance curve as a function of the NaCl concentration. *Biorheol*, vol 37, 2000.
- EDITORIAL COMMITTEE OF CHINESE PHARMACOPOEIA (2010). *Chinese Pharmacopoeia*. China Medical Science and Technology Press, Beijing 4-5.
- EFING, 2008. Compostos bioativos do material resinoso, subproduto do processamento da erva-mate. *Ilex paraguayensis* A. St-Hill. Dissertação de mestrado Curso de pós graduação em tecnologia de alimentos. Universidade Federal do Paraná. 108p. 2008.
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2. ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
- GANDHI, V. M.; CHERIAN, K. M. Red cell haemolysis test as an in vitro approach for the assessment of toxicity of karanja oil. *Toxicology in Vitro*, v. 14, n. 6, p. 513-516, 2000.
- GLAUERT, A.M.; DINGLE, J.T.; LUCY, J.A. Action of saponin on biological cell membranes. *Nature*, v.196, p.952-955, 1962.

GUO, D. J. et al. Antioxidative activities and the total phenolic contents of tonic Chinese medicinal herbs. *Inflammopharmacology*, v. 16, n. 5, p. 201-7, Oct 2008.

HALLIWELL, B., AESCHBACH, R., LÖLINGER, J., ARUOMA, O.I. The characterization on antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.

HUANG, Y. et al. Antifungal activity of the essential oil of *Illicium verum* fruit and its main component trans-anethole. *Molecules*, v. 15, n. 11, p. 7558-69, Nov 2010.

ISHIKAWA TATI, KATO EDNA TOMIKO MYIAKE, YOSHIDA MASSAYOSHI, KANEKO TELMA MARY. Morphoanatomic aspects and phytochemical screening of *Plinia edulis* (Vell.) Sobral (Myrtaceae). *Rev. Bras. Cienc. Farm.* [Internet]. 2008 Sep [cited 2017 June 04]; 44(3): 515-520. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000300023&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000300023>.

KARABALIEV, M.; KOICHEV, V. Interaction of solid supported thin lipid films with saponin. *Sensors and Actuators B*, v.88, p.101-105, 2003.

KUBLIK, H. et al. Nasal absorption of 17- β estradiol from different cyclodextrin inclusion formulations in sheep. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 42, p. 320-24, 1996.

LIU, X. L. et al. Enhanced production of shikimic acid using a multi-gene coexpression system in *Escherichia coli*. *Chin J Nat Med*, v. 14, n. 4, p. 286-93, Apr 2016.

LIU, Y. N. et al. Chemical constituents of plants from the genus *Illicium*. *Chem Biodivers*, v. 6, n. 7, p. 963-89, Jul 2009.

LORENZI, H., MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas*. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum. 2002.

M. R. KHAN, M. KIHARA, A. D. OMOLOSO. *Fitoterapia* 73 (2002) 744.
MAHATO, S.B. SEN, S. - *Advances in triterpenoid research, 1990-1994*. *Phytochemistry*, 44(suppl7): 1185-236, 1997.

MARQUES, L.G., *Liofilização de frutas tropicais*. 255f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR. São Carlos/SP. 2008.

MATTOS, J. D. A. *Plantas medicinais: aspectos agrônômicos*. Ed. do autor, 1996.
Monteiro, M. C. M., et al. "Constituintes químicos isolados dos caules de *Michelia champaca* L.(Magnoliaceae)." *Eclética Química* (2007): 13-17.

NAKAMURA, T.; OKUYAMA, E.; YAMAZAKI, M. Neurotropic components from star anise (*Illicium verum* Hook. fil.). *Chem Pharm Bull* (Tokyo), v. 44, n. 10, p. 1908-14, Oct 1996.

RANGEL, M.; MALPEZZI, E. L. A.; SUSINI, S. M. M.; FREITAS, J. C. Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. *Toxicon*, v. 35, n. 2, p. 305-309, 1997.

RIBAROV, S. R.; BENOVA, L. C. Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, v. 640, n. 3, p. 721-726, 1981.

SANTO, Ana PE et al. Efeito anticoagulante in vitro do extrato hidroetanólico de folhas e flores édulas de *Tropaeolum majus* L.(Tropaeolaceae) sobre o plasma humano. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 26, n. 5, p. 732, 2007.

SANTO, EDSON FRANCISCO DO ESPÍRITO, LIMA, LEANDRO KANAMARU FRANCO DE, TORRES, ANE PAMELA CAPUCCI, OLIVEIRA, GABRIELA DE, & PONSANO, ELISA HELENA GIGLIO. Comparison between freeze and spray drying to obtain powder *Rubrivivax gelatinosus* biomass. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33(1), 47-51. Epub February 25, 2013

SHAN, B. et al. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 7749-7759, 2005.

SIEDENTOPP, U. El regaliz, una planta medicinal eficaz para la tos y las afecciones de estómago. *Revista Internacional de Acupuntura*, v.2, n.2, 2008.

SILVA, R. M. F., ET AL. "Abordagem sobre os diferentes processos de secagem empregados na obtenção de extratos secos de plantas medicinais." *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 14.1 (2012): 103-109.

SIMÕES, C.M.O. et al, (2004). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5ª edição. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora UFSC.

SOUZA-SARTORI, Juliana Aparecida et al. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. *Bioscience Journal*, v. 29, n. 2, 2012

SUN, H.X.; XIE, Y.; YE, Y.P. Advances in saponin-based adjuvants. *Vaccine*, v.27, p.1787–1796, 2009.

TAVARES, W.; MARINHO, L. A. C. *Rotinas de diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias*. Atheneu, 2005. ISBN 8573797320.

WANG, G. W. et al. *Illicium verum*: a review on its botany, traditional use, chemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol*, v. 136, n. 1, p. 10-20, Jun 2011.

YAMAMOTO, T. et al. In vitro method for prediction of the phototoxic potentials of fluoroquinolones. *Toxicology in Vitro*, v. 15, n. 6, p. 721-727, 2001.

YANG, J. F. et al. Chemical composition and antibacterial activities of *Illicium verum* against antibiotic-resistant pathogens. *J Med Food*, v. 13, n. 5, p. 1254-62, Oct 2010.

YAO, L. H., et al. Flavonoids in Food and their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 59, p. 113-122, 2004.

FIGURAS

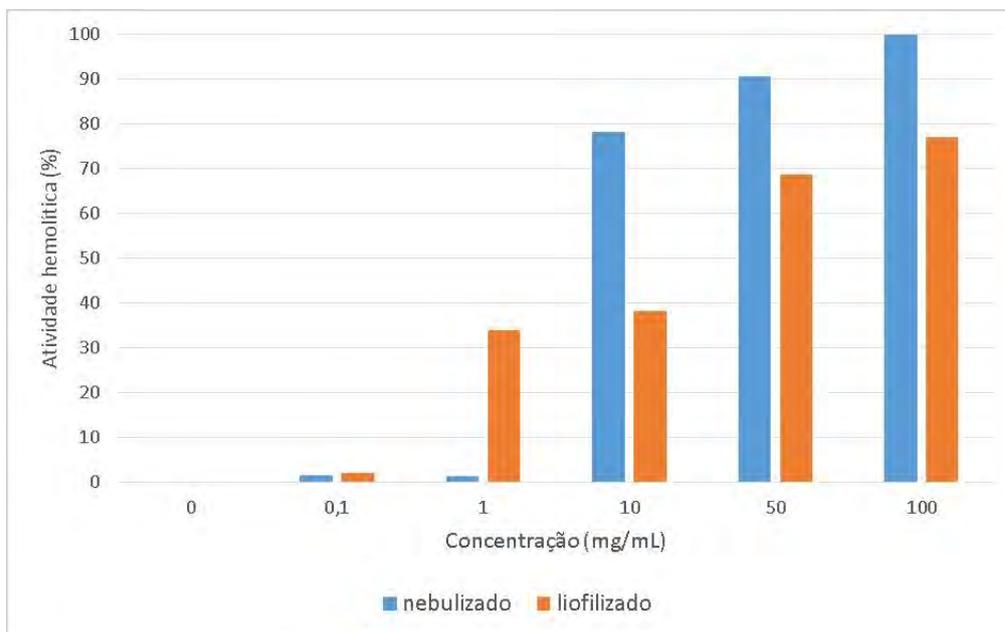


Figura 1. Comparação do percentual de hemólise do extrato aquoso liofilizado e nebulizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de digestão.

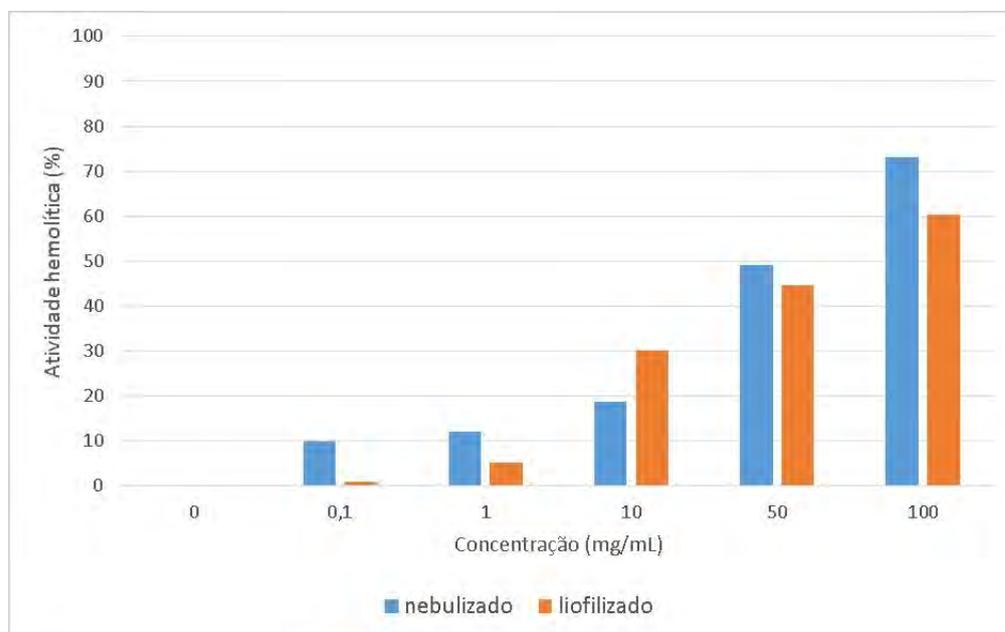


Figura 2. Comparação do percentual de hemólise do extrato aquoso liofilizado e nebulizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de maceração.

TABELAS

Tabela 1. Resultados obtidos a partir da triagem fitoquímica do extrato dos frutos do *I. verum* obtidos por maceração e digestão.

Metabólitos Secundários	RESULTADOS	
	Extrato obtido por maceração	Extrato obtido por digestão
Alcalóides	+	+
Flavonóides	-	+
Saponinas	+	+
Taninos	+	+
Triterpenos	+	+

Tabela 2. Percentual de hemólise do extrato aquoso nebulizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de digestão.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	ABSORBÂNCIA	HEMÓLISE(%)
0	0	0
0,1	0,012	1,2
1	0,016	1,6
10	0,784	78,4
50	0,907	90,7
100	1,0	100
Controle Positivo	1,0	100

Tabela 3. Percentual de hemólise do extrato aquoso liofilizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de digestão.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	ABSORBÂNCIA	HEMÓLISE(%)
0	0	0
0,1	0,019	1,9
1	0,339	33,9
10	0,383	38,3
50	0,687	68,7
100	0,77	77,0
Controle Positivo	1,0	100

Tabela 4. Percentual de hemólise do extrato aquoso nebulizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de maceração.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	ABSORBÂNCIA	HEMÓLISE(%)
0	0	0
0,1	0,1	10,0
1	0,12	12,0
10	0,186	18,6
50	0,49	49,0
100	0,732	73,2
Controle Positivo	1,0	100

Tabela 5. Percentual de hemólise do extrato aquoso liofilizado dos frutos do *I. verum*, obtido através de maceração.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	ABSORBÂNCIA	HEMÓLISE(%)
0	0	0
0,1	0,009	0,9
1	0,051	5,1
10	0,301	30,1
50	0,447	44,7
100	0,602	60,2
Controle Positivo	1,0	100

DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA PROTEICA DA METALOPROTEASE GP63 DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS* POR MODELAGEM COMPARATIVA

Paulo Henrique Matayoshi Calixto^{1,2*} & Mariana Vitali De Vito²

¹Instituto Federal de Santa Catarina; ²Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

²Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

*E-mail: ph_calixto@yahoo.com

Abstract. The interaction of *Leishmania* spp. species with vertebrate host is, in most part, dependent on the parasite surface molecules, such as gp63. The gp63 is a major virulence factors in *Leishmania*, and is responsible for assisting in the survival, nutrition and parasite replication. The objective of this study was to generate and characterize the three-dimensional structure of gp63 of *L. braziliensis* (Lbgp63). The generation of the structural model was performed by comparative modeling, using the program Modeller from the amino acid sequence Lbgp63 deposited in GenBank. The results showed that the Lbgp63 has all the elements necessary for the post-translational processing and functionality, such as signal peptide, propeptide; addition signal glicosilfofostadilinositol anchor (GPI) and the amino acids involved in the composition of catalytic site, HEXXH motif. The structure of Lbgp63, showed the same structural characteristics of the template-protein, *Leishmania* major gp63 (Lm gp63). The alignment between the structures Lbgp63 and Lm gp63 revealed great structural conservation, especially the subdomains where is located the catalytic site. The study of the partial charges shows the same distribution of surface charges and suggests that both proteins can cleave the same substrates. According to the results suggest that Lbgp63 is an excellent target for the prophylactic and/or curative treatment of American tegumentary leishmaniasis (ATL), through rational drug design based on structure generated.

Keywords: gp63. Comparative modeling. *Leishmania braziliensis*.

Resumo. A interação das espécies do gênero *Leishmania* com o hospedeiro vertebrado é, em maior parte, dependente das moléculas de superfície do parasito, tais como a gp63. A gp63 é um dos principais fatores de virulência em *Leishmania* e é responsável por auxiliar a sobrevivência, nutrição e replicação do parasito. O objetivo deste trabalho foi gerar e caracterizar a estrutura tridimensional da gp63 de *L. braziliensis* (Lbgp63). A geração do modelo estrutural foi realizada por modelagem comparativa, empregando o programa Modeller, a partir da sequência de aminoácidos da Lbgp63 depositada no GenBank. Os resultados obtidos apontaram que a Lbgp63 possui todos os elementos necessários para o processamento pós-traducional e de funcionamento, tais como: peptídeo sinal; pro-peptídeo; sinal de adição de âncora de glicosilfofostadilinositol (GPI); e os aminoácidos envolvidos na composição do sítio catalítico, motif HEXXH. A estrutura da Lbgp63 apresentou as mesmas características estruturais da proteína-molde, gp63 de *Leishmania* major (Lm gp63). O alinhamento entre as estruturas de Lbgp63 e Lm gp63 revelou grande conservação estrutural, sobretudo dos subdomínios onde está localizado o sítio catalítico. O estudo das cargas parciais aponta pequenas diferenças na distribuição das cargas de superfície e sugere que ambas as proteínas possam clivar os mesmos substratos. De acordo com os resultados, sugerimos que a Lbgp63 seja um excelente alvo para o tratamento profilático e/ou curativo da leishmaniose tegumentar americana, através do desenho racional de fármacos baseado na estrutura gerada.

Palavras-chave: gp63. Modelagem comparativa. *Leishmania braziliensis*.

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença parasitária, de ampla distribuição geográfica, provocada por espécies do *Leishmania* spp. A leishmaniose é encontrada em 88 países de climas tropical e subtropical. Dados epidemiológicos apontam que existem, em todo o mundo, aproximadamente 12 milhões de indivíduos infectados, com a ocorrência de 270 mil novos casos a cada ano. O número de novos casos pode aumentar nos próximos anos, tendo em vista que aproximadamente 1,6 milhão de pessoas estão em potencial situação de risco. A leishmaniose é transmitida por mosquitos do *Lutzomyia* spp. e *Phlebotomus* spp. no Novo e Velho Mundo, respectivamente. No Brasil, são registrados 26 mil novos casos de leishmaniose a cada ano, sendo a maioria deles atribuídos à *Leishmania braziliensis*, agente etiológico da leishmaniose tegumentar americana (LTA) (WHO, 2010; ALVAR et al., 2012).

A leishmaniose cutânea localizada (LCL) é a manifestação mais comum da LTA e é caracterizada por uma lesão única no local da picada do mosquito. Essa lesão primária tende a regredir gradualmente, mesmo na ausência de tratamento (MARSDEN et al., 1984). Contudo, é comum que a partir dessa lesão, a *L. braziliensis* se dissemine para regiões distantes na pele e mucosas, porém, sem desenvolver lesões (OLIVEIRA et al., 2006). No entanto, aproximadamente 5% dos indivíduos infectados com *L. braziliensis* podem apresentar o quadro de leishmaniose mucocutânea (LMC) (MARSDEN, 1986). A LMC é uma condição desfigurante em virtude da ulceração da orofaringe e da mucosa nasal. As lesões ulcerativas podem ocorrer imediatamente à lesão primária ou, tardiamente, depois vários meses e até mesmo anos. O surgimento tardio das lesões na LMC ocorre pela presença da *L. braziliensis*, mesmo após a cura clínica do paciente, e reflete uma refinada interação parasito/hospedeiro (AMATO et al., 1995).

As proteínas de superfície dos tripanossomatídeos são moléculas fundamentais para a interação parasito/hospedeiro. Uma dessas moléculas é a gp63, uma metaloprotease zinco-dependente, inicialmente descrita no gênero *Leishmania* como uma glicoproteína de 63 kDa. A gp63 pode estar associada à membrana através de uma âncora de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (ETGES et al., 1986) ou se apresentar na forma secretada, ou seja, sem um sinal de adição de âncora GPI (McGWIRE et al., 2002). O sítio catalítico da gp63 é composto pelo *motif* HEXXH coordenado ao zinco (SCHLAGENHAUF et al., 1998). A gp63 é apontada como fator de virulência em *Leishmania* spp., devido a sua ampla variedade de substratos. As funções da gp63 incluem: a) inativação do sistema do complemento, através da clivagem de C3b em C3bi (BRITTINGHAM et al., 1995); b) clivagem do receptor CD4 de linfócitos T, interferindo com a imunidade mediada por células (HEY et al., 1994); c) interação com receptores de macrófagos,

garantindo ao parasito uma entrada silenciosa, sem desencadear o processo de explosão respiratória (MOSSER e EDELSON, 1985); d) clivagem de mTOR (*mammalian target of rapamycin*), o principal controlador da tradução de RNA, conduzindo o macrófago a um estado pouco responsivo e, conseqüentemente, favorecendo a replicação intracelular do parasito (JARAMILLO et al., 2011). Mesmo desempenhando um papel importante na interação parasito/hospedeiro, a gp63 de *L. braziliensis* (Lbgp63) ainda é pouco estudada e caracterizações, tais como, estruturais ainda não foram realizadas.

A caracterização de uma enzima é melhor conduzida quando conhecemos sua estrutura tridimensional (DILL e MACCALLUM, 2012). A determinação da estrutura proteica pode ser alcançada experimentalmente por dois métodos, o cristalográfico, que se baseia na construção de um mapa eletrônico gerado a partir da difração de raios-X sobre a proteína cristalizada (FAURE; SAUL, 2012) ou, ainda, nos casos de proteínas menores, pelo método de ressonância nuclear magnética (WIRMER-BARTOSCHEK e BARTOSCHEK, 2012). Ambos os métodos apresentam resultados satisfatórios. Contudo, trata-se de técnicas dispendiosas e, na maioria das vezes, de difícil execução. Como alternativa aos estudos cristalográficos e de ressonância nuclear magnética, a modelagem comparativa pode ser empregada na determinação *in silico* da estrutura proteica. Em alguns casos, onde o percentual de identidade é satisfatório, a modelagem comparativa gera estruturas proteicas com resolução comparável aos resultados experimentais (LESCRINIER, 2011). A técnica de modelagem comparativa prediz a estrutura tridimensional de uma proteína baseado na identidade entre a sequência de aminoácidos da proteína a ser predita e a proteína de estrutura conhecida. Graças à característica de usar uma estrutura como molde, a modelagem comparativa é considerada o método computacional mais acurado para a determinação da estrutura proteica *in silico* (LIU et al., 2011). Considerando as evidências supracitadas e a ausência de um modelo estrutural para a Lbgp63, o objetivo deste trabalho foi gerar e caracterizar, por meio de modelagem comparativa, a estrutura tridimensional da proteína em questão. Tais informações poderão ajudar no entendimento da interação da *L. braziliensis* com o hospedeiro vertebrado, bem como, fornecer perspectivas como base para a elaboração de ações de controle e/ou eliminação do parasito.

2 MATERIAL & MÉTODOS

Análises computacionais de predição e comparação

A busca de elementos cis envolvidos no processamento pós-traducional e de comparação da Lbgp63, foi realizada usando as seguintes ferramentas computacionais: a) SignalP (BENDTSEN et al., 2004), capaz de identificar a presença de uma série de aminoácidos hidrofóbicos na extremidade N-terminal, denominado peptídeo sinal, responsável pela translocação da proteína do citosol para o ambiente extracelular ; b) PredGPI (PIERLEONI et al., 2008), avalia a probabilidade de uma proteína estar localizada na membrana celular através de uma âncora GPI; c) ProtParam (WILKINS et al., 1999), ferramenta online que a partir da sequência de aminoácidos, calcula as propriedades da proteína, tais como a massa molecular; d) ClustalW2 (LARKIN et al., 2007), programa que alinha e compara de forma global, sequências de aminoácidos ou de nucleotídeos, cujo resultado aponta a taxa de conservação entre sequências.

Geração da estrutura terciária e análises computacionais complementares

Neste estudo, utilizamos a sequência da Lbgp63 recuperada do GenBank (XP_001562829). O alinhamento de sequências foi gerado pelo programa ClustalW2 (LARKIN et al., 2007) em modo padrão, ou seja, sem nenhuma alteração dos parâmetros de alinhamento. Já a predição da estrutura secundária (dado não mostrado) foi realizada através do programa PSI-PRED, que indica quais segmentos da proteína são compostos por fitas- β , α -hélices e alças (BRYSON et al., 2005).

A estrutura terciária da Lbgp63 não foi experimentalmente determinada e, desse modo, a determinação da estrutura terciária foi realizada por modelagem comparativa. A fim de escolher a melhor estrutura molde, com cobertura e percentual de identidade satisfatórias, foram realizadas pesquisas via BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), uma ferramenta que compara localmente duas sequências de aminoácidos ou de nucleotídeos e informa o percentual de identidade entre elas. O alinhamento entre a Lbgp63 e a proteína-molde foi realizado pelo programa Promals3D, que utiliza os princípios do BLAST, contudo diferentemente desse último, é capaz de alinhar uma estrutura primária com outra proteína representada por sua estrutura terciária (PEI et al., 2008) e manualmente acurado com o suporte do DNATagger, uma ferramenta online de visualização de alinhamentos, cuja função se limita a facilitar a identificação dos aminoácidos. A estrutura terciária da Lbgp63 foi construída pelo programa Modeller 9.10v (SALI e BLUNDEL, 1993), que utiliza o princípio da restrição espacial e da posição dos aminoácidos alinhados para calcular as coordenadas do modelo estrutural.

Inicialmente, foram geradas 100 estruturas candidatas para a Lbgp63, sendo a que apresentou os melhores parâmetros, incluindo os estereoquímicos, foi selecionada para este trabalho. Tendo em vista que a estrutura molde possui os heteroátomos zinco e moléculas de água associadas, as mesmas foram adicionadas manualmente ao arquivo .pdb da Lbgp63 recém-modelada.

O refinamento da estrutura foi conduzido através da predição dos rotâmeros e minimização da energia. A minimização foi realizada empregando o campo de força OPLS 2005 (Optimized Potentials for Liquid Simulations) em 1.000 passos de iteração.

O processo de validação estrutural compreendeu o uso dos seguintes programas: I) Procheck (LASKOWSKI et al., 1993), responsável pela avaliação dos parâmetros estereoquímicos e consiste da análise dos ângulos diedros (ϕ e ψ) das cadeias principais dos aminoácidos que compõem a estrutura; II) ERRATv2 (COLOVOS e YEATES, 1993), é um algoritmo usado para avaliar o progresso do refinamento proteico e funciona através da interação entre átomos não-ligados; III) ProSa (WIEDERSTEIN e SIPPL, 2007), realiza a avaliação da qualidade geral da estrutura gerada, através da comparação com estruturas experimentalmente determinadas e depositadas no PDB.

Estudos de alinhamentos estruturais, bem como a visualização do modelo, foram realizados empregando o programa Chimera UCSF. Já a determinação da superfície topológica e das cargas parciais de superfície foi realizada através do programa Molegro Molecular Viewer (Thomsen e Christensen, 2006).

3 RESULTADOS & DISCUSSÃO

Obtenção da sequência da Lbgp63 e análises preliminares

Análises realizadas pela ferramenta ProtParam revelaram que a Lbgp63 apresenta massa molecular de 66 kDa. De acordo com o programa SignalP (BENDTSEN et al., 2004), os resíduos Met1 ao Ala29 da Lbgp63 correspondem ao peptídeo sinal, responsável por direcionar a proteína para a via secretória (Fig. 1). O programa PredGPI (PIERLEONI et al., 2008) indica o resíduos Met580 como o sítio- ω para adição da âncora GPI (Fig. 1). Baseado nesses dados é possível inferir que a Lbgp63 possui todos os elementos necessários para a sua localização na superfície externa da *L. braziliensis*.

Além disso, o alinhamento da sequência de aminoácidos entre Lbgp63 e a gp63 de *L. major* (Lm gp63) revelou a existência, na região N-terminal da Lbgp63, de uma sequência conservada, denominada pro-peptídeo (Leu30 a Thr86). O pro-peptídeo contém um resíduo de

cisteína (Cys48) (Fig. 1) envolvido no mecanismo de *cysteine switch*, que controla a atividade enzimática, impedindo a degradação dos componentes intracelulares do parasito pela enzima recém-sintetizada (GOMIS-RUTH, 2003).

Conservação das sequências de gp63

Todas as gp63 estudadas até o momento, em diferentes espécies, mostraram alto grau de conservação entre si (CHAUDHURI e CHANG, 1988; MILLER et al., 1990; YAO et al., 2003). A única exceção ocorre na *Leishmania guyanensis*, cuja sequência da gp63 predita carece dos últimos cinco resíduos de cisteína, contudo, nenhum estudo sobre a viabilidade ou funcionalidade dessa enzima foi realizado (STEINKRAUS et al., 1993). De acordo com essa observação, realizamos o alinhamento múltiplo entre as gp63 de *L. major*, *L. donovani* (Ldgp63), *L. braziliensis* e *L. mexicana* (Lmxgp63) (Fig. 2). O alinhamento revelou alta conservação da sequência de aminoácidos, incluindo os resíduos do sítio ativo HEXXH e um terceiro resíduo de histidina envolvido na formação do sítio catalítico. De maneira geral, aproximadamente 60% de todos os resíduos são idênticos em todas as gp63 estudadas, incluindo 19 cisteínas, 23 glicinas e 17 prolínas.

Características estruturais gerais

Para gerar um modelo estrutural baseado em homologia da Lbgp63, selecionamos como molde a estrutura da Lmgp63 (identificador PDB: 1LML) resolvida por difração de raios-X, com resolução de 1.86Å (SCHLAGENHAUF et al., 1998). O alinhamento de sequência demonstrou que a Lbgp63 apresenta 68% de identidade e 78% de similaridade com a sequência de aminoácidos da Lmgp63. Os gaps foram manualmente fechados, através da edição do alinhamento e pela remoção do peptídeo sinal, pro-peptídeo e dos resíduos localizados abaixo do ômega-site. Subsequentemente, um novo alinhamento foi gerado para a construção do modelo (Fig. 3). Após a geração e a minimização da energia a estrutura foi submetida e aprovada no processo de validação (Tabela 1). O modelo estrutural da Lbgp63 foi depositado no *Protein Model Database* (PMDB) (número de acesso: PM0078901). O PMDB é um banco de dados online para proteínas resolvidas por técnicas de biologia computacional e pode ser acessado pelo endereço eletrônico: <http://mi.caspur.it/PMDB/>.

As metaloproteases zinco-dependentes que apresentam o *motif* catalítico HEXXH podem ser agrupadas em três principais famílias: gluzincina, aspzincina e metzincina. Este último inclui o grupo das astacinas, serralisinas, adamalisinas, metaloproteases de matriz, snapalisinas e a leishmanolisinas. Todos os grupos mencionados apresentam como característica

o domínio catalítico formado por duas α -hélices, projetadas contra uma folha- β composta por cinco fitas- β entrelaçadas (GOMIS-RUTH, 2003). Diferentemente, membros do grupo das leishmanolisinas possuem a folha- β composta por apenas 4 fitas- β . A fita- β que está faltando é substituída por uma inserção de 40 aminoácidos em Lbgp63 e Lmgp63 (SCHLAGENHAUF et al., 1998).

A estrutura tridimensional da Lbgp63 é compacta e pode ser dividida em três principais subdomínios: N-terminal, central e C-terminal (Fig. 4A). O subdomínio N-terminal corresponde aos resíduos Val87 a Leu257 e possui um padrão de enovelamento similar ao módulo catalítico de outras zinco-proteases. O subdomínio N-terminal (Fig. 4C) alberga os resíduos que compõem o sítio catalítico HEXXH (His251, Glu252 e His255), o *motif* de assinatura das metaloproteases zinco-dependentes.

O subdomínio central corresponde aos resíduos Gly258 a Thr377 e apresenta um padrão de enovelamento compacto com α -hélices anti-paralelas e fitas- β anti-paralelas, formando o cerne do subdomínio (Fig. 4D). Uma única dissulfeto é responsável por ligar os subdomínios central e C-terminal. Membros da família da metzincina possuem um *motif* catalítico estendido HEXXHXXGXXH, onde o resíduo de glicina faz parte de uma pequena alça que projeta o terceiro resíduo de histidina dentro do sítio catalítico, colocando sua cadeia lateral em coordenação com o átomo de zinco. Interessantemente, a Lbgp63 apresenta uma inserção de 61 resíduos entre a Gly258 do *motif* estendido e a His321, que também se coordena ao zinco. Essa inserção entre o resíduo de glicina e a terceira histidina está presente em todos os membros do grupo das leishmanolisinas (SCHLAGENHAUF et al., 1998; GOMIS-RUTH, 2003; RAZZAZAN et al., 2008).

A geometria dos resíduos em coordenação com o zinco é similar aos das outras zinco-proteases. O átomo de zinco está coordenado às cadeias laterais da His251, His255 e His321 em distâncias de 2.3Å, 2.2Å e 2.3Å, respectivamente (Fig. 4B). Em adição aos três resíduos de histidina no sítio catalítico, existe uma molécula de água coordenada ao zinco. Esta molécula de água está localizada muito próxima ao átomo de zinco e é o nucleófilo responsável por atacar o substrato, em um mecanismo de hidrólise. Ainda no sítio ativo da Lbgp63, o átomo de zinco parece estar coordenado com a cadeia lateral do Glu252, em uma distância de 1.9Å.

O subdomínio C-terminal corresponde à região entre os aminoácidos Asn378 e Asn562 (Fig. 4E). Dentro desse domínio estão localizadas seis das nove pontes dissulfeto da estrutura, indicando que este domínio é extremamente rígido. A âncora GPI é adicionada nos últimos resíduos do subdomínio C-terminal e é caracterizado como uma alça em espiral, similar a uma α -hélice.

Conservação da estrutura terciária da Lbgp63

Para fim comparativo, foi realizada uma investigação para determinar o grau conservação da estrutura terciária da Lbgp63 em relação à Lmgp63 (Fig. 5). O alinhamento estrutural entre Lbgp63 e Lmgp63 revelou que ambas as proteínas apresentam as mesmas características estruturais, especialmente dos subdomínios C-terminal e Central. Por outro lado, o subdomínio C-terminal não se apresenta tão conservado quanto os demais subdomínios. Contudo, essa ligeira divergência não é encarada com surpresa, pois a região C-terminal de todas as gp63 estudadas costuma ser divergente, até mesmo entre membros de uma mesma espécie (YAO et al., 2003). Ademais, o RMSD (*Root-mean-square deviation*) foi de 0,130 indicando grande similaridade estrutural entre as estruturas analisadas.

Considerando que a interação enzima/substrato é influenciada não apenas por aspectos topológicos, mas também pela complementariedade das cargas na interface de contato (SHEINERMAN et al., 2000), a investigação da distribuição das cargas parciais de superfície é de extrema importância. (Fig. 6). O mapa de distribuição das cargas revelou que a Lbgp63 é predominantemente positiva na região da fenda catalítica, devido ao átomo de zinco e aos resíduos de histidina. Por outro lado, a carga ao redor da fenda catalítica é predominantemente negativa. Tais resultados são semelhantes aos da Lmgp63, indicando que ambas as enzimas possam atuar sobre os mesmos substratos e, por conseguinte, desempenham a mesma função em *L. braziliensis* e *L. major*.

4 CONCLUSÃO

A Lbgp63 possui importante papel na interação da *L. braziliensis* com o hospedeiro vertebrado. Devido à importância, como fator de virulência, o estudo da Lbgp63 abre novas possibilidades para o tratamento profilático e/ou terapêutico da infecção pela *L. braziliensis*, que poderia diminuir drasticamente o número de novos casos de LTA. Uma dessas possibilidades é o desenho racional de fármacos baseado na estrutura da Lbgp63 que sejam capazes de impedir ou inativar a função dessa enzima. Por conseguinte, o parasito seria eliminado diretamente pela ação do fármaco, ou pelo menos, teria sua densidade populacional reduzida, o que diminuiria a morbidade e possibilitaria a eliminação do parasito pelo sistema imunológico.

REFERÊNCIAS

ALVAR, J.; VELEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *PLoS One*, v. 7, n. 5, p. E35671. 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0035671

AMATO, V. S.; BOULOS, M. I.; AMATO, N. V.; FILOMENO, L. T. The use of a silicone T tube for the treatment of a case of American mucocutaneous leishmaniasis with tracheomalacia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 28, n. 2, p. 129-130. 1995.

BENDTSEN, J. D.; NIELSEN, H.; HEIJNE, G.; BRUNAK, S. Improved prediction of signal peptides: SignalP 3.0. *Journal of Molecular Biology*, v. 340, n. 4, p. 783-795. 2004. DOI: 10.1016/j.jmb.2004.05.028

BRITTINGHAM, A.; MORRISON, C. J.; McMASTER, W. R.; McGWIRE, B. S.; CHANG, K. P.; MOSSER, D. M. Role of the *Leishmania* surface protease gp63 in complement fixation, cell adhesion, and resistance to complement-mediated lysis. *The Journal of Immunology*, v. 155, n. 6, p. 3102-3111. 1995.

BRYSON, K.; McGUFFIN, L. J.; MARSDEN, R. L.; WARD, J. J.; SODHI, J. S.; JONES, D. T. Protein structure prediction servers at University College London. *Nucleic Acids Research*, v. 33 (Web Server), n. 1, p. W36-W38. 2005. DOI: 10.1093/nar/gki410

CHAUDHURI, G.; CHANG, K. P. Acid protease activity of a major surface membrane glycoprotein (gp63) from *Leishmania mexicana* promastigotes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 27, n. 1, p. 43-52. 1988.

COLOVOS, C.; YEATES, T. O. Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*, v. 2, n. 9, p. 1511-1519. 1993.

DILL, K. A.; MACCALLUM, J. L. The protein-folding problem, 50 years on. *Science*, v. 23, n. 338, p. 1042-1046. 2012. DOI: 10.1126/science.1219021

ETGES, R.; BOUVIER, J.; BORDIER, C. The major surface protein of *Leishmania* promastigotes is a protease. *The Journal Of Biological Chemistry*, v. 261, n. 20, p. 9098-9101. 1986.

FAURE, G.; SAUL, F. Crystallographic characterization of functional sites of crotoxin and ammodytoxin, potent β -neurotoxins from Viperidae venom. *Toxicon*, v. 15, n. 60, p. 531-538. 2012. DOI: 10.1016/j.toxicon.2012.05.009

GOMIS-RUTH, F. X. Structural aspects of the metzincin clan of metalloendopeptidases. *Molecular Biotechnology*, v. 24, n. 2, p. 157-200. 2003. DOI: 10.1385/MB:24:2:157

HEY, A. S.; THEANDER, T. G.; HVIID, L.; HAZRATI, S. M.; KEMP, M.; KHARAZMI, A. The major surface glycoprotein (gp63) from *Leishmania major* and *Leishmania donovani* cleaves CD4 molecules on human T cells. *The Journal of Immunology*, v. 152, n. 9, p. 4542-4548. 1994.

JARAMILLO, M.; GOMEZ, M. A.; LARSSON, O.; SHIO, M. T.; TOPISIROVIC, I.; CONTRERAS, I.; LUXENBURG, R.; ROSENFELD, A.; COLINA, R.; McMASTER, R. W.;

OLIVIER, M.; COSTA-MATTIOLI, M.; SONENBERG, N. Leishmania repression of host translation through mTOR cleavage is required for parasite survival and infection. *Cell Host Microbe*, v. 9, n. 4, p. 331-341. 2011. DOI: 10.1016/j.chom.2011.03.008

LARKIN, M. A.; BLACKSHIELDS, G.; BROWN, N. P.; CHENNA, R.; McGETTIGAN, P. A.; McWILLIAM, H.; VALENTIN, F.; WALLACE, I. M.; WILM, A.; LOPEZ, R.; THOMPSON, J. D.; GIBSON, T. J.; HIGGINS, D. G. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, v. 23, n. 21, p. 2947-2948. 2007. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm404

LASKOWSKI, R. A.; MACARTHUR, M. W.; MOSS, D. S.; THORNTON, J. M. PROCHECK - a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, v. 26, n. 1, p. 283-291. 1993. DOI: 10.1107/S0021889892009944

LESCRINIER, E. Structural biology in drug development. *Verhandelingen - Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België*, v. 73, n. 2, p. 65-78. 2011.

LIU, T.; TANG, G. W.; CAPRIOTTI, E. Comparative modeling: the state of the art and protein drug target structure prediction. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, v. 14, n. 6., p. 532-547. 2011. DOI: 10.2174/138620711795767811

MARSDEN, P. D.; TADA, M. S.; BARRETO, A. C.; CUBA, C. C. Spontaneous healing of *Leishmania braziliensis* skin ulcers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 78, n. 1, p. 561-562. 1984.

MARSDEN, P. D. Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 80, n. 6, p. 859-876. 1986. DOI: 10.1016/0035-9203(86)90243-9

McGWIRE, B. S.; O'CONNELL, W. A.; CHANG, K. P.; ENGMAN, D. M. Extracellular release of the glycosylphosphatidylinositol (GPI)-linked *Leishmania* surface metalloprotease, gp63, is independent of GPI phospholipolysis: implications for parasite virulence. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n. 11, p. 8802-8809. 2002. DOI: 10.1074/jbc.M109072200

MILLER, R. A.; REED, S. G.; PARSONS, M. *Leishmania* gp63 molecule implicated in cellular adhesion lacks an Arg-Gly-Asp sequence. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 39, n. 2, p. 267-274. 1990.

MOSSER, D. M.; EDELSON, P. J. The mouse macrophage receptor for C3bi (CR3) is a major mechanism in the phagocytosis of *Leishmania* promastigotes. *The Journal of Immunology*, v. 135, n. 4, p. 2785-2789. 1985.

OLIVEIRA, C. P.; JUNGER, J.; PIRES, F. E. S. S.; MATTOS, M.; OLIVEIRA-NETO, M. P.; FERNANDES, O.; PIRMEZ, C. Haematogenous dissemination of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in human American tegumentary leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 100, n. 12, p. 1112-1117. 2006. DOI: 10.1016/j.trstmh.2006.02.014

PEI, J.; TANG, M.; GRISHIN, N. V. PROMALS3D web server for accurate multiple protein sequence and structure alignments. *Nucleic Acids Research*, v. 36 (Web Server), n. 1, p. W30-W34. 2008. DOI: 10.1093/nar/gkn322

PIERLEONI, A.; MARTELLI, P. L.; CASADIO, R. PredGPI: a GPI-anchor predictor. *BMC Bioinformatics*, v. 9, n. 392, p. 1-11. 2008. DOI: 10.1186/1471-2105-9-392

RAZZAZAN, A.; SABERI, M. R.; JAAFARI, M. R. Insights from the analysis of a predicted model of gp63 in *Leishmania donovani*. *Bioinformation*, v. 3, n. 3, p. 114-118. 2008.

SALI, A.; BLUNDELL, T. L. Comparative protein modeling by satisfaction of spatial restraints. *Journal of Molecular Biology*, v. 234, n. 3, p. 779-815. 1993. DOI: 10.1006/jmbi.1993.1626

SCHLAGENHAUF, E.; ETGES, R.; METCALF, P. The crystal structure of the *Leishmania* major surface proteinase leishmanolysin (gp63). *Structure*, v. 6, n. 8, p. 1035-1046. 1998. DOI: 10.1016/S0969-2126(98)00104-X

SHEINERMAN, F. B.; NOREL, R.; HONIG, B. Electrostatic aspects of protein-protein interactions. *Current Opinion in Structural Biology*, v. 10, n. 2, p. 153-159. 2000. DOI: 10.1016/S0959-440X(00)00065-8

STEINKRAUS, H. B.; GREER, J. M.; STEPHENSON, D. C.; LANGER, P. J. Sequence heterogeneity and polymorphic gene arrangements of the *Leishmania guyanensis* gp63 genes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 62, n. 2, p. 173-185. 1993.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, n. 11, p. 3315-3321. 2006.

WIEDERSTEIN, M.; SIPPL, M. J. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in 15 three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, v. 35 (Web Server), n. 1, p. W407-W410. 2007. DOI: 10.1093/nar/gkm290

WILKINS, M. R.; GASTEIGER, E.; BAIROCH, A.; SANCHEZ, J. C.; WILLIAMS, K. L.; APPEL, R. D.; HOCHSTRASSER, D. F. Protein identification and analysis tools in the ExPASy server. *Methods in Molecular Biology*, v. 112, n. 1, p. 531-552. 1999.

WIRMER-BARTOSCHEK, J.; BARTOSCHEK, S. NMR in drug discovery on membrane proteins. *Future Medicinal Chemistry*, v. 4, n. 7, p. 869-875. 2012. DOI: 10.4155/fmc.12.46

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases. Geneva: WHO, 2010, 202 p.

YAO, C.; DONELSON, J. E.; WILSON, M. E. (2003) The major surface protease (MSP or GP63) of *Leishmania* sp. Biosynthesis, regulation of expression, and function. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 132, n. 1, p. 1-16. 2003. DOI: 10.1016/S0166-6851(03)00211-1.

FIGURAS

MPLDSSSTHRRRSVAARLVRLAAAGVAAALAVGTA¹AAWAHAAATPHRCIHDKLQARVRDSAAHRRMPPSAVSAVGLPYIA
LDAADTVARAADWGTLRIAVSTADLTDPDYHCTRVGQRVSNHADEIVTCTAEDVLTEEKRDILVSYLIPQALQLHAERLR
VRQVQGSWKVTGMTGDVCGEFKVPKAHVTVGVSNA²DFVLYVASVPSEPGVLAWATTCQVFSDDHPAVGMNIPAA³NI⁴VSR
YDQGTTRTVTHEVAHALGFSSVFFEGTGIVKSVTNLRGKPF⁵AAPVINSSTAVAKAREQYGCPTLEYLEVEDQGGSGSAGS
HLKGRNAKDELMAPASAAGYYTNLTMVFFEDLGFYKADFTKAEVMPWGRNASCDFLTNKC⁶MEDNITQWPEMFCNTTERRY
RCPTDRLRLGTCGIRTYSTPMPTYFQYFNDTFLAGYSAFLDYCPFTLGYRNGACNQPSTAPALFKEFSVFS⁷DAARCLDG
VFQPRNSTTPSPKYNGMCAKVKCDRAHHTYSVQVRGSSGYVACTPGERLDLATLSTAFVEGSYIMCPPYVEVCQANIKGV
IDFEGDAADTAAMRRWRERMTALATVTAALLGIVLAAMAGLAVWLLITIP

Figura 1. Sequência de aminoácidos da Lb_{gp63}: As letras marcadas em verde delimita uma série de aminoácidos hidrofóbicos, denominado peptídeo sinal. Os aminoácidos marcados em roxo representam o pro-peptídeo, já o aminoácido sublinhado representa o resíduo de cisteína envolvido no processo de *cysteine switch*. Os aminoácidos coloridos em vermelho indicam os resíduos clivados para a adição âncora GPI. A cor azul indica o sítio- ω , o local de adição da âncora GPI. Por último, os aminoácidos marcados na cor preta, correspondem à proteína madura, após as modificações pós-traducionais.

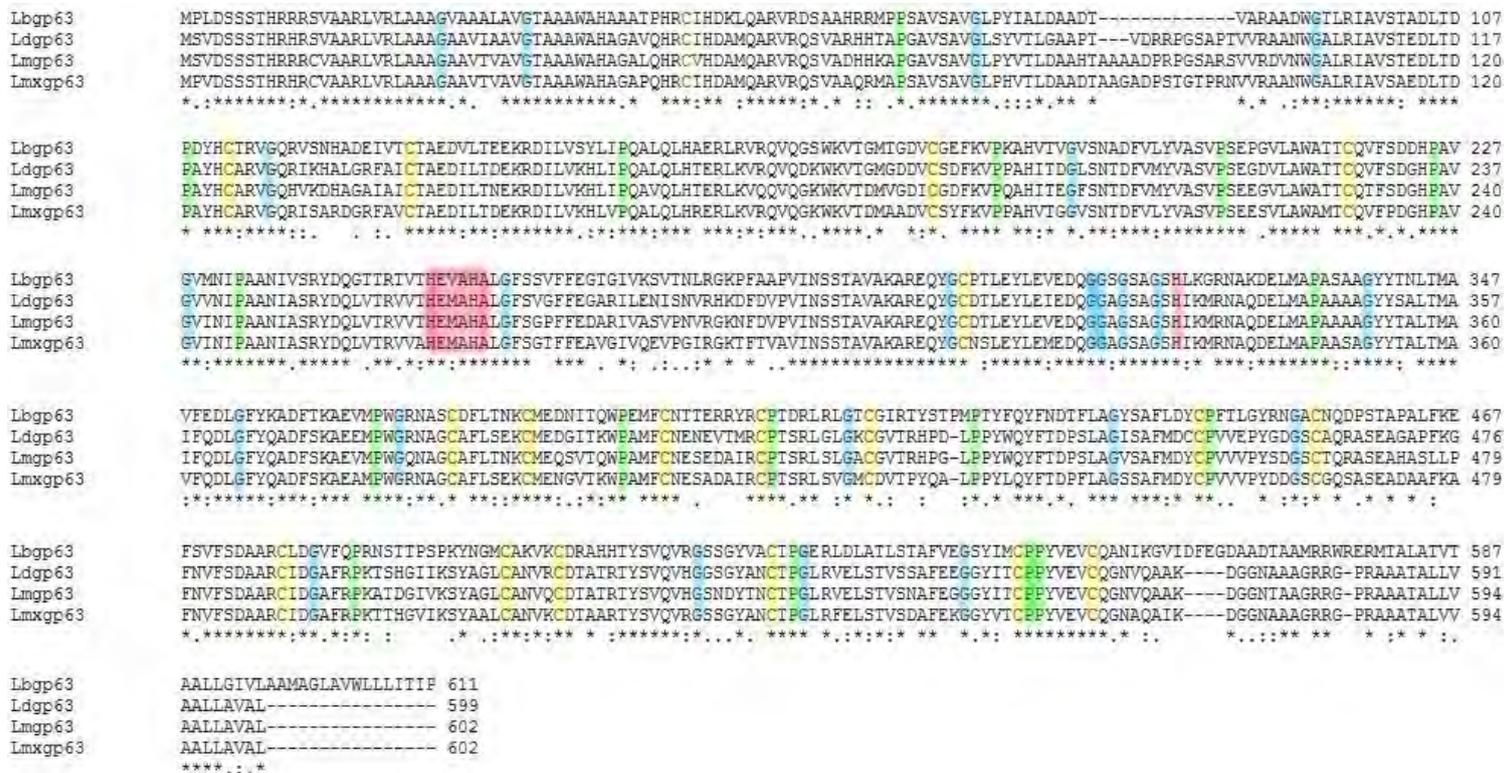


Figura 2. Alinhamento múltiplo entre gp63 de diferentes espécies: O alinhamento mostra as sequências de *Lb*gp63 (número de acesso no GenBank: XP_001562829), *Ld*gp63 (ACT31401), *Lm*gp63 (ACL01096), *Lmx*gp63 (XP_003872886). Os sinais de asterisco, dois pontos e ponto final representam a ocorrência de aminoácidos idênticos, altamente conservados e fracamente conservados, respectivamente. A ausência de qualquer um dos sinais anteriores significa que os aminoácidos daquela posição são divergentes. Os principais influenciadores do enovelamento proteico conservados em todas as sequências estudadas, como a cisteína, prolina e glicina estão marcados em amarelo, verde e azul, respectivamente. A cor vermelha representa os aminoácidos envolvidos na composição do sítio catalítico.

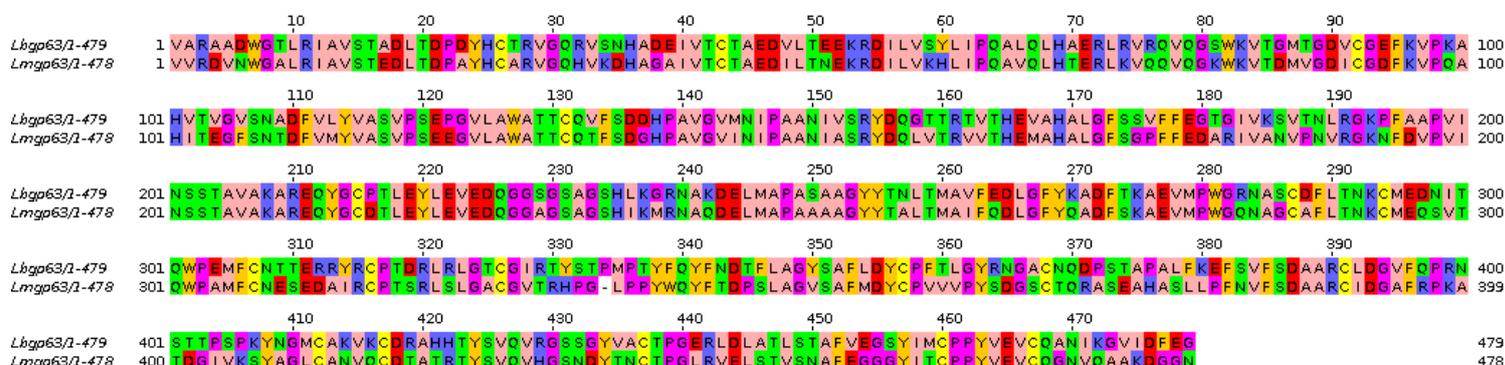


Figura 3. Alinhamento entre aminoácidos da Lbgp63 e da proteína-molde Lmcp63: As sequências alinhadas correspondem à proteína madura. Os aminoácidos foram coloridos de acordo com o esquema de cores Zappo, para facilitar a visualização da conservação entre as sequências. As cores a seguir representam as características de cada aminoácido, são elas: rosa (aminoácidos alifáticos/hidrofóbicos), amarelo escuro (aromáticos), azul (de carga positiva), vermelho (carga negativa), verde (hidrofilicos), magenta (de conformações especiais) e amarelo claro (cisteína).

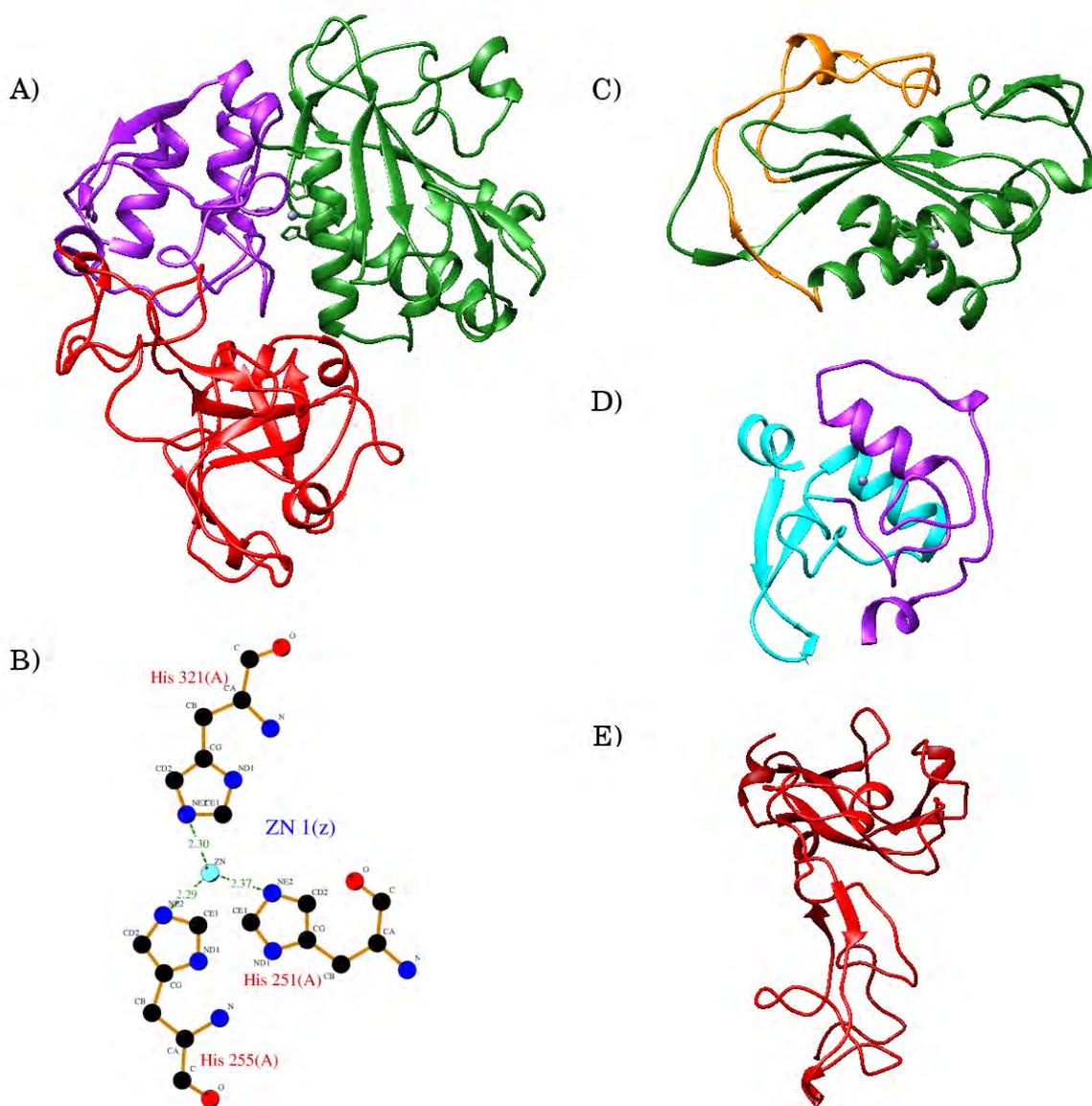


Figura 4. Representação da estrutura tridimensional: A) Estrutura terciária da Lbgp63. Os subdomínios N-terminal, Central e C-terminal são representados pelas cores verde, roxo e vermelho, respectivamente. B) Coordenação dos resíduos de histidinas ao átomo de zinco em distâncias inferiores a 3.0Å. C) Representação individual do subdomínio N-terminal. O segmento colorido em laranja corresponde à substituição da fita- β mencionada no texto. D) Subdomínio Central. A cor azul representa a inserção de 61 aminoácidos entre a glicina imediatamente após o motif HEXXH e o terceiro resíduo de histidina envolvido na formação do sítio catalítico. E) subdomínio C-terminal, consistindo basicamente de fitas- β .



Figura 5. Sobreposição estrutural: Alinhamento estrutural entre Lbgp63 (verde) e Lmgp63 (roxo), evidenciando a grande conservação estrutural, sobretudo, dos subdomínios N-terminal e Central.

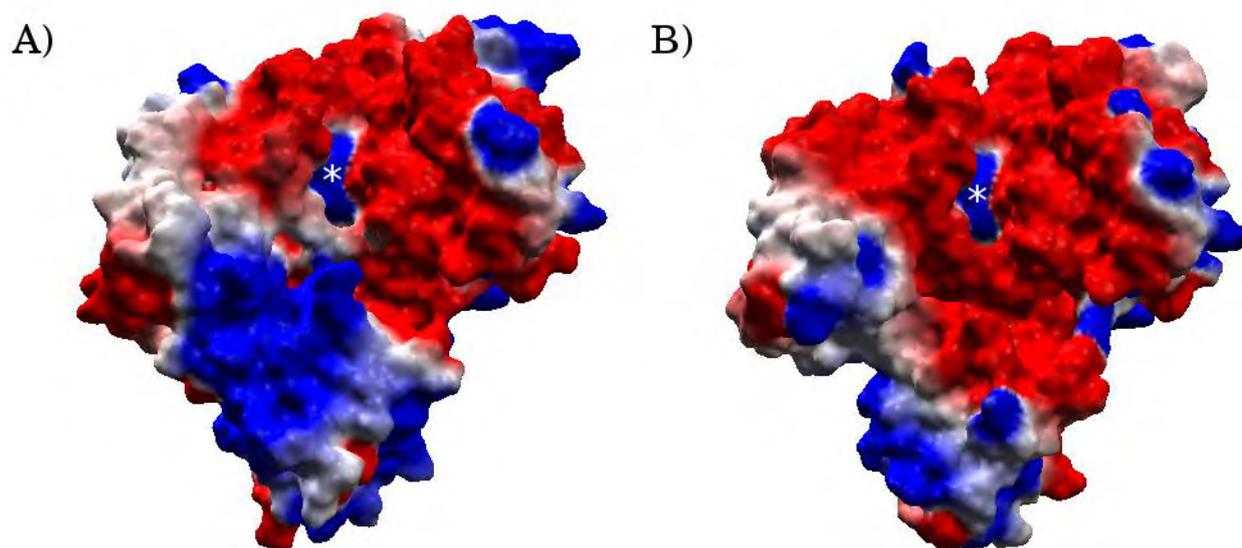


Figura 6. Mapa de distribuição de cargas: Representação das cargas parciais de superfície da Lbgp63 (A) e Lmgp63 (B). As cores azul, vermelho e branco correspondem às cargas positivas, negativas e neutras, respectivamente. O asterisco (branco) indica a fenda catalítica

DOM DA PALAVRA

Rayme Vasconcellos Soares (raymesoares@gmail.com)
Mestrado Profissional em Bioenergia da Faculdade de Tecnologia e Ciências

Quando o corpo fala, desnuda-se o espírito e à tona vêm as asas
Adornadas com esculpidas palavras
Ou cruas como o olhar inocente de uma criança

Há de se dar valor àquilo que é arte, porque é o que toca o silêncio
O dom da palavra, da fala, da ida até o encontro da alma
Esculpidas ou cruas, nos toquem as palavras, as falas...

E que para o amor, se multipliquem os timbres
E então para o rancor, nenhum som permaneça
Para que das conquistas estas sejam o leito

E que pela amizade, do lado esquerdo do peito
Permaneçam intocadas, sem julgo ou desafeito
Que assim se espalhem as palavras

Que para a dor, como bálsamo ecoem
Que para a vida, abram-nos as melhores portas
Que para a lida, nos sirvam sem ressalvas

E que saibamos que o dom da palavra está no encanto de um texto, mas, também, no
silêncio de uma fala.