

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa 2

Atena
Editora

Ano 2019

Renata Mendes de Freitas
(Organizadora)

Ciências Biológicas
Campo Promissor
em Pesquisa

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Lorena Prestes
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

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

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
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. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª 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 Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
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. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	<p>Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa 2 / Organizadora Renata Mendes de Freitas. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Ciências Biológicas. Campo Promissor em Pesquisa; v. 2)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-782-6 DOI 10.22533/at.ed.826191311</p> <p>1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Freitas, Renata Mendes de. II. Série.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

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

APRESENTAÇÃO

A coleção “Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa” é uma obra composta de dois volumes que tem como foco principal a discussão científica atual através de trabalhos categorizados e interdisciplinares abordando pesquisas, relatos de casos, resumos ou revisões que transitam nas diversas áreas das Ciências Biológicas.

A grande diversidade de seres vivos e a grande especialização das áreas de estudo da biologia, a tornam uma ciência muito envolvente, que consegue abranger todas as relações interpessoais e uma grande interdisciplinaridade com outras áreas.

O primeiro volume foi organizado com trabalhos e pesquisas que envolvem a área da Saúde em diferentes Instituições de Ensino e Pesquisa do País. Logo, neste volume poderá ser encontrado pesquisas relacionadas a anatomia humana, plantas medicinais, arboviroses, atividades antimicrobianas e antifúngicas, biotecnologia e tópicos relacionados à segurança alimentar e cuidados em saúde. O destaque desse volume é para compostos naturais que podem ser utilizados no combate e controle de diversos microorganismos.

Já o volume dois, é composto por trabalhos que envolvem o Ensino de Ciências e pesquisas científicas em Biologia, tendo destaque os trabalhos relacionados à Ecologia e Conservação ambiental, e também a divulgação da Educação Especial.

A crescente preocupação com o meio ambiente e o consumo sustentável trazem reflexões que atingem nossa fauna e flora; os atuais processos de ensino e aprendizagem oferecem um plano de fundo às discussões referentes ao melhoramento das abordagens educacionais nas diferentes esperas de ensino.

Conteúdos relevantes são, deste modo, apresentados e discutidos com a proposta de fundamentar e apoiar o conhecimento de acadêmicos, mestres e doutores das amplas áreas das Ciências Biológicas.

Renata Mendes de Freitas

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
AÇÃO DA LACASE DE <i>TRAMETES</i> <i>sp.</i> NA REMOÇÃO DE TRIMETOPRIMA DE SOLUÇÕES AQUOSAS	
Daniele Maria Zanzarin Elidiane Andressa Rodrigues Alex Graça Contato Tatiane Brugnari Caroline Aparecida Vaz de Araujo Giselle Maria Maciel Rafael Castoldi Rosane Marina Peralta Cristina Giatti Marques de Souza	
DOI 10.22533/at.ed.8261913111	
CAPÍTULO 2	10
A OBJETIFICAÇÃO DOS ANIMAIS NÃO-HUMANOS E O COMÉRCIO ILEGAL DE ANIMAIS SILVESTRES	
Luiza Alves Chaves	
DOI 10.22533/at.ed.8261913112	
CAPÍTULO 3	23
APRENDIZAGEM BASEADA EM PROBLEMAS E DOCUMENTARIOS NO ENSINO DE ECOLOGIA	
Mychelle de Sousa Fernandes Viturino Willians Bezerra Jefferson Thiago Souza	
DOI 10.22533/at.ed.8261913113	
CAPÍTULO 4	28
AZADIRACHTA INDICA: UM ESTUDO ACERCA DOS ASPECTOS RIQUEZA DE ESPÉCIES E ABUNDÂNCIA RELATIVA NO MUNICÍPIO DE ARAGUATINS-TO	
Gutemberg de Sousa da Conceição Gutemberg Farias de Alencar Jair Cabral Rodrigues Junior Richard Alef Garros da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.8261913114	
CAPÍTULO 5	40
BANCO ESTATÍSTICO: UM JOGO PEDAGÓGICO	
Gesely Rosany Costa Resende	
DOI 10.22533/at.ed.8261913115	
CAPÍTULO 6	47
CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS NA CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE	
Juscelina Arcanjo dos Santos Paulo André Trazzi Lucas Fernandes Rocha Fernanda Leite Cunha Dulcinéia de Carvalho	
DOI 10.22533/at.ed.8261913116	

CAPÍTULO 7	57
CONSTRUÇÃO DE ROTEIROS INTERDISCIPLINARES DE MEDIAÇÃO NO MUSEU DINÂMICO INTERDISCIPLINAR DA UEM	
Rauana Santandes Ana Paula Vidotti Sônia Trannin de Mello	
DOI 10.22533/at.ed.8261913117	
CAPÍTULO 8	68
DISCUTINDO A INTERDISCIPLINARIDADE EM BIOLOGIA EVOLUTIVA: A IMPORTÂNCIA E OS DESAFIOS	
Thaís Pereira de Oliveira Davi Elisiário Lima Lopes Mônica Aline Parente Melo Maciel	
DOI 10.22533/at.ed.8261913111	
CAPÍTULO 9	73
DESENVOLVIMENTO ASSISTIDO: DA CHOCADÉIRA AO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	
Kátia Regina Barros da Silva Eric Santos Acioli da Silva Yasmin Guedes de Aguiar Pimentel Karina Dias Alves	
DOI 10.22533/at.ed.8261913119	
CAPÍTULO 10	85
DESENVOLVIMENTO DE UM ATLAS HISTOLÓGICO VIRTUAL: EXPERIÊNCIAS DE CONSTRUÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO NO ENSINO DA HISTOLOGIA	
Aline Otero Fernández Santos Mirian Soares de Freitas Nardy Ernani Aloysio Amaral Sarah Alves Auharek	
DOI 10.22533/at.ed.82619131110	
CAPÍTULO 11	96
ESTADO DA ARTE NOS ESTUDOS RELACIONADOS À PROBLEMÁTICA DOS TERREMOTOS	
Marcus Vinicius Peralva Santos	
DOI 10.22533/at.ed.82619131111	
CAPÍTULO 12	109
FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DE MOSCAS-DAS-FRUTAS DO GÊNERO <i>Anastrepha</i> (DIPTERA: TEPHRITIDAE) NO MUNICÍPIO DE CASTANHAL, PARÁ	
Álvaro Remígio Ayres Elton Lucio de Araujo Elania Clementino Fernandes	
DOI 10.22533/at.ed.82619131112	
CAPÍTULO 13	118
IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES DAS FOLHAS DE <i>MACHAERIUM ACUTIFOLIUM</i> (PAPILIONOIDEAE-FABACEAE) POR ESPECTOMETRIA DE MASSAS	
Adonias Almeida Carvalho Lucivania Rodrigues dos Santos Renato Pinto de Sousa Jurema Santana de Freitas	

Bruno Quirino Araújo
Mariana Helena Chaves
DOI 10.22533/at.ed.82619131113

CAPÍTULO 14 130

IMPORTÂNCIA DE AULAS PRÁTICAS NO PROCESSO DE ENSINO- APRENDIZAGEM DOS ALUNO DO 1º SEMESTRE SOBRE TECIDOS E SISTEMAS DO CORPO HUMANO NA DISCIPLINA DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA, NO CURSO DE MEDICINA – UECE

Marcos Vinícios Pitombeira Noronha
Lucas Pontes Coutinho
Inácio Gomes de Brito Filho
Lailton Arruda Barreto Filho
Patrícia Marçal Da Costa

DOI 10.22533/at.ed.82619131114

CAPÍTULO 15 139

MONITORAMENTO DA INFESTAÇÃO DO *Aedes* spp. NA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO NO CAMPUS DE CUIABÁ

Rafael Miranda de Freitas Custódio
Ricardo Cardoso Adriano
Rosina Djunko Miyazaki
Geovanna Fernandes Lopes
Ingrid Lyne Cândida dos Reis Soares de Abreu
Jéssica da Silva Gava
Ana Lucia Maria Ribeiro
Katia Rayane Souza Santos

DOI 10.22533/at.ed.82619131115

CAPÍTULO 16 144

O USO DE LIVRO PARADIDÁTICO PARA A CONTEXTUALIZAÇÃO DOS CONTEÚDOS, NA DISCIPLINA DE BIOLOGIA EVOLUTIVA NO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Davi Elisiario Lima Lopes
Mônica Aline Parente Melo Maciel

DOI 10.22533/at.ed.82619131116

CAPÍTULO 17 158

PLANTAS DO MANGUEZAL: UMA REVISÃO BRASILEIRA

Luzia Abílio da Silva
Eduarda Santos de Santana
Thiago Felix da Silva
Gustavo da Costa Lima
Gisele Nayara Bezerra da Silva
Isabel Michely da Silva
Janayze Suéllen de Lima Mendes Silva
Willams Alves da Silva
Keila Tamires da Silva
Pérola Paloma Silva do Nascimento
Sônia Pereira Leite
Roberta Maria Pereira Leite de Lima

DOI 10.22533/at.ed.82619131117

CAPÍTULO 18	168
SINAIS DE HERBIVORIA AFETAM A ESCOLHA DE FOLHAS EM COMUNIDADES TRADICIONAIS?	
Ana Carolina Sabino de Oliveira	
Dauyzio Alves da Silva	
Jefferson Thiago Souza	
DOI 10.22533/at.ed.82619131118	
CAPÍTULO 19	174
UM ESTUDO DE CASO SOBRE A INCLUSÃO DE ALUNOS AUTISTAS EM AULAS DE BIOLOGIA	
Bárbara Machado Duarte	
Vanessa Daiana Pedrancini	
DOI 10.22533/at.ed.82619131119	
CAPÍTULO 20	186
VALORIZAÇÃO DA BIOÉTICA COM O USO DE CADÁVARES NO ESTUDO DA ANATOMIA HUMANA	
João Rocha de Lucena Neto	
Rodrigo Montenegro Barreira	
Natália Stefani de Assunção Ferreira	
Fábio Rolim Guimarães	
João Victor Bezerra Diniz	
Ivelise Regina Canito Brasil	
DOI 10.22533/at.ed.82619131120	
CAPÍTULO 21	190
INFLUÊNCIA DE FATORES OCEANOGRÁFICOS SOB AS COMUNIDADES DE AVES MARINHAS DA REGIÃO DE VITÓRIA-TRINDADE, BANCO DE ABROLHOS E RESSURGÊNCIA CABO FRIO	
Edison Barbieri	
Larissa Yoshida Roselli	
Jorge Luiz Rodrigues Filho	
DOI 10.22533/at.ed.82619131121	
CAPÍTULO 22	211
VARIAÇÃO SAZONAL DA ASSEMBLEIA DE AVES DA BAÍA DE TRAPANDÉ, CANANÉIA, SP	
Larissa Yoshida Roselli	
Jorge Luiz Rodrigues Filho	
Edison Barbieri	
DOI 10.22533/at.ed.82619131122	
CAPÍTULO 23	223
RIQUEZA E COMPOSIÇÃO DE AVES EM LIMA DUARTE E BOM JARDIM DE MINAS, MINAS GERAIS, BRASIL	
Antônio Carlos Silva Zanzini	
Aloysio Souza de Moura	
Matusalém Miguel	
Felipe Santana Machado	
Marco Aurélio Leite Fontes	
DOI 10.22533/at.ed.82619131123	
SOBRE A ORGANIZADORA	240
ÍNDICE REMISSIVO	241

IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES DAS FOLHAS DE *MACHAERIUM ACUTIFOLIUM* (PAPILIONOIDEAE-FABACEAE) POR ESPECTOMETRIA DE MASSAS

Adonias Almeida Carvalho

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

Instituto Federal do Piauí – IFPI (Campus Piri-piri)

Piri-piri – Piauí

Lucivania Rodrigues dos Santos

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

Renato Pinto de Sousa

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

Jurema Santana de Freitas

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

Bruno Quirino Araújo

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

Programa de Pós-Graduação em Química,
Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória - ES

Mariana Helena Chaves

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Teresina – Piauí

RESUMO: A fração aquosa proveniente da partição do extrato etanólico das folhas de *Machaerium acutifolium* (Fabaceae-Papilionoideae) foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência, com detector de arranjo

de diodo (CLAE-DAD), fase móvel MeOH/H₂O-AcOH (0,2%) e coluna de fase reversa C18, e por espectrometria de massas acoplado a fonte de ionização por electrospray (ESI-MS), no modo negativo. O estudo químico mostrou a ocorrência de flavonóis e isoflavonoides, os quais foram identificados como canferol-3-*O*-rutinosil-7-*O*-diraminosídeo (1), quercetina-3-*O*-rutinosil-7-*O*-ramnosídeo (2), rutina (3), canferol-3-*O*-rutinosídeo (4), canferol-3-*O*-glicosídeo (5), daidzeína-8-*C*-glicosídeo (6) e genisteína (7). Estes compostos estão sendo relatados pela primeira vez no gênero *Machaerium*.

PALAVRAS-CHAVE: *Machaerium acutifolium*, CLAE-DAD, ESI-MS, flavonoides, isoflavonoides

FLAVONOIDS IDENTIFICATION FROM LEAVES OF *MACHAERIUM ACUTIFOLIUM* (PAPILIONOIDEAE-FABACEAE) BY MASS SPECTROMETRY

ABSTRACT: The aqueous fraction obtained by partition of the ethanolic extract from leaves of *Machaerium acutifolium* (Fabaceae-Papilionoideae) was analyzed by high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD), MeOH/H₂O-AcOH (0.2%) and reverse phase C18 column, and by mass spectrometry coupled to electrospray

ionization source (ESI-MS), in the negative mode. The chemical study allowed to determine the occurrence of flavonols and isoflavonoids, which were identified as kaempferol-3-*O*-rutinosyl-7-*O*-dirhamnoside (1), quercetin-3-*O*-rutinosyl-7-*O*-rhamnoside (2), rutin (3), kaempferol-3-*O*-rutinoside (4), kaempferol-3-*O*-glucoside (5), daidzen-8-*C*-glucoside (6) and genistein (7). These compounds are being reported for the first time in the genus *Machaerium*.

KEYWORDS: *Machaerium acutifolium*, HPLC-DAD, ESI-MS, flavonoids, isoflavonoids

1 | INTRODUÇÃO

A espécie *Machaerium acutifolium* Vogel (sinonímia *M. muticum* Benth) pertence à família Fabaceae e subfamília Papilionoideae. Apresenta ocorrência comum da Amazônia até São Paulo e Mato Grosso do Sul, principalmente na área de cerrado (LORENZI, 1998). *M. acutifolium* é encontrada também nos estados da Bahia, Piauí e Maranhão (POLIDO; SARTORI, 2007). Esta espécie é conhecida popularmente por jacarandá do campo, jacarandá-caroba e jacarandá bico-de-pato, sendo utilizada tradicionalmente pela população indígena do sudeste do Pará como anticoncepcional, para tratar menstruação dolorosa e dor de estômago (BARBOSA; PINTO, 2003; POVH et al., 2007; ROSA et al., 2014). Espécies do gênero *Machaerium* contém flavonoides, isoflavonoides, alcaloides, triterpenoides, esteroides, derivados de ácidos graxos, dentre outros, além de apresentarem diversas atividades biológicas tais como citotóxica, antimicrobiana, antiparasitária, anti-inflamatória e antioxidante (AMEN et al., 2015).

Os flavonoides são metabólitos secundários sintetizados por plantas, apresentam de modo geral em suas estruturas várias hidroxilas ligadas a anel aromático, por isso são chamados de compostos polifenólicos. O esqueleto básico dos isoflavonoides é derivado dos flavonoides pela migração do anel B da posição C-2 para C-3. Esta classe de composto é oriunda de rota biossintética mista (Figura 1), sendo formada por 15 átomos de carbono dispostos em dois anéis aromáticos conectados por uma ponte de três átomos de carbono C₆-C₃-C₆ (DEWICK, 2009). Os isoflavonoides são constituídos por cerca de 1.000 estruturas, amplamente distribuídas em espécies de Papilionoideae e considerados marcadores quimiotaxonômicos desta subfamília. As isoflavonas apresentam diversas atividades biológicas, incluindo tratamento da osteoporose, doenças cardiovasculares, prevenção de câncer e para o tratamento dos sintomas da menopausa (AMEN et al., 2015). A estrutura química das isoflavonas mimetiza a ação do hormônio estrogênico animal (estradiol e testosterona), devido as semelhanças estruturais, por isso são consideradas fitoestrogênios (UMEHARA, 2008 e 2009). O consumo de isoflavonoides por humanos é estimulado quando há escassez de estrogênio, pois ajuda na proteção contra cânceres dependentes do hormônio natural como o câncer de mama. Desta forma, são empregados como suplementos dietéticos de estrogênio para a redução dos sintomas da menopausa,

de forma semelhante à terapia de reposição hormonal (DEWICK, 2009).

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica fundamental para triagem e separação de flavonoides, inclusive isoflavonoides, em extratos e frações de plantas (PINHEIRO E JUSTINO, 2012). Enquanto a espectrometria de massas tem sido amplamente utilizada na identificação destes compostos (PRASAIN et al., 2003; HUGHES et al., 2001). A espectrometria de massas em múltiplos estágios (MS/MS) interfaceada com ionização por electrospray (ESI) provou ser uma técnica valiosa na identificação de metabólitos, devido a elevada seletividade e resolução de íons. Nos últimos anos tem sido largamente empregada na identificação de estruturas e na diferenciação isomérica de flavonoides glicosilados (VUKICS; GUTTMAN, 2010). Estudos demonstraram que a posição de substituição do açúcar tem uma influência significativa no padrão de fragmentação dos flavonóides *O*-glicosilados (ABLAJAN et al., 2006; ES-SAFI et al., 2005).

Considerado a importância biológica de *M. acutifolium*, e os escassos estudos anteriormente realizados (OLLIS et al., 1978), o objetivo do presente trabalho é realizar um estudo sistemático para identificar flavonoides e isoflavonoides na fração aquosa da partição do extrato etanólico das folhas da espécie, empregando CLAE-DAD e ESI-MS.

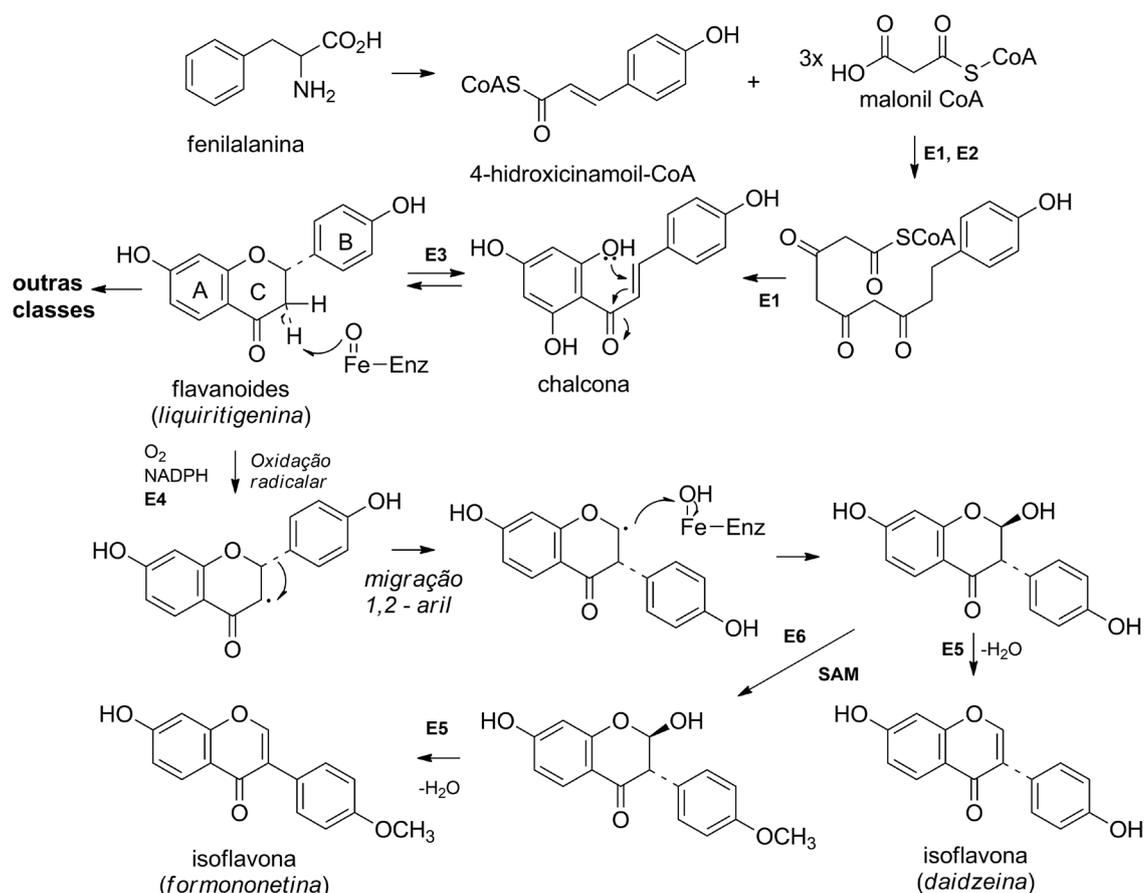


Figura 1. Biossíntese de flavonoides e isoflavonoides (Adaptado de Dewick, 2009). E1: chalcona sintase, E2: estilbeno sintase, E3: chalcona isomerase, E4: 2-hidroxi-isoflavanona sintase, E5: 2-hidroxi-isoflavanona desidratase, E6: 2,7,4'-trihidroxi-isoflavanona-4'-*O*-metiltransferase e SAM: S-adenosimetionina.

2 | METODOLOGIA

As folhas de *M. acutifolium* foram coletadas em março de 2017 em Jatobá do Piauí - Piauí (S 04° 51' 006", W 42° 05' 057", altitude: 100 m). A espécie foi identificada pela bióloga Dra. Ruth Raquel Soares de Farias e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso da Universidade Federal do Piauí - UFPI, com o número de registro TEPB 31568 e cadastro de acesso SisGen nº AAB530D. O material vegetal foi seco e moído (1400 g) e submetido à maceração exaustiva com etanol (98%). O solvente foi removido em evaporador rotativo à pressão reduzida e a água residual por liofilização, fornecendo o extrato etanólico das folhas (EEFMa, 74,7 g, 5,3%).

Uma alíquota de 64 g do extrato foi suspensa em 1200 mL de MeOH/H₂O (1:2, v/v) e submetida a partição, resultando nas frações hexânica (FHFMa, 33,5 g, 52,3%), acetato de etila (FAEFMa, 5 g, 7,8%) e aquosa (FAFMa, 25,5 g, 39,8%). A fração aquosa quando analisada em cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) utilizando CHCl₃/MeOH/H₂O (65:30:5, v/v/v) e como revelador solução de sulfato cérico apresentou machas amarelas características de flavonoides (CHAVES, 1997).

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) foi realizada para obtenção do perfil do extrato etanólico e da fração aquosa. Estas análises foram realizadas em cromatógrafo Shimadzu® equipado com bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20AHT, detector de arranjo de diodo SPD-M20A, forno para coluna CTO-20A, pré-coluna C18 Shim-pack 6-SIL, coluna C-18 Shim-pack VP-ODS de 250 mm x 4,6 mm e partícula de 5,0 µm. A fase móvel utilizada foi MeOH/H₂O-AcOH (0,2%), com eluição em gradiente de 5% a 100% de MeOH em 50 min, com vazão de 1 mL min⁻¹, no comprimento de onda de 255 nm.

As amostras analisadas via CLAE-DAD foram submetidas a pré-tratamento (*clean-up*), utilizando cartucho de extração em fase sólida (1,0 x 3,5 cm - Bakerbondspe 7020-03, C-18, 25-40 µm, J. T. Baker) e membrana filtrante de 0,45 µm. Uma alíquota de 2 mg foi dissolvida em 1 mL da mistura de MeOH/H₂O (1:1, v/v) e aplicada em cartucho de extração em fase sólida, ambientado com o mesmo solvente e eluído com 1 mL de MeOH/H₂O (1:1, v/v), em seguida 20 µL do eluato foi analisado por CLAE-DAD.

Os espectros de massas foram adquiridos por inserção direta em espectrômetro de massas com analisador armadilha de íons (ITMS, AmaZon X, Bruker Daltonics), equipado com fonte de ionização por electrospray (ESI). As condições utilizadas para as análises foram: fonte de ionização ESI no modo íon negativo, [ESI(-)], faixa de *m/z* 100-1500, fluxo da seringa 3,0 µL min⁻¹, voltagem do capilar 4,5 kV, fluxo do gás de secagem (N₂) 9,0 L min⁻¹, pressão de nebulização 50 psi e temperatura da fonte 350 °C. Para as análises em MSⁿ, os parâmetros energia de colisão, amplitude do sinal, tempo de aquisição de dados e radiofrequência foram ajustados para cada sinal, a fim de obter informações estruturais a partir do íon precursor. O tratamento

dos dados foi realizado em *software Compass 1.3 Data Analysis* (versão 4.0, Bruker Daltonics).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil CLAE-DAD do extrato etanólico e da fração aquosa das folhas de *M. acutifolium*, usando as mesmas condições cromatográficas, revelaram perfis químicos semelhantes, com a presença de duas bandas de elevada intensidade (**b** e **d**, Figura 2). Os espectros UV dos compostos correspondentes a estas bandas apresentaram máximos de absorção característicos de flavonóis, na região de 300 a 380 nm e 240 a 280 nm referentes aos sistemas cinamoil (banda I) e benzoil (banda II), respectivamente. A presença de isoflavonoides é evidenciada pela absorção entre 245 e 270 nm e absorção de baixa intensidade referente a banda I, devido a fraca ou nenhuma conjugação entre os anéis A e B, o que diferencia estas duas classes de compostos (MABRY; MARKHAM; THOMAS, 1970). Os espectros UV sugerem que as bandas **a**, **b** e **c** são isoflavonoides, enquanto que **d** trata-se de um flavonoide.

A comparação dos cromatogramas da fração aquosa com os dos padrões de flavonoides rutina e quercetina, que são comumente encontrados em plantas, especialmente da família Fabaceae, sugeriu a ocorrência de rutina ($t_R=27,8$ min) e ausência de quercetina ($t_R=33,3$ min) na fração aquosa (Figura 3).

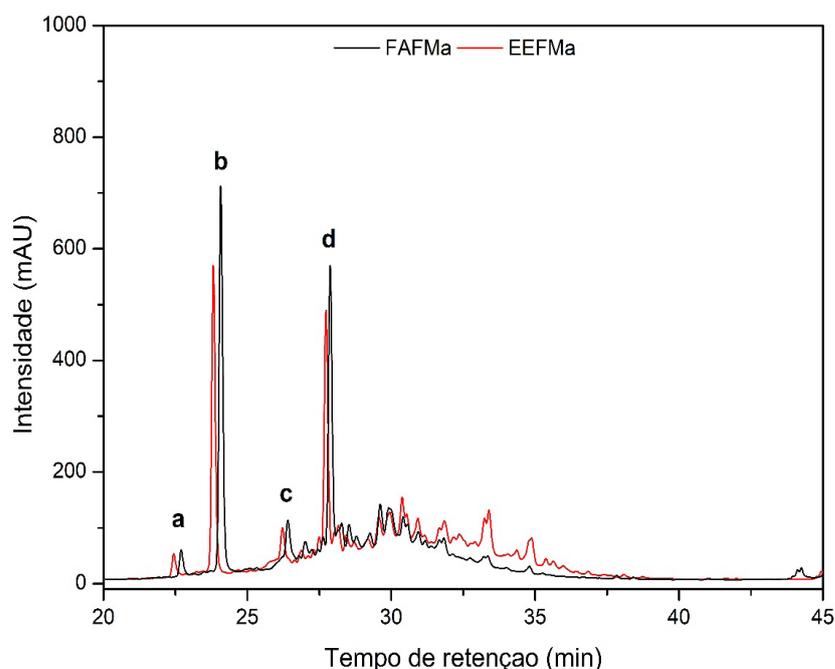


Figura 2. Perfil cromatográfico do extrato etanólico (EEFMa) e da fração aquosa das folhas (FAFMa) de *M. acutifolium*. Fase Móvel: MeOH/H₂O-AcOH (0,2%), gradiente: 0-50 min, 5-100% MeOH; vazão da fase móvel 1,0 mL min⁻¹, coluna C18, l = 255 nm.

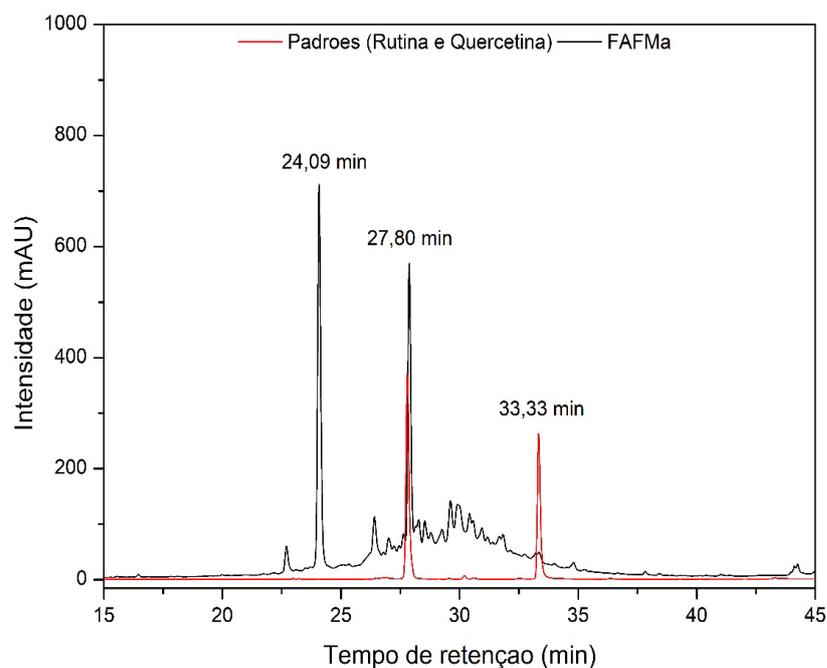


Figura 3. Comparação da fração aquosa de *M. acutifolium* com os padrões rutina ($t_R = 27,8$ min) e quercetina ($t_R = 33,3$ min). Fase Móvel: MeOH/H₂O-AcOH (0,2%), gradiente: 0-50 min, 5-100% MeOH; vazão da fase móvel 1,0 mL min⁻¹, coluna C18, $\lambda = 255$ nm.

O *fingerprint* da fração aquosa (Figura 4), obtido por espectrometria de massas, indicou a presença de flavonóis e isoflavonoides. Foram identificados sete compostos, sendo 2 isoflavonoides (**6** e **7**) e os demais são flavonóis (Figura 5 e Tabela 1). A investigação do MS² do íon m/z 609 [M-H]⁻ apresentou os íons fragmentos m/z 463 e 301 indicando a perda consecutiva de ramnose (146 Da) e glicose (162 Da), respectivamente, e que são característicos da rutina (**3**), enquanto que o MS³ do m/z 301 apresentou os íons fragmentos m/z 283, 271, 255, 179 e 151 confirmando a quercetina como aglicona (Tabela 1, Figura 6) (ABLAJAN et al., 2006).

O MS² do fragmento m/z 755 [M-H]⁻ apresentou o íon fragmento m/z 609 [M-H-146]⁻ indicando a perda de ramnose e o MS³ mostrou fragmentação idêntica a atribuída para a rutina (m/z 609), sugerindo portanto, a presença do composto quercetina-3-*O*-rutinosil-7-*O*-ramnosídeo (**2**) (CUPRI, GENGHI, ANTONACCI, 2014).

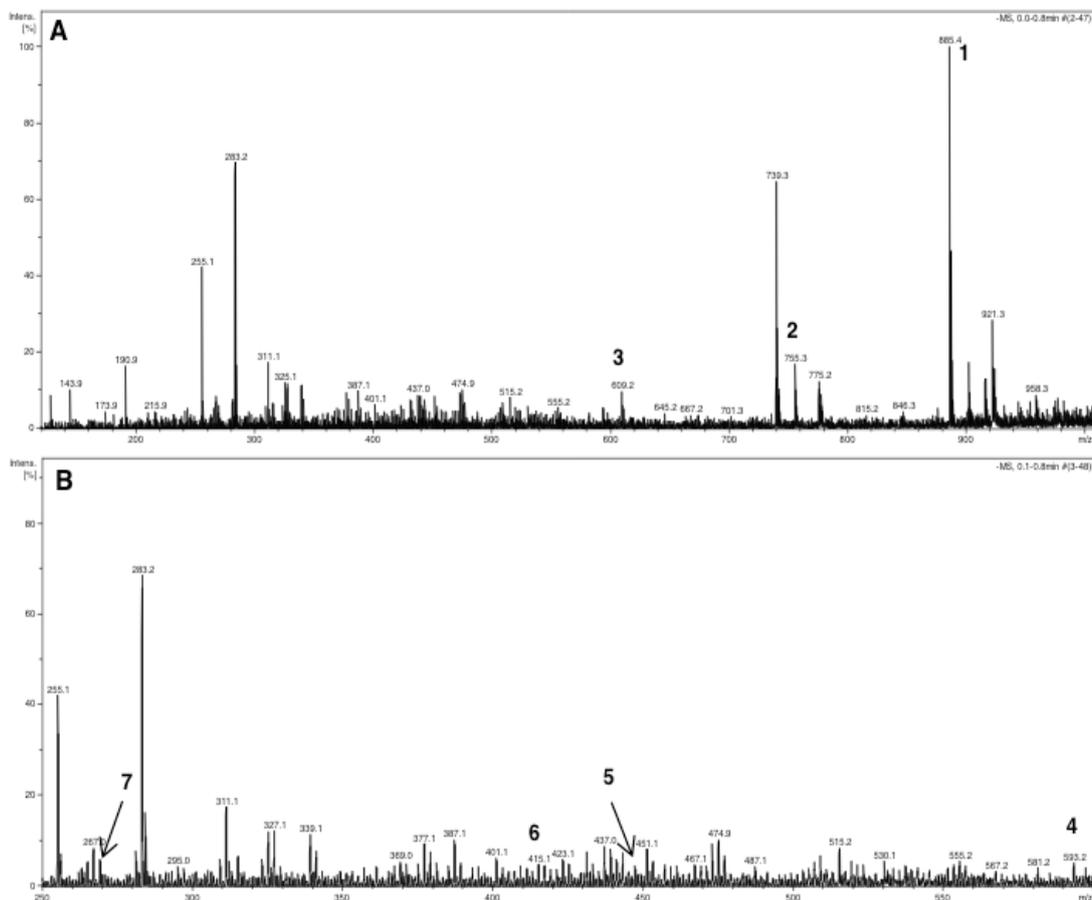


Figura 4. *Fingerprint* ESI-MS [M-H]⁻ da fração aquosa (A) e a expansão da região de *m/z* 250 a 600 (B)

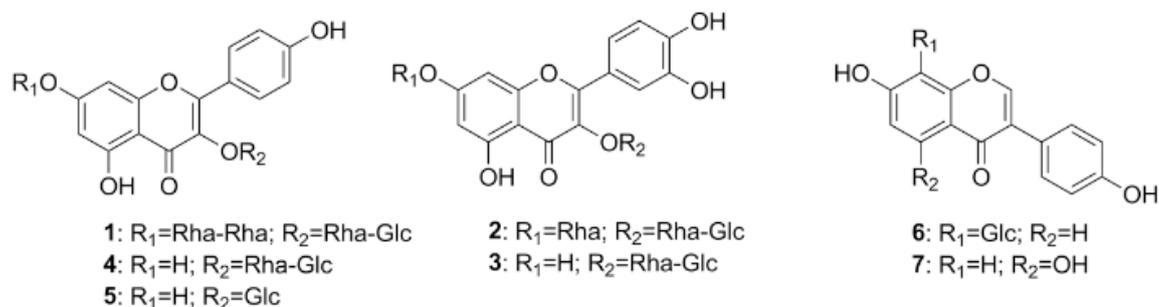


Figura 5. Estrutura dos compostos identificados por ESI-MS.

Compostos	[M-H] ⁻	MS ⁿ (%)
canferol-3- <i>O</i> -rutinosil-7- <i>O</i> -diramnosídeo (1)	885	MS ² [885]: 739(100), 593(2) MS ³ [739]: 593(25), 575(73), 285(100), 255(49)
quercetina-3- <i>O</i> -rutinosil-7- <i>O</i> -ramnosídeo (2)	755	MS ² [755]: 609(100), 593(7), 447(6), 301(21), 271(3) MS ³ [609]: 593(6), 301(100), 271(23), 227(10)
rutina (3)	609	MS ² [609]: 463(13), 301(100) MS ³ [301]: 283(24), 271(100), 255(34), 179(98), 151(78)
canferol-3- <i>O</i> -rutinosídeo (4)	593	MS ² [593]: 285(100), 447(81), 284(31), 257(4), 227(10) MS ³ [447]: 327(7), 285(100), 255(16)
canferol-3- <i>O</i> -glicosídeo (5)	447	MS ² [447]: 327(7), 285(100), 255(16) MS ³ [285]: 255(38), 227(35)
daidzeína--8- <i>C</i> -glicosídeo (6)	415	MS ² [415]: 397(13), 379(96), 295(4), 267(19), 249(14)
genisteína (7)	269	MS ² [269]: 241(15), 225(30), 197(25), 143(6)

Tabela 1. Identificação de flavonóis e isoflavonoides da fração aquosa de *M. acutifolium*

A fragmentação da rutina pode ser utilizada como um padrão de fragmentação para o estudo de outros flavonóis, incluindo as agliconas bem como os derivados mono e di-glicosilados. Nos espectros de massas dos isoflavonoides se observa uma série de perdas neutras regulares de 28 Da, 44 Da, 56 Da, 72 Da e 84 Da, geralmente atribuídas a perdas de CO, CO₂, 2xCO, CO+CO₂ e 3xCO, respectivamente (MARCH et al., 2004; ZHAO et al., 2018). Estas fragmentações características são usadas na distinção entre os flavonóis e isoflavonoides. Para os flavonóis as fragmentações são mais complexas do que para as isoflavonoides, por exemplo, diferentes padrões de hidroxilação podem produzir íons como [M-H-C₃O₂]⁻, [M-H-C₂H₂O]⁻ ou [M-H-CH₂O]⁻, que são perdas de 68 Da, 42 Da e 30 Da, respectivamente (YE et al., 2012).

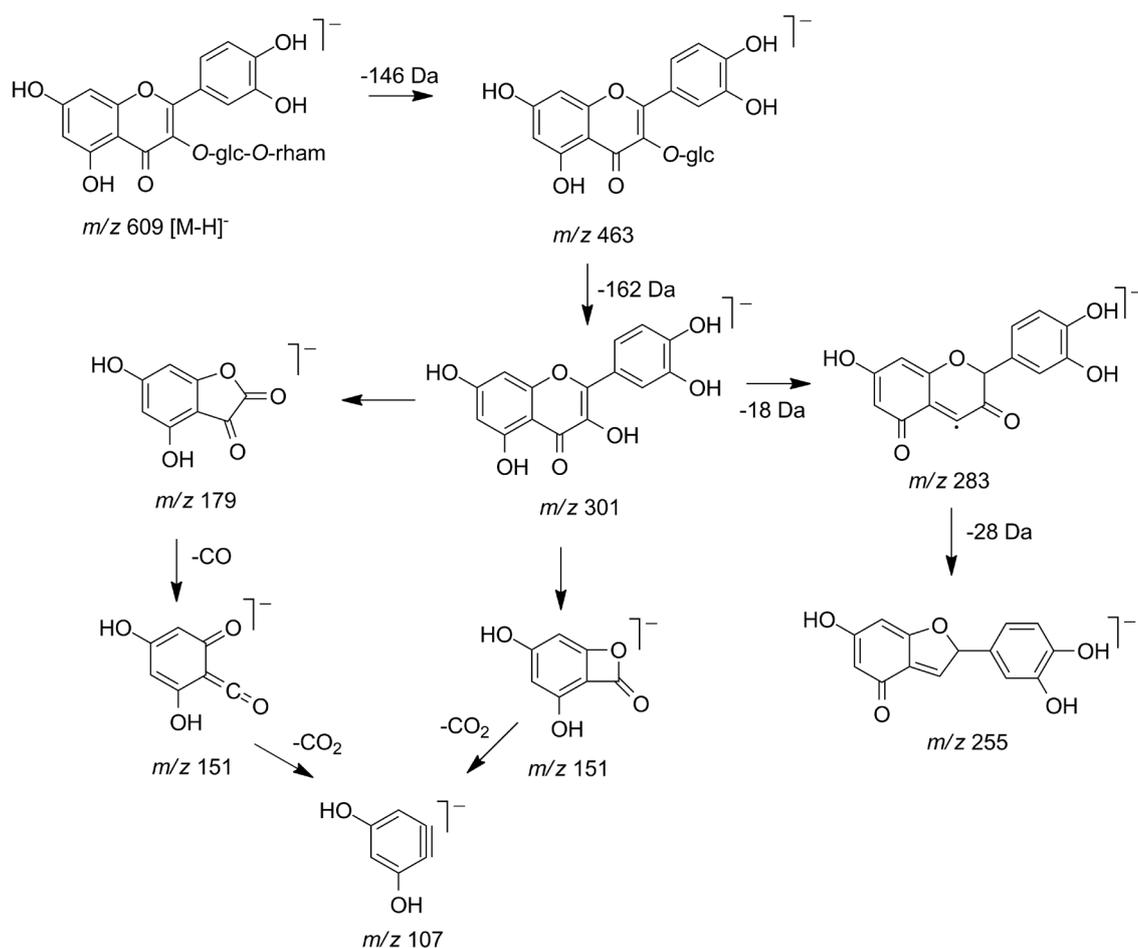


Figura 6. Proposta de fragmentação para o flavonol rutina (3, m/z 609).

O MS² do fragmento m/z 885 [M-H]⁻ apresentou os íons fragmentos m/z 739 [M-H-146]⁻ e 593 [M-H-146]⁻ indicando a perda de duas ramnose e o MS³ do m/z 739 apresentou os fragmentos m/z 593 [M-H-146]⁻ e 575 [M-H-162]⁻ indicando a perda de ramnose e glicose, respectivamente, enquanto que m/z 285 e 255 indicam que aglicona é o canferol, sugerindo a ocorrência do flavonoide canferol-3-O-rutinosil-7-O-diramnosídeo (1) (BRESCIANI et al., 2015).

Os íons fragmentos m/z 593 e 447 são derivados do canferol-3-O-rutinosil-7-O-diramnosídeo, uma vez que apresentam diferença de valores de m/z correspondentes

a duas e três unidades de ramnose, respectivamente. Isto sugere a presença dos flavonóis canferol-3-*O*-rutinosídeo (**4**) e o canferol-3-*O*-glicosídeo (**5**), o que é comprovado pelo MS³ destes fragmentos (CUPRI, GENGHI, ANTONACCI, 2014), como mostrado na Tabela 1.

O espectro de massas da fração aquosa da espécie *M. acutifolium* apresentou picos com fragmentações características de isoflavonoides (MARCH et al., 2004). A investigação do MS² do *m/z* 269 [M-H]⁻ mostrou a presença dos fragmentos *m/z* 241 [M-H-CO]⁻, 225 [M-H-CO₂]⁻, 197 [M-H-CO₂-CO]⁻ e 143 [M-H-C₆H₆O₃]⁻ que são característicos da genisteína (**7**), como mostra a proposta de fragmentação na Figura 7 (ZHAO et al., 2018). Embora a genisteína seja um isômero da flavona apigenina os padrões de fragmentação são bem diferentes. Na apigenina são observados fragmentos com *m/z* 151 [M-H-C₈H₆O]⁻, 149 [M-H-C₇H₅O₂]⁻, 121 [M-H-C₈H₅O₃]⁻ e 117 [M-H-C₇H₄O₄]⁻ (TROALEN et al., 2014).

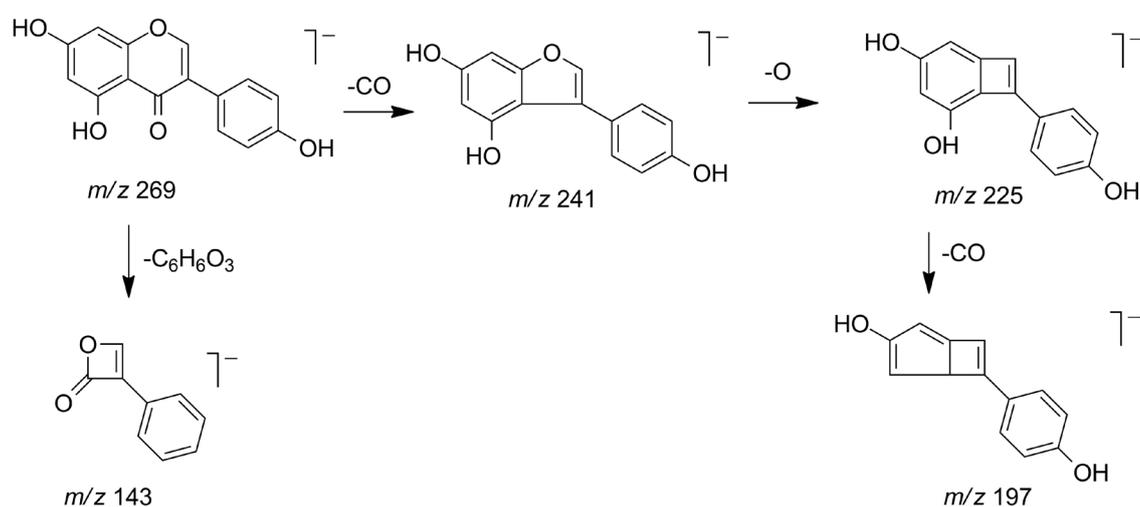


Figura 7. Proposta de fragmentação para o isoflavonoide genisteína (**7**, *m/z* 269) (Adaptado de Zhao et al., 2018).

O MS² do *m/z* 415 [M-H]⁻ apresentou os fragmentos *m/z* 397 [M-H-H₂O]⁻ e 379 [M-H-H₂O-H₂O]⁻ indicando perdas sucessivas de água que podem caracterizar isoflavonoides do tipo *C*-glicosilados (ZHAO et al., 2018). Adicionalmente observou-se os fragmentos *m/z* 295, 267 e 249 correspondentes as perdas de C₄H₆O₃, CO e H₂O, respectivamente (Figura 8), os quais permitem sugerir a presença da daidzeína-8-*C*-glicosídeo (**6**) (ZHAO et al., 2018, ABLAJAN, 2010).

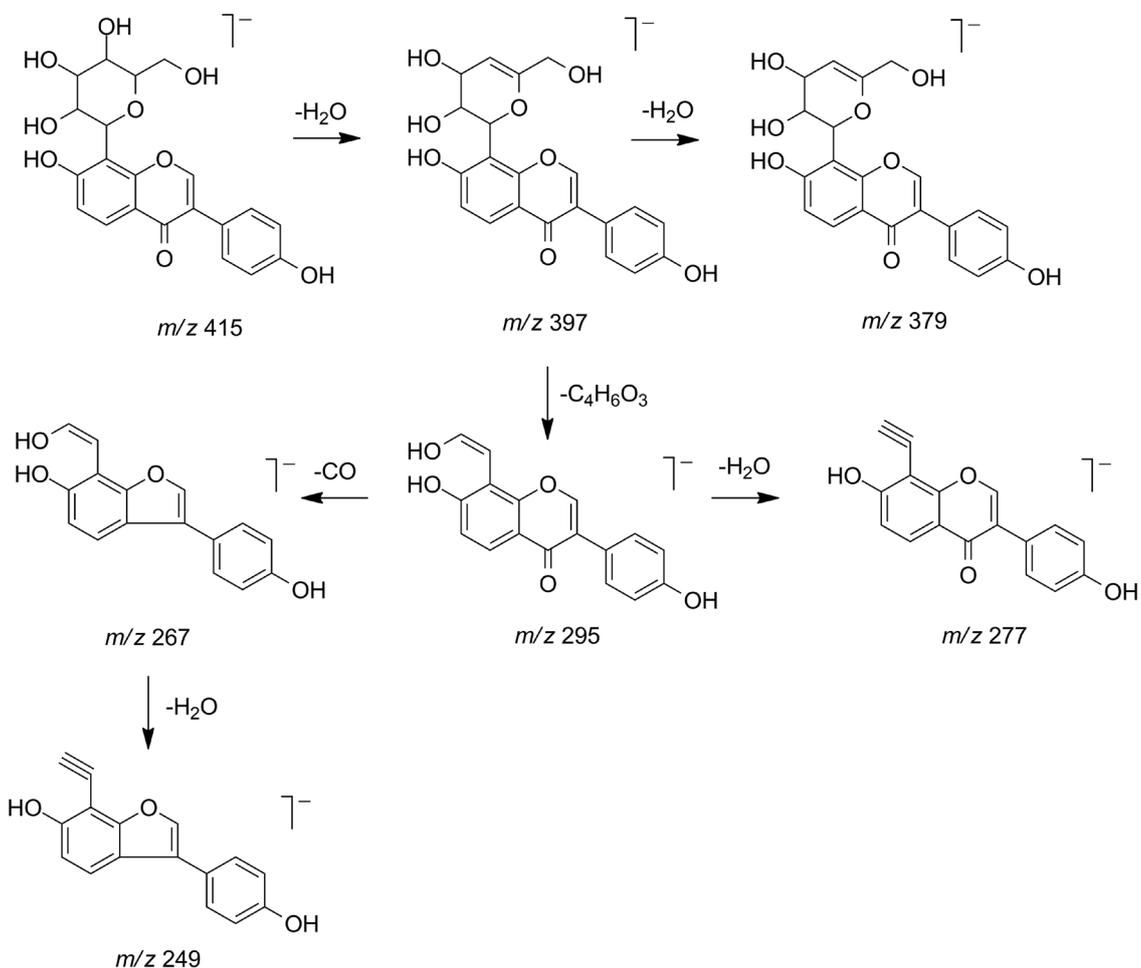


Figura 8. Proposta de fragmentação para daidzeína-8-C-glicosídeo (6) (Adaptado de ZHAO et al., 2018).

4 | CONCLUSÃO

O estudo da fração aquosa das folhas de *M. acutifolium* por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodo sugeriu a presença de flavonóis e isoflavonoide. A análise dos espectros UV e a comparação com padrões autênticos de rutina e quercetina confirmou a presença da rutina. A investigação por espectrometria de massas permitiu a identificação dos flavonoides canferol-3-*O*-rutinosil-7-*O*-diramnosídeo (1), quercetina-3-*O*-rutinosil-7-*O*-ramnosídeo (2), rutina (3), canferol-3-*O*-rutinosídeo (4) e canferol-3-*O*-glicosídeo (5) e dos isoflavonoides daidzeína-8-*C*-glicosídeo (6) e genisteína (7). Este é o primeiro relato dos compostos 1 a 7 no gênero *Machaerium*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FAPES pelo apoio financeiro e pelas bolsas de L. R. Santos, R. P. Sousa, J. S. Freitas, B. Q. Araújo (356/18;83552723) e M. H. Chaves (302470/2018-2) e ao INCTBioNat (465637/2014-0).

REFERÊNCIAS

- ABLAJAN, K. A study of characteristic fragmentation of isoflavonoids by using negative ion ESI-MSⁿ. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 46, n. 1, p. 77-84, 2010.
- ABLAJAN, K et al. Structural characterization of flavonol 3,7-di-O-glycosides and determination of the glycosylation position by using negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 41, n. 3, p. 352-360, 2006.
- AMEN, Y. M.; MARZOUK, A. M.; ZAGHLOUL, M. G. AFIFI, M. S. The genus *Machaerium* (Fabaceae): taxonomy, phytochemistry, traditional uses and biological activities. **Natural Product Research**, v. 29, n. 15, p. 1388-1405, 2015.
- BARBOSA, W.L.R.; PINTO, L.N. Documentação e valorização da fitoterapia tradicional Kayapó nas aldeias A'Ukre e Pykanu - sudeste do Pará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 47-49, 2003.
- BRESCIANI et al. (Poly)phenolic characterization of three food supplements containing 36 different fruits, vegetables and berries. **Pharma Nutrition**, v. 3, n. 2, p. 11–19, 2015.
- CHAVES, M. H. Análise de extratos de plantas por CCD: uma metodologia aplicada à disciplina “química orgânica”. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 560-562, 1997.
- CRUPI P., GENGGHI R., ANTONACCI D. In-time and in-space tandem mass spectrometry to determine the metabolic profiling of flavonoids in a typical sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivar from Southern Italy. **Journal of Mass Spectrometry**. v. 49, n. 10, p. 1025-1034, 2014.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 2009, 539 p.
- ES-SAFI, N. E et al. Application of ESI/MS, CID/MS and tandem MS/MS to the fragmentation study of eriodictyol 7-O-glucosyl-(1→2)-glucoside and luteolin 7-Oglucosyl-(1→2)-glucoside. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 247, n. 1-3, p. 93-100, 2005.
- HUGHES, R. J. et al. Atandem mass spectrometric study of selected characteristic flavonoids. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 210-211, p. 371-385, 2001.
- LORENZI, H. **Arvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998, v.2.
- MABRY, T. J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The systematic identification of flavonoids**. Springer-Verlag: New York, 1970.
- MARCH, R. E. et al. A fragmentation study of an isoflavone glycoside, genistein-7-O-glucoside, using electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry at high mass resolution. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 232, n. 2, p. 171-183, 2004.
- OLLIS, W. D. et al. Petrostyrene, a cinnamylphenol form *Machaerium acutifolium*. **Phytochemistry**, v. 17, n. 8, p. 1379-1381, 1978.
- PINHEIRO, P. F., JUSTINO, G. C. Structural Analysis of Flavonoids and Related Compounds - A Review of Spectroscopic Applications, Phytochemicals - **A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health**, Dr Venketeshwer Rao ISBN: 978-953-51-0296-0, InTech, 2012.
- POLIDO, C. A.; SARTORI, A. L. B. O gênero *Machaerium* (Leguminosae-Papilionoideae-Dalbergieae) no pantanal brasileiro. **Rodriguésia**, v. 58, n. 2, p. 313-329, 2007.

POVH, J. A.; PINTO, D. D; CORRÊA, M. O. G.; ONO, E. O. Atividade alelopática de *Machaerium acutifolium* Vog. na germinação de *Lactuca sativa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 447-449, 2007.

PRASAIN, J. K et al. Mass spectrometric methods for the analysis of chlorinated and nitrated isoflavonoids: a novel class of biological metabolites. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 38, n. 7, p. 764-771, 2003.

ROSA, P. A. L. et al. Recuperação de um solo de cerrado após 19 anos: ocorrência espontânea de espécies arbóreas. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 1, n. 1, p. 44-57, 2014.

TROALEN, L. G. et al. Historical textile dyeing with *Genista tinctoria* L.: a comprehensive study by UPLC-MS/MS analysis. **Analytical Methods**, v. 6, n. p. 8915-8923, 2004

UMEHARA, K et al. Estrogenic constituents of the heartwood of *Dalbergia parviflora*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 546-552, 2008.

UMEHARA, K et al. Flavonoids from the Heartwood of the Thai Medicinal Plant *Dalbergia parviflora* and Their Effects on Estrogenic-Responsive Human Breast Cancer Cells. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 2163-2168, 2009.

VUKICS, V., GUTTMAN, A. Structural characterization of flavonoid glycosides by multi-stage mass spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 29, n. 1, p. 1-16, 2010.

YE et al. Characterization of flavonoids in *Millettia nitida* var. *hirsutissima* by HPLC/DAD/ESI-MSⁿ. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 2, n. 1, p. 35-42, 2012.

ZHAO, W et al. Rapid Screening and Identification of Daidzein Metabolites in Rats Based on UHPLC-LTQ-Orbitrap Mass Spectrometry Coupled with Data-Mining Technologies. **Molecules**, v. 23, n. 1, p. 1-24, 2018.

SOBRE A ORGANIZADORA

RENATA MENDES DE FREITAS - Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Minas Gerais, concluída em 2011; mestrado em Genética e Biotecnologia (2014) também pela Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). É Doutora em Ciências (2018) pelo Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, na área temática de genética e epidemiologia. Atualmente é professora do ensino a distância na Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), no curso de Ciências Biológicas, lecionando a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso I (TCC1) e pós-docanda do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), onde desenvolve projetos de pesquisas relacionados à epidemiologia molecular do câncer de mama e tumores pediátricos, incluindo aconselhamento e rastreamento genético de grupos com predisposição ao câncer hereditário.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abalos sísmicos 96, 98, 99, 102, 103, 104, 107
Abundância relativa 28, 29, 30, 31, 37
Anatomia humana 67, 95, 186, 187, 189
Animais 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 25, 30, 62, 64, 73, 74, 169, 171, 172, 192, 211, 233
Antropocentrismo 10
Atividades biológicas 119, 159, 161, 163, 164, 165
Aulas práticas 24, 59, 92, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138
Autismo 175, 176, 178, 184, 185
Aves marinhas 190, 191, 192, 193, 194, 196, 205, 206, 207, 209, 212, 221, 222
Avifauna 196, 206, 208, 210, 211, 212, 213, 220, 221, 223, 224, 226, 236, 237, 238, 239

B

Biodegradação 2, 5, 7, 9
Biodiversidade 8, 28, 29, 30, 38, 39, 47, 48, 49, 50, 54, 55, 116, 159, 160, 169, 190, 211, 237
Biologia evolutiva 68, 69, 70, 71, 144, 145, 146, 148, 150, 151, 153, 155, 156

C

Comércio ilegal 10, 13, 14, 15, 20, 21
Comunidade rural 168, 169

D

Desastres naturais 96, 98
Desenvolvimento embrionário 73, 74, 75, 80, 81, 82, 84
Divulgação científica 57, 58, 64, 67, 152, 155, 157
Doenças tropicais 139, 140

E

Ecotoxicidade 2, 3
Educação especial 174, 175, 184
Educação não formal 57, 58, 63, 64, 66
Embriologia humana 131
Ensino de biologia 69, 144, 155, 156, 174
Ensino de histologia 95, 137
Espectrometria de massas 118, 120, 123, 127

F

Fatores abióticos 109, 110, 111, 112, 116, 192
Fatores oceanográficos 190, 192
Flavonóides 120, 162

G

Germoplasma 47, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56

I

Interações ecológicas 24, 168, 172

Interdisciplinaridade 58, 68, 69, 70, 105, 131, 156, 178

J

Jogo pedagógico 40, 44

L

Lacase 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

Livro paradidático 144, 146, 147, 148, 151, 153, 155, 156

M

Manguezal 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 172

Material didático 85, 145, 154

Metodologias ativas 23, 27

Micropropagação 47, 51, 52, 54, 55

P

Práticas experimentais 73

Problemas ambientais 23, 24, 25, 26

R

Recursos audiovisuais 23, 177, 185

T

Tefritídeos 109, 110, 113, 115, 116

Terremotos no Brasil 96, 97, 98, 102, 104, 105, 107

V

Variação sazonal 211, 220, 222

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-782-6



9 788572 477826