

Mapeamento Sistemático das produções sobre bioprospecção na Amazônia entre o período de 2010-2020

Systematic mapping of productions on bioprospecting in the Amazon between the period 2010-2020

Mapeo sistemático de producciones sobre bioprospección en la Amazonía entre el período 2010-2020

Recebido: 17/03/2022 | Revisado: 25/03/2022 | Aceito: 02/04/2022 | Publicado: 09/04/2022

João Lucas da Silva Rufino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8547-5280>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: jjoao_lucas2018@outlook.com

Maxwel Adriano Abegg

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0328-1122>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: maxabegg@ufam.edu.br

Resumo

A Amazônia possui um potencial grande quando se observa o contexto da Sustentabilidade. Muito desta propensão ao Desenvolvimento Sustentável advém da grande parcela de biodiversidade que compreende este espaço Amazônico. Neste sentido acaba sendo perceptível a necessidade de haver pesquisas científicas voltadas para exploração sustentável dos recursos naturais amazônicos. Nesta revisão estruturada objetivou-se analisar os dados de artigos científicos para responder ao questionamento “Qual o cenário da bioprospecção no Contexto Amazônico?”. Aplicou-se a técnica PICO para organização das strings de busca, Snowballing para busca de estudos secundários e Grounded Theory de Strauss para análise dos resultados e geração indutiva de teoria dentro de um recorte temporal de 10 anos, entre os anos de 2010 e 2020. Os resultados desta Revisão indicam um cenário, aparentemente, ainda pouco explorado em relação a temática Bioprospecção na Amazônia, bem como a Bioprospecção de Fungos Amazônicos. Observa-se um cenário desafiador e uma percepção de que questões que envolvem o tema “sustentabilidade” estão pouco difundidas entre as interdisciplinaridades das áreas que compõem as Ciências Ambientais.

Palavras-chave: Bioprospecção; Amazônia; Fungos.

Abstract

The Amazon has great potential when looking at the context of Sustainability. Much of this propensity for Sustainable Development comes from the large portion of biodiversity that comprises this Amazonian space. In this sense, the need for scientific research aimed at sustainable exploitation of Amazonian natural resources ends up being perceptible. This structured review aimed to analyze data from scientific articles to answer the question “What is the scenario of bioprospecting in the Amazon Context?”. The PICO technique was applied to organize the search strings, snowballing to search for secondary studies and Strauss's Grounded Theory to analyze the results and inductive theory generation within a time frame of 10 years, between 2010 and 2020. The results of this Review indicate a scenario, apparently, still little explored in relation to the theme Bioprospection in the Amazon, as well as the Bioprospection of Amazonian Fungi. There is a challenging scenario and a perception that issues involving the theme "sustainability" are not widespread among the interdisciplinarity of the areas that make up Environmental Sciences.

Keywords: Bioprospecting; Amazon; Fungi.

Resumen

La Amazonía tiene un gran potencial cuando se mira en el contexto de la Sostenibilidad. Gran parte de esta propensión al Desarrollo Sostenible proviene de la gran porción de biodiversidad que comprende este espacio amazónico. En este sentido, termina siendo perceptible la necesidad de investigaciones científicas orientadas a la explotación sostenible de los recursos naturales amazónicos. Esta revisión estructurada tuvo como objetivo analizar datos de artículos científicos para responder a la pregunta “¿Cuál es el escenario de la bioprospección en el contexto amazónico?”. Se aplicó la técnica PICO para organizar las cadenas de búsqueda, Snowballing para buscar estudios secundarios y Grounded Theory de Strauss para analizar los resultados y generación de teoría inductiva en un marco temporal de 10 años, entre 2010 y 2020. Los resultados de esta Revisión indican un escenario, al parecer, aún poco explorado en relación al tema Bioprospección en la Amazonía, así como la Bioprospección de Hongos Amazónicos. Hay un escenario desafiante y una percepción de que las cuestiones que involucran el tema "sostenibilidad" no están muy difundidas entre las interdisciplinaridades de las áreas que componen las Ciencias Ambientales.

Palabras clave: Bioprospección; Amazonia; Hongos.

1. Introdução

A diversidade biológica e variação genética, diferença entre ecossistemas que abrigam diferentes espécies, compreendem a biodiversidade. A atividade exploratória humana tem diminuído rapidamente a biodiversidade mundial, portanto a preocupação com este recurso natural é crescente. O Brasil faz parte de uma importante frente neste cenário, uma vez que é detentor da maior parte de biodiversidade do mundo. Os seres vivos possuem um papel importante com os serviços ambientais, tais como: regulação climática, ciclagem de nutrientes, polinização, formação de solos, fornecimento de água, entre outros cujo valor financeiro entraria na ordem de centenas de trilhões de dólares ao ano (Balmford *et al.*, 2002; Constanza *et al.*, 1997;).

O desmatamento é uma prática muito comum para a realização da agropecuária, e a retirada da cobertura vegetal provoca a redução da biodiversidade, extinção de espécies animais e vegetais, desertificação, erosão, redução dos nutrientes do solo; contribuindo para o aquecimento global, entre outros danos (Zamberlan., 2014). Agregar valor para regiões com florestas em pé, pode ser uma alternativa mais efetiva de proteção do bioma Amazônico.

Uma das maneiras de extrair valor econômico da biodiversidade é a bioprospecção, termo que academicamente pode ser entendido como a busca sistemática por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes provenientes de seres vivos, que tenham potencial econômico e eventualmente, levam ao desenvolvimento de um produto (Saccaro Júnior., 2011).

Com a tendência mundial da abordagem sobre o tema “sustentabilidade”, constata-se a necessidade de inovações tecnológicas e biotecnológicas, incentivando o uso de microrganismos benéficos para as atividades humanas, assim como seus produtos metabólicos e interações com plantas (Priyanka., 2020; Fang-Zhou., 2020; Posada, 2016;).

A relação Amazônia e Desenvolvimento Sustentável é mais estreita do que se pode imaginar. O berço da biodiversidade possui características ímpares que levam a muitas possibilidades de exploração sem a necessidade de comprometer o ecossistema. Valois A. C. C., 2003, através da Embrapa já dizia à época que:

haveriam amplas possibilidades de utilização sustentável da Amazônia, considerando o ordenamento territorial perante os inúmeros ecossistemas existentes da região. Apresenta-se uma visão geral sobre os limites geográficos da Amazônia Legal, suas condições climáticas, edáficas e de vegetação, além de enfatizar a importância do zoneamento agroecológico. Considera-se os recursos genéticos da vasta biodiversidade, agricultura, exploração florestal, pecuária e transferência e adoção de tecnologia com fulcros de desenvolvimento regional, levando em conta os diversos nichos ecológicos da Amazônia.

Desta forma, pesquisas direcionadas a exploração dos recursos naturais, sem comprometê-los, no contexto Amazônico são interessantes, neste cenário. Neste sentido, observa-se a necessidade de contemplar esses dados observacionais para avaliarmos este cenário. Dentro desta pesquisa, o necessário seria observar os trabalhos publicados relacionados a Bioprospecção em um contexto Amazônico.

Para melhor resposta desta questão adotou-se a técnica de Mapeamento Sistemático da Literatura, que é descrita por Dermeval D. *et al* 2017 como uma ferramenta que pode ser utilizada quando não é necessário responder com profundidade questões específicas, mas sim uma visão geral mais ampla de determinada área. Pode-se utilizar quando há poucas evidências do tópico de pesquisa disponíveis.

Para análise de dados utilizou-se a técnica de Teoria Fundamentada em Dados (TFD) (Stol; Ralph., *et al* 2016), que visa trazer a compreensão das experiências e interações de pessoas inseridas em um determinado contexto social, buscando evidenciar estratégias desenvolvidas diante de situações vivenciadas.

Este trabalho tem como objetivo analisar o cenário da Bioprospecção dentro do Contexto Amazônico. Por conseguinte, a seguinte questão de pesquisa definida neste trabalho é:

“Como está o cenário da Bioprospecção no Contexto Amazônico?”

Esta questão permite analisar o cenário de pesquisas sobre Bioprospecção de Recursos Amazônicos com o propósito de caracterizá-lo quanto a origem da pesquisa (motivação), materiais biológicos utilizados, quanto a utilização de conhecimento popular de povos tradicionais da Amazônia bem como as oportunidades e desafios da execução da bioprospecção do ponto de vista dos pesquisadores de Ciências Ambientais dentro das publicações disponíveis na literatura técnica.

A questão principal desta pesquisa está dividida em duas partes, podendo assim permitir o melhor entendimento sobre o objetivo desta busca sistemática.

Q1: “Como está o cenário da Bioprospecção no Contexto Amazônico?”

Q2: Como está o cenário da bioprospecção com fungos Amazônicos?”

2. Metodologia

2.1 Estratégia de Busca

Para proceder a identificação dos artigos disponíveis na literatura técnica, conduziu-se o estudo procurando artigos primários que mostrem os desafios enfrentados pelos pesquisadores dentro do cenário da Bioprospecção no Contexto Amazônico.

Para além disso, utilizou-se o PICO (Santos., *et al*, 2007), adaptado para esta pesquisa, para organizar as *strings* de pesquisa. Esta *string* de pesquisa está disponível no Quadro 1. As plataformas Capes, Scielo, Google Acadêmico e Pubmed foram utilizadas como máquinas de busca.

Quadro 1 - String de Busca.

String	
P	Ciências Ambientais
I	Bioprospecção, Microbiologia, Amazônia
C	Não aplicado
O	Não Aplicado

Fonte: Autores.

2.2 Primeiro procedimento de seleção

Um pesquisador deverá realizar o seguinte procedimento de seleção:

1 Executar a *string* de pesquisa

2 Aplicar os critérios de inclusão com base no título do artigo

3 Aplicar os critérios de inclusão com base no resumo do artigo

4 Aplicar os critérios de inclusão com base no Texto Completo do Artigo, e; Depois de terminar a seleção da Scopus, use os artigos incluídos definidos para:

5 Aplicação da Técnica de *Snowballing* (Baldin; Munhoz., 2011) (*backward* e *forward*) nas listas de referências do conjunto final de artigos selecionados. *Snowballing* é um método de pesquisa para estudos secundários, que usam uma lista de referências de trabalhos ou citações como entrada.

a. Aplicar os critérios de inclusão com base no título do artigo

b. Aplicar os critérios de inclusão com base no resumo do artigo

c. Aplicar os critérios de inclusão com base no Texto Completo do Artigo

2.3 Critérios de inclusão

- 1 O Artigo deve estar no contexto de Ciências Ambientais
- 2 O artigo deve relatar um estudo primário ou secundário
- 3 O Artigo deve relatar um estudo baseado em evidências fundamentado em métodos empíricos (experimentações, estudos de casos, etc).
- 4 O Artigo deve fornecer dados suficientes para responder ao menos uma das perguntas norteadoras deste estudo.
- 5 Serão considerados somente Artigos escritos nos idiomas inglês e em português.
- 6 Os artigos selecionados estão dentro do recorte temporal de 10 anos (2010 – 2020)
- 7 As palavras chaves para pesquisa serão: Bioprospecção, Amazônia e Fungos.

2.4 Critérios de exclusão

- 1 Publicações Duplicadas/autoplágio;
- 2 Cadastro de anais/pôsteres; e
- 3 Artigos não revisados por pares

2.5 Segundo procedimento de seleção

Após finalizar a leitura dos títulos, resumo e texto completo de cada artigo selecionado e avaliá-lo de acordo com os critérios de inclusão e exclusão. Dois leitores avaliarão cada estudo. O critério de aceitação dar-se-á da seguinte forma:

- 1 Todos os leitores aceitam os artigos: o estudo estará incluído.
- 2 Um leitor aceita o artigo e o outro exclui: o estudo é excluído.
- 3 Se um leitor está em dúvida sobre o artigo e ele aceita: o estudo é discutido.
- 4 Se um leitor está em dúvida sobre o artigo e o outro exclui: o estudo é excluído.
- 5 Todos os leitores excluem o artigo: o estudo é excluído.

2.6 Procedimento de extração e análise

Neste Protocolo, as informações foram retiradas dos artigos e então analisadas baseada no método de Teoria Fundamentada nos Dados (TFD) de Strauss, ou *Grounded Theory (GT)* (Stol; Ralph., *et al*, 2016). O objetivo desta técnica é a geração indutiva de teoria através de testes ou validação de teoria existente (dados), tornando-se adequado para investigar questões como “o que está acontecendo por aqui?”. Neste sentido, corrobora-se com as questões norteadoras para este estudo, que se objetiva analisar o cenário da bioprospecção na Amazônia bem como da bioprospecção de fungos amazônicos.

Neste Protocolo, as coletas e análises de dados deram-se de forma simultânea, para investigação profunda e seleção das publicações que compor-se-iam este protocolo através de uma codificação inicial. Seguiu-se para uma codificação focalizada, onde esses dados foram avaliados para a melhor percepção e seleção dos dados mais importantes para esta pesquisa. Como terceira etapa de codificação de dados, realizou-se a codificação axial, para entendimento e estabelecimento da relação entre os dados dos códigos extraídos dos trabalhos pesquisados. Por fim, uma codificação teórica em que há relação dos dados obtidos e integração à teoria elaborada e coesa. O quadro 2 mostra os dados que serão extraídos dos artigos selecionados.

Quadro 2 – Formulário de Extração.

Título	<i>Título do artigo</i>
Abstract	Abstract do artigo
Fonte de publicação	Conferência, jornal ou simpósio em que o artigo foi publicado
Ano	Ano da publicação do artigo
Tipo de estudo	Estudo primário ou secundário identificado no artigo
Contexto	Tipo de evidência
Cenário no contexto amazônico	Descreve os desafios da prática de execução da Bioprospecção no Contexto Amazônico
Cenário com a utilização de fungos	Descreve a utilização de fungos amazônicos para este tipo de estudo

Fonte: Autores.

2.7 Procedimento de síntese

Neste Protocolo, o formulário de extração (Quadro 2) fornece uma forma sintetizada de representar os dados extraídos.

3. Resultados e Discussão

Os resumos dos resultados obtidos estão descritos nos Quadros 3 e 4, respectivamente.

Quadro 3 - Passo a passo da execução dos Strings de busca.

Atividade	Data de Execução	Resultados	Número de artigos selecionados
Primeira rodada (Título, Proceedings, duplicatas, etc)	25/10/2021	305 artigos	305 artigos
Segunda rodada (Título)	25/10/2021	305 artigos	15 artigos
Terceira rodada (abstract)	10/11/2021	15 artigos	10 artigos
Quarta rodada (leitura cheia)	14/12/2021	10 artigos	8 artigos
Rodada Snowballing	16/12/2021	0 artigos	0 artigos
Total		305	8

Fonte: Autores.

Quadro 4 - Conjunto final de artigos.

Id	Title	Year	Source
1	Plants used to treat snakebites in Santarém, western Pará, Brazil: An assessment of their effectiveness in inhibiting hemorrhagic activity induced by <i>Bothrops jararaca</i> venom.	2015	Capes
2	<i>Connarus favosus</i> Planch: An inhibitor of the hemorrhagic activity of <i>Bothrops atrox</i> venom and potential antioxidant and antibacterial agent	2016	Capes
3	Standardization and anti-inflammatory activity of aqueous extract of <i>Psittacanthus plagiophyllus</i> Eichl (Loranthaceae)	2017	Capes
4	The potential of aqueous extracts of <i>Bellucia dichotoma</i> Cogn. (Melastomataceae) to inhibit the biological activities of <i>Bothrops atrox</i> venom: A comparasion of specimens collected in the states of Pará and Amazonas, Brazil.	2017	Capes
5	Assessment of the anti-snakebite properties of extracts of <i>Aniba fragans</i> Ducke (Lauraceae) used in folk medicine as complementary treatment in cases of envenomation by <i>Bothrops atrox</i>	2018	Capes
6	Production of thermostable B-globosidase and CMCase by <i>Penicillium</i> sp. LM101 isolated from the Amazon region	2018	Scopus
7	Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production	2014	Scopus
8	Cultivable cellulolytic fungi isolated from the gut of Amazonian aquatic insects	2020	Scopus

Fonte: Autores.

Os resultados desta Revisão indicam um cenário, aparentemente, ainda pouco explorado em relação a temática Bioprospecção na Amazônia, bem como a Bioprospecção de Fungos Amazônicos. Este fato, possivelmente deve-se a recente preocupação com este tema de pesquisa, bem como com o fato de que muitos cientistas brasileiros pesquisam, entretanto não

publicam seus trabalhos de Bioprospecção em revistas científicas revisados por pares, o que acaba entrando em contraste com o cenário brasileiro, pois este país, de dimensões continentais, é reservatório da maior fatia de biodiversidade do planeta. Pode-se inferir também ao baixo investimento de capital financeiro em pesquisas desta natureza, com recentes cortes orçamentários para pesquisa, que corroboram para a não exploração sustentável de produtos de origem biológica. Também pode-se inferir que o tema “bioprospecção” ainda não está bem difundido entre as diversas áreas que compõem as Ciências Ambientais, diminuindo o alcance que este tema poderia ter, dentro de pesquisas, fazendo com que menos pesquisadores adotem estes métodos como estratégia de exploração sustentável. No Gráfico 1, pode-se observar com os resultados obtidos a mostra de trabalhos ao longo dos últimos 10 anos publicados sobre Bioprospecção na Amazônia e Bioprospecção de Fungos Amazônicos.

Gráfico 1 - Artigos por ano.



Fonte: Autores.

3.1 Resumo dos Resultados.

A bioprospecção é um processo de busca sistemática em um organismo, seja ele de origem vegetal, fúngica, microbiana ou animal, que é composta por várias etapas, muitas vezes descritas em trabalhos acadêmicos, sem se referenciar diretamente ao termo “bioprospecção”. Tendo em vista este sentido, mesmo tratando-se de um conjunto de etapas, pode-se inferir o tema quando a análise de algumas etapas deste processo for realizada.

Nesta seção, apresentam-se os principais resultados obtidos a partir dos artigos selecionados respondendo às questões de pesquisa. Realizou-se uma análise dos dados por método de teoria fundamentada em dados (GT).

Q1: Como está o cenário da Bioprospecção no Contexto Amazônico?

Em um cenário regado a conhecimento popular, habitado por populações tradicionais, conhecidos como povos da Amazônia, cercada por florestas e muitas espécies vegetais e animais, somado às grandes distâncias e dificuldades logísticas, levam a Região Amazônica como celeiro para descobertas de substâncias com potenciais biotecnológicos, muitas vezes sendo base para estudos que utilizem conhecimento popular como ponto de partida. Neste sentido observa-se que 5 dos 8 estudos selecionados durante as etapas de buscas partem do princípio do uso dos recursos naturais por povos tradicionais da Amazônia.

A picada de cobra é um evento comum na Região Amazônica, entretanto seu tratamento torna-se dificultoso devido às condições logísticas da região, tanto para a vítima desta fatalidade, quanto para inserção dos antídotos nos sistemas de saúde; há de se salientar também a subnotificação dos casos. Tendo em vista o não acesso aos tratamentos com antídotos pacientes passam a se tratar em casa através do conhecimento popular com uso de plantas medicinais. Nesta perspectiva a avaliação da eficácia de extratos de plantas, utilizadas em virtude do conhecimento popular, bem como sua composição através de

determinação de Perfil Fitoquímico e determinações das suas atividades biológicas tornam-se relevantes para que nos próximos passos em pesquisa sejam incrementadas tecnologias para fabricação de produtos biotecnológicos de origem natural.

Os autores Moura *et al* (2015), Silva *et al* (2016), Moura *et al* (2017), e Moura *et al* (2018) retratam dados de experimentações realizadas com extratos vegetais para tratamento de picadas de cobra (*Bothrops jararaca venom*) nas proximidades de Santarém-PA, na região Oeste do estado. Muitas dessas espécies são conhecidas por nome popular, formando uma barreira que dificulta o acesso a espécie correta antes de proceder a análise. Ao que se observa destas pesquisas, os pesquisadores utilizam material vegetal para produção dos extratos, para posterior análise, inferindo a bioprospecção como segundo plano, sem a relevância adequada. Os autores prosseguem na realização de uma busca sistemática por um produto com potencial biotecnológico, realizando etapas da bioprospecção, com análise e discussão técnica objetiva aos dados sem relacioná-los ao contexto ambiental, de onde origina-se o produto pesquisado.

As análises são promissoras, quando na pesquisa de Moura *et al* (2015) os extratos de *Bellucia dichotoma*, *Connarus favosus*, *Plathymenia reticulata* and *Philodendron megalophyllum* foram capazes de inibir a atividade hemorrágica do veneno da espécie de cobra citada acima. Na pesquisa de Silva *et al* (2016) o extrato de *Connarus favosus* mostrou-se eficaz para inibir a atividade hemorrágica do veneno de *Bothrops* bem como atividade antioxidante e antimicrobiana. Na pesquisa de Moura *et al* (2017) o extrato de *Bellucia dichotoma Cogn* e na pesquisa de Moura *et al* (2018) o extrato de *Aniba fragrans Ducke*, mostraram-se eficazes para inibir atividades biológicas do veneno de *Bothrops*.

Gastrite e desordens inflamatórias do estômago fazem parte da realidade da população ribeirinha e isolado nas comunidades ao longo da região amazônica. Para tratamentos desta natureza, há a tradição de consumir, na forma de chás (extratos aquosos), espécies de *Psittacanthus plagiophyllum Eichl*. A análise descrita por Bezerra *et al* (2017) também foi promissora, tendo como resultado fortes evidências que sustentem o uso dessa espécie para tratamentos desta natureza.

Já 3 dos 8 estudos baseiam-se em estudos anteriores com espécies fúngicas de mesmo gênero ou família que obtiveram dados promissores ou informações descritas pela literatura. A Região Amazônica possui características climáticas peculiares. Possui presença de umidade e calor, tornando o local propício para desenvolvimento de uma diversidade imensa de espécies fúngicas. Os fungos possuem um metabolismo que evoluiu através do tempo, sendo um agente decompositor do meio ambiente, capaz de produzir inúmeras enzimas para as mais diversas aplicações, assim como outros produtos resultantes do seu metabolismo. Esses produtos metabólicos, como enzimas ou substâncias corantes podem ser direcionados para aplicação na indústria gerando ganhos financeiros. A pesquisa de Celestino *et al* (2014) é o único de todos os trabalhos selecionados que faz menção direta ao termo de “Bioprospecção”.

Q2: Como está o cenário da Bioprospecção com fungos Amazônicos?

Microrganismos estão em abundância quando se refere a natureza. Fungos possuem grandes capacidades em produções de enzimas e substâncias metabólicas com aplicações em diversos setores como na biotecnologia, saúde, cosméticos, alimentícia, etc. Baseando-se em informações descritas na literatura, a busca por novas espécies pode ser guiada pela busca por substâncias com variadas atividades biológicas.

Nas pesquisas de Rosa *et al* (2018) e Montefusco (2020) é determinado a atividade celulolítica das enzimas produzidas pelas espécies de fungos estudadas, *Penicillium* sp (artigo 6), *Cladosporium*, *Gliocephalotrichum*, *Penicillium*, *Pestalotiopsis*, *Talaromyces*, *Trichoderma* e *Umbelopsis* (artigo 8), tanto os coletados da decomposição de materiais vegetais, bem como os extraídos da microbiota do intestino de insetos Aquáticos Amazônicos. Na pesquisa de Celestino *et al* (2014) é descrito como bioprospecção parte de um processo de estudo de espécies fúngicas extraídas de amostras de solos amazônicos com potencial de produção de pigmentos que possuem grandes aplicações nas indústrias e trazem uma gama de possibilidades e colorações diferentes.

Mesmo que nas 3 pesquisas o destaque para as vantagens na utilização de fungos para produção de produtos biotecnológicos seja evidente, em partes ainda há a falta de relação entre a pesquisa realizada com a busca sistemática que tratar-se-á a bioprospecção, tendo apenas o autor Celestino *et al* (2014) como referência mais alinhada com este tema. Se tratar de buscas por compostos biológicos com potenciais biotecnológicos, no contexto amazônico, dentro das alternativas de desenvolvimento sustentável já são complexas, afunilar a busca para tratar especificamente de fungos amazônicos inseridos neste contexto torna a busca ainda mais escassa. Com a execução das strings de busca pouco se destaca, na literatura, sobre a execução deste tipo de trabalho, tornando mais fácil encontrar subsídios de informação que reflitam o quão relevante são as pesquisas desta natureza do que propriamente realizá-las.

3.2 Formulários de Extração

Abaixo apresentam-se os dados extraídos dos artigos selecionados, conforme o Quadro 5.

Quadro 5 – Formulários de extração.

<i>Paper 1</i>	
Título	Plants used to treat snakebites in Santarém, western Pará, Brazil: An assessment of their effectiveness in inhibiting hemorrhagic activity induced by <i>Bothrops jararaca</i> venom.
Abstract	Ethnopharmacological relevance: The poor distribution and limited availability of antivenoms in Brazil have led to greater use of plants to treat snakebites. Very often such plants are the only alternative available to riverside communities. Materials and methods: Direct questionnaire-based interviews were conducted with members of the Cucurunã, São Pedro and Alter do Chão communities in Santarém, Pará, Brazil. For each of the 12 most frequently mentioned species aqueous extracts were prepared and the phytochemical profiles determined by thin layer chromatography. The concentrations of phenolic compounds (tannins and flavonoids) in the aqueous extracts were determined by colorimetric assays. To assess inhibition of the hemorrhagic activity of <i>Bothrops jararaca</i> venom, solutions containing the venom mixed with aqueous extracts in the ratios 1:12 and 1:48 were tested (w/w). SDS-PAGE and Western blot were used to assess the action of the extracts on <i>Bothrops jararaca</i> venom. Results: In all, 24 plants belonging to 19 families were mentioned in the survey as being used to treat snakebites. Leaves (84%), seeds (60.9%) and inner bark (53%) were cited as the most frequently used parts in folk remedies, which were usually prepared in the form of a decoction (62.5%), tincture (45%) or maceration (22.5%). Hemorrhage induced by <i>Bothrops jararaca</i> venom was completely inhibited by aqueous extracts of <i>Bellucia dichotoma</i> , <i>Connarus favosus</i> , <i>Plathymenia reticulata</i> and <i>Philodendron megalophyllum</i> , which had a high phenolic content and contained condensed and hydrolyzable tannins. The results of SDS-PAGE showed that some venom protein bands were not visible when the venom was preincubated with the extracts that had completely inhibited hemorrhagic activity of the venom. Western blot showed that the extracts did not have any enzymatic action on the proteins in the venom as it failed to detect low-molecular-weight bands, which are indicative of possible enzymatic cleavage. Conclusions: Traditional use of plants to treat snakebites is a common practice in the western region of Pará, Brazil. Our findings show that some plant extracts were able to inhibit snake venom-induced hemorrhage in vitro. In vivo studies are being carried out to validate the traditional use of these species to treat snakebites.
Fonte de publicação	Journal of Ethnopharmacology – Science Direct
Ano	2015
Tipo de estudo	Estudo Primário – Estudo Experimental
Contexto	A pesquisa descrita neste artigo retrata uma alternativa para tratamento de pacientes com risco de adentrarem em quadros de hemorragia sob efeitos do veneno de <i>Jaracaca bothrops</i> .
Cenário no contexto amazônico	<p>According to official estimates, snakebites affect around 240,000 people worldwide and account for 20,000 deaths. However, if undernotification is taken into consideration, these figures could reach 1,841,000 and 94,000, respectively. In light of these data, the World Health Organization granted snakebite envenomation neglected-disease status in 2009.</p> <p><i>Bothrops jararaca</i> is the species that causes the greatest number of snakebites in the Southeast of Brazil. Envenomation by snakes of the genus <i>Bothrops</i> causes immediate local effects such as pain, edema, hemorrhage and myonecrosis, as well as systemic reactions, most notably coagulant and hemorrhagic effects. Hemorrhage is one of the most serious symptoms of envenomation by snakes from genus <i>Bothrops</i> and is induced by metalloproteinases.</p> <p>In the Amazon region, the use of plant preparations to treat snakebites is quite common and indeed very often the only option. Some medicinal plants are a source of bioactive compounds with the potential to directly inhibit some of the activities induced by snake venom. Many of these plants have been studied in order to validate their use in popular medicine or to isolate and characterize these bioactive components.</p> <p>This study therefore sought not only to recover and preserve traditional knowledge about the use of plants in the treatment of snakebites in the western region of Pará, Brazil, but also to evaluate the extent to which aqueous extracts of such plants can inhibit the hemorrhagic activity induced by <i>Bothrops jararaca</i> venom as well as to determine the phytochemical profile of these extracts by thin layer chromatography.</p>
Cenário com a utilização de fungos	Este artigo não trabalha com Fungos Amazônicos.
<i>Paper 2</i>	
Título	<i>Comarus favosus</i> Planch: An inhibitor of the hemorrhagic activity of <i>Bothrops atrox</i> venom and potential antioxidant and antibacterial agent

Abstract	Ethnopharmacological relevance: The plant species <i>Connarus favosus</i> is used in folk medicine in the west of Pará state, Brazil, to treat snakebites. Aim of the study: To investigate the potential of the aqueous extract of <i>Connarus favosus</i> (AECf) to inhibit hemorrhagic and phospholipase A2 activities induced by <i>Bothrops atrox</i> venom (BaV) and to determine the antioxidant and antimicrobial potentials of the extract. Materials and methods: AECf was analyzed phytochemically for phenolics (condensed tannins and hydrolyzable tannins) by colorimetry. Antioxidant activity was evaluated by quantitative assays using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and Fe3p/phenanthroline. Antimicrobial activity was evaluated by the minimal inhibitory concentration test, and cytotoxicity was evaluated using human fibroblast cells (MRC5). Inhibition of BaV-induced hemorrhagic activity was assessed after oral administration of the extract using pre-treatment, post-treatment and combined (BA plus AECf) treatment protocols. Inhibition of indirect hemolysis caused by phospholipase A2 (PLA2) was investigated in vitro. Interaction between AECf and BaV was investigated by SDS-PAGE electrophoresis, Western blot (Wb) and zymography. Results: The phytochemical profile of AECf revealed ten secondary metabolite classes, and colorimetry showed high total phenolic and total (condensed and hydrolyzable) tannin content. AECf exhibited high antioxidant and antimicrobial potentials. The IC50 for the cytotoxic effect was 51.91 (46.86–57.50) mg/mL. Inhibition of BaV-induced hemorrhagic activity was significant in all the protocols, and inhibition of PLA2 activity was significant with the two highest concentrations. The BaV/AECf mixture produced the same bands as BaV by itself in SDS-PAGE and Wb although the bands were much fainter. Zymography confirmed the proteolytic activity of BaV, but when the venom was pre-incubated with AECf this activity was blocked. Conclusion: AECf was effective in reducing BaV-induced hemorrhagic activity when administered by the same route as that used in folk medicine and exhibited antioxidant and antimicrobial potentials
Fonte de publicação	Journal of Ethnopharmacology – Science Direct
Ano	2016
Tipo de estudo	Estudo Primário – Estudo Experimental
Contexto	A pesquisa descrita neste artigo relata uma avaliação antihemorrágica, antioxidante e antibacteriana de extratos de <i>Connarus favosus</i> como alternativa de tratamento para pacientes picados por cobra <i>Bothrops atrox</i> na Região Amazônica
Cenário no contexto amazônico	Snake envenomation has been considered a tropical neglected disease and a serious public health problem by the World Health Organization. People living in the North of Brazil were involved in the highest number of accidents in the period 2001–2012. The majority of victims were between 20 and 39 years old, and mortality was found to increase with age. There are many venomous snakes in the Amazon region, where most accidents are attributed to the species <i>Bothrops atrox</i> , which is popularly known as jararaca do norte, jararaca do rabo branco, surucucurana and jipoboia. The venom of <i>Bothrops</i> spp. contains a mixture of proteins that can have enzymatic activity, such as phospholipase A2 and metalloproteinases, as well as other organic compounds that induce severe local tissue damage characterized by edema, blisters, bleeding and necrosis of skeletal muscle. Studies have shown that a variety of plants are used in folk medicine to treat snakebites in the belief that their anti-snakebite properties enable them to be used as a supplement to serum therapy or as an alternative medicine when antivenom is not available. Many of these plants have been correctly identified taxonomically, but their effects when used in folk medicine have never been scientifically proven because the populations that use them only mention them by their common names, which may vary between different geographic regions, making development in this field of study slow and difficult. Some of the plants used in folk medicine belong to the genus <i>Connarus</i> sp., whose members are popularly known for their antisnakebite properties, including anti-inflammatory, antipyretic, antibacterial, anti-edematogenic and anti-hemorrhagic activities. <i>Connarus favosus</i> Planch. (Connaraceae) is an endemic species found in the North, Northeast and Midwest of Brazil. In the North it is found in the states of Amazonas and Pará. In folk medicine, the inner bark of <i>C. favosus</i> is commonly used in the form of a tincture or decoction to treat venomous snakebites.
Cenário com a utilização de fungos	Este artigo não trabalha com Fungos Amazônicos.
Paper 3	
Título	Standardization and anti-inflammatory activity of aqueous extract of <i>Psittacanthus plagiophyllus</i> Eichl. (Loranthaceae)
Abstract	Ethnopharmacological importance: The hemiparasitic species <i>Psittacanthus plagiophyllus</i> Eichl. (Loranthaceae), also known as erva de passarinho, is used in folk medicine in the Santarém region in the state of Pará, Brazil, to treat gastritis and a variety of inflammatory disorders. In view of the lack of pharmacological studies on this species in the literature and the fact that it is used constantly by the local population, this study sought to standardize the extract of the leaves of <i>P. plagiophyllus</i> (AEPp) and to assess its anti-inflammatory potential in in vivo tests. Material and methods: Quality control and standardization of AEPp were performed following the 5th edition of the Brazilian Pharmacopeia. To assess the in vivo anti-inflammatory activity of AEPp, the carrageenan-induced and dextran-induced rat paw edema models were initially used. To investigate the effect of AEPp on carrageenan-induced leukocyte recruitment and exudate production, the air pouch inflammation model was used. In addition, the antioxidant activity of AEPp was assessed in vitro by the DPPH radical scavenging method. Results: The chromatographic profile of AEPp indicated the presence of flavonoids, coumarins and hydrolyzable and condensed tannins. Measurement of phenolics revealed the following percentages in the extract: 12.62 ± 0.18% total phenolics, 5.39 ± 0.01% total tannins, 12.54 ± 0.24% hydrolyzable tannins, 8.37 ± 0.32% condensed tannins and 1.23 ± 0.02% total flavonoids. In 500 and 1000 mg/kg doses (p.o.) AEPp had significant edema-inhibiting activity (p < 0.01) in both the models used, suggesting that the extract may act in vascular and cell events in the inflammatory response and exert an inhibitory effect on mediators responsible for edema. In all the doses tested [250, 500 and 1000 mg/kg (p.o.)], AEPp inhibited total leukocyte and neutrophil migration and reduced the amount of exudate in the air pouch in a dose-dependent manner. Both effects were statistically significant (p < 0.01). The extract also reduced the DPPH radical (maximum reduction 93.13 ± 1.71% at a concentration of 75 µg/mL), indicating that it has antioxidant activity. AEPp, therefore, exhibited considerable in vivo anti-inflammatory activity and in vitro antioxidant activity. This may be due to its high phenolics content. Conclusion: These findings provide evidence to support the use of <i>P. plagiophyllus</i> in folk medicine to treat inflammatory disorders.
Fonte de publicação	Journal of Ethnopharmacology – Science Direct
Ano	2017

Tipo de estudo	Estudo Primário – Estudo Experimental
Contexto	Em esta pesquisa descrita neste artigo é relatado a padronização do processo de extração aquosa bem como resultados de testes para atividade antiinflamatória de erva de passarinho, popularmente utilizada por ribeirinhos, próximos a Santarém-PA, para tratamento de gastrite e distúrbios inflamatórios.
Cenário no contexto amazônico	Among the Loranthaceae in Brazil, the genus <i>Psittacanthus</i> Mart. is the second most commonly found and includes species that hold promising potential for use in pharmacology. In various ethnobotanical surveys carried out to date, medicinal properties were cited for the species of this family, some scientifically proven, such as glucose-lowering, vasodilatory, cytotoxic and antitumor, antioxidant, antidiabetic and antibacterial effects. <i>P. plagiophyllus</i> is native to Brazil, although it is not endemic, and is found in the North and Northeast of the country. In the savannah in the Alter do Chão district in Santarém, PA, Brazil, the only host plant of <i>P. plagiophyllus</i> is the cashew tree <i>Anacardium occidentale</i> (Anacardiaceae). <i>P. plagiophyllus</i> leaves are used in folk medicine in this region as decoctions and infusions to treat inflammation and stomach problems, such as gastritis and stomach ulcers. In light of this use, preliminary studies were carried out with extracts of leaves of this species. The findings of these studies indicate that the extracts have gastroprotective and edema-inhibiting potential without inducing acute toxicity in rats. One of the major challenges associated with the study of medicinal plants is the difficulty involved in standardizing and controlling the quality of herbal drugs, which, like any other type of medicine, should meet certain basic quality requirements to ensure they are effective and safe to use. The rule as far as plant extracts are concerned has been to use standardized extracts, which consist of high quality herbal preparations with relatively constant levels of reference compounds, and apply rigorous quality control throughout the production process, from cultivation of the crop to production of the end product. The advantage of standardization is that it not only ensures the quality, efficacy and reliability of the phytomedicine because of the more uniform, stable active ingredients, but also increases the yield during the extraction process. In light of the anti-inflammatory potential of <i>P. plagiophyllus</i> and the importance of identifying herbal anti-inflammatory drugs, as well as the importance of standardization and quality control in studies of medicinal plants, this study sought to produce a standardized extract of <i>P. plagiophyllus</i> leaves and elucidate, at least partly, the mechanisms involved in its anti-inflammatory action.
Cenário com a utilização de fungos	Este artigo não trabalha com Fungos Amazônicos.
Paper 4	
Título	The potential of aqueous extracts of <i>Bellucia dichotoma</i> Cogn. (Melastomataceae) to inhibit the biological activities of <i>Bothrops atrox</i> venom: A comparison of specimens collected in the states of Pará and Amazonas, Brazil.
Abstract	Ethnopharmacological importance: The effectiveness of aqueous extract of <i>Bellucia dichotoma</i> Cogn. (Melastomataceae) specimens collected in Santarém, PA, against some biological activities of <i>Bothrops atrox</i> venom (BaV) has been scientifically proven. Here, we analyzed the components and assessed the anti-snakebite potential of aqueous extracts of bark of <i>B. dichotoma</i> collected in Manaus, AM, (AEBd-MAO) and Santarém, PA, (AEBd-STM), both in Brazil. Materials and methods: The phytochemical profiles of the aqueous extracts were identified using thin layer chromatography (TLC), and the concentrations of phenolics were determined by colorimetric assay. The inhibitory potential of the extracts was tested against the phospholipase A2, coagulant and gelatinolytic activities of BaV in vitro and its defibrinating and edema-inducing activities in vivo. Interaction between BaV and the extracts was investigated using SDS-Page electrophoresis and Western blotting. Extract cytotoxicity and antioxidant potential were assessed using the human fibroblast cell line MRC-5 and the DPPH assay in cell culture, respectively. Results: While there was no difference between the phytochemical profiles of the extracts, AEBd-MAO had higher concentrations of total phenolics, total tannins and hydrolysable tannins. The extracts inhibited 100% of the phospholipase and coagulant activity of BaV when pre-incubated. Without pre-incubation, however, there was no reduction in phospholipase activity, although significant inhibition of coagulant activity was observed. In the doses used in folk medicine, without pre-incubation, both extracts inhibited 100% of the coagulant activity of BaV. In vivo, the extracts were unable to inhibit the defibrinating activity of the venom but were effective in inhibiting its edema-inducing activity. In the profiles of the extracts pre-incubated with BaV, not all the protein bands revealed by SDS-PAGE and Western blot were observed. Both extracts had a high antioxidant potential and neither had a cytotoxic effect. Conclusion: Although the concentrations of phenolics in each extract were different, the anti-snakebite potential was similar for the concentrations of extract tested. Our findings are of importance for the quality control of this raw material, which, once tested in accordance with Brazilian National Health Surveillance Agency recommendations, may be suitable for use as a phytomedicine to complement treatment of the local effects induced by <i>Bothrops</i> venoms.
Fonte de publicação	Journal of Ethnopharmacology – Science Direct
Ano	2017
Tipo de estudo	Estudo primário – Estudo experimental
Contexto	O estudo descreve alguns experimentos realizados com a utilização de extrato aquoso de <i>Bellucia dichotoma</i> , utilizada pela medicina tradicional dos povos da Amazônia no tratamento de picadas de cobra do gênero <i>Bothrops atrox</i> e outras atividades biológicas.
Cenário no contexto amazônico	<p><i>Bothrops atrox</i> snakebite produces severe local tissue damage, which includes symptoms such as pain, swelling, hemorrhage and necrosis, as well systemic effects. The proteins that make up <i>Bothrops</i> venoms belong to a limited number of protein families. The most abundant, which are commonly associated with the clinical symptoms of envenomation, are L-amino acid oxidase (LAO), C-type lectin-like (CLECL) proteins, metalloproteinases (SVMs), serinoproteases (SVSPs) and phospholipases (PLA2s).</p> <p>Despite the Brazilian Ministry of Health's strategy of distributing immunotherapeutic agents to State Departments of Health, in remote locations envenomation due to snakebite is frequently treated with plant preparations based on folk medicine, which are used either to complement serum therapy or as an alternative medicine administered when antivenoms are not available.</p> <p>Many of the plants used in these preparations are well known, but the majority have yet to be studied to identify their anti-snakebite properties and validate their traditional use as they are known only by their popular names. Recognizing plants by their popular names is problematic because these vary from region to region, making scientific studies even more difficult. Other important factors that should be taken into consideration are environmental factors such as the climate, type of soil and geographic</p>

	<p>location of the collection site. These can influence the biosynthesis of secondary metabolites and are therefore reflected in the ability of these plants to inhibit the effects of venoms, highlighting the need for studies to compare the effects of a particular plant species collected in different locations.</p> <p><i>Bellucia dichotoma</i> Cogn. (Melastomataceae) is a native plant to the Amazon region and is found in four states in the north of Brazil: Acre, Amazonas, Amapá and Pará. An ethnopharmacological survey in communities in Western Pará found that its bark is used to treat snakebite victims.</p>
Cenário com a utilização de fungos	Este estudo não utiliza fungos
Paper 5	
Título	Assessment of the anti-snakebite properties of extracts of <i>Aniba fragrans</i> Ducke (Lauraceae) used in folk medicine as complementary treatment in cases of envenomation by <i>Bothrops atrox</i>
Abstract	<p>Ethnopharmacological relevance: Extracts of leaves and bark of <i>Aniba fragrans</i> are used as tea (decoction) to treat snakebites in communities in the Brazilian Amazon. The aqueous extract of the leaves of <i>A. fragrans</i> has been proven to be effective against <i>Bothrops</i> venom, but only when pre-incubated with the venom. This study sought to assess the potential of different types of extract of this species to inhibit the biological activities of <i>Bothrops atrox</i> venom (BaV) when used the same way as in folk medicine. The main classes of secondary metabolites and the concentrations of phenolics in the extracts were also determined. Materials and methods: Four types of extract of <i>A. fragrans</i> were prepared: aqueous extract of the leaf (AEL), aqueous extract of the bark (AEB), hydroalcoholic leaf extract (HLE) and extract of the residue from hydrodistillation of the leaf (ERHL). The phytochemical profiles of the aqueous extracts were determined using thin layer chromatography (TLC), and the concentrations of phenolics were measured by colorimetric assays. To investigate the potential of the extracts to inhibit the biological activities of BaV, <i>in vitro</i> tests for antiphospholipase and antifibrinolytic activities were performed. <i>In vivo</i> tests for antihemorrhagic and antifibrinolytic activities were also carried out, as well as antimicrobial tests for activity against the main bacteria found in the oral cavity of snakes. Interaction between the extracts and the proteins in BaV was assessed by electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot (WB). The cytotoxicity of the extracts was assessed in a strain of MRC-5 human fibroblasts. Results: Terpenoids, flavonoids and condensed and hydrolysable tannins were detected in all the extracts. Metabolites such as coumarins, fatty acids and alkaloids were present in some extracts but not in others, indicating different phytochemical profiles. Phenolics content varied between extracts, and there were more tannins in AEB and HLE. In the <i>in vitro</i> tests, the extracts inhibited the phospholipase and fibrinolytic activities of BaV in the two ratios of venom to extract used. HLE exhibited effective antimicrobial action as it inhibited growth of 11 of the 15 bacteria investigated, including <i>Morganella morganii</i>, the main bacteria described in the oral cavity of snakes. The extracts failed to inhibit the defibrinolytic activity of BaV, and only the <i>Bothrops</i> antivenom had a significant effect (96.1%) on this activity. BaV-induced hemorrhage was completely inhibited by AEL and AEB when the pre-incubation (venom:extract) protocol was used. When administered orally, as in folk medicine, both AEB and AEL produced significant inhibition of hemorrhagic activity (maximum inhibition 46.5% and 39.2%, respectively). SDS-PAGE and WB of the extracts pre-incubated with BaV showed that the main proteins in the venom had been precipitated by the extracts. None of the four extracts showed cytotoxic effects in the tests carried out with a human fibroblast cell line. Conclusion: In addition to being effective in reducing hemorrhage when administered orally, the extracts displayed a high antimicrobial potential against microorganisms involved in secondary infections at the site of the snakebite. Once the extracts have been tested in accordance with the appropriate regulations, this species could potentially be used to produce a phytomedicine for complementary treatment of the secondary infections due to bacteria that aggravate the local signs and symptoms after snakebite envenomation.</p>
Fonte de publicação	Journal of Ethnopharmacology – Science Direct
Ano	2018
Tipo de estudo	Estudo primário – Estudo experimental
Contexto	Este estudo descreve alguns experimentos realizados com os extratos de espécies de <i>Aniba fragrans</i> Ducke, popularmente utilizada na medicina tradicional dos povos da Amazônia para tratar picada de cobras da espécie <i>Bothrops atrox</i> , a fim de determinar a atividade anti envenenamento e outras propriedades biológicas.
Cenário no contexto amazônico	Snakebite envenomation is a serious worldwide public health issue and one of the twenty neglected tropical diseases considered a priority by the World Health Organization. A total of 27,181 cases of snakebite envenomation were reported in Brazil in 2013. The highest incidence of cases was observed in the Brazilian Amazon (52.6 cases/ 100,000 inhabitants). Victims of <i>B. atrox</i> envenomation can present with local clinical manifestations (pain, swelling and ecchymosis, sometimes accompanied by blisters and bleeding at the site of the bite) and systemic manifestations, including spontaneous bleeding and abnormal blood coagulation. <i>Bothrops</i> antivenom (BA), which is produced in Brazil, is prepared by immunizing equines with a pool of venoms from <i>Bothrops jararaca</i> , <i>B. jararacassu</i> , <i>B. moojeni</i> , <i>B. alternatus</i> and <i>B. neuwiedi</i> . BA is quite effective in reversing the systemic effects of the venom but not its local effects. Furthermore, most accidents occur in regions where the antivenom is not available, leading to complications due to local and systemic effects. Because of this, victims of snakebite envenomation in remote regions, particularly the Amazon, use regional medicinal plants in combination with serum therapy or as an alternative medicine when the recommended treatment (antivenom) is not available. However, rigorous studies that provide a basis for folk medicine treatments in envenomation are extremely scarce. Many plant species are used in folk medicine in the Amazon region to treat snakebite envenomation. An example is <i>Aniba fragrans</i> Ducke (Lauraceae), which belongs to a family of aromatic plants of great commercial value. The bark, leaves and inner bark of <i>A. fragrans</i> are used in the Amazon to prepare tea (decoction and infusion), tincture and poultices to treat victims of snakebite envenomation, particularly envenomation by <i>B. atrox</i> . Previous studies have demonstrated the potential of aqueous extract of <i>A. fragrans</i> to inhibit hemorrhage and edema formation induced by <i>B. atrox</i> and <i>B. jararaca</i> venom
Cenário com a utilização de fungos	Este estudo não utiliza fungos.
Paper 6	
Título	Production of thermostable B-glucosidase and CMCase by <i>Penicillium</i> sp. LM101 isolated from de Amazon region.
Abstract	Background: Cellulolytic enzymes of microbial origin have great industrial importance because of their wide application in

	<p>various industrial sectors. Fungi are considered the most efficient producers of these enzymes. Bioprospecting survey to identify fungal sources of biomass-hydrolyzing enzymes from a high-diversity environment is an important approach to discover interesting strains for bioprocess uses. In this study, we evaluated the production of endoglucanase (CMCase) and β-glucosidase, enzymes from the lignocellulolytic complex, produced by a native fungus. <i>Penicillium</i> sp. LMI01 was isolated from decaying plant material in the Amazon region, and its performance was compared with that of the standard isolate <i>Trichoderma reesei</i> QM9414 under submerged fermentation conditions. Results: The effectiveness of LMI01 was similar to that of QM9414 in volumetric enzyme activity (U/mL); however, the specific enzyme activity (U/mg) of the former was higher, corresponding to 24.170 U/mg of CMCase and 1.345 U/mg of β-glucosidase. The enzymes produced by LMI01 had the following physicochemical properties: CMCase activity was optimal at pH 4.2 and the β-glucosidase activity was optimal at pH 6.0. Both CMCase and β-glucosidase had an optimum temperature at 60°C and were thermostable between 50 and 60°C. The electrophoretic profile of the proteins secreted by LMI01 indicated that this isolate produced at least two enzymes with CMCase activity, with approximate molecular masses of 50 and 35 kDa, and β-glucosidases with molecular masses between 70 and 100 kDa. Conclusions: The effectiveness and characteristics of these enzymes indicate that LMI01 can be an alternative for the hydrolysis of lignocellulosic materials and should be tested in commercial formulations.</p>
Fonte de publicação	Eletronic Journal of Biotechnology – Science Direct
Ano	2018
Tipo de estudo	Estudo primário – Estudo experimental.
Contexto	Este estudo descreve um experimento realizado com fungos da espécie <i>Penicillium sp.</i> , para produção de Enzimas celulolíticas com aplicações econômicas, dentro dos mais diversos setores industriais.
Cenário no contexto amazônico	<p>Cellulases are enzymes capable of acting on cellulosic materials, promoting hydrolysis. Various microorganisms, including fungi and bacteria, produce a complex of cellulolytic enzymes. Fungi are considered the most efficient producers of these enzymes. They naturally produce cellulases and other accessory proteins, including oxidoreductases, which are required for the complete saccharification of lignocellulose.</p> <p>However, other species (particularly filamentous fungi) have been reported as alternative enzyme sources. Among these fungi are the genera <i>Aspergillus</i>, <i>Penicillium</i>, and <i>Trichoderma</i>. Various <i>Penicillium</i> spp. isolates have been investigated for their efficiency of cellulase production, similar or superior to that of standard lineages <i>Penicillium citrinum</i> is abundantly found in the soil, being more common in tropical regions. It has been isolated from the roots, stems, and leaves of coffee plants, cereals, and tropical spices.</p>
Cenário com a utilização de fungos	<p>Cellulolytic enzymes in general have been studied since the second world war, when American soldiers were stationed in the South Pacific realized the deterioration of their objects' cotton base, and later, as a result of various studies led by Dr. Reesei, a yeast strain identified as <i>Trichoderma viride</i> was isolated and was determined be the responsible agent for degrading cellulose materials.</p> <p>Cellulases are enzyme complexes that are classified according to the site of hydrolysis of the cellulose fiber. For example, endoglucanase hydrolyzes cellulose in amorphous regions (i.e., accessible regions in the cellulosic fiber); exoglucanase hydrolyzes the reducing end of the fibers; and β-glucosidase completes the cellulose hydrolysis and releases glucose from cellobiose, cellodextrins, and other oligosaccharides. Various microorganisms, including fungi and bacteria, produce a complex of cellulolytic enzymes. Fungi are considered the most efficient producers of these enzymes.</p> <p>The main industrial sectors using cellulases are the textile, industrial food, detergent, cellulose pulp and paper, agriculture, livestock, and bioconversion sectors. In these industrial processes, enzymes can be exposed to extreme pH and temperature conditions. Acid cellulose is more adequate to degrade feedstock cellulose in the bioconversion industry, where biomass undergoes acid pre-treatment. The ability to work in an acidic pH environment is also a requirement for enzymes used in the textile industry in the finishing step where they act on cellulolytic fibers. Moreover, alkaline and halophilic enzymes are mainly used in detergents. The widespread use of cellulolytic enzymes and the increased need to replace fossil fuels probably will make cellulases very valuable enzymes. It is true if ethanol, butanol, or any other product derived from fermentation becomes a mainstream fuel.</p> <p>Enzyme hydrolysis is an essential component in the process of obtaining ethanol from biomass, and its viability is associated with high conversion efficiency at low production costs. High specificity, low inhibition by its hydrolysis products, and high stability are some of the desirable characteristics for an enzyme to be considered commercially viable. The interests and prospecting for cellulolytic enzymes has been growing steadily. This is true for industrial saccharification processes for ethanol production. The optimization of polysaccharide biomass conversion into fermentable sugars involves the use of enzyme cocktails that allow greater profitability. Within this scenario, the species of filamentous fungus genus <i>Penicillium</i> stand out as great producers of cellulases and are targeted for their enzymes, which are part of the efficient enzyme blends.</p>
Paper 7	
Título	Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production
Abstract	<p>The aim of this study was to isolate fungi able to produce pigments. Fifty strains were isolated from the Amazon soil by the conventional technique of serial dilution. Submerged fermentation was performed in Czapeck broth in order to select strains able to synthesise pigments. Five strains were able to produce pigments and were identified by sequencing the rDNA (ITS regions). These fungi were identified as <i>Penicillium sclerotiorum</i> 2AV2, <i>Penicillium sclerotiorum</i> 2AV6, <i>Aspergillus calidoustus</i> 4BV13, <i>Penicillium citrinum</i> 2AV18 and <i>Penicillium purpurogenum</i> 2BV41. <i>P. sclerotiorum</i> 2AV2 produced intensely coloured pigments and were therefore selected for chemical characterisation. NMR identified the pigment as sclerotiorin. In this work, the influence of nutrients on sclerotiorin yield was also studied and it was verified that rhamnose and peptone increased production when used separately. These results indicate that Amazonian fungi bioprospecting is a viable means to search for new sources of natural dyes.</p>
Fonte de publicação	Process Biochemistry – Science Direct
Ano	2014
Tipo de estudo	Estudo primário – Estudo experimental
Contexto	Este estudo descreve um processo de bioprospecção de fungos de solos amazônicos produtores de pigmentos.
Cenário no contexto	Fungi are present in almost every environment on earth, with the greatest diversity found in tropical regions that have a hot

amazônico	and humid climate, which favours fungal multiplication. Among the tropical biomes, the Amazon rainforest contains the richest biodiversity, with a large number of plants, animals and microorganisms that are not well known. The soil of this forest, contrary to what one might imagine, is poor in nutrients, and the maintenance of this rich forest is ensured the innumerable microbial diversity present in the soil, allowing the forest's animals and plant components to feed by recycling organic matter. Soil fungi are metabolically very active and are able to produce many substances of economic value, including enzymes of industrial interest [6], metabolites with pharmacological activity and pigments. They're collected from the surface (1–3 cm depth) of the forest located at the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brazil (Latitude-South 03° 09' 39'' and Longitude West 59° 98' 77'').
Cenário com a utilização de fungos	Soil fungi have been widely isolated from nature for their ability to produce pharmacologically active molecules. These microorganisms have also been noted to produce natural pigments that could be used in the dye industry, given the variety and intensity of colours produced by different strains of environmental fungi and the great value to natural colourants. Dyes derived from natural sources have been increasingly used by pharmaceutical, textile and food industries due to the dyes lower toxicities to the environment and to man when compared to synthetic dyes. The majority of the pigments produced by fungi are quinones, flavonoids, melanins and azaphilones, which belong to the aromatic polyketide chemical group and have been widely described for medicinal uses and potential use as dyes. Despite the Amazon rainforest being a home to a great diversity of microorganisms, there are few published studies that explore the ability of these fungi to produce pigments.
Paper 8	
Título	Cultivable cellulolytic fungi isolated from the gut of Amazonian aquatic insects
Abstract	Filamentous fungi have been targeted by bioprospecting studies because they are effective producers of extracellular enzymes that can potentially be used by the bioindustry. In this study, we isolated filamentous fungi from the guts of Amazonian aquatic insect larvae to evaluate their cellulolytic activity. We collected 69 larvae of shredder insects of three genera: Phylloicus (Trichoptera: Calamoceratidae), Triplectides (Trichoptera: Leptoceridae) and Stenochironomus (Diptera: Chironomidae) in ten streams from a protected area in the central Brazilian Amazon. Production of mycelia was elaborated in PDA (Potato Dextrose Agar) medium. The isolates were transferred to a synthetic medium with carboxymethyl cellulose, and Congo red was used to determine the enzymatic index. The hydrolysis halo, indicating the production of cellulases, was observed in 175 fungal isolates (70% of the total), of which 25 had an enzymatic index ≥ 2.0 and belonged to seven fungal genera. The fungal taxa Cladosporium, Gliosphaera, Penicillium, Pestalotiopsis, Talaromyces, Trichoderma and Umbelopsis were isolated from guts of Phylloicus, Triplectides and Stenochironomus, which are traditionally used in biotechnological applications. Our results indicate the cellulolytic potential of fungi associated with the guts of aquatic Amazonian insects.
Fonte de publicação	Acta Amazônica
Ano	2020
Tipo de estudo	Estudo primário – Estudo experimental
Contexto	Este estudo descreve a análise de atividade celulolítica de enzimas extracelulares produzidas por espécies de fungos extraídos do intestino de insetos aquáticos da Amazônia.
Cenário no contexto amazônico	In the Amazon region, where insect diversity is one of the highest in the world, knowledge on fungus-insect systems and cellulase-producing fungi associated with aquatic insects is still incipient study of the gut mycobiota of aquatic insects can lead to the discovery of metabolic processes and interactions with potential biotechnological applications.
Cenário com a utilização de fungos	Cellulases produced by fungi are widely used in industry, and the demand for efficient microorganisms has increased over time. Cellulases are currently employed in the production of food, animal feed, second generation ethanol, fruit and vegetable juices, paper, wine and textiles as well as in pulp extraction, starch processing, breweries, laundry and agriculture. Fungal enzymes are particularly advantageous when compared to animal or plant equivalents, as their production is less costly since the enzymes are secreted as complexes that work in synergy. Moreover, fungal enzymes have different physicochemical characteristics (e.g., thermostable enzymes of thermophilic organisms), and they are easier to produce on a large scale. In general, microorganisms participate in the digestive processes of insects that have diets with nutritional deficiency, such as insects that feed on phloem or on complex molecules like cellulose. Their capacity to degrade cellulose, in particular, is high and widely distributed among different taxa. In freshwater environments, an elaborate symbiosis occurs in aquatic shredder insects. These insects feed on allochthonous organic matter (decaying wood and leaves) only after it has been conditioned, i.e., colonized by microorganisms, which convert this tissue into a more palatable food through extracellular enzymes. This study was to investigate the cellulase activity of filamentous fungi isolated from the gut of aquatic shredder insects, expecting to identify new cellulolytic enzymes in poorly studied species of Amazonian insects.

Fonte: Autores.

4. Conclusão

Como pôde-se observar, aparentemente, a bioprospecção é mais facilmente aplicável do que discutível, uma vez que os estudos descrevem etapas do processo sem utilizar ou referenciar a este termo (bioprospecção), por meio de revisão da literatura, por exemplo. Tratando-se de um dos berços da biodiversidade no planeta, a Região Amazônica deveria ter destaque em trabalhos de bioprospecto, entretanto ao executar as strings de busca poucos resultados se encaixam nos filtros de seleção deste protocolo, como já justificadas em momentos anteriores deste texto. Em relação à bioprospecção de fungos amazônicos, foco deste estudo, demonstra ser ainda mais dificultosa e complexa de ser executada devido as várias etapas necessárias pra condução do estudo, como coleta, triagem, cultivo, extração e caracterização do extrato, bem como, ao aplicar o protocolo de

busca, novamente, poucos trabalhos foram identificados sobre essa temática. Tratando-se da bioprospecção observa-se um cenário desafiador e uma percepção de que questões que envolvem o tema “sustentabilidade” são pouco difundidas entre as interdisciplinaridades das áreas que compõem as Ciências Ambientais. Espera-se que, no futuro, com a difusão maior deste tema dentro das interdisciplinaridades mais produções científicas possam ser publicadas para enriquecimento da literatura.

Referências

- Baldin N., & Munhoz E. M. B. (2011). Snowball (Bola de neve): Uma técnica metodológica para pesquisa em educação ambiental comunitária. Congresso Nacional de Educação. 331-341.
- Balmford, A. *et al* (2002). Economic Reasons for Conserving Wild Nature. *Science*. 297, 950-953.
- Bezerra A. N. S. *et al* (2017) Standardization and anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Psittacanthus plagiophyllu Eichl* (Loranthaceae). *Journal of Ethnopharmacology, Science Direct*. 234-240.
- Celestino J. R. *et al* (2014). Bioprospecting of Amazon soil fungi with the potential for pigment production. *Process Biochemistry, Science Direct*. 569-575.
- Constanza R. *et al*. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387, 253-260.
- Derneval D., Coelho J. A. P. M., *et al* (2017) Mapeamento Sistemático e Revisão Sistemática da Literatura em Informática na Educação. Cap 3. UFAL
- Fang-Zhou L. *et al*. (2020) Bioprospecção de um novo endófito *Bacillus velezensis* FZ06 das folhas de *Camellia assamica*: Produção de três grupos de lipopeptídeos e a inibição de microrganismos que deterioram alimentos. *Journal of Biotechnology, Elsevier*. [42-53].
- Montefusco E. L. B. *et al*. (2020) Cultivable cellulolytic fungi isolated from the gut of Amazonian aquatic insects. *Acta Amazônica*. 346-35.
- Moura V. M. *et al*. (2015) Plants used to treat snakebites in Santarém, western Pará, Brazil: An assessment of their effectiveness in inhibiting hemorrhagic activity induces by *Bothrops jararaca* venom. *Journal of Ethnopharmacology, Science Direct*. 224-232
- Moura V. M. *et al* (2017) The potential of aqueous extracts of *Bellucia dichotoma* Cogn (Melastomataceae) to inhibit the biological activities of *Bothrops atrox* venom: A comparison of specimens collected in the states of Pará and Amazonas, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology, Science Direct* 168-177
- Moura V. M. *et al*. (2018) Assessment of the anti-snakebite properties of extracts of *Aniba fragans* Ducke (Lauraceae) used in folk medicine as complementary treatment in cases of envenomation by *Bothrops atrox*. *Journal of Ethnopharmacology, Science Direct*. 350-358
- Posada L. F. *et al* (2016) Bioprospecção de bactérias aeróbias formadoras de endosporos com potencial biotecnológico para promoção do crescimento de bananeiras. *Scientia Horticulturae, Science Direct*. 81-90.
- Priyanka A., & Pandey A. (2020) Bioprospecção de bactérias que promovem o crescimento de plantas endofíticas isoladas do Himalaia (*Taxus wallichiana* Zucc.). Instituto Nacional do Meio Ambiente do Himalaia. *Microbiological Research, Science Direct*. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126536>
- Rosa P. S. S. *et al*. (2018) Production of thermostable B-glucosidase and CMCase by *Penicillium sp* LM101 isolated from the Amazon region. *Electronic Journal of Biotechnology, Science Direct*. 84-92
- Saccaro Júnior, Nilo L. (2011) A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada: Brasília. *SciELO*. 229-224.
- Santos C. M. C. *et al*. (2007) A estratégia PICo para a construção da pergunta de pesquisa e busca de evidências. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*. Vol 15. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>
- Silva T. P. *et al*. (2016) *Connarus favosus* planch: An inhibitor of the hemorrhagic activity of *Bothrops atrox* venom and potential antioxidant and antibacterial agent. *Journal of Ethnopharmacology, Science Direct*. 166-175
- Stol K. J., Raplh P. *et al*. (2017) Grounded Theory in Software Engineering Research: A critical review and guidelines. *ResearchGate*. <http://dx.doi.org/10.1145/2884781.2884833> 120-131.
- Valois A. C. C. (2003) Benefícios e Estratégias de utilização Sustentável da Amazônia. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)*. (21a ed.),
- Zamberlan J. F. *et al*. (2014) Produção e manejo agrícola: impactos e desafios para sustentabilidade ambiental. *Eng. Sanit Ambient*. Edição especial. 95-100.