

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Estado da Arte da Pesquisa em Recursos Genéticos

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Estado da Arte da Pesquisa em Recursos Genéticos

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
E79	Estado da arte da pesquisa em recursos genéticos [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-628-7 DOI 10.22533/at.ed.287191609 1. Genética – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. CDD 575.1
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Apresentamos o livro “Estado da Arte da Pesquisa em Recursos Genéticos”, um material rico e direcionado à todos acadêmicos e docentes da subárea da biologia denominada genética.

Sem sombra de dúvidas a genética e suas aplicações tem influenciado diversas pesquisas promissoras em todo o mundo, contribuindo de forma significativa na saúde, agricultura, economia e biotecnologia. Compreender essa ciência e suas diferentes interfaces é um dos objetivos principais do conteúdo desta obra.

A genética aliada à revolução tecnológica tem contribuído grandemente com o avanço no campo da pesquisa básica e aplicada. Da mesma forma as descobertas propiciadas pelos estudos e artigos de diversos pesquisadores possibilitaram um entendimento mais amplo desta importante área. Como sabemos a genética possui um campo vasto de aplicabilidades que podem colaborar e cooperar grandemente com os avanços científicos e entender um pouco mais da pesquisa e recursos genéticos é o enfoque desta obra.

Assim abordamos aqui assuntos relativos aos avanços e dados científicos aplicados aos recursos genéticos, oferecendo um breve panorama daquilo que tem sido feito no país. O leitor poderá se aprofundar em temas direcionados à variabilidade, diversidade genética, produtividade, variedades tradicionais, inovação, proteômica, novos protocolos, fruteiras nativas, populações, gargalo, seleção, variedade genética, produtividade, migração, criopreservação, dentre outros.

Esperamos que mais uma vez o conteúdo deste material possa somar de maneira significativa aos novos conceitos aplicados à genética, influenciando e estimulando cada vez mais a pesquisa nesta área em nosso país. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que as novas gerações se interessem cada vez mais pelo ensino e pesquisa em genética.

Desejo à todos uma ótima leitura!
Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AVALIAÇÃO AGRONÔMICA DE GENÓTIPOS DE MANDIOCA EM ANGOLA	
Rosalina Esperança Da Silva Carlos	
Sandra Domingos João Afonso	
Ricardo Franco Cunha Moreira	
Elaine Costa Cerqueira-Pereira	
DOI 10.22533/at.ed.2871916091	
CAPÍTULO 2	5
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE AMOSTRAS DE VARIEDADES DE FEIJÃO-CAUPI DO ACRE PARA DESENVOLVIMENTO DE PROGÊNIES E SELEÇÃO DE LINHAGENS	
Caroline Nascimento dos Santos	
Joões Alves da Silva Pereira	
Vanderley Borges dos Santos	
Hiuri Negreiros de Albuquerque	
Mateus Martins da Silva	
Matheus Matos do Nascimento	
Maria Rosângela da Silva Melo	
Wilson José dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.2871916092	
CAPÍTULO 3	11
CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE AÇUCENA (<i>Amaryllidaceae</i>) COLETADOS NO ESTADO DO CEARÁ	
Rita de Cassia Alves Pereira	
Ana Cecília Ribeiro de Castro	
Antônio Marcos Esmeraldo Bezerra	
DOI 10.22533/at.ed.2871916093	
CAPÍTULO 4	18
CONSERVAÇÃO DE TECIDOS DO APARELHO UROGENITAL DE AVES MANTIDOS EM SORO FISIOLÓGICO SOB-REFRIGERAÇÃO POR ATÉ 48 HORAS PARA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS	
Tauane Catilza Lopes Fernandes	
Shaline Séfara Lopes Fernandes	
DOI 10.22533/at.ed.2871916094	
CAPÍTULO 5	26
DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg POR MEIO DE CARACTERES AGROMORFOLÓGICOS	
Diego Cerveira de Souza	
Terezinha Aparecida Teixeira	
DOI 10.22533/at.ed.2871916095	
CAPÍTULO 6	36
DIVERSIDADE GENÉTICA DO BACURIZEIRO (<i>Platonia insignis</i> MART.) UTILIZANDO O MARCADOR ISSR EM CHAPADINHA – MA	
Jonas Alves Mesquita	
Edyane Moraes dos Santos	
André Luiz Raposo Barros	
Gabriel Garcês Santos	
Claudio Adriano de Jesus Nascimento	

Luana Corrêa Silva
Phelipe Silva de Araújo
José de Ribamar Silva Barros
DOI 10.22533/at.ed.2871916096

CAPÍTULO 7 46

ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DA ABELHA TIÚBA (*Melipona fasciculata* SMITH, 1854 - HYMENOPTERA, APIDAE) BASEADA NO MARCADOR ISSR

Diego Marques Costa Silva
Gustavo Lucas Bezerra Tinoco
Jonas Alves Mesquita
Laelson Rodrigues Ferreira e Ferreira
Hugo Almeida Ferreira
Edyane Moraes dos Santos
José de Ribamar Silva Barros

DOI 10.22533/at.ed.2871916097

CAPÍTULO 8 58

MEL DE TIÚBA: AUMENTO DA PRODUÇÃO DE MEL POR MEIO DA MELIPONICULTURA MIGRATÓRIA

Gustavo Lucas Bezerra Tinoco
Diego Marques Costa Silva
Jonas Alves Mesquita
Hugo Almeida Ferreira
Laelson Rodrigues Ferreira e Ferreira
Gabriel Garcês Santos
José De Ribamar Silva Barros

DOI 10.22533/at.ed.2871916098

CAPÍTULO 9 67

USO DE CRIOPROTETORES PARA A PRESERVAÇÃO DE COLEÇÕES MICROBIANAS MANTIDAS PARA PD&I

Eunice Ventura Barbosa
Clarissa Varajão Cardoso
Helena Magalhães *In memoriam*
Evelize Folly das Chagas
Helena Carla Castro
Máira Halfen Teixeira Liberal

DOI 10.22533/at.ed.2871916099

SOBRE O ORGANIZADOR..... 79

ÍNDICE REMISSIVO 80

CONSERVAÇÃO DE TECIDOS DO APARELHO UROGENITAL DE AVES MANTIDOS EM SORO FISIOLÓGICO SOB-REFRIGERAÇÃO POR ATÉ 48 HORAS PARA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS

Tauane Catilza Lopes Fernandes

Universidade Federal do Ceará, Departamento de Zootecnia, Fortaleza-Ceará

Shaline Séfara Lopes Fernandes

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Departamento de Biologia- Recursos Naturais, Dourados – Mato Grosso do Sul

RESUMO: A colheita de materiais biológicos no campo requer de aparatos técnicos científicos geralmente inacessíveis e de alta representabilidade econômica. O objetivo deste experimento foi testar a viabilidade de proteínas extraídas do aparelho urogenital de galos caipiras/Carijó (*Gallus gallus domesticus*), após refrigeração em caixa térmica de isopor no período de 24 e 48 horas. Dezesesseis amostras colhidas foram separadas em: testículo, epidídimo, ducto eferente funcional e o aparelho urogenital completo. O isopor foi vedado para simular condições de transporte em temperatura ambiente (30 a 35°C). As amostras retiradas nos seus referidos tempos de armazenamento foram congeladas em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80°C até serem liofilizadas. Liofilizadas as amostras foram submetidas à extrações de proteínas, quantificadas para avaliar sua concentração e avaliadas em gel de poliacrilamida 12,5% pela técnica de SDS-PAGE. Não houve efeito visual

na degradação das proteínas analisadas em gel, as bandas apresentaram características normais de distribuição e migração. As amostras referentes ao tratamento de 48 horas apresentaram sutil rastro de proteínas no gel, fator no qual pode estar relacionado ao tempo de exposição das amostras; aos tampões de extração ou pela permeabilidade do gel ao tempo de corrida. Para avaliação da integridade das proteínas aparentemente esta técnica se apresentou apta em condições de simulação do transporte do campo ao laboratório até 48 horas sob-refrigeração. Aperfeiçoar o processo de colheita de materiais em campo nos permite viabilizar pesquisas científicas e conservar as características biológicas estabelecendo mecanismos práticos e sustentáveis em regiões de difícil acesso.

PALAVRAS-CHAVE: inovação, proteômica, protocolo

CONSERVATION OF FABRICS OF THE UROGENITAL POISON OF BIRDS KEPT IN PHYSIOLOGICAL SERUM UNDER REFRIGERATION FOR UP TO 48 HOURS FOR PROTEIN EXTRACTION

ABSTRACT: The harvesting of biological materials in the field requires scientific

technical apparatus generally inaccessible and of high economic representativeness. The objective of this experiment was to test the viability of proteins extracted from the urogenital apparatus of goats caipiras/Carijó (*Gallus gallus domesticus*), after cooling in a Styrofoam thermal box in the period of 24 and 48 hours. Sixteen collected samples were separated into: testis, epididymis, functional efferent duct and complete urogenital apparatus. The Styrofoam was sealed to simulate transport conditions at room temperature (30 to 35 ° C). Samples taken at their storage times were frozen in liquid nitrogen and kept in a freezer at -80 ° C until lyophilized. Lyophilized samples were submitted to protein extractions, quantified to evaluate their concentration and evaluated in 12.5% polyacrylamide gel by SDS-PAGE technique. There was no visual effect on the degradation of proteins analyzed in gel, the bands presented normal distribution and migration characteristics. Samples from the 48-hour treatment showed a subtle trace of proteins in the gel, a factor in which it may be related to the exposure time of the samples; to the extraction plugs or by the permeability of the gel at running time. In order to evaluate the integrity of the proteins, this technique was apt to be able to simulate transport from the field to the laboratory for up to 48 hours under refrigeration. Improving the process of collecting materials in the field allows us to make scientific research feasible and to preserve the biological characteristics, establishing practical and sustainable mechanisms in difficult access regions.

KEYWORDS: innovation, proteomics, protocol

1 | INTRODUÇÃO

Análises proteômicas são essenciais para elucidação de processos biológicos por estarem envolvidas em praticamente todos os processos metabólicos, permite a elucidação de rotas metabólicas e identificação de moléculas bioativas que são alvos de novos fármacos (HEIN et al., 2013).

Técnicas relacionadas para extração, quantificação, identificação e purificação de proteínas afetam diretamente os achados científicos em função da qualidade do material colhido e sua armazenagem.

Partindo da colheita do material, o difícil acesso físico, a contaminação direta ou cruzada, o gasto com transportes e a dependência de equipamentos sofisticados (SANCHES, 2016) para seu armazenamento com botijão de Nitrogênio líquido e a sua manutenção constata onera os custos para desenvolvimento das pesquisas.

Desde 2016 (SANCHES, 2016) até os primórdios atuais os cientistas brasileiros estão enfrentando grandes desafios, com cortes ainda maiores nos orçamentos e a arrecadação menor afetando as agências de financiamento.

Mecanismos que facilitem o transporte do campo as dependências do laboratório para a realização das análises são fundamentais quando se prioriza meios sustentáveis para desenvolvimento de pesquisas e propagação de conhecimento ao público interessado.

Desenvolver métodos de preservação de tecidos é alvo dos principais assuntos

discutidos em diversos países, pesquisadores têm-se dedicado ao estudo da preservação de órgãos (BELZER et al., 1967), dando ênfase na descoberta de meios que permitam aumentar, cada vez mais, o tempo de estocagem.

Ideal para várias finalidades terapêuticas e pela facilidade de aquisição nas farmácias e drogarias o soro fisiológico 0,9% se destaca como alternativa promissora para a preservação de tecidos biológicos, devido sua estabilidade quando armazenado em temperatura ambiente ou em geladeira, não alterando suas concentrações de cloreto de sódio, portanto, seu uso é seguro e eficiente (RATTI et al., 2011). E este fato tem sido observado recentemente na mídia com o estudo do uso de pele de tilápia para tratar queimaduras (LIMA-JUNIOR et al., 2017).

Como proposta para a melhoria deste cenário exposto acima o presente estudo propõe a conservação de tecidos do aparelho urogenital de aves mantidos em soro fisiológico sob-refrigeração por até 48 horas para extração de proteínas.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Colheita do Material

O aparelho urogenital de galos caipiras/Carijó (*Gallus gallus domesticus*) foram colhetados no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, no Setor de Avicultura (3°44'33.4" de Latitude Sul, 38°34'44.2" de Longitude Oeste).

No momento do abate os aparelhos urogenitais foram retirados com auxílio de tesoura cirúrgica e pinças, lavados em solução de soro fisiológico para retirar o excesso de sangue e condicionados em tubos falcon de 50mL em solução de soro fisiológico 0,9% de NaCl em temperatura ambiente de 30°C a 35°C. As amostras após colhidas foram mantidas em caixa de isopor contendo gelo. Além do aparelho urogenital completo, foram colhidas partes que compõem o aparelho urogenital: Ducto deferente funcional, Epidídimo e Testículos. O transporte do material para o laboratório de Fisiologia Animal e Reprodução foi realizado em 2 minutos.

2.2 Armazenamento

No laboratório a caixa de isopor recebeu mais gelo em placas artificiais até cobrirem todas as laterais e superfícies superiores e inferiores dos tubos. Os tubos foram mantidos em suportes de plástico (Hacks) como medida precavida para evitar possíveis vazamentos e contaminações entre os materiais. Em seguida a caixa de Isopor foi vedada com fita adesiva e mantida em temperatura ambiente sobre bancada (simulando o transporte terrestre e ou aéreo). Terminados às 24 horas 08 amostras foram retiradas, restando 08 amostras que foram novamente vedadas até completar 48 horas.

As amostras retiradas nos seus referidos tempos de armazenamento foram

congeladas sem a presença do soro fisiológico em nitrogênio líquido e mantidas em freezer -80°C até serem liofilizadas. O procedimento de liofilização partiu de condicionar as amostras a 51°C por 12 horas. Depois de liofilizadas as amostras foram maceradas em cadinho de porcelana e foram retirados 100mg de cada amostra para realização do protocolo de extração de proteínas.

As amostras extraídas foram: Aparelho urogenital completo armazenado até 24 horas (apr 24H); Testículos armazenados até 24 horas (te 24H); Ducto deferente funcional armazenado até 24 horas (ddf 24H); Epidídimo armazenado até 24 horas (ep 24H); Aparelho urogenital completo armazenado até 48 horas (apr 48H); Testículos armazenados até 48 horas (te 48H); Ducto deferente funcional armazenado até 48 horas (ddf 48H); Epidídimo armazenado até 48 horas (ep 48H).

2.3 Extração de proteínas – protocolo proposto para esta técnica

Após a pesagem de 100mg de amostra estas foram condicionadas em tubo Eppendorf de 1,5mL e suspensas em 700 μ l de solução de: Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Fosfato Salina (PBS) a 1%. As amostras foram homogeneizadas com auxílio de vórtex por 1 minuto a cada 15 minutos. O procedimento foi repetido por quatro vezes, perfazendo um total de 60 minutos. As amostras foram mantidas em geladeira (10 °C) entre as homogeneizações.

Depois de homogeneizadas as amostras foram centrifugadas a 5000g/ 12000 rpm a 4 °C por 30 minutos. Foi retirado 300 μ l do sobrenadante e condicionado em novo tubo Eppendorf de 1,5mL acrescido de 1mL de acetona gelada, homogeneizados à mão por 1 minuto e centrifugadas a 5000g/ 12000 rpm a 4 °C por 30 minutos. Descartado o sobrenadante por inversão dos tubos cuidadosamente e condicionados em geladeira em bandeja forrada com papel absorvente por 24 horas ou até a secagem absoluta da acetona. Após secas as amostras extraídas foram ressuspendidas em água ultrapura e congeladas em freezer -20 °C.

A concentração total de proteínas solúveis foi determinada seguindo a metodologia proposta por Bradford para análise de proteínas (BRADFORD, 1976).

2.4 SDS-PAGE

Para eletroforese unidimensional, foi alíquotado um volume contendo 25 μ g de proteína ao tampão de amostra (0,125 M Tris-HCl, pH 6,8, 4% SDS, 10% (v/v) glicerol, 0,2 M de Ditioneitol (DTT), 0,02% Azul de bromofenol), aquecido a 100 °C durante 90 segundos. Depois dessa prévia desnaturação as amostras foram aplicadas nas cavidades (poços) do gel de empilhamento (WILSON, WALKER, 2010). A programação da corrida proposta para este estudo foi: 140V, 70mA, 21w para 4 géis (placas duplas) na cuba SE 600 Ruby por duração média de 8 horas. Por gel individual deve-se usar corrente de 25mA. Após o término do tempo de corrida o foi corado com Coomassie Brilliant Blue (CBB-R250) por 12 h, e descorado por lavagens em solução contendo

etanol (40%), ácido acético (10%) em água bidestilada, como descrito por Souza et al. (2012) e Rodrigues et al. (2013). Depois da descoloração, o gel foi escaneado a 300 dpi (Scanner de Imagem, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA) e salvo como arquivo TIFF.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização de um novo protocolo com abordagem de menos é mais, fazendo o uso de soluções de extrações mais simplificadas como: SDS, PBS e Acetona facilita o mecanismo do processo de extração e diminui a concentração de eletrólitos que afetam diretamente a precipitação de proteínas, a quantificação e posteriormente a análise de identificação por espectrometria de massas.

Detergentes surfactantes como SDS agem rompendo as ligações não covalentes das proteínas, causando alteração na conformação estrutural nativa – desnaturação (BLOOR et al., 1995). E o PBS (cloreto de sódio +fosfato de sódio) é uma solução tamponante isotônica que permite manutenção do pH e estabilidade das reações bioquímicas como a da solução de soro fisiológico (cloreto de sódio + água).

Deste modo à separação por gel de poliacrilamida não é influenciada por esses sais, já que o SDS faz parte da produção dos géis e soluções tamponantes durante a corrida eletroforética, conferindo o nome a técnica SDS-PAGE e o PBS mantém a estabilidade das proteínas em pH tamponante da solução de corrida (WILSON, WALKER, 2010).

O SDS permite maior condutividade elétrica por ser um surfactante aniônico que se associa facilmente a micelas iônicas maior interação com micelas iônicas de moléculas orgânicas e polímeros pré-moldados a partir de oxido de etileno, celulose (MODOLON et al., 2009), xantana entre outros.

O excesso de sais utilizados como detergente para extração de proteínas afeta a quantificação de proteína pelo método de Bradford; a visibilidade dos extratos proteicos, vistos os impedimentos nas interações proteína-corante e posteriormente a identificação das proteínas pela espectrometria de massas (LAN et al., 2013).

Estudos apontam que o método de Bradford pode sofrer interferência da intensidade de cor por alguns compostos iônicos utilizados em sistema aquoso bifásico, a fim de aumentar a força iônica da fase aquosa bifásica (SILVÉRIO et al., 2012). A interferência de sais na quantificação de proteínas produzirá resultados errôneos de atividade específicas das proteínas/enzimas e de fatores de identificação e purificação (TREICHEL et al., 2016).

Como ambos os sais utilizados são compatíveis com a espectrometria de massas, ocorre uma diminuição de processos, não sendo necessário dessalinizar amostras pós- extração.

As amostras extraídas e submetidas à corrida eletroforética em gel de

poliacrilamida 12,5%- SDS/PAGE (Figura 1), para a avaliação da integridade das proteínas mostrou-se viável.

Não houve efeito visual na degradação das proteínas analisadas em gel, as bandas apresentaram características normais de distribuição e migração. As amostras referentes ao tratamento de 48 horas apresentaram sutil rastro de proteínas no gel, fator no qual pode estar relacionado ao tempo de exposição das amostras; aos tampões de extração ou pela permeabilidade do gel ao tempo de corrida. A técnica se apresentou apta em condições de simulação do transporte do campo ao laboratório em até 48 horas sob-refrigeração.

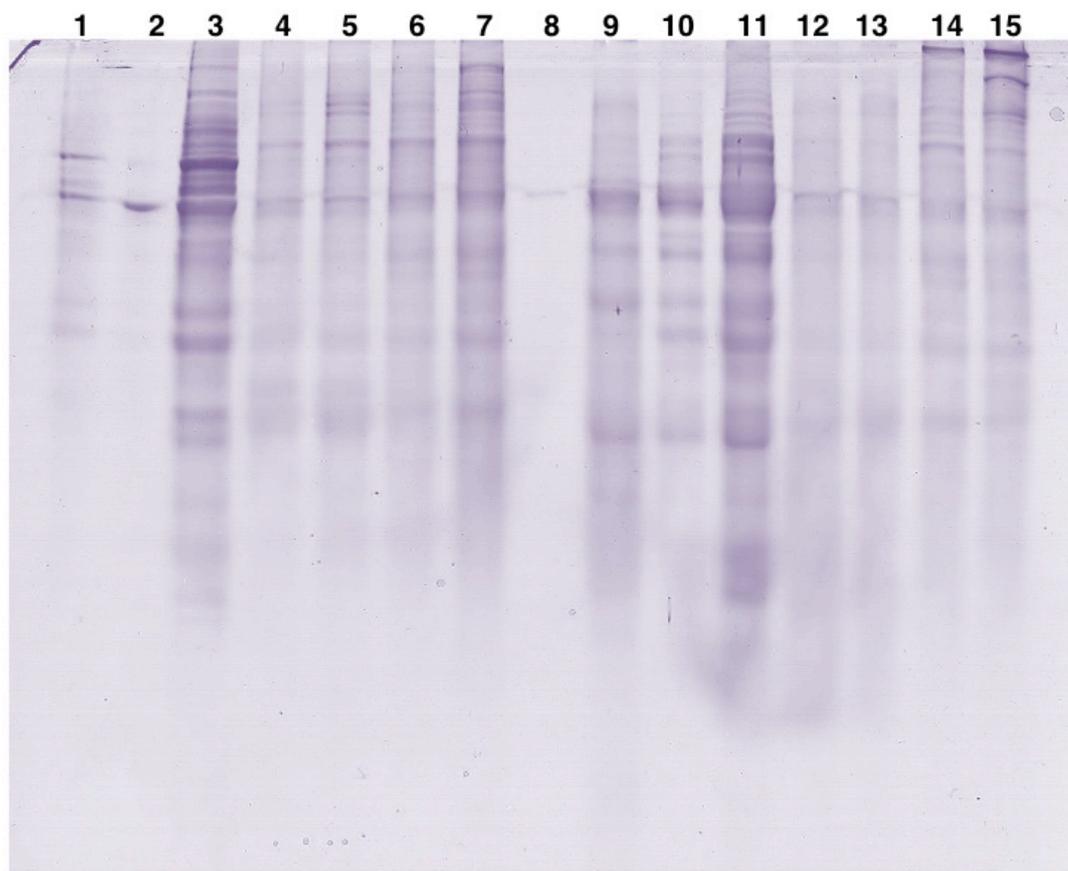


Figura 1. Gel de poliacrilamida 12,5% SDS/PAGE de aparelho urogenital de *Gallus gallus domesticus*. Legenda: Amostras: 1 e 2 - Aparelho reprodutor completo até 24 horas (apr 24H); 3 – Testículos (te 24H); 4 e 5 – Ducto deferente funcional (ddf 24 H) ; 6 e 7 – Epidídimo (ep 24H); 8- branco , 9 e 10 (apr 48H), 11 (te 48H), 12 e 13 (ddf 48H), 14 e15 (ep 48H).

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Aperfeiçoar o processo de colheita de materiais em campo e simplificar as técnicas em laboratório nos permite viabilizar pesquisas científicas e conservar as características biológicas das amostras destinadas às análises ômicas, estabelecendo mecanismos práticos e sustentáveis de pesquisa no Brasil que possam ser reproduzidos tecnicamente sem complicações.

Aliado a esse fator o uso de protocolos de extração de proteínas que priorizem o

uso de soluções tensoativas com baixa toxicidade e baixa carga residual combinada a soluções isotônicas permitem à diminuição de resíduos pertinentes a técnica. Processos como identificação e purificação de proteínas são favorecidos pela menor contaminação residual, assim como o meio ambiente no processo de descarte.

Estes testes iniciais são bases para outros estudos com o intuito de conservar materiais biológicos de espécies nativas localizadas em regiões de difícil acesso. A proposta foi diminuir os custos totais com mão de obra e transporte uma vez que esta técnica substitui em parte o uso de botijão de nitrogênio líquido por até 48 horas e utiliza de materiais e solução de baixo custo e fácil aquisição. Colheitas de materiais biológicos no campo se transportadas até 48 horas para extração de proteínas se mostram viáveis.

5 | AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 – Bolsa CAPES, pela concessão da bolsa de incentivo a pesquisa e apoio técnico- científico.

REFERÊNCIAS

BELZER, F.O.; ASHBY, B. S.; DUMPHY, J. E. **24-hours and 72-hours preservation of canine kidney.** *Lancet.*, v.2, 536p., 1967.

BLOOR, D. M.; WAN-YUNUS, W .M. Z.; WAN-BADHI, W.; LI, Y.; HOLZWARTH, J. F.; WYN-JONES, E.; **Langmuir** , v.11, 3395p. 2. 1995.

BRADFORD, M.M. **A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.** *Analytical Biochemistry*, v.72, n.(1-2), p.248-54,1976.

HEIN, M. Y.; SHARMA, K.; COX, J. Chapter 1 - **Proteomic Analysis of Cellular Systems.** In: *Walhout, A. J. M., Vidal, M., et al. Handbook of Systems Biology.* San Diego: *Academic Press*, p.3-25. 2013.

LAN, J.C., YEH, C., WANG, C., YANG, Y., WU, H. **Partition separation and characterization of the polyhydroxyalkanoates synthase produced from recombinant Escherichia coli using an aqueous twophase system.** *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.116, n.4,p. 499-505, 2013.

LIMA-JUNIOR, E.M.; PICOLLO, N.S.; MIRANDA, J.B.; RIBEIRO, W.L.C. et al.**Uso da pele de tilápia (Oreochromis niloticus), como curativo biológico oclusivo, no tratamento de queimaduras.** *Revista Brasileira de Queimaduras.* v.16, n.1, p.10-7, 2017.

MODOLON, S.M.; DAL BÓ, A.G.; FELIPPE, A.C.;MINATTI, E.; ZANETTE, D. **Auto- associação do Dodecilsulfato de sódio (SDS) com o polímero hidrofobicamente modificado etil (hidroxietil) celulose(EHEC).** *Química Nova*, v.32,n.8,p. 2046-50, 2009.

RATTI, B.A.; BRUSTOLIN, CA.F. UBER, A.P.; TORQUATO, A.S. **Soro fisiológico: potencial risco de perda de estabilidade após aberto e armazenado por trinta dias em diferentes meios.** In: *Anais...*

VII Encontro Internacional de Produção científica, 2011.

RODRIGUES, M. A. M.; SOUZA, C.E.A.; MARTINS, J.A.M.; J.P.A. REGO, J.P.A. et al. **Seminal plasma proteins and their relationship with sperm motility in Santa Ines rams.** *Small Ruminant Research*, v.109, n. (2-3), p. 94-100, 2013.

SANCHES, C. **O desafio de fazer pesquisa científica no Brasil.** 2016. Disponível em: <https://www.labnetwork.com.br/especiais/o-desafio-de-fazer-pesquisa-cientifica-no-brasil/>. Acesso em: Junho 2019.

SILVÉRIO, S. C., MOREIRA, S., MILAGRES, A. M. F., MACEDO, E. et al. **Interference of some aqueous two-phase system phase-forming components in protein determination by the Bradford method.** *Analytical Biochemistry*, v.421, n.2, p.719-24, 2012.

SOUZA, C. E.; SOUZA, C.E.; REGO, J.P.; LOBO, C.H.. et al. **Proteomic analysis of the reproductive tract fluids from tropically-adapted Santa Ines rams.** *Journal of Proteomics*, v. 75, n. 14, p. 4436-56, 2012.

TREICHEL, H.; GOLUNSKI, S.M.; MULINARI, J.; BALDISSARELLI, D. P. et al. **Interferências causadas na quantificação das proteínas totais pelo método de Bradford em sistema aquoso bifásico.** In: *Anais... XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: a árvore que sustenta a vida*, Gramado-RS, 2016.

WILSON, K.; WALKER, J. **Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology**, 7ed. 399p., 2010.

SOBRE O ORGANIZADOR

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico.

Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro.

Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país.

Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. Contato: dr.neto@ufg.br ou neto@doctor.com

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abelha sem ferrão 58
Amarílis 11, 13, 15, 16

B

Bulbos 11, 13, 14, 15, 16

C

Cerrado 17, 26, 27, 28, 34, 35, 37, 38, 39, 45, 58, 59
Criopreservação 68, 69, 70, 73, 74, 77

D

Descritores 3, 11, 15, 33
Diversidade Genética 1, 2, 6, 9, 16, 26, 28, 29, 34, 36, 38, 40, 41, 43, 44, 46, 48, 51, 53, 55, 57

F

Fruteiras Nativas 26, 35

G

Gabirobeira 26, 27
Gargalo 36, 40, 42, 43
Glicerol 21, 67, 68, 73, 74, 75, 76, 78

I

Inovação 18, 67, 71

M

Manihot Esculenta 1, 4
Migração 18, 23, 58, 62, 63, 64

P

Populações 12, 14, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38, 40, 41, 42, 43, 47, 48, 51, 52, 53, 54, 57, 59
Produtividade 2, 5, 26, 27, 29, 32, 33, 48, 58, 60, 63, 71
Proteômica 18, 79
Protocolo 18, 21, 22, 36, 39, 67, 74

R

Reserva 36, 38, 41, 42, 43

S

Seleção 5, 7, 9, 28, 32, 33, 44, 46, 49, 52, 53, 54, 55

Skim Milk 67, 68, 73, 74, 75, 76

V

Variabilidade 1, 4, 5, 7, 9, 12, 26, 29, 30, 32, 33, 35, 38, 47, 48, 51, 52, 55, 56

Variedade Genética 46

Variedades Tradicionais 5, 7

Vigna Unguiculata 5, 6, 10

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-628-7

