

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA EM HORTALIÇAS CULTIVADAS EM DIFERENTES
SISTEMAS DE PRODUÇÃO**

JULIANA SANTIAGO SANTOS

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA EM HORTALIÇAS CULTIVADAS EM DIFERENTES
SISTEMAS DE PRODUÇÃO**

JULIANA SANTIAGO SANTOS

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador:
Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém.

616.96
S237a

Santos, Juliana Santiago.

Análise parasitológica em hortaliças cultivadas em diferentes sistemas de produção / Juliana Santiago Santos. – Presidente Prudente, 2016.
37 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2016.

Bibliografia.

Orientador: Vamilton Alvares Santarém.

1. Verduras. 2. Enteroparasitos. 3. Sistemas de cultivo. 4. Zoonoses I. Título.

JULIANA SANTIAGO SANTOS

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA EM HORTALIÇAS CULTIVADAS EM DIFERENTES
SISTEMAS DE PRODUÇÃO**

Dissertação apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 19 de maio de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Rogério Giuffrida
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Willian Marinho Dourado Coelho
Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina – FCAA
Andradina-SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha avó Verginia Fernandes Santiago (*in memoriam*), pelo exemplo de honestidade, humildade, persistência e sabedoria. Guardo a lembrança de todos os seus ensinamentos e momentos que esteve presente em minha vida. À minha querida e amada avó, que durante a minha infância sempre me falava do seu sonho de se tornar professora, e que infelizmente não pôde realizá-lo, porém seria um grande orgulho e alegria ver seus filhos e netos seguirem o caminho da docência. E hoje, já como docente, é com imensa satisfação que me tornarei mestre, realizando o seu sonho que se tornou também o meu.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela proteção e por conduzir os meus passos, dando-me força, paciência, sabedoria e condições de chegar até aqui, podendo concretizar o sonho de me tornar mestre.

Aos meus pais Sérgio Arantes dos Santos e Magda Aparecida Santiago Santos, que sempre valorizaram e priorizaram os meus estudos, e nunca mediram esforços para a realização dos meus sonhos.

À minha família, meu irmão Fernando Santiago Santos e meus avôs e avós paternos e maternos, pessoas especiais, que sempre demonstraram compreensão, me proporcionando ensinamentos e fortalecimento pessoal.

Ao meu namorado Vinícius David Zamberlan e aos seus pais João Batista Zamberlan e Maria Georgina Mungo Ribeiro Zamberlan, que estiveram presentes em todos os momentos, me incentivando com seu apoio, amizade e amor. Agradeço por acreditarem em mim, mesmo com os obstáculos e dificuldades surgidas, confiaram no meu sucesso.

Ao professor Dr. Vamilton Alvares Santarém, pela oportunidade que me ofereceu de ser sua orientanda, me conduzindo e incentivando em todo o percurso. Pela dedicação, sabedoria, paciência e compreensão, contribuindo com o meu aprimoramento profissional na pesquisa e docência. Professor, meus sinceros agradecimentos e minha admiração.

Aos professores do Mestrado em Ciência Animal, agradeço o incentivo e aprendizado proporcionado. Em especial ao professor Dr. Rogério Giuffrida, por suas contribuições neste trabalho e ensinamentos em estatística. À professora Dra. Rosa Maria Barilli Nogueira, pelas propostas e sugestões para este trabalho na banca de qualificação.

Às minhas amigas de mestrado Cristina Atsumi Kuba e Francislaine Anelize Garcia Santos, que vivenciaram o mestrado comigo, sempre me incentivando com palavras poderosas de otimismo e esperança, que me fortaleceram durante esses últimos anos. Agradeço infinitamente pelo apoio, companheirismo e amizade.

A todos aqueles que colaboraram para a realização deste trabalho, a mestrandas Aline da Silveira Batista e graduandos Stênio Clemente Paião Sitolino e Ana Caroliny Carrion Pereira, por toda ajuda na parte experimental. Vocês foram fundamentais para que o trabalho fosse concretizado.

Aos queridos funcionários do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva II, da Universidade do Oeste Paulista, em especial à Sidenir Aparecida Braz Cortez e Ana Siqueira Silveira Wehbe, que estiveram sempre dispostas a ajudar e orientar, demonstrando apoio e profissionalismo.

À Universidade do Oeste Paulista, pela oportunidade do Mestrado, bem como toda a sua equipe de profissionais competentes e dedicados, que tornam esta universidade de excelência. Pelo incentivo financeiro ao trabalho e pela oportunidade de iniciar na carreira de docência.

À Cooperativa de Agricultura Familiar (COAF) “Melhor da Roça”, que através do Sr. Carlos Alberto Sitolino, forneceram as hortaliças necessárias para a realização do trabalho.

A todos os meus sinceros agradecimentos!

“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem”.

(João Guimarães Rosa)

RESUMO

Análise parasitológica em hortaliças cultivadas em diferentes sistemas de produção

O consumo de hortaliças tem sido incentivado, visto que dados científicos mostram a presença de características nutricionais associadas a benefícios para a saúde humana. No entanto, a qualidade microbiológica das hortaliças tem despertado interesse e preocupação de pesquisadores, uma vez que hortaliças são veículos de patógenos aos humanos, especialmente agentes parasitários de importância zoonótica. O presente estudo analisou a contaminação parasitológica em alfaces crespas (*Lactuca sativa*) cultivadas em diversos sistemas de produção (convencional, orgânico e hidropônico), fornecidas por uma cooperativa de produtores da agricultura familiar, situada no município de Presidente Prudente, São Paulo. As coletas foram repetidas em intervalos semanais, durante o período cinco meses, totalizando 180 amostras de hortaliças. As folhas das alfaces foram lavadas com Extran MA 02 a 0.5% e o fluido resultante submetido às técnicas de sedimentação e de centrífugo-flutuação, para recuperação das estruturas parasitárias. A contaminação por enteroparasitos foi observada em todos os sistemas de cultivo, embora, com a maior frequência, em hortaliças cultivadas no sistema hidropônico. Observou-se que do total de 180 amostras, 71 (39,4%) estavam contaminadas por pelo menos uma estrutura parasitária, sendo 34 (18,9%) das alfaces cultivadas no sistema hidropônico, 20 (11,1%) no orgânico e 17 (9,4%) no sistema convencional. Cistos de *Entamoeba* spp. foram as estruturas parasitárias mais frequentes nas hortaliças, com maior contagem de cistos naquelas produzidas no sistema hidropônico ($p=0,003$). Outras estruturas parasitárias foram observadas em menor frequência. Ovos/ larvas de trichostrongilídeos foram recuperados nos três sistemas, enquanto que ovos de *Strongyloides* spp. encontrados nos sistemas convencional e orgânico, e uma larva no sistema hidropônico. Considerando os resultados do presente estudo, verifica-se a importância do controle das condições higiênicas sanitárias de hortaliças, assim como a adequada higienização antes do consumo "in natura", independentemente do sistema de cultivo.

Palavras-chave: Enteroparasitos, Sistemas de cultivo, Verduras, Zoonoses.

ABSTRACT

Parasitological analysis in green-leafy vegetables cultivated in different production systems

The consumption of green-leafy vegetables has been incentivized given the scientific data showing the presence of nutritional characteristics associated with human health benefits. Notwithstanding the microbiological quality in green leafy vegetables has generated interest in preoccupation in researchers seeing that they transmit pathogens to humans, especially parasitological agents of zoonotic importance. The present study analyses the parasitological contamination in curly lettuce (*Lactuca sativa*) cultivated in different production systems (conventional, organic and hydroponic) supplied for a family garden co-operative, in Presidente Prudente, São Paulo. The harvests of collection were repeated at weekly intervals, during a period of five months, yielding 180 samples. The lettuce were washed with Extran MA 02 a 0.5% and the resulting fluid submitted to centrifuge-sedimentation and flotation techniques, in order to recover the parasites structures. Contamination enteroparasites was observed in all production systems, although more frequently in vegetables grown in hydroponic system. It was observed that 71 (39.4%) samples were contaminated with at least one parasitic structure: 34 (18.9%) of lettuce grown in the hydroponic, 20 (11.1%) in the organic and 17 (9.4%) in the conventional system. Cysts of *Entamoeba* spp. were the most common parasitic structures in vegetables, and the most cysts counted were those produced in the hydroponic system ($p = 0.003$). Other parasitic structures were observed less frequently. Eggs or Trichostrongyloid larvae were recovered in lettuce cultivated in the three systems. *Strongyloides* spp. eggs were found in conventional and organic systems, while a larva in a hydroponic system sample. Considering the results of this present study, the importance of controlling the hygienic and sanitary conditions in the green leafy vegetables can be verified, as well as the adequate sanitation before the raw consumption independently of the system of cultivation.

Keywords: Endoparasites, Cropping systems, Vegetables, Zoonoses.

LISTA DE SIGLAS

- % – Por cento
- mL – Mililitro
- °C – Graus Celsius
- rpm – Rotações por minuto
- g – Força centrífuga
- g/cm^3 – Gramas por centímetros cúbicos
- μL – Microlitro
- p – Nível de significância
- n – Número de amostras
- N – Número de amostras positivas

SUMÁRIO

1	ARTIGO CIENTÍFICO.....	11
	ANEXOS.....	22
	ANEXO 1 – MICROFOTOGRAFIA DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS RECUPERADAS EM ALFACES CRESPAS CULTIVADAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO. LARVAS TIPO TRICHOSTRONGILÍDEO (A.SETA: BAINHA DE CAUDA CURTA) E TIPO <i>OESOPHAGOSTOMUM</i> (B. SETA: BAINHA DE CAUDA LONGA). OVO DE <i>STRONGYLOIDES</i> SPP. (C. SETA: LARVA NO INTERIOR DE OVO COM MEMBRANA SIMPLES).....	23
	ANEXO 2 – TÉCNICAS UTILIZADAS PARA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM AMOSTRAS DE ALFACES CRESPAS, CULTIVADAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO.....	24
	ANEXO 3 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO REVISTA SEMINA: AGRÁRIAS.....	25

1 **1 ARTIGO CIENTÍFICO**

2
3 **ANÁLISE PARASITOLÓGICA EM HORTALIÇAS CULTIVADAS EM DIFERENTES**
4 **SISTEMAS DE PRODUÇÃO**
5 **PARASITOLOGICAL ANALYSIS IN GREEN-LEAFY VEGETABLES CULTIVATED IN**
6 **DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS**

7 Juliana Santiago Santos¹; Cristina Atsumi Kuba¹; Francislaine Anelize Garcia Santos¹; Aline da
8 Silveira Batista¹; Stênio Clemente Paião Sitolino²; Ana Carolyn Carrion Pereira³; Rogério Giuffrida⁴;
9 Vamilton Alvares Santarém⁴

10
11 ¹ Mestrandas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista,
12 SP.

13 ² Discente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade do Oeste Paulista, SP.

14 ³ Discente do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade do Oeste Paulista, SP.

15 ⁴ Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, SP.

16
17 **Resumo**

18 O presente estudo analisou a contaminação parasitológica em alfaces crespas (*Lactuca sativa*) cultivadas em
19 diversos sistemas de produção (convencional, orgânico e hidropônico), fornecidas por uma cooperativa de
20 produtores da agricultura familiar, no município de Presidente Prudente, São Paulo. As coletas foram
21 repetidas em intervalos semanais, durante cinco meses, totalizando 180 amostras de hortaliças. As folhas das
22 alfaces foram lavadas com Extran MA 02 a 0.5% e o fluído resultante submetido às técnicas de sedimentação
23 e de centrífugo-flutuação, para recuperação das estruturas parasitárias. Observou-se que das 180 amostras, 71
24 (39,4%) estavam contaminadas por pelo menos uma estrutura parasitária, sendo 34 (18,9%) das alfaces
25 cultivadas no sistema hidropônico, 20 (11,1%) no orgânico e 17 (9,4%) no sistema convencional. Cistos de
26 *Entamoeba* spp. foram as estruturas parasitárias mais frequentes nas hortaliças, com maior contagem de
27 cistos naquelas produzidas no sistema hidropônico (p=0,003). Conclui-se que independentemente do sistema
28 de cultivo (convencional, orgânico e hidropônico), existe a possibilidade de contaminação de alfaces por
29 enteroparasitos. Medidas que propiciem a melhoria na qualidade higiênico-sanitária na produção, assim
30 como a adequada higienização das verduras antes do consumo “in natura” podem ser importantes para a
31 redução da contaminação e conseqüente transmissão de doenças parasitárias pelo consumo “in natura” de
32 hortaliças.

33 **Palavras-Chave: Enteroparasitos, Sistemas de cultivo, Verduras, Zoonoses.**

34
35 * Normas da Revista Semina: Agrárias.

36 <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/about/submissions#authorGuidelines>

37
38 ** Autor para correspondência: Mestrado em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, Rodovia Raposo
39 Tavares Km 572, Bairro Limoeiro - Presidente Prudente, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. Tel/Fax: +55 18
40 3229 207. E-mail: vamilton@unoeste.br

Abstract

The present study analyzed the parasitological contamination in curly lettuce (*Lactuca sativa*) grown in different production systems (conventional, organic and hydroponic), provided by a family garden co-op in Presidente Prudente, São Paulo. The collections were repeated at weekly intervals during five months, totaling 180 samples of vegetables. The leaves of lettuce were washed with Extran MA 02 to 0.5% and the resulting fluid subjected to the sedimentation and centrifugal flotation techniques for recovery of parasitic structures. It was observed that 71 (39.4%) samples were contaminated with at least one parasitic structure: 34 (18.9%) of lettuce grown in the hydroponic system, 20 (11.1%) in the organic and 17 (9.4%) in the conventional system. Cysts of *Entamoeba* spp. were the most common parasitic structures in vegetables, and the most cysts counted were those produced in the hydroponic system ($p = 0.003$). It was concluded that regardless of the cultivation system (conventional, organic and hydroponics), there is a possibility of contamination of curly lettuce enteroparasites. Measures conducive to the improvement in sanitary conditions in the production of and the proper hygiene vegetables before consumption "in natura" may be important to reduce contamination and consequent transmission of parasitic diseases by consuming "in natura" vegetables.

Keywords: Endoparasites, Cropping systems, Vegetables, Zoonoses.

1. Introdução

O aumento no consumo de verduras tem sido incentivado nos últimos anos, uma vez que elas possuem papel fundamental na saúde e longevidade por apresentarem nutrientes de origem vegetal, como vitaminas, minerais, antioxidantes e fibras (SLAVIN; LLOYD, 2012; WANG et al., 2014), cujo consumo pode contribuir para a menor incidência de doenças cardiovasculares, câncer e mortalidade total (BRADBURY et al., 2014; WANG et al., 2014).

O cultivo de hortaliças pode ser realizado por meio dos sistemas convencional, orgânico ou hidropônico. O método convencional é caracterizado pelo cultivo de verduras no solo com o uso de fertilizantes e pesticidas químicos. No sistema orgânico, o cultivo em solo exclui o uso de pesticidas, agrotóxicos, fertilizantes sintéticos, reguladores de crescimento e outros produtos químicos. No sistema hidropônico, as hortaliças são cultivadas em tubos de plástico contendo solução dissolvida de nutrientes e fertilizantes químicos (GOMES NETO et al., 2012).

O consumo de alimentos "in natura" tem aumentado devido à busca por uma alimentação mais saudável pela população (GREGÓRIO et al., 2012). Entretanto, a qualidade das hortaliças em relação à sanidade microbiológica é um fator preocupante, pois a ingestão de verduras cruas pode ser um importante meio de transmissão de doenças parasitárias, inclusive com importância zoonótica (RAMOS et al., 2014). Nos Estados Unidos (PAINTER et al., 2013), um estudo conduzido para avaliar as doenças de origem alimentar e verificou que as enfermidades foram ocasionadas principalmente pelo consumo de hortaliças (22%), a segunda causa de hospitalizações (14%) e a quinta de óbito (6%).

1 A contaminação pode ocorrer em diversas etapas da cadeia produtiva, desde o cultivo, quando há a
2 utilização de adubo orgânico, água e/ou solo contaminados, até o momento do consumo doméstico
3 (GREGÓRIO et al., 2012). O uso de esterco animal aumenta o risco de contaminação microbiológica e
4 parasitária, tornando o alimento não adequado ao consumo “in natura” sem prévia higienização (SANTANA
5 et al., 2006; ARBOS et al., 2010). No sistema de cultivo hidropônico, a contaminação pode ser atribuída,
6 entre outros fatores, às condições higiênico-sanitárias da água, pois neste sistema as hortaliças recebem os
7 nutrientes previamente dissolvidos em água (SANTANA et al., 2006).

8 O conhecimento dos microrganismos patogênicos presentes nas alfaces, em diferentes sistemas de
9 produção, fornece dados importantes sobre as condições de higiene durante a produção, armazenamento,
10 transporte e manuseio, e conseqüentemente proporcionam informações que podem ser utilizadas para tomar
11 decisões sobre o controle das condições higiênico-sanitárias (GOMES NETO et al., 2012).

12 Apesar de o número de estudos que avaliaram a presença de enteroparasitos em hortaliças, são
13 escassas as pesquisas que comparam hortaliças cultivadas em diversos sistemas de produção, o que justifica
14 a proposta do presente estudo, que tem como objetivo analisar a contaminação parasitológica em alfaces
15 cresas (*Lactuca sativa*) cultivadas em diversos sistemas de produção (convencional, orgânico e
16 hidropônico).

17 18 **2. Material e Métodos**

19 20 **2.1 Coleta de Amostras**

21
22 Foram analisadas no período de agosto a dezembro de 2015, 180 amostras de alfaces cresas
23 (*Lactuca sativa*), fornecidas por uma cooperativa de produtores da agricultura familiar com 45 cooperados,
24 sendo 20 produtores de hortaliças (15 produtores do sistema convencional, dois produtores do sistema
25 orgânico e três produtores do sistema hidropônico). As coletas foram realizadas em intervalos semanais,
26 sendo selecionadas 9 a 18 amostras por coleta, em proporções iguais para sistemas convencional, orgânico e
27 hidropônico.

28 As amostras foram fornecidas no momento da distribuição, com identificação, transportadas em
29 caixas isotérmicas e encaminhadas para análises parasitológicas no Laboratório de Medicina Veterinária
30 Preventiva II da Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

31 32 **2.2 Análise Parasitológica**

33
34 Para a análise das hortaliças foi seguida a técnica descrita por Arbos et al. (2010), com algumas
35 modificações.

36 As folhas mortas de cada vegetal foram previamente removidas e descartadas. Foram coletadas cinco
37 folhas íntegras (parte interna e externa) de cada amostra, e colocadas em sacos plásticos identificados de
38 primeiro uso, e posteriormente 200 mL de solução detergente de Extran MA 02 a 0.5% foi acrescentado para

1 realização da lavagem. Após homogeneização do material, foi realizada uma abertura no saco plástico e o
2 material resultante da lavagem foi colocado em cálice de sedimentação, ao qual foi acrescentada uma
3 quantidade de água destilada suficiente para completar um volume final de 200 mL. O material permaneceu
4 em repouso por 12 a 24 horas, sob refrigeração (7^oC).

5 Após repouso do fluído, 10 mL do sedimento foram transferidos para tubos graduados de centrífuga.
6 Os tubos foram centrifugados a 2500 rpm (873 g) por cinco minutos. Após a centrifugação, os sedimentos
7 resultantes foram aspirados e depositados em duas lâminas de vidro para avaliação microscópica das
8 estruturas parasitárias (aumento 10x e 40x).

9 Os cistos de *Giardia duodenalis* foram pesquisados pela técnica de centrifugo-flutuação, descrita por
10 Faust et al., com pequenas modificações (HOFFMANN, 1987). De cada cálice de sedimentação preparado
11 na etapa anterior, foram retirados 1,0 mL do sedimento para transferência em tubos graduados de centrífuga
12 contendo solução de sulfato de zinco (densidade 1.18 g/cm³). Os tubos foram centrifugados a 2500 rpm (873
13 g) por cinco minutos e, após repouso vertical de cinco minutos, foi retirado com pipeta 50 µL do
14 sobrenadante para avaliação em microscopia ótica (aumento 10x e 40x).

15 A avaliação microscópica foi realizada com leitura “às cegas”, de modo que o avaliador não fosse
16 influenciado no momento da análise microscópica.

17 18 **2.3 Análise Estatística**

19
20 Previamente às análises estatísticas, o pressuposto de normalidade dos dados foi validado pelo teste
21 de Kolmogorov-Smirnov, pelo qual constatou-se que os dados apresentaram distribuição não paramétrica.
22 Para determinar se as contagens de estruturas parasitárias diferiram entre os sistemas de cultivo avaliados
23 recorreu-se ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com contrastes pelo método de Student-Newman
24 Keuls, com nível de significância de 5% para todas as comparações. As frequências de estruturas parasitárias
25 foram comparadas entre diferentes sistemas pelo teste de Qui-quadrado de Pearson, com contrastes pelo
26 método de bipartição e ajustamento do nível de significância pelo método de Bonferroni ($p = 0,05/3 =$
27 $0,016$). Todas as análises foram conduzidas no software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013).

28 29 **3. Resultados e Discussão**

30
31 No presente estudo, observou-se que do total de 180 amostras analisadas, 71 (39,4%) estavam
32 contaminadas por pelo menos uma estrutura parasitária, sendo que 34 (18,9%) das alfaces cultivadas no
33 sistema hidropônico, 20 (11,1%) no orgânico e 17 (9,4%) no sistema convencional estavam positivas.

34 Neres et al. (2011) também observaram que as amostras de hortaliças de origem hidropônica
35 apresentaram alto nível de contaminação por estruturas evolutivas e infectantes de enteroparasitos. Os nossos
36 dados também corroboram os resultados observados por Santana et al. (2006) e Gomes Neto et al. (2012), ao
37 avaliarem a contaminação parasitológica de alfaces crespas e americanas, respectivamente, nos três sistemas
38 de cultivo, e em estudos com análise de alfaces cultivadas em sistemas convencional e hidropônico (NERES

1 et al., 2011; GREGÓRIO et al., 2012; PACIFICO et al., 2013). Do mesmo modo, Santarém et al. (2012),
2 Alves et al. (2013), Vieira et al. (2013), Ramos et al. (2014), constataram a contaminação em hortaliças do
3 sistema de cultivo convencional, e Arbos et al. (2010) em sistema de produção orgânica.

4 Cistos de *Entamoeba* spp. foram as estruturas parasitárias recuperadas com maior frequência (Tabela
5 1), o que está em consonância com outros estudos conduzidos no Brasil que avaliaram a contaminação de
6 alface (NERES et al., 2011; GOMES NETO et al., 2012; GREGÓRIO et al., 2012). No nosso estudo a
7 frequência (Tabela 2) e número (Tabela 3) de cistos foi significativamente superior nas alfaces cultivadas no
8 sistema hidropônico, o que diverge dos resultados de Gomes Neto et al. (2012), em que os cistos foram mais
9 abundantes em alfaces produzidas no sistema orgânico e convencional, e dos observados por Santana et al.
10 (2006), que apresentaram contaminação de alfaces apenas nas amostras cultivadas no sistema orgânico.
11 Pacifico et al. (2013) observaram que não houve diferença significativa na frequência de contaminação de
12 alfaces hidropônicas e cultivadas no sistema convencional.

13 Outras estruturas parasitárias, como ovos de trichostrongilídeos foram recuperadas em baixa
14 frequência no presente estudo (Tabela 1, 2). Neste estudo, a ocorrência de estruturas de ovos/larvas de
15 trichostrongilídeos foi observada nos três sistemas, enquanto que ovos de *Strongyloides* spp. foram
16 recuperadas nos sistemas convencional e orgânica, e uma larva no sistema hidropônico. Santana et al. (2006),
17 ao avaliarem a contaminação de hortaliças, relataram a ocorrência de *Strongyloides* spp. e de
18 trichostrongilídeos, com uma recuperação maior de ovos de trichostrongilídeos nas amostras de alfaces do
19 cultivo orgânico e tradicional.

20 No presente estudo nenhum cisto de *Giardia duodenalis* foi recuperado nas amostras analisadas. Esta
21 estrutura protozoária foi observada por Gomes Neto et al., (2012), em amostras de alfaces orgânicas. Outros
22 estudos avaliaram alfaces do sistema convencional e hidropônico e encontraram cistos de *Giardia lamblia*
23 (NERES, et al., 2011; GREGÓRIO et al., 2012).

24 Vários fatores podem contribuir para a contaminação de hortaliças por enteroparasitos nas diferentes
25 etapas da cadeia produtiva, como as condições climáticas, higiênico-sanitárias, qualidade da água,
26 contaminação ambiental a manipulação durante o transporte e/ou comercialização (SANTANA et al., 2006;
27 MELO et al., 2011; GOMES-NETO et al., 2012; ALVES et al., 2013). Guilherme et al. (1999) e Melo et al.
28 (2011) analisaram as fezes de manipuladores, e observaram a presença de enteroparasitos em 26,4% e 50%
29 das amostras, respectivamente. Guilherme et al. (1999) também observaram a presença de cistos de
30 *Entamoeba* spp. no depósito subungueal de manipuladores, demonstrando que estes podem contribuir para a
31 contaminação de hortaliças.

32 Na maioria dos estudos sobre contaminação de hortaliças, as amostras foram adquiridas em
33 estabelecimentos comerciais, como mercados e sacolões, e em feiras (SANTANA et al., 2006; NERES et al.,
34 2011; GOMES-NETO et al., 2012; SANTARÉM et al., 2012; PACIFICO et al., 2013; VIEIRA et al., 2013;
35 RAMOS et al., 2014). As hortaliças analisadas nesse estudo foram fornecidas da distribuidora. Dessa forma,
36 a presença cistos de *Entamoeba* spp., oocistos de protozoários e ovos/larvas nematódeos indicam a
37 contaminação das hortaliças analisadas por dejetos orgânicos na adubação e irrigação, como postulado por

1 Santana et al. (2006), quer sejam de origem animal ou humana (GUILHERME et al.,1999; SANTARÉM et
2 al., 2012).

3 Estudos mostram que alfaces cultivadas no sistema orgânico apresentam as maiores frequências de
4 diferentes tipos de enteroparasitos, enquanto no sistema hidropônico é observada uma menor contaminação
5 (SANTANA et al., 2006; GOMES-NETO et al., 2012), o que contradiz nossos achados. Esta situação pode
6 representar não apenas a influência do material de adubação na contaminação das hortaliças analisadas, mas
7 também um indicativo da baixa qualidade da água utilizada na produção, como observado por Takayanagui
8 et al. (2007), que verificaram a contaminação por coliformes fecais e enteroparasitos na água de irrigação de
9 verduras.

10 Uma limitação do nosso estudo foi a análise apenas de amostras de alface crespa. Entretanto, a
11 escolha dessa variedade de verdura foi em razão de ser a mais consumida mundialmente e por não sofrer
12 interferência sazonal.

13 As hortaliças “in natura” constituem importantes meios de disseminação de estruturas parasitárias
14 (COELHO et al., 2001; PAULA et al., 2003). A presença de diferentes formas evolutivas de parasitos nos
15 diferentes sistemas de cultivo mostra a importância para a saúde pública. Apesar de na maioria dos casos não
16 apresentarem alta letalidade, as enteroparasitoses podem afetar o equilíbrio nutricional, induzir o
17 sangramento intestinal, interferir na absorção de nutrientes e reduzir a ingestão alimentar (WHO, 1981). Os
18 resultados obtidos no nosso estudo reforçam essa premissa e mostram que a contaminação de hortaliças pode
19 ser independente do sistema de cultivo.

20 Dessa forma, além da higienização adequada das verduras antes do consumo “in natura” (PACIFICO
21 et al., 2013), a adoção de medidas educativas que promovam a melhoria das condições higiênico-sanitárias
22 na cadeia produtiva podem minimizar ou eliminar o risco de infecção parasitária de hortaliças.

23

24 **4. Conclusões**

25 No presente estudo, conclui-se que independentemente do sistema de cultivo (convencional,
26 orgânico e hidropônico), existe a possibilidade de contaminação de alfaces por enteroparasitos. Medidas que
27 propiciem a melhoria na qualidade higiênico-sanitária na produção das verduras podem ser importantes para
28 a redução da contaminação e consequente transmissão de doenças parasitárias pelo consumo “in natura” de
29 hortaliças.

30

31 **5. Agradecimentos**

32 Os autores agradecem à Universidade do Oeste Paulista, pelo apoio financeiro, e à Cooperativa de
33 Agricultura Familiar (COAF) “Melhor da Roça”, Presidente Prudente, São Paulo, Brasil, pelo fornecimento
34 das hortaliças.

35

36

37

38

1 Referências

- 2
3 ALVES, A. S.; CUNHA-NETO, A.; ROSSIGNOLI, P. A. Parasitos em alface-crespa (*Lactuca sativa* L.), de
4 plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Revista de*
5 *Patologia Tropical*, Goiânia, v. 42, n. 2, p. 217-229, abr./jun. 2013.
6
7 ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; CARVALHO, L. A. Segurança alimentar de hortaliças
8 orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 30, n. 1, p.
9 215-220, mai. 2010.
10
11 BRADBURY, K. E.; APPLEBY, P. N.; KEY, T. J. Fruit, vegetable, and fiber intake in relation to cancer
12 risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *The American*
13 *Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 100, p. 394S-398S, jul. 2014.
14
15 COELHO, L. M. P. S.; OLIVEIRA, S. M.; MILMAN, M. H. S. A.; KARASAWA, K. A.; SANTOS, R. P.
16 Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades
17 escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v.
18 34, n.05, p. 479-482, set./out. 2001.
19
20 GOMES-NETO, N. J.; PESSOA, R. M. L.; QUEIROGA, I. M. B. N.; MAGNANI, M.; FREITAS, F. I. S.;
21 SOUZA, E. L.; MACIEL, J. F. Bacterial counts and the occurrence of parasites in lettuce (*Lactuca sativa*)
22 from different cropping systems in Brazil. *Food Control*, Amsterdã, v. 28, n. 1, p. 47-51, nov. 2012.
23
24 GREGÓRIO, D. S.; MORAES, G.F.A.; NASSIF, J. M.; ALVES, M. R. M.; CARMO, N. E.; JARROUGE,
25 M. G.; BOUÇAS, R. I.; SANTOS, A. C. C.; BOUÇAS, T. R. J. Estudo da contaminação por parasitas em
26 hortaliças da região leste de São Paulo. *Science in Health*, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 96-103, mai./ago. 2012.
27
28 GUILHERME, A. L. F.; ARAÚJO, S. M.; FALAVIGNA, D. L. M.; PUPULIM, A. R. T.; DIAS, M. L. G.
29 G.; OLIVEIRA, H. R.; MAROCO, E.; FUKUSHIGUE Y. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e
30 hortaliças da Feira do produtor de Maringá, Paraná. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*,
31 Uberaba, v.32, n. 4, p. 405-411, jul./ago. 1999.
32
33 HOFFMANN, R. P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 1987.
34
35 MELO, A. C. F. L.; FURTADO, L. F. V.; FERRO, T. C.; BEZERRA, K. C.; COSTA, D. C. A.; COSTA, L.
36 A.; SILVA, L. R. Contaminação parasitária de alfaces e sua relação com enteroparasitoses em manipuladores
37 de alimentos. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, Chapadinha, v.5, n.3, p. 47, abr. 2011.
38
39 NERES, A. C.; NASCIMENTO, A. H.; LEMOS, K. R. M.; RIBEIRO, E. L.; LEITÃO, V. O.; PACHECO, J.
40 B. P.; DINIZ, D. O.; AVERSI-FERREIRA, R. A. G. M.; AVERSI-FERREIRA, T. A. Enteroparasitos em
41 amostras de alface (*Lactuca sativa*, var. crispa), no município de Anápolis, Goiás, Brasil. *Bioscience*
42 *Journal*, Uberlândia, v. 27, n. 2, p. 336-341, mar./abr. 2011.
43
44 PACIFICO, B.B.; BASTOS O. M. P.; UCHÔA, C. M. A. Contaminação parasitária em alfaces crespas
45 (*Lactuca sativa* var. crispa), de cultivos tradicional e hidropônico, comercializadas em feiras livres do Rio de
46 Janeiro (RJ). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v.72, n. 3, p. 219-25, ago. 2013.
47
48 PAINTER, J. A.; HOEKSTRA, R. M.; AYERS, T.; TAUXE, R. V.; BRADEN, C. R.; ANGULO, F. J.;
49 GRIFFIN, P. M. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by
50 using outbreak data, United States, 1998–2008. *Emerging Infectious Diseases*, v. 19, n. 3, p. 407-415, 2013.
51
52 PAULA, P.; RODRIGUES, P. S. S.; TORTORA, J. C. O.; UCHÔA, C. M. A.; FARAGE, S. Contaminação
53 microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service de Niterói, RJ.
54 *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 36, n. 4, p. 535-537, jul./ago. 2003.
55

- 1 RAMOS, M. O.; BEGOTTI, I. Z.; ROSA, G.; VIEIRA, G. F. P.; MESSA, V.; MERLINI, L. S. Avaliação
2 parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas no município de Umuarama, Paraná, *Revista*
3 *Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, Fortaleza, v. 8, n. 3, p. 1-12, jul./set. 2014.
4
- 5 R DEVELOPMENT CORE TEAM. *R Software R: A Language and Environment for Statistical Computing*,
6 2013.
7
- 8 SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; ALCANTARA, L. M.; OLIVEIRA, T. W. S.;
9 RODRIGUES, B. M. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de
10 diferentes sistemas de cultivo. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 2, p. 264-269,
11 abr./jun. 2006.
12
- 13 SANTARÉM, V. A.; GIUFFRIDA, R.; CHESINE, P. A. F. Contaminação de Hortaliças por enteroparasitas
14 e *Salmonella* spp. em Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. *Colloquium Agrariae*, Presidente Prudente, v.8,
15 n.1, p. 18-25, jan./jun. 2012.
16
- 17 SLAVIN, J. L.; LLOYD, B. Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in Nutrition: An International*
18 *Review Journal*, Bethesda, v. 3, n. 4, p. 506-516, jul. 2012.
19
- 20 TAKAYANAGUI, O. M.; CAPUANO, C. A. D.; OLIVEIRA, A. M.; BERGAMINI, M. H. T.; OKINO, A.
21 A. M. C.; CASTRO E SILVA, M. A. O.; RIBEIRO, E. G. A.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Avaliação da
22 contaminação de hortas produtoras de verduras após a implantação do sistema de fiscalização em Ribeirão
23 Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v.40, n. 2, p.239- 241, mar./abr.
24 2007.
25
- 26 VIEIRA, J. N.; PEREIRA, C. P.; BASTOS, C. G. G.; NAGEL, A. S.; ANTUNES, L.; VILLELA, M. M.
27 Parasitos em hortaliças comercializadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Ciências Médicas e*
28 *Biológicas*, Salvador, v. 12, n. 1, p. 45-49, jan./abr. 2013.
29
- 30 WANG, X.; OUYANG, Y.; LIU, J.; ZHU, M.; ZHAO, G.; BAO, W.; HU, F. B. Fruit and vegetable
31 consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-
32 response meta-analysis of prospective cohort studies. *British Medical Journal*, Londres, v. 349, p. g4490, jul.
33 2014.
34
- 35 WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Intestinal protozoa and helminthic infections: report of a
36 WHO scientific group. Geneva, out./nov. 1981. Disponível em:
37 <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/41519/1/WHO_TRS_666.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2015.
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56

1 **Tabela 1** – Frequências de estruturas identificadas nas amostras de alfaces cresas (n = 180) cultivadas em
 2 diferentes sistemas de produção, em Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. 2016.

Estrutura Parasitária	Sistema de Produção					
	Convencional		Orgânico		Hidropônico	
	N	%	N	%	N	%
Protozoários						
Cistos de <i>Entamoeba</i> spp.	13	21,7	16	26,7	31	51,7
Oocistos	0	0,0	1	1,7	3	5,0
Nematódeos						
Ovos de Trichostrongilídeos	1	1,7	3	5,0	1	1,7
Larvas de Trichostrongilídeos	2	3,3	2	3,3	3	5,0
Ovos de <i>Strongyloides</i> spp.	1	1,7	1	1,7	0	0,0
Larvas de <i>Strongyloides</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	1,7

3 N – Número de amostras positivas.

4 **Fonte:** Elaboração dos autores.

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 **Tabela 2** – Frequências (%) de resultados positivos para estruturas parasitárias presentes em alfaces crespas
 2 cultivadas em diferentes sistemas de produção (n=180; 60 amostras por sistema de produção), Presidente
 3 Prudente, São Paulo, Brasil. 2016.

Estrutura Parasitária	Sistema de Produção			<i>p</i>
	Convencional % (n/60)	Hidropônico % (n/60)	Orgânico % (n/60)	
Protozoários				
Cistos de <i>Entamoeba</i> spp.	21,7 (13)	51,7 (31)	26,7 (16)	<0.001*
Oocistos	0 (0)	5,0 (3)	1,7 (1)	0,167
Nematódeos				
Ovos	5,0 (3)	1,7 (1)	5,0 (3)	0,552
Larvas	3,3 (2)	6,7 (4)	1,7 (2)	0,353

4 *p* = nível de significância para comparação entre diferentes sistemas, relativo ao Teste de Qui-quadrado de
 5 Pearson; *Diferenças estatísticas significativas entre sistema convencional e hidropônico (*p* = 0,001) e entre
 6 sistema orgânico e hidropônico (*p* = 0,008).

7 **Fonte:** Elaboração dos autores.

8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29

1 **Tabela 3** – Resultados das contagens de estruturas parasitárias presentes em alfaces crespas cultivadas em
 2 diferentes sistemas de produção (n=180), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. 2016.

Estrutura parasitária	Sistema de Produção			<i>p</i>
	Convencional (n = 60)	Hidropônico (n = 60)	Orgânico (n = 60)	
Protozoários				
Cistos	0,58 ± 1,44	2,25 ± 4,45	0,49 ± 0,95	0,003*
Oocistos	0 ± 0	0,1 ± 0,54	0,36 ± 2,84	0,892
Nematódeos				
Ovos	0,05 ± 0,22	0,05 ± 0,39	0,066 ± 0,31	0,939
Larvas	0,033 ± 0,181	0,1 ± 0,44	0,05 ± 0,38	0,892

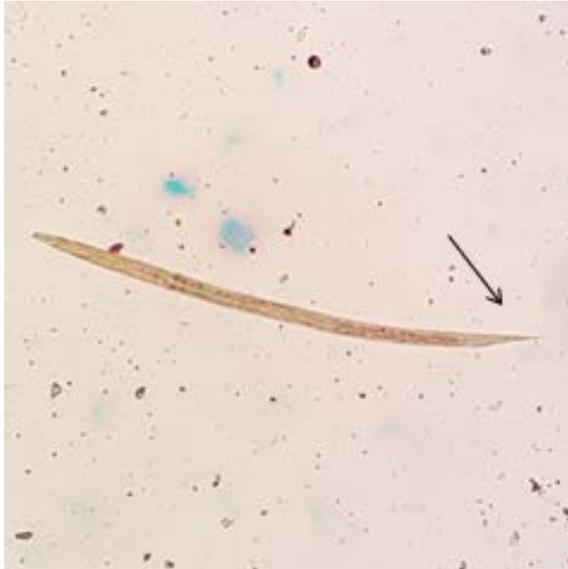
3 *p* = nível de significância para comparação entre diferentes sistemas, relativo ao Teste de Kruskal-Wallis;

4 *Contagens no sistema hidropônico estatisticamente diferentes do sistema convencional (*p* = 0,002) e
 5 orgânico (*p* = 0,006).

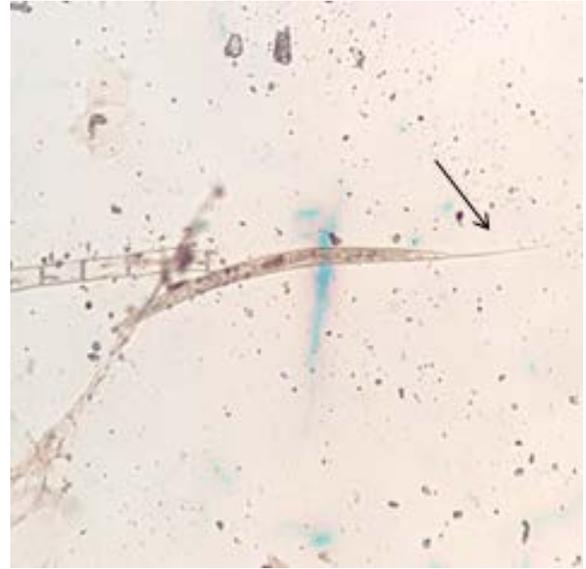
6 **Fonte:** Elaboração dos autores.

ANEXOS

ANEXO 1 – MICROFOTOGRAFIA DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS RECUPERADAS EM ALFACES CRESPAS CULTIVADAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO. LARVAS TIPO TRICHOSTRONGILÍDEO (A. SETA: BAINHA DE CAUDA CURTA) E TIPO *OESOPHAGOSTOMUM* (B. SETA: BAINHA DE CAUDA LONGA). OVO DE *STRONGYLOIDES* SPP. (C. SETA: LARVA NO INTERIOR DE OVO COM MEMBRANA SIMPLES)



A.



B.



C.

ANEXO 2 – TÉCNICAS UTILIZADAS PARA RECUPERAÇÃO DE ESTRUTURAS PARASITÁRIAS EM AMOSTRAS DE ALFACES CRESPAS, CULTIVADAS EM DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO

Análise Parasitológica:

- Remover e descartar as raízes e folhas mortas de cada vegetal;
- Coletar cinco folhas íntegras (parte interna e externa) de cada amostra de alface e colocar em sacos plásticos de primeiro uso identificados;
- Colocar no saco plástico 200 mL de solução detergente de Extran MA 02 a 0.5%;
- Realizar a homogeneização do material, através de agitação manual;
- Transferir o lavado resultante para um cálice de sedimentação;
- Colocar os cálices em refrigeração (7°C), para permanecer em repouso por 12 a 24 horas;
- Após o repouso do fluído, transferir 10 mL do sedimento para tubos graduados de centrífuga;
- Centrifugar os tubos a 2500 rpm (873 g) por cinco minutos;
- Após a centrifugação, aspirar os sedimentos resultantes e depositar em duas lâminas de vidro para avaliação microscópica das estruturas parasitárias (aumento 10x e 40x);
- Os cistos de *Giardia duodenalis*, pesquisados pela técnica de centrifugo-flutuação, descrita por Faust et al., com pequenas modificações (HOFFMANN, 1987);
- De cada cálice de sedimentação preparado na etapa anterior, retirar 1,0 mL do sedimento e transferir para tubos graduados de centrífuga contendo solução de sulfato de zinco (densidade 1.18 g/cm³);
- Centrifugar os tubos a 2500 rpm (873 g) por cinco minutos e, após colocar em repouso vertical por mais cinco minutos;
- Retirar com pipeta 50 µL do sobrenadante para avaliação em microscopia ótica (aumento 10x e 40x).

Observação: Avaliação microscópica realizada com leitura “às cegas”, de modo que o avaliador não seja influenciado no momento da análise microscópica.

ANEXO 3 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO REVISTA SEMINA : AGRÁRIAS

Diretrizes para Autores

Acesso em: 25 de abril de 2016. Disponível em:<<http://www.uel.br/portal/frm/frmOpcao.php?opcao=http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagraria>>

Atenção autores:

Recomendamos que os autores consultem atentamente as diretrizes, pois não serão aceitos trabalhos que não estejam rigorosamente de acordo com as normas.

A partir de 19/02/2015, a Taxa de Submissão de novos artigos será de 100,00. Em caso de rejeição do artigo, esta taxa não será devolvida.

Artigos submetidos a partir de 19/02/2015 e aceitos para publicação terá o valor da Taxa de Publicação (trabalhos aprovados) reajustado de acordo com o número de páginas do manuscrito:

Até 10 páginas: R\$ 300,00

De 11 a 15 páginas: R\$ 400,00

De 16 a 20 páginas: R\$ 500,00

De 21 a 25 páginas: R\$ 600,00

Em caso de aceite do artigo para publicação, o valor pago de R\$ 100,00 referente à taxa de submissão, não será deduzido da taxa de publicação.

O comprovante de depósito deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar

Depósito em nome do Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, em uma das três contas abaixo:

Banco do Brasil (001)/ Agência: 1212-2/ Conta corrente: 43509-0 - BrasilCaixa

Econômica Federal (104)/ Agência: 3076/ Conta corrente: 0033-4/ Operação: 003 - Brasil

Itaú (341)/ Agência: 3893/ Conta corrente: 29567-9 - Brasil

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL

Os artigos poderão ser submetidos em português ou inglês, mas somente serão publicados em inglês. Os artigos submetidos em português, após o aceite, deverão ser obrigatoriamente traduzidos para o inglês.

Os artigos enviados para a revista até dezembro/2013 que estão em tramitação poderão ser publicados em português, entretanto, se traduzidos para o inglês terão prioridade na publicação.

Todos os artigos, após o aceite deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução ou correção de um dos seguintes tradutores:

American Journal Experts

Editage

Elsevier

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

O autor principal deverá anexar no sistema o documento comprobatório dessa correção na página de submissão em “Docs. Sup.”

Observações:

1) Os manuscritos originais submetidos à avaliação são inicialmente apreciados pelo Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias. Nessa análise, são avaliados os requisitos de qualidade para publicação na revista, como: escopo; adequação às normas da revista; qualidade da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; contribuição dos resultados; discussão dos dados observados; apresentação das tabelas e figuras;

originalidade e consistência das conclusões. Se o número de trabalhos com manuscrito ultrapassar a capacidade de análise e de publicação da Semina: Ciências Agrárias, é feita uma comparação entre as submissões, e são encaminhados para assessoria Ad hoc, os trabalhos considerados com maior potencial de contribuição para o avanço do conhecimento científico. Os trabalhos não aprovados nesses critérios são arquivados e os demais são submetidos a análise de pelo menos dois assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo, sem a identificação do(s) autor(es). Os autores cujos artigos forem arquivados, não terão direito à devolução da taxa de submissão.

2) Quando for o caso, deve ser informado que o projeto de pesquisa que originou o artigo foi executado obedecendo às normas técnicas de biosegurança e ética sob a aprovação da comissão de ética envolvendo seres humanos e/ou comissão de ética no uso de animais (nome da Comissão, Instituição e nº do Processo).

Não serão aceitos manuscritos em que:

- a) O arquivo do artigo anexado do trabalho contenha os nomes dos autores e respectiva afiliação; b) Não tenha sido realizado o cadastro completo de todos os autores nos metadados de submissão; Exemplo: Nome completo; Instituição/Afiliação; País; Resumo da Biografia/Titulação/função
- c) Não tenha sido incluído no campo COMENTÁRIOS PARA O EDITOR, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas;
- d) Não estejam acompanhados de documento comprobatório da taxa de submissão, em documento suplementar “Docs. Sup.” no ato da submissão;
- e) Não estejam acompanhados dos seguintes documentos suplementares: gráficos, figuras, fotos e outros, EM VERSÃO ORIGINAL. (Formato JPEG; TIFF; EXCEL)

f) Não constem no artigo original: título, resumo e palavras-chave em português e inglês, tabelas e figuras.

Restrição por área:

Para a área de agronomia não serão aceitos manuscritos em que:

- a) Os experimentos com cultura in vitro sejam limitados ao melhoramento dos protocolos já padronizados ou que não forneçam novas informações na área;
- b) Os experimentos de campo não incluam dados de pelo menos dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;
- c) Os experimentos se refiram apenas a testes sobre a eficiência de produtos comerciais contra agentes bióticos, abióticos ou estresses fisiológicos;
- d) Envolvam apenas bioensaios (screening) de eficácia de métodos de controle de insetos, ácaros ou doenças de plantas, exceto se contiverem contribuição importante sobre mecanismos de ação numa perspectiva de fronteira do conhecimento;
- e) O objetivo seja limitado a registrar a ocorrência de espécies de pragas ou patógenos ou associações entre hospedeiros em novas localidades dentro de regiões geográficas onde eles já sejam conhecidos. Registros de espécies ou associações conhecidas só serão considerados em novas zonas ecológicas. Os registros de distribuição devem se basear em ecossistemas, e não em fronteiras políticas.

Para a área de veterinária:

- a) A publicação de relatos de casos é restrita e somente serão selecionados para tramitação àqueles de grande relevância ou ineditismo, com real contribuição ao avanço do conhecimento para a área relacionada.

Categorias dos Trabalhos:

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos:

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em "Docs Supl." na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Citar a autoria da fonte somente quando as tabelas ou figuras não forem do autor. Ex: **Fonte:** IBGE (2014), ou **Source:** IBGE (2014).

Preparação dos manuscritos:

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Abstract com Key words (no máximo seis palavras, em ordem alfabética); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final da discussão ou Resultados; Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser destacados em negrito, sem numeração, quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem ser destacados em itálico e se houver dentro do subitem mais divisões, essas devem receber números arábicos. (Ex. **Material e Métodos...** *Áreas de estudo...1. Área rural...2.Área urbana*).

O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo em Eventos Científicos, Nota Prévia ou Formato Reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos:

- a) Os manuscritos devem obedecer aos critérios estabelecidos nos Códigos Internacionais de cada área.
- b) Utilizar o Sistema Internacional de Unidades em todo texto.
- c) Utilizar o formato potência negativa para notar e inter-relacionar unidades, e.g.: kg ha^{-1} . Não inter-relacione unidades usando a barra vertical, e.g.: kg/ha .
- d) Utilizar um espaço simples entre as unidades, g L^{-1} , e não g.L^{-1} ou gL^{-1} .
- e) Usar o sistema horário de 24 h, com quatro dígitos para horas e minutos: 09h00, 18h30.

8. Citações dos autores no texto

Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmaram que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com dois autores

Citações onde são mencionados dois autores, separar por ponto e vírgula quando estiverem citados dentro dos parênteses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2000).

Quando os autores estiverem incluídos na sentença, utilizar o (e)

Ex: Pinheiro e Cavalcanti (2000).

Citações com mais de dois autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula quando houver mais de uma referência.

Ex: (RUSSO et al., 2000) ou Russo et al. (2000); (RUSSO et al., 2000; FELIX et al., 2008).

Para citações de diversos documentos de um mesmo autor, publicados no mesmo ano, utilizar o acréscimo de letras minúsculas, ordenados alfabeticamente após a data e sem espaçamento.

Ex: (SILVA, 1999a, 1999b).

As citações indiretas de diversos documentos de um mesmo autor, publicados em anos diferentes, separar as datas por vírgula.

Ex: (ANDRADE, 1999, 2000, 2002).

Para citações indiretas de vários documentos de diversos autores, mencionados simultaneamente, devem figurar em ordem alfabética, separados por ponto e vírgula.

Ex: (BACARAT, 2008; RODRIGUES, 2003).

9. Referências: As referências, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, e reformulação número 14.724 de 2011 da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. **Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes.** A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

Observação: Consultar os últimos fascículos publicados para mais detalhes de como fazer as referências do artigo.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologias completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a sequência - introdução, metodologia, resultados e discussão (podem ser incluídas tabelas e figuras), conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, resultados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os autores somente poderão apresentar artigos de interesse da revista mediante convite de membro(s) do comitê editorial da Revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1. A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.

5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

6. *Numero de autores*: Não há limitação para número de autores, mas deverão fazer parte como co-autores aquelas pessoas que efetivamente participaram do trabalho. Pessoas que tiveram uma pequena participação no artigo deverão ser citadas no tópico de Agradecimentos, bem como instituições que concederam bolsas e recursos financeiros.

Condições para submissão:

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Informo que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, estando ciente que a formatação incorreta importará na suspensão do processo de avaliação sem avaliação do mérito.
3. No passo seguinte preencher os metadados em inglês.

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "editar metadados" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

4. Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.

Utilize o botão "incluir autor"

5. A identificação de autoria do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em *Assegurando a Avaliação Cega por Pares*.
6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB).

O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.

7. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.
8. Deve ser incluído no campo comentários para o editor, um texto que aponte a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação a trabalhos já existentes), em até 10 linhas

9. Taxa de Submissão de novos artigos

Declaração de Direito Autoral:

Os Direitos Autorais para artigos publicados são de direito da revista. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

semina.agrarias@uel.br