

# CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: CAMPO PROMISSOR EM PESQUISA 3

JOSÉ MAX BARBOSA DE OLIVEIRA JUNIOR  
LENIZE BATISTA CALVÃO  
(ORGANIZADORES)



# CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: CAMPO PROMISSOR EM PESQUISA 3

JOSÉ MAX BARBOSA DE OLIVEIRA JUNIOR  
LENIZE BATISTA CALVÃO  
(ORGANIZADORES)



2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação:** Geraldo Alves

**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. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

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 Internazionale delle Figlie di 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 Pietrobon – 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. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

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  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
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 Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
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 Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
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  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
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  
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
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

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Msc. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Msc. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Msc. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Msc. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Msc. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Msc. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>a</sup> Msc. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Msc. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof. Msc. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual de Maringá  
Prof. Msc. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>a</sup> Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof<sup>a</sup> Msc. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C569 Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa 3 / Organizadores José Max Barbosa de Oliveira Junior, Lenize Batista Calvão. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2020. – (Ciências Biológicas. Campo Promissor em Pesquisa; v. 3)

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-85-7247-925-7  
DOI 10.22533/at.ed.257201601

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Oliveira Júnior, José Max Barbosa de. II. Calvão, Lenize Batista. III. Série.

CDD 570

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

O E-book “**Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa 3**” é composto por 32 capítulos. Nesse volume, são abordados distintos tópicos nas áreas de biotecnologia, citologia, genética, saúde humana, educação, importância de condições ambientais que as espécies estão inseridas, bem como, potenciais espécies invasoras que podem ser nocivas ao meio ambiente. No cenário atual de mudanças ambientais correntes e avanços tecnológicos é extremamente importante o uso adequado de técnicas em cada área. Interações entre espécies são difíceis de serem mensuradas na natureza. Mutualismo é um tipo de relação simbiótica essencial, em que ambos os organismos se beneficiam na relação. Estudos que abordam essa temática são muito relevantes para compreensão da relação de dependência ou não que os organismos estabelecem para se manterem em um determinado ambiente.

O E-book também traz capítulos que abordam estratégias didáticas para alunos da educação básica e da graduação. O ensino de ciências precisa ser cada vez mais divulgado e exige interatividade e criatividade para seu sucesso em sala de aula, o uso de modelos confeccionados ou a própria produção de material manual pode auxiliar no aprendizado dos jovens.

O tema sobre saúde humana se encontra em pauta trazendo o uso de células tronco para recuperação do tecido lesionado por queimadura, esse é um avanço que pode ser continuamente avaliado. Outro fator essencial associado a saúde humana é a manipulação de produtos altamente comercializáveis, como açaí na região amazônica, o qual sugere a pasteurização como tratamento térmico pelas indústrias produtoras.

As aplicações de técnicas adequadas de biotecnologia que envolvem transgenia, genética com a busca de marcadores e melhoramento genético e parasitologia são extremamente importantes para uso de produtos eficazes em diversas áreas. Adicionalmente, análises citogenéticas, histoquímicas e toxicológicas fornecem informações que são relevantes e inovadoras para contemporaneidade.

Convidamos os leitores a lerem os capítulos desse livro com muita atenção, e desejamos que cada conteúdo abordado aqui seja útil na vida acadêmica. A linguagem acessível e no idioma português facilita o acesso tanto para grupos de pesquisas como para jovens pesquisadores da área científica.

Excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior  
Lenize Batista Calvão

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A OCORRÊNCIA DE <i>Eichhornia crassipes</i> , ESPÉCIE PERIGOSA E INVASORA EM UM LAGO OXBOW DA AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL	
João Lucas Correa de Souza Jocilene Braga dos Santos Erlei Cassiano Keppeler	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2572016011</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO NA TERAPIA DE REPARAÇÃO TECIDUAL DE QUEIMADURAS: CÉLULAS ADULTAS PROVENIENTES DO TECIDO ADIPOSEO E DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS	
Leandro Dobrachinski Sílvio Terra Stefanello Caren Rigon Mizdal Darlaine Alves da Silva Vitória Silva Ferreira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2572016012</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>19</b>
ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE POLPAS DE AÇAÍ COMERCIALIZADAS NO MUNICÍPIO DE BARRA DO BUGRES-MT	
Juliane Pereira de Oliveira Carine Schmitt Gregolin Caloi Carla Andressa Lacerda de Oliveira Rosimeire Oenning da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2572016013</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>27</b>
ANÁLISE IN SILICO DO GENOMA DA MANDIOCA ( <i>Manihot esculenta</i> CRANTZ) PARA O EXTREMO SUL DA BAHIA: IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES E GENES CANDIDATOS PARA ESTUDO DE EXPRESSÃO GÊNICA	
Tamy Alves de Matos Rodrigues Lívia Santos Lima Lemos Breno Meirelles Costa Brito Passos Jeilly Vivianne Ribeiro da Silva Berbert de Carvalho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.2572016014</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>37</b>
AÇÃO DE EXTRATOS E BIOCOMPOSTOS DE <i>Himatanthus lancifolius</i> (Müll. Arg.) Woodson NO CONTROLE DA PROLIFERAÇÃO CELULAR E INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS CULTIVADAS DE MELANOMA MURINO B16-F10	
Lucimar Pereira de França Silvana Gaiba Elias Jorge Muniz Seif Flávia Costa Santos Ana Carolina Moraes Fernandes Luiz Alberto Mattos Silva Jerônimo Pereira de França Lydia Masako Ferreira	

Alba Lucilvânia Fonseca Chaves

DOI 10.22533/at.ed.2572016015

**CAPÍTULO 6 ..... 49**

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE COMPOSTOS FTALIMÍDICOS**

João Ricardhis Saturnino de Oliveira  
Vera Cristina Oliveira de Carvalho  
Vera Lúcia de Menezes Lima

DOI 10.22533/at.ed.2572016016

**CAPÍTULO 7 ..... 59**

**AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS QUANTITATIVAS E QUALITATIVAS NO DIAGNÓSTICO DE PARASITOLOGIA**

Elizandra Landolpho Costa Pedrosa  
Ana Luiza do Rosário Palma  
Simone Aparecida Biazzi de Lapena  
Ana Gabriela Rodrigues  
Andrezza Vaz Miao  
Angelica Kimiko Kawasaka  
Bruna Patrícia Menezes da Silva  
Michele de Oliveira Maciel de Holanda

DOI 10.22533/at.ed.2572016017

**CAPÍTULO 8 ..... 67**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA CASCA DA LUEHEA DIVARICATA**

Jadiel de Abreu Pimenta Lins  
Antonio Carlos Romão Borges  
Aruanã Joaquim M. Costa R. Pinheiro  
Lídio Gonçalves Lima Neto  
Marilene Oliveira da Rocha Borges

DOI 10.22533/at.ed.2572016018

**CAPÍTULO 9 ..... 100**

**CHEMICAL MANAGEMENT OF *Bidens pilosa* (L.) and *Euphorbia heterophylla* (L.) AND SEED GERMINATION IN GENETICALLY MODIFIED SOYBEAN**

André Luiz de Souza Lacerda  
Edgar Gomes Ferreira de Beauclair  
Daniel Andrade de Siqueira Franco  
Luis D. Honma  
Marcus Barifouse Matallo

DOI 10.22533/at.ed.2572016019

**CAPÍTULO 10 ..... 114**

**CITOQUÍMICA E VIABILIDADE POLÍNICA DE *Theobroma speciosum* Willd. ex Spreng (*Malvaceae*)**

Uéilton Alves de Oliveira  
Alex Souza Rodrigues  
Elisa dos Santos Cardoso  
Eliane Cristina Moreno de Pedri  
Juliana de Freitas Encinas Dardengo  
Patrícia Ana de Souza Fagundes

Rosimeire Barboza Bispo

Ana Aparecida Bandini Rossi

**DOI 10.22533/at.ed.25720160110**

**CAPÍTULO 11 ..... 124**

**COMO ISOLAR PROTEÍNAS APOPLÁSTICAS: UMA ESTRATÉGIA DE PESQUISA DA INTERAÇÃO PLANTA-PATÓGENO**

Ivina Barbosa de Oliveira

Carlos Priminho Pirovani

Karina Peres Gramacho

Juliano Oliveira Santana

**DOI 10.22533/at.ed.25720160111**

**CAPÍTULO 12 ..... 145**

**DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE INDIVÍDUOS DE *Theobroma speciosum* Willd. ex Spreng (*Malvaceae*) EM PARQUE URBANO FLORESTAL**

Juliana de Freitas Encinas Dardengo

Uéilton Alves de Oliveira

Tatiane Lemos Varella

Greiciele Farias da Silveira

Maicon Douglas Arenas de Souza

Kelli Évelin Muller Zortea

Ana Aparecida Bandini Rossi

**DOI 10.22533/at.ed.25720160112**

**CAPÍTULO 13 ..... 157**

**EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS E CRESCIMENTO MICELIAL DE FUNGO DA ANTRACNOSE – *Colletotrichum acutatum***

Gabriela Gonçalves Nunes

Guilherme Feitosa do Nascimento

Lélia Cristina Tenório Leoi Romeiro

**DOI 10.22533/at.ed.25720160113**

**CAPÍTULO 14 ..... 169**

**ESTRUTURA GENÉTICA DE MANDIOCAS CULTIVADAS NA AMAZÔNIA NORTE MATO-GROSSENSE**

Auana Vicente Tiago

Ana Aparecida Bandini Rossi

Eliane Cristina Moreno de Pedri

Fernando Saragosa Rossi

Vinicius Delgado da Rocha

Joameson Antunes Lima

Eulalia Soler Sobreira Hoogerheide

Larissa Lemes dos Santos

Elisa dos Santos Cardoso

Sérgio Alessandro Machado Souza

**DOI 10.22533/at.ed.25720160114**

**CAPÍTULO 15 ..... 180**

ESTUDO MORFOLÓGICO E HISTOQUÍMICO DE *Adiantum latifolium* Lam. (PTERIDACEAE, PTERIDOPHYTA) OCORRENTE NO CAMPUS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ – UESC – ILHÉUS – BA

Matheus Bomfim da Cruz  
Alba Lucilvânia Fonseca Chaves  
Aline Oliveira da Conceição  
Leticia de Almeida Oliveira  
Juliana Silva Villela  
Jerônimo Pereira de França  
Lucimar Pereira de França

**DOI 10.22533/at.ed.25720160115**

**CAPÍTULO 16 ..... 191**

ESTUDO DE MORFOLOGIA E HISTOQUÍMICA DA ESPÉCIE *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) Copel, *Polypodiaceae* - *pteridófito* - CORRENTE NO CAMPUS DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ(UESC)

Juliana Silva Villela  
Alba Lucilvânia Fonseca Chaves  
Letícia de Almeida Oliveira  
Matheus Bomfim da Cruz  
Aline Oliveira da Conceição  
Jerônimo Pereira de França  
Lucimar Pereira de França

**DOI 10.22533/at.ed.25720160116**

**CAPÍTULO 17 ..... 202**

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DE SUSPENSÕES CELULARES DE DENDEZEIRO *Elaeis guineensis* Jacq.

Marlúcia Souza Pádua Vilela  
Raissa Silveira Santos  
Jéssica de Castro e Carvalho  
Vanessa Cristina Stein  
Luciano Vilela Paiva

**DOI 10.22533/at.ed.25720160117**

**CAPÍTULO 18 ..... 218**

HISTOQUÍMICA, ATIVIDADE CITOTÓXICA E MELANOGÊNICA DAS FLORES DE *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers EM CÉLULAS DE MELANOMA MURINO B16-F10 EXPOSTA À RADIAÇÃO UVA E UVC

Elias Jorge Muniz Seif  
Alba Lucilvânia Fonseca Chaves  
Silvana Gaiba  
Bruna Bomfim dos Santos  
Ana Carolina Morais Fernandes  
Luiz Alberto Mattos Silva  
Lydia Masako Ferreira  
Jerônimo Pereira de França  
Lucimar Pereira de França

**DOI 10.22533/at.ed.25720160118**

<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>231</b>
IMPLEMENTAÇÃO DO ENSAIO TOXICOLÓGICO UTILIZANDO <i>Artemia salina</i> : DETERMINAÇÃO DA LC <sub>50</sub> DO PINHÃO E DA GOIABA SERRANA	
Gabriele da Silva Santos Marcel Piovezan	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160119</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>241</b>
INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA DIABETES MELLITUS NO BRASIL	
Isabela Santos Lima Beatriz Júlia Pimenta Nathália Muricy Costa Viviane Francisco dos Santos Bruna Cristina Campos Pereira Jéssica dos Santos Fernandes Maristela Lúcia Soares Campos Eloisa Araújo de Souza Ketlin Lorraine Barbosa Silva Izabel Mendes de Souza Iara Macário Silverio Marianne Lucena da silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160120</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>250</b>
MORFOLOGIA DA TRAQUEIA E RAMIFICAÇÃO BRONQUICA DE <i>Megaceryle torquata</i> (LINNAEUS, 1766) (ORDEM CORACIIFORME, FAMÍLIA <i>Alcedinidae</i> ), MARTIM-PESCADOR-GRANDE	
Thaysa Costa Hurtado Gerlane de Medeiros Costa Áurea Regina Alves Ignácio Manoel dos Santos Filho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160121</b>	
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>258</b>
MUTUALISMO ENTRE A MACROALGA <i>Chara vulgaris</i> Linnaeus 1753 e a MACRÓFITA AQUÁTICA <i>Lemna cf. valdiviana</i> Phil, NA ÉPOCA DA ENCHENTE, MÂNCIO LIMA, ACRE	
Jocilene Braga dos Santos João Lucas Correa de Souza Erlei Cassiano Keppeler	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160122</b>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>266</b>
PRODUTOS NATURAIS APLICADOS COMO FOTOSSENSIBILIZADORES NA TERAPIA FOTODINÂMICA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
Beatriz Santana Rocha Cláudia Sampaio de Andrade Lima Ricardo Yara	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160123</b>	

**CAPÍTULO 24 ..... 279**

**O USO DE MODELOS NO PROCESSO ENSINO/APRENDIZAGEM APLICADOS À PARASITOLOGIA E ENTOMOLOGIA**

Sílvia Maria Santos Carvalho  
Kaique Santos Reis  
Raquel dos Santos Damasceno  
Juliana Almeida da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.25720160124**

**CAPÍTULO 25 ..... 285**

**PRODUÇÃO DE MATERIAL DIDÁTICO HISTOLÓGICO PARA OS CURSOS DE GRADUAÇÃO DA ÁREA DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**

Krisnayne Santos Ribeiro  
Hudson Sá Sodr e  
Rhuan Victor Pereira Morais  
Ana Luísa Silva Costa  
Iuri Prates Souza  
Aparecida do Carmo Zerbo Tremacoldi  
Tania Barth

**DOI 10.22533/at.ed.25720160125**

**CAPÍTULO 26 ..... 292**

**SINDROMES HIPERTENSIVAS NA GRAVIDEZ**

Ana Patrícia Fonseca Coelho Galvão  
Benedita Célia Leão Gomes  
Joelma de Jesus Oliveira  
Keile de Kassia de Oliveira Mendes

**DOI 10.22533/at.ed.25720160126**

**CAPÍTULO 27 ..... 299**

**TOXICOLOGIA ORAL AGUDA DE *Bacillus thuringiensis* EM RATOS WISTAR**

Shana Letícia Felice Wiest  
Harry Luiz Pilz Júnior  
Natascha Horn  
Diouneia Lisiane Berlitz  
Lidia Mariana Fiuza

**DOI 10.22533/at.ed.25720160127**

**CAPÍTULO 28 ..... 312**

**UTILIZAÇÃO DE METODOLOGIAS ALTERNATIVAS NA PRÁTICA DE ENSINO DE BIOQUÍMICA: UMA EXPERIÊNCIA NO ENSINO SUPERIOR**

Lázaro de Sousa Fideles  
Maria Lucianny Lima Barbosa  
João Vitor da Silva Alves  
Maria de Fátima Faustino Araújo  
Amanda Alves Feitosa  
Luciene Ferreira de Lima  
Cleidivan Afonso de Brito  
Claudio Silva Teixeira  
Gilberto Santos Cerqueira  
João Ant nio Leal de Miranda

**DOI 10.22533/at.ed.25720160128**

<b>CAPÍTULO 29 .....</b>	<b>323</b>
<b>A RELEVÂNCIA DA IMAGINOLOGIA TORÁCICA NA INVESTIGAÇÃO DE METÁSTASE EM CADELAS COM NEOPLASIAS MAMÁRIAS</b>	
Vera Lúcia Teodoro dos Santos	
Rosângela Silqueira Hickson Rios	
Vinicius dos Reis Silva	
Larissa Cristine Lopes Soares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160129</b>	
<b>CAPÍTULO 30 .....</b>	<b>334</b>
<b>EFEITOS GENOTÓXICOS EM TÉTRADES DE <i>Tradescantia pallida</i> INDUZIDOS POR POLUENTES ATMOSFÉRICOS NA CIDADE DE JOINVILLE, SANTA CATARINA, BRASIL</b>	
Bruna Tays Hartelt	
Valéria Cristina Rufo Vetorazzi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160130</b>	
<b>CAPÍTULO 31 .....</b>	<b>353</b>
<b>GENOTIPAGEM DO CYP2C9 PARA ENSAIOS FARMACOGENÉTICOS A PARTIR DE AMOSTRAS DE SALIVA: ESTUDO PILOTO</b>	
Bruna Bolani	
Gabriela de Moraes Oliveira	
Giovana Maria Weckwerth	
Lohayne Berlato Ferrari	
Núbia Vieira Alves	
Thiago José Dionísio	
Flávio Augusto Cardoso de Faria	
Carlos Ferreira dos Santos	
Adriana Maria Calvo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.25720160131</b>	
<b>SOBRE OS ORGANIZADORES.....</b>	<b>364</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO .....</b>	<b>365</b>

## TOXICOLOGIA ORAL AGUDA DE *Bacillus thuringiensis* EM RATOS WISTAR

Data de aceite: 12/12/2019

### Shana Letícia Felice Wiest

PPG - Biologia, UNISINOS, Av. Unisinos, 950,  
São Leopoldo, RS, CEP: 93022-000

### Harry Luiz Pilz Júnior

ICBS - Departamento de Parasitologia, UFRGS,  
Rua Sarmiento Leite, 500, Porto Alegre, RS, CEP  
90050-170

### Natascha Horn

PPG - Biologia, UNISINOS, Av. Unisinos, 950,  
São Leopoldo, RS CEP: 93022-000

### Diouneia Lisiane Berlitz

DLB Soluções Biológicas. R. Heitor Arlindo Berg,  
nº 1158, Rolante, RS. Cep 95690-000

### Lidia Mariana Fiuza

ICB BIOAGRITEC LTDA. Rua Arabutã, nº 386,  
Navegantes, Porto Alegre, RS. Cep 90240-470.  
Email: fiuzalm@gmail.com

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito toxicológico, *in vivo*, de duas novas cepas de *Bacillus thuringiensis* (MTox 2638-1 e MTox 2974-11) em ratos, via oral. Os ratos *Wistar* machos foram tratados com a suspensão bacteriana, o sobrenadante e as proteínas sintetizadas pelas cepas, assim como o controle com *BTh Thuricide* 63, nos intervalos: 0; 24; 48h. Utilizou-se 5 ratos/tratamento, individualizados, com livre acesso à ração e água. Após 48h da aplicação dos tratamentos (HAT), os animais

foram eutanasiados e o conteúdo estomacal e estômagos coletados para observação em estereomicroscópio. As fezes foram coletadas em 24 e 48 HAT e as amostras foram analisadas em eletroforese, em gel de poliacrilamida a 10%. Foi avaliada a presença de esporos de *B. thuringiensis* no trato gastrointestinal, cada animal foi pesado no início e no final dos tratamentos e avaliou-se o consumo de ração e água. Os resultados mostraram que nenhum dos tratamentos foi tóxico, sendo que os ratos não apresentaram sintomas de intoxicação ou alterações morfológicas nos estômagos. Não foram observadas diferenças significativas na perda ou no ganho de peso, bem como no consumo de água entre o grupo controle e os tratamentos. O consumo de ração variou significativamente apenas entre os ratos tratados com MTox 2638-1. A eletroforese SDS-PAGE revelou proteínas Cry nas amostras, e também foram observados esporos bacterianos no trato gastrointestinal e nas fezes dos animais. Assim, em ensaios de administração oral aguda, as cepas de *B. thuringiensis* avaliadas mostraram-se inócuas a esse grupo de vertebrados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biopesticidas, mamíferos, toxicidade, gastrointestinal.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate the *in vivo* toxicological effect of two new strains of *Bacillus thuringiensis* (MTox

2638-1 and MTox 2974-11) in rats orally. Male Wistar rats were treated with the bacterial suspension, supernatant and protein synthesized by the strains, as well as the BTh Thuricide 63 control at the intervals: 0; 24; 48h Five individualized rats / treatment with free access to feed and water were used. After 48h of the application of the treatments (HAT), the animals were euthanized and the stomach contents and stomachs collected for observation in stereomicroscope. The feces were collected at 24 and 48 HAT and the samples were analyzed by electrophoresis on SDS-PAGE 10%. The presence of *B. thuringiensis* spores in the gastrointestinal tract was evaluated, each animal was weighed at the beginning and at the end of the treatments and the feed and water consumption were evaluated. The results showed that none of the treatments was toxic, and the rats showed no symptoms of intoxication or morphological changes in their stomachs. No significant differences were observed in weight loss or gain, as well as in water consumption between the control group and the treatments. Feed intake varied significantly only among rats treated with MTox 2638-1. SDS-PAGE electrophoresis revealed Cry proteins in the samples, and bacterial spores were also observed in the gastrointestinal tract and animal feces. Thus, in acute oral administration assays, the *B. thuringiensis* strains evaluated were safe to this vertebrate group.

**KEYWORDS:** Biopesticides, mammals, toxicity, gastrointestinal.

## 1 | INTRODUÇÃO

A característica entomopatogênica atribuída às cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (1911) (*Bt*) está associada a sua capacidade de produzir proteínas que são altamente tóxicas e eficazes contra diversas ordens de insetos, considerados pragas agrícolas ou florestais, ou ainda vetores de doenças de grande relevância sanitária como a dengue e a malária (BERLITZ et al., 2012; BRAVO et al., 2012; CAMPANINI et al., 2012; PARDO-LÓPEZ et al., 2013). Com alta especificidade de hospedeiros, as proteínas tóxicas de *B. thuringiensis*, juntamente com seus esporos, são empregadas no combate das fases larvais de insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Homoptera, Orthoptera e Mallophaga e também no controle de nematoides, platelmintos e protozoários (BRAVO et al., 2012; PARDO-LÓPEZ et al., 2013).

Para diminuir os impactos causados por esses insetos, a bactéria *B. thuringiensis* é amplamente utilizada na formulação de biopesticidas e no desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas que expressam os genes sintetizadores de suas proteínas tóxicas (GOUFFON et al., 2011; SHARMA et al., 2010). O grupo mais bem estudado e utilizado de proteínas inseticidas de *B. thuringiensis* é o das  $\delta$ -endotoxinas, que compreende duas famílias multigênicas de inclusões cristalinas paraesporais: as proteínas cristais (Cry), que exibem efeito tóxico para organismos alvo e na forma inativa apresentam massa molecular entre 130 e 140 kDa, e as

toxinas citolíticas (Cyt), que apresentam atividade hemolítica (SOBERÓN et al., 2010). A maioria das  $\delta$ -endotoxinas é sintetizada durante a fase de esporulação por genes localizados em plasmídeos auto transmissíveis (SANAHUJA et al., 2011; SANTOS et al., 2010).

No entanto, algumas subespécies de *B. thuringiensis* são capazes de sintetizar thuringiensinas, também conhecidas como  $\beta$ -exotoxinas, que são toxinas não proteicas, com baixo peso molecular (701 Da), produzidas durante a fase vegetativa e secretadas no meio de cultura onde a bactéria estiver inoculada (OBEIDAT et al., 2012). Análogas ao nucleotídeo adenina, as  $\beta$ -exotoxinas inibem a RNA polimerase através da competição com ATP, bloqueando a ação de nucleases, impedindo a biossíntese de RNA e prejudicando a formação do fuso mitótico, afetando etapas críticas da metamorfose e, assim, apresentam amplo espectro de toxicidade não específica (BELDER & ELDERSON, 2010; OBEIDAT et al., 2012). Devido à sua toxicidade a vertebrados, especialmente no que se refere aos efeitos teratogênicos e mutagênicos em mamíferos, desde 1970, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que as cepas de *B. thuringiensis* que produzem  $\beta$ -exotoxinas não devem ser usadas no controle de insetos (CORRÊA, 2012; DE MACEDO, 2012).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito toxicológico, *in vivo*, de duas novas cepas de *B. thuringiensis* em ratos *Wistar*, através da verificação de dose-efeito, com ensaios de administração via oral.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados com aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), que possui constituição, deveres e responsabilidades regidos pela Lei nº 11.794, de 2008. Todas as práticas foram realizadas de acordo com a Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais (Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008) (BRASIL, 2008); a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos; as Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA e a Resolução Unisinos 04/2013. Os experimentos foram realizados na Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil.

As duas novas cepas de *B. thuringiensis* (MTox 2974-11 e MTox 2638-1) foram obtidas da Coleção do Grupo de MTAgro (CNPq/IRGA). Como controle positivo, foi utilizada a cepa *BTh Thuricide 63* (*B. thuringiensis thuringiensis*) correspondente ao produto *Thuricide*<sup>®</sup>, fornecido pelo *International Entomopathogenic Bacillus Centre* (IEBC), do Instituto Pasteur, Paris, França. O crescimento bacteriano foi realizado em meio usual glicosado líquido (DE BARJAC & LECADET, 1976). As suspensões bacterianas foram diluídas em tampão PBS de fosfato de sódio. Os sobrenadantes das culturas de cada cepa foram autoclavados a 121° C, durante 20 minutos, conforme

descrito por Liu et al. (2014), para que fossem mantidas apenas as  $\beta$ -exotoxinas, quando sintetizadas. A semipurificação das proteínas foi realizada através de uma série de lavagens das suspensões bacterianas em tampão fosfato e tampão fosfato suplementado com NaCl. A concentração proteica foi determinada pelo método de Bradford (1976).

Foram utilizados 50 ratos machos adultos, da linhagem *Wistar*, com idade variando entre 80 a 115 dias, obtidos no biotério da Unisinos. Os animais foram mantidos individualizados, em caixas de polipropileno, com livre acesso à água e comida, em condições controladas de 21° C e fotoperíodo de 12 h.

Os ratos *Wistar* receberam os seguintes tratamentos: T1 (suspensão da cepa MTox 2974-11); T2 (suspensão da cepa MTox 2638-1); T3 (suspensão da cepa *BTh Thuricide* 63); T4 (sobrenadante da cepa MTox 2974-11); T5 (sobrenadante da cepa MTox 2638-1); T6 (sobrenadante da cepa *BTh Thuricide* 63); T7 (proteína semipurificada da cepa MTox 2974-11); T8 (proteína semipurificada da cepa MTox 2638-1); T9 (proteína semipurificada da cepa *BTh Thuricide* 63); T10 (controle PBS de sódio pH 7,4). Cada tratamento foi composto por 5 animais, sendo a dose administrada equivalente a 25 mL/kg. Todos os tratamentos tiveram um volume final de 400  $\mu$ L, sendo diluídos em PBS de sódio (pH 7,4). A administração desses tratamentos foi via intragástrica, nos tempos de 0, 12 e 24 horas.

Foi realizada em 24 e 48 horas após a aplicação dos tratamentos (HAT), a coleta das fezes total de cada animal. Os ratos foram sacrificados em 48 HAT, quando foi coletado o conteúdo estomacal e intestinal para análise do perfil proteico, juntamente com as fezes, em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE - 10%) (LAEMMLI, 1970). Os estômagos foram avaliados em estereomicroscopia (40x), conforme protocolo adaptado de Marroni et al. (1994). Cada animal foi pesado no início e no fim dos tratamentos. Também foi avaliado o consumo de ração e água pelos ratos, ao final dos tratamentos.

Para verificar a presença de esporos de *B. thuringiensis* no trato gastrointestinal dos ratos, o conteúdo estomacal, intestinal e as fezes coletadas dos animais foram homogeneizados em solução salina estéril e uma alíquota de 1000  $\mu$ L foi utilizada para o processo de pasteurização (12 min, a 80°C, e 5 min a 4° C), visando à seleção das bactérias esporulantes. Após foram realizadas diluições seriadas a 10<sup>-2</sup> e uma alíquota de 100  $\mu$ L foi semeada em Ágar Nutriente, em triplicatas e, incubados a 37° C, durante 24 h. As colônias crescidas foram isoladas em meio usual glicosado líquido, suplementado com penicilina, permanecendo em crescimento sob agitação (180 rpm), a 30°C, durante 24 h. As culturas bacterianas com crescimento positivo foram analisadas em microscopia de contraste de fase, para a identificação da presença de *B. thuringiensis*.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram a sobrevivência de todos os animais tratados oralmente com as suspensões, os sobrenadantes ou as proteínas das diferentes cepas de *B. thuringiensis*, bem como aqueles pertencentes ao grupo controle. Não foram observadas alterações comportamentais ou clínicas como tremores, convulsões e diarreia.

Na avaliação dos estômagos, em estereomicroscopia, com amplificação de 40 vezes, não foram observadas modificações morfológicas, como pipocas vermelhas ou raias hemorrágicas, descritas por Marroni et al. (1994), em nenhum dos tratamentos ou no grupo controle (Figura 1).

Resultados semelhantes foram observados por Bishop et al. (1999), que administraram nos ratos uma dose de  $1.10^{12}$  esporos/mL de *B. thuringiensis* por dia, durante três semanas, e também não encontraram sinais de infecção bacteriana, como vermelhidão no tecido estomacal, ou alterações comportamentais. Berlitz et al. (2012) realizaram experimentos com toxinas de *B. thuringiensis* administradas oralmente em camundongos e verificaram a ausência de sintomas como tremores, convulsões, diarreia, letargia, salivação ou perda de pelo. Berlitz et al. (2006) também não encontraram modificações macroscópicas nos estômagos de ratos tratados nos tempos de 0, 12 e 24 h com a suspensão bacteriana e o sobrenadante de *B. thuringiensis* var. *aizawai* e *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*.

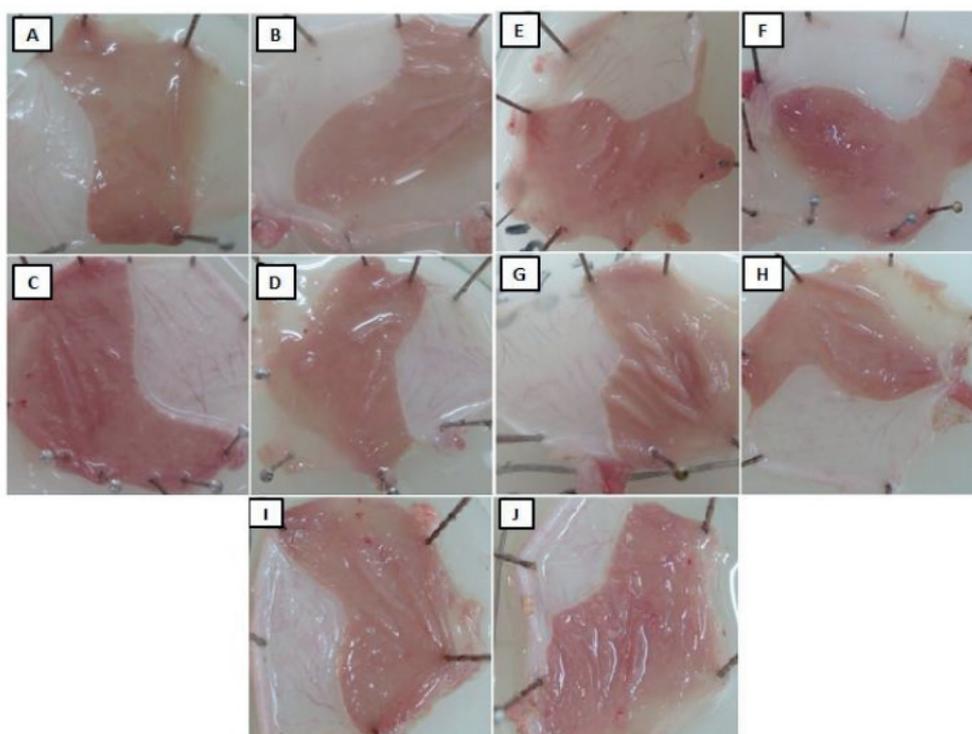


Figura 1. Estereomicroscopia (40x) dos estômagos de ratos tratados com: A - PBS de sódio (pH 7.4); B - suspensão da cepa MTox 2974-11; C - suspensão da cepa MTox 2638-1 e D - suspensão da cepa *BTh Thuricide* 63; E - sobrenadante da cultura de MTox 2974-11; F - sobrenadante da cultura de MTox 2638-1; G - sobrenadante da cultura de *BTh Thuricide* 63; H - proteínas semipurificadas de MTox 2974-11; I - proteínas semipurificadas de MTox 2638-1 e J - proteínas semipurificadas de *BTh Thuricide* 63.

Quanto ao peso dos ratos, foi observado que não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $F = 1,583$ ;  $gl = 9,38$ ;  $p = 0,156$ ). Bishop et al. (1999) também indicaram que não houve diferença significativa no peso corporal dos ratos tratados com *B. thuringiensis* quando comparados com aqueles pertencentes ao grupo controle. Betz et al. (2000) citam 16 estudos de toxicidade oral aguda que foram realizados em ratos e coelhos e também não revelam mortalidades, alterações no peso corporal ou patologias, mesmo nos testes com a administração das doses mais altas de cepas *B. thuringiensis*.

Os dados relativos à alimentação dos animais, mostraram que não houve diferença significativa no consumo de ração entre os ratos tratados com a suspensão, o sobrenadante e a proteína semipurificada da cepa MTox 2974-11 ( $F = 1,002$ ;  $gl = 3,16$ ;  $p = 0,417$ ), em comparação com os ratos do grupo controle. Também não foi encontrada diferença significativa ( $F = 2,167$ ;  $gl = 3,16$ ;  $p = 0,132$ ) no consumo de ração entre os ratos que receberam os tratamentos da cepa *BTh Thuricide 63*, em comparação com os ratos do grupo controle.

Entretanto, constatou-se que o consumo médio de ração variou entre os ratos tratados com a suspensão, o sobrenadante e a proteína semipurificada da cepa MTox 2638-1 ( $H = 10,817$ ;  $gl = 3$ ;  $p = 0,013$ ). Mais precisamente, foi possível verificar que houve diferença significativa no consumo de ração entre os ratos tratados com o sobrenadante e a proteína semipurificada de MTox 2638-1 ( $p = 0,043$ ) e entre os ratos tratados com o sobrenadante e a suspensão de MTox 2638-1 ( $p = 0,044$ ) (Figura 2).

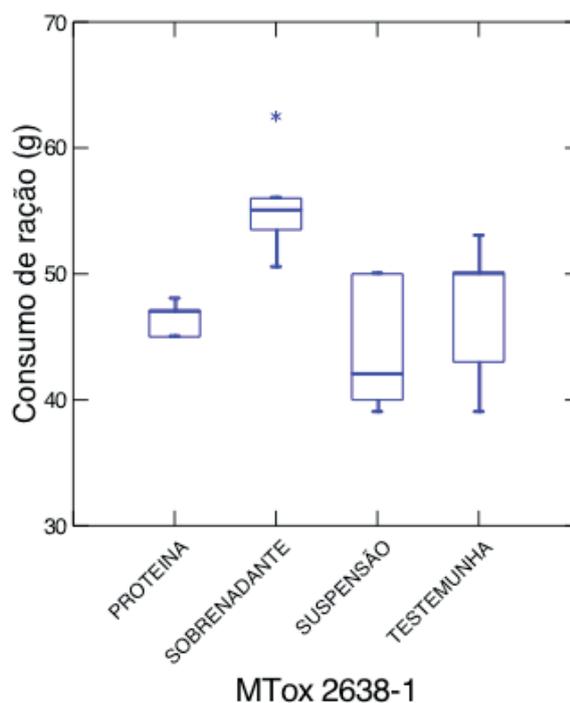


Figura 2. Consumo médio de ração (g) pelos ratos tratados com a suspensão, o sobrenadante e a proteína semipurificada da cepa MTox 2638-1 e com tampão PBS de sódio (testemunha) ( $H = 10,817$ ;  $gl = 3$ ;  $p = 0,013$ ).

Quanto ao consumo de água, não foi observada diferença significativa entre os ratos tratados que receberam os tratamentos da cepa MTox 2974-11 ( $F = 0,997$ ;  $gl = 3,16$ ;  $p = 0,419$ ), bem como da cepa MTox 2638-1 ( $F = 1,653$ ;  $gl = 3,16$ ;  $p = 0,217$ ) e da cepa *BTh Thuricide 63* ( $F = 0,981$ ;  $gl = 3,16$ ;  $p = 0,426$ ). Em média geral, os ratos consumiram aproximadamente 47 g de ração e 90 mL de água durante as 48 h de tratamento.

Na análise do perfil proteico, observou-se que a amostra da suspensão da cepa MTox 2974-11 apresentou bandas de aproximadamente 200, 130, 100, e 55 kDa, enquanto na amostra com as proteínas semipurificadas nota-se uma banda majoritária de cerca de 130 kDa. Por outro lado, a suspensão da cepa MTox 2638-1 apresentou peptídeos com aproximadamente 210, 130, 70 e 60 kDa e a amostra contendo as proteínas semipurificadas bandas de 120, 60 e 50 kDa. Por fim, a amostra da suspensão da cepa *BTh Thuricide 63* apresentou bandas de 200, 130, 80, 60 e 50 kDa e a amostra das proteínas semipurificadas apresentou uma banda de aproximadamente 130 kDa. Nas amostras contendo os sobrenadantes das cepas, não foram visualizadas bandas (Figura 3).

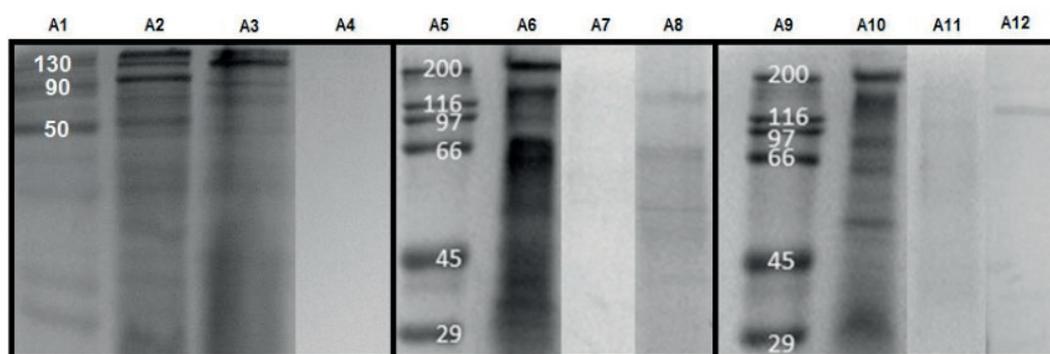


Figura 3. Perfil proteico dos tratamentos administrados oralmente nos ratos *Wistar* onde:  
 A1 - marcador de peso molecular (BenchMark – Protein Ladder - Life Technologies®);  
 A2 – suspensão de MTox 2974-11; A3 – proteínas semipurificadas de MTox 2974-11; A4 – sobrenadante de MTox 2974-11; A5 - marcador de peso molecular (MSDS 6H2 – Sigma Aldrich®); A6 - suspensão de MTox 2638-1; A7 - sobrenadante de MTox 2638-1; A8 - proteínas semipurificadas de MTox 2638-1; A9 - marcador de peso molecular (MSDS 6H2 – Sigma Aldrich®); A10 - suspensão de *BTh Thuricide 63*; A11 - sobrenadante de *BTh Thuricide 63* e A12 - proteínas semipurificadas de *BTh Thuricide 63*.

Na análise do perfil proteico do conteúdo estomacal dos ratos do grupo controle (Figura 4A), tratados somente com PBS de sódio, é possível observar a presença de bandas com aproximadamente 130, 50 e 20 kDa (Figura 4, A2). Nas amostras de conteúdo intestinal, fezes 24 h e fezes 48 h, não foi possível a observação de bandas nítidas (Figura 4: A3, A4 e A5). Esse padrão de bandas encontrado provavelmente representa o perfil proteico presente naturalmente nesses tipos de amostras de ratos sadios. A presença de uma banda com 130 kDa, no conteúdo estomacal dos ratos controle, faz com que a observação de bandas com esse mesmo peso em amostras de conteúdo estomacal nos demais tratamentos não possa ser correlacionada com

a presença de proteínas Cry.

Nas amostras de conteúdo estomacal, conteúdo intestinal e fezes (24 e 48h), de ratos tratados com as suspensões bacterianas das cepas MTox 2974-11 (Figura 4B), MTox 2638-1 (Figura 4C) e *BTh Thuricide* (Figura 4D), foi observado um perfil de bandas bastante semelhante.

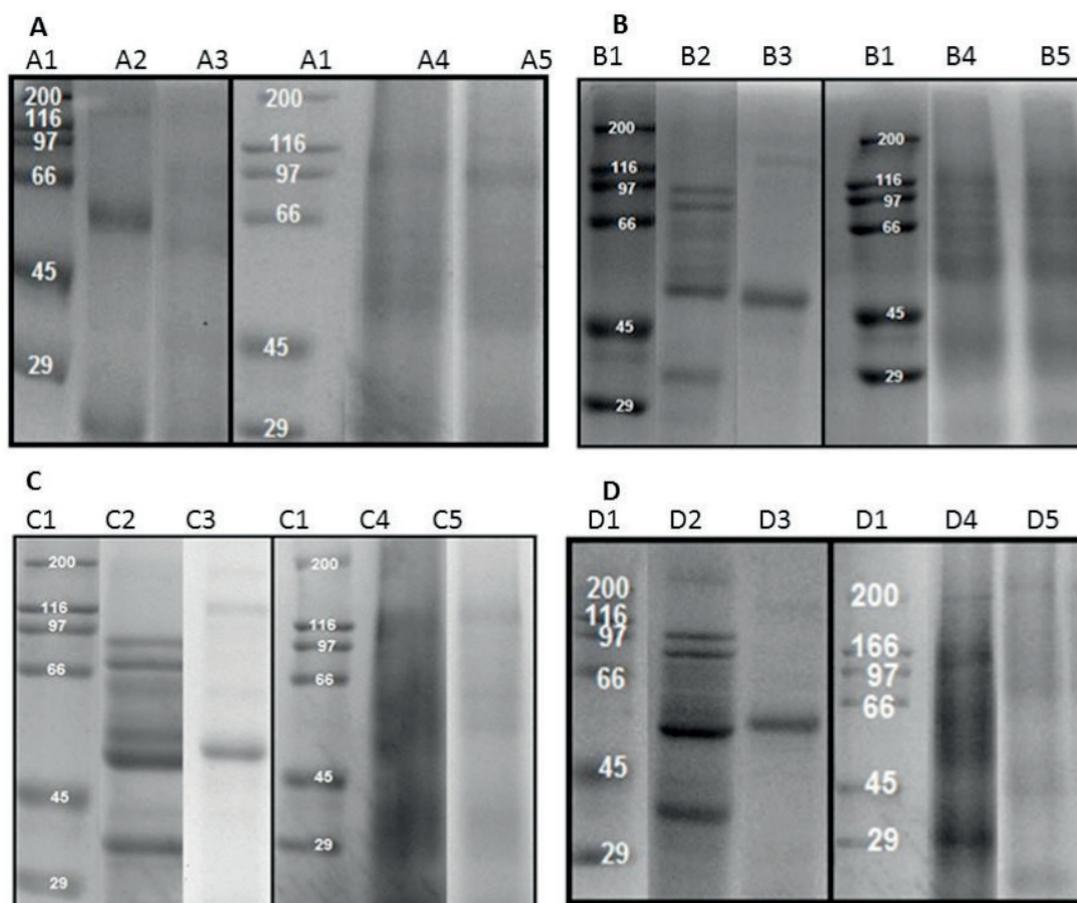


Figura 4. **A:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (A2); conteúdo intestinal (A3); fezes 24h (A4) e fezes 48h (A5) de ratos do grupo controle tratados com PBS de sódio. **B:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (B2); conteúdo intestinal (B3); fezes 24 h (B4) e fezes 48 h (B5) de ratos tratados com a suspensão bacteriana MTox 2974-11. **C:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (C2); conteúdo intestinal (C3); fezes 24 h (C4) e fezes 48 h (C5) de ratos tratados com a suspensão bacteriana MTox 2638-1. **D:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (D2); conteúdo intestinal (D3); fezes 24 h (D4) e fezes 48 h (D5) de ratos tratados com a suspensão bacteriana de *BTh Thuricide* 63. A1, B1, C1 e D1: marcador de peso molecular (MSDS 6H2 – Sigma Aldrich®).

Na análise das amostras de conteúdo estomacal, conteúdo intestinal e fezes (24 e 48 h), de ratos tratados com o sobrenadante das cepas MTox 2974-11 (Figura 5A), MTox 2638-1 (Figura 5B) e *BTh Thuricide* (Figura 5C), também pode ser observado um perfil de bandas com alta semelhança. Como no perfil proteico das amostras de sobrenadante das três cepas não havia sido constatada nenhuma banda, conforme a Figura 3, a presença de diversas bandas com menos de 90 kDa nas amostras de conteúdo estomacal, conteúdo intestinal e fezes (24 e 48 h), pode estar envolvida com a presença de proteínas na ração animal ingerida.

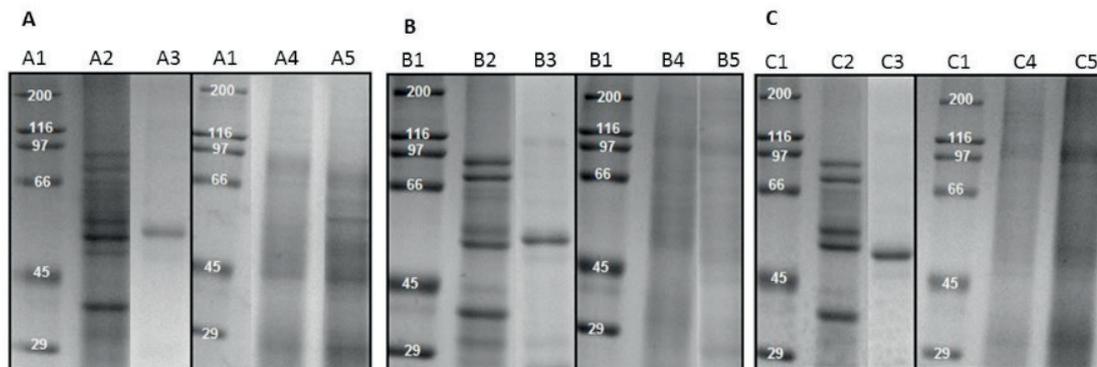


Figura 5. **A:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (A2); conteúdo intestinal (A3); fezes 24 h (A4) e fezes 48 h (A5) de ratos tratados com o sobrenadante de MTox 2974-11. **B:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (B2); conteúdo intestinal (B3); fezes 24 h (B4) e fezes 48 h (B5) de ratos tratados com o sobrenadante de MTox 2638-1. **C:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (C2); conteúdo intestinal (C3); fezes 24 h (C4) e fezes 48 h (C5) de ratos tratados com o sobrenadante da bacteriana de BTh Thuricide 63. A1, B1 e C1: marcador de peso molecular (MSDS 6H2 – Sigma Aldrich®).

Nas amostras de conteúdo estomacal, conteúdo intestinal e fezes (24 e 48h), de ratos tratados com as proteínas semipurificadas das cepas MTox 2974-11 (Figura 6A), MTox 2638-1 (Figura 6B) e *BTh Thuricide* (Figura 6C), não foram observadas bandas com 130 kDa, que poderiam estar correlacionadas com proteínas Cry.

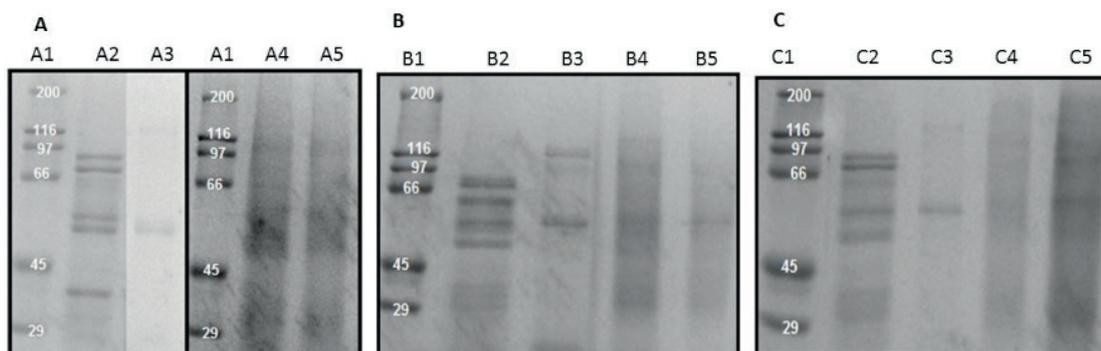


Figura 6. **A:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (A2); conteúdo intestinal (A3); fezes 24 h (A4) e fezes 48 h (A5) de ratos tratados com as proteínas semipurificadas de MTox 2974-11. **B:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (B2); conteúdo intestinal (B3); fezes 24 h (B4) e fezes 48 h (B5) de ratos tratados com as proteínas semipurificadas de MTox 2974-11. **C:** Perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal (C2); conteúdo intestinal (C3); fezes 24 h (C4) e fezes 48 h (C5) de ratos tratados com as proteínas semipurificadas de MTox 2974-11. A1, B1 e C1: marcador de peso molecular (MSDS 6H2 – Sigma Aldrich®).

Conforme os resultados do perfil proteico das amostras de conteúdo estomacal, conteúdo intestinal e fezes (24 e 48 HAT), não foram encontradas bandas de 130 kDa, sugestivas de proteínas Cry, indicando que elas podem ter sido degradadas pelo sistema digestivo dos ratos. Essa degradação pode estar associada com a acidez do conteúdo estomacal dos animais (o pH é de cerca de 3,15 em mamíferos) (VIDAL et al., 2004). Betz et al. (2000), por exemplo, relataram que proteínas Cry1, Cry2 e Cry3 foram degradadas após 30 segundos, em ensaios, *in vitro*, resultando em proteínas de 2 kDa.

Na verificação da presença de esporos de *B. thuringiensis* no trato gastrointestinal dos ratos, em microscopia de contraste de fase, foi observado que as colônias que cresceram a partir das amostras do grupo controle não eram formadas por bactérias esporulantes, descartando a possibilidade da presença de *B. thuringiensis* nos animais desse tratamento. Por outro lado, foi observado o crescimento de colônias de *Bacillus* spp. (Tabela 1) em todas as placas onde foram semeadas as amostras dos ratos tratados com as suspensões bacterianas das três cepas do estudo.

Tratamento	Amostra	Presença	Ausência
Testemunha	CE		X
Testemunha	FI		X
Testemunha	F24H		X
Testemunha	F48H		X
MTox 2974-11	CE	X	
MTox 2974-11	FI	X	
MTox 2974-11	F24H	X	
MTox 2974-11	F48H	X	
MTox 2638-1	CE	X	
MTox 2638-1	FI	X	
MTox 2638-1	F24H	X	
MTox 2638-1	F48H	X	
BTh Thuricide 63	CE	X	
BTh Thuricide 63	FI	X	
BTh Thuricide 63	F24H	X	
BTh Thuricide 63	F48H	X	

Tabela 1. Ocorrência de *Bacillus* spp. nas amostras de conteúdo estomacal (CE), fezes intestinais (FI), fezes coletadas 24 h após aplicação do tratamento (F24H) e fezes coletadas 48 h após aplicação do tratamento (F48H) nos animais tratados com PBS de sódio pH 7.4 (testemunha) e suspensões bacterianas das cepas de *B. thuringiensis* MTox 2874-11, MTox 2638-1 e *BTh Thuricide* 63.

Mancebo et al., (2011), ao avaliarem a patogenicidade de uma nova formulação de *B. thuringiensis* var *israelensis* SH-14 em ratos, por meio de administração oral em dose única, detectaram a presença de esporos viáveis nas fezes a partir de 3 h após a aplicação dos tratamentos até 48 h. Os autores também apontam que, geralmente, há um declínio no número de unidades formadoras de colônias recuperadas ao longo do tempo. Esses resultados, semelhantes aos encontrados no presente estudo, podem ser explicados pela capacidade dos esporos de *B. thuringiensis* atravessarem as barreiras do trato gastrointestinal até a sua eliminação. Bishop et al.

(1999) relataram que ratos que receberam doses orais ( $1 \times 10^{12}$  esporos/mL) durante três semanas, apresentaram resultado negativo para a presença de esporos de *B. thuringiensis* nas culturas de sangue, coração, baço e fígado. Assim, a recuperação de *B. thuringiensis* nas amostras coletadas não pode ser considerada resultado de processos infecciosos, já que não houve sinais de patogenicidade nos animais.

No presente trabalho, foi utilizada a cepa *BTh Thuricide 63* como controle positivo, já que ela corresponde ao ingrediente ativo do produto comercial *Thuricide*<sup>®</sup>, que teve sua fabricação proibida devido à capacidade de produção de  $\beta$ -exotoxinas. A falta de toxicidade de *BTh Thuricide 63*, principalmente nos ratos tratados com o seu sobrenadante, pode estar relacionada a uma baixa concentração dessa toxina nociva. Siegel (2001) relata que 18 homens ingeriram 1000 mg de *Thuricide*<sup>®</sup>, durante 5 dias, e não apresentaram efeitos de intoxicação.

Diversos estudos apontam a segurança do uso de *B. thuringiensis* no controle biológico de pragas. Siegel (2001) relata que foi necessária a inalação de uma dose de  $1 \times 10^8$  esporos/mL de *B. thuringiensis* para provocar a morte de camundongos, o equivalente a  $10^{12}$  esporos/mL em seres humanos, ou seja, uma dose um bilhão de vezes maior do que o máximo que já encontrado em campo durante etapas de pulverização. Portanto, resultados encontrados no presente trabalho podem estar relacionados ao modo de ação altamente específico das proteínas tóxicas de *B. thuringiensis*, que necessitam de um pH intestinal alcalino (entre 10 – 12), para a solubilização dos cristais, da presença de proteases intestinais, para a ativação das toxinas e a existência de receptores específicos, para sua ligação (SHARMA et al., 2011). Segundo Broderick et al (2006) e Gill & Ellar (2002), não são conhecidos receptores em mamíferos que sejam equivalentes aos encontrados em insetos.

As respostas positivas mostradas em alguns estudos com roedores comprovam que eles são bons modelos experimentais para avaliar a toxicidade de *B. thuringiensis* aos humanos. De acordo com os dados experimentais, e relatos na literatura, observa-se que a dose altamente letal para os insetos da ordem Lepidoptera, os principais alvos desse entomopatógeno, corresponde a  $1 \times 10^{10}$  esporos/mL das suspensões bacterianas. Nessa pesquisa, as cepas de *B. thuringiensis* MTox 2974-11 e MTox 2638-1 não apresentaram efeitos tóxicos aos ratos *Wistar*, quando administradas oralmente, em ensaios agudos de até 24 horas. A partir disso, é possível inferir que as doses letais dessas cepas a mamíferos são muito mais altas do que aquelas que seriam utilizadas em campo para provocar a letalidade dos insetos-alvo, revelando-as como seguras aos mamíferos quando indicadas para uso como biopesticidas.

## REFERÊNCIAS

BELDER, E.; ELDERSON, J. *Bacillus thuringiensis* strains and its toxicity. **Plant Research**

**International.** Wageningen, 2010.

BERLITZ, D. L. et al. Toxicology effects of  $\delta$ -endotoxins and  $\beta$ -exotoxins of *Bacillus thuringiensis* in *Wistar* rats. **Neotropical Biology and Conservation**. v. 1, n. 1, p. 35-38, 2006.

BERLITZ, D. L. et al. Toxicity intraperitoneal and intragástrica route of *Bacillus thuringiensis* and *Melia azedarach* in mice. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 79, n. 4, p. 511-517, 2012.

BETZ, F. S. et al. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*: protected plants to control insect pests. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. v. 32, p. 156-173, 2000.

BISHOP, A. H. et al. The safety of *Bacillus thuringiensis* to mammals investigated by oral and subcutaneous dosage. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.15, p. 375-380, 1999.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Presidência da República. **Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008**, que regulamenta o inciso VII do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. Diário Oficial da União, DF, 09 out. 2008, Seção 1, pág. 1. Disponível em <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm)> acesso em 29 jun. 2015.

BRAVO, A. et al. Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity. **Microbial Biotechnology**. v. 6, p. 17-26, 2012.

BRODERICK, N. et al. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. **PNAS**. v. 103, p. 15196–15199, 2006.

CAMPANINI, E. B. et al. Caracterização de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle de importantes insetos-praga da agricultura. **Bragantia**. v. 71, n. 3, p. 362-369, 2012.

CORRÊA, R. F. T. **Avaliação da toxicidade de proteínas Cry e Cyt de *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis para diferentes linhagens de células de inseto e de mamífero**. 127 f. Tese de Doutorado em Biologia Celular - Programa de Pós-graduação em Biologia, da Universidade de Brasília, 2012.

DE-BARJAC, H.; LECADET, M. M. Dosage biochimique d'exotoxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* d'après l'inhibition d'arn-polymerases bacteriennes. **Comptes Rendus de L'academie des Sciences**. v. 282, n. 1, p. 2119-2122, 1976.

DE MACEDO, C. L. et al. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* eficientes contra a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 47, n. 12, p. 1759-1765, 2012.

GILL, M.; ELLAR, D. Transgenic *Drosophila* reveals a functional *in vivo* receptor for the *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac1. **Insect Molecular Biology**. v. 11, p. 619–625, 2002.

GOUFFON, C. et al. Binding sites for *Bacillus thuringiensis* Cry2Ae toxin on Heliothine brush border membrane vesicles are not shared with Cry1A, Cry1F, or Vip3A toxin. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 77, n. 10, p. 3182–3188, 2011.

LAEMMLI, U. K. Smaller sample vols are better. If using large vols make the stack gel bigger. **Nature**. v. 227, p. 680-685, 1970.

LIU, X. et al. Thuringiensin: A Thermostable Secondary Metabolite from *Bacillus thuringiensis* with Insecticidal Activity against a Wide Range of Insects. **Toxins**. v. 6, p. 2229-2238, 2014.

MANCEBO, A. et al. Acute oral, pulmonary and intravenous toxicity/pathogenicity testing of a new formulation of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* SH-14 in rats. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. v. 59, p. 184–190, 2011.

MARRONI N, et al. Effects of chronic normovolemic anemia on gastric microcirculation and ethanol induced gastric damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**. v. 39, n. 4, p. 751-757, 1994.

PARDO-LÓPEZ, L. et al. A. *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. **Fems microbiology reviews**. v. 37, p. 3-22, 2013.

OBEIDAT, M. et al. Toxicity of *Bacillus thuringiensis*  $\beta$ -exotoxins and  $\delta$ -endotoxins to *Drosophila melanogaster*, *Ephestia kuhniella* and human erythrocytes. **African Journal of Biotechnology**. v. 11, n. 46, p. 10504-10512, 2012.

SANAHUJA, G. et al. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal**. v. 9, p. 283–300, 2011.

SANTOS, A. C. et al. Conjugal transfer between *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* strains is not directly correlated with growth of recipient strains. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 105, p. 171–175, 2010.

SIEGEL, J.P. The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis* based insecticides. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.77, p.13-21, 2001.

SHARMA, P. et al. Synergistic activity between *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab and Cry1Ac toxins against maize stem borer (*Chilo partellus* Swinhoe). **Letters in Applied Microbiology**. v. 51, p. 42–47, 2010.

SHARMA, P. et al. Binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins with brush border membrane vesicles of maize stem borer (*Chilo partellus* Swinhoe). **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 106, p. 333–335, 2011.

SOBERÓN, M. et al. Pore formation by Cry toxins. In: ANDERLUH, G.; LAKEY, J. H. **Proteins: membrane binding and pore formation**. Landes Bioscience and Springer Science + Business Media, 2010, cap. 11, p. 127-142.

VIDAL, C. S. et al. Ligadura do esôfago abdominal diminui a secreção gástrica induzida por toxina de escorpião em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.19, n.3, p.166-175, 2004.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Açaí 19, 20, 21, 22, 24, 25  
*Acca sellowiana* 231, 232  
Açoita cavalo 67, 74, 76, 78, 88  
Adiantoideae 181, 184, 187  
Analgesia 50, 52, 53, 54, 57  
Anatomia 180, 181, 182, 183, 189, 190, 191, 193, 216, 229, 250, 251, 253, 256, 257  
Aprendizagem 279, 280, 281, 283, 284, 285, 286, 287, 289, 290, 291, 312, 313, 314, 316, 317, 319, 320, 321, 322  
Atividade anti-inflamatória 77, 78, 81, 94  
Avaliação microbiológica 19, 21, 26  
Aves 250, 251, 252, 255, 256, 257

### B

B16-F10 37, 38, 39, 43, 44, 45, 46, 218, 219, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228  
Bioinformática 27, 29, 130  
Biologia 1, 2, 10, 37, 61, 74, 98, 114, 117, 123, 130, 143, 145, 149, 155, 172, 190, 202, 218, 250, 251, 252, 257, 265, 269, 284, 299, 310, 319  
Biopesticidas 299, 300, 309  
Bioquímica 1, 5, 7, 49, 217, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 319, 320, 321, 322  
Biotechnology 100, 144, 177, 178, 189, 214, 215, 217, 275, 310, 311  
*Branchipus stagnalis* 231, 232

### C

Cacauí 115, 116, 146, 155  
Câncer 38, 39, 45, 47, 130, 218, 219, 228, 268, 275, 278, 323, 324, 331, 335  
Células embriogênicas 203, 204, 210, 212  
Células-tronco 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18  
Cicatrização 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 76  
Citotoxicidade 37, 38, 44, 45, 46, 67, 70, 80, 86, 93, 94, 219, 232, 272  
*Colletotrichum acutatum* 157, 158, 161, 164, 167  
Complicações perinatais 292, 294, 296  
Constituintes químicos 99, 181, 191  
Cultura de tecidos 203, 214, 215

### D

Diagnóstico 53, 59, 60, 61, 63, 65, 66, 167, 185, 198, 244, 247, 248, 293, 296, 323, 324, 327, 331, 332, 352  
Dinamização 279  
Dispersão 1, 2, 7, 44, 45, 74, 152, 153, 171, 348  
Dor 49, 50, 52, 53, 54, 55, 56, 77, 355

## E

Ecotoxicidade 231  
Educação 245, 247, 279, 280, 281, 282, 284, 289, 314, 321, 322, 323  
*Elaeis guineenses* 215  
Ensino-aprendizagem 284, 286, 290, 291, 313, 314, 319, 320, 321  
Exame parasitológico de fezes 59, 60  
Extensão universitária 282  
Extrato de planta 38, 239

## F

Fertilidade 115, 121  
Ftalimidas 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57

## G

Gastrointestinal 61, 299, 300, 302, 308, 355, 357  
Genoma 27, 173  
Gestação 292, 293, 294, 295, 297, 298

## H

Herbicidas 100, 101, 102, 103, 104  
*Himatanthus lancifolius* 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48  
Histologia 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 333

## L

Ludicidade 279, 281, 283  
*Luehea divaricata* 67, 68, 70, 74, 75, 76, 77, 78, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 99  
Luz solar 258, 264, 268

## M

Macrófita 1, 2, 9, 258, 263, 264  
Mamíferos 255, 256, 263, 299, 301, 307, 309  
Mandiocultura 27, 29  
*Manihot esculenta* 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 170, 171, 177, 178, 179  
Maquetes 312, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322  
Material didático 285, 286, 287, 288  
Melanoma 37, 38, 39, 40, 43, 44, 45, 46, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 268, 274, 278  
Melhoramento genético 31, 34, 114, 115, 116, 120, 121, 146, 147  
Microgramma 191, 192, 193, 196, 197, 198, 199, 200, 201  
Microssatélites 27, 29, 31, 32, 33, 145, 147, 150, 151, 152, 154, 170, 171, 174  
Modelos analógicos 279, 280, 281, 283  
Monitoria 312, 314, 316, 317, 319, 320, 321  
Morango 157, 158, 159, 161, 167, 168

## O

Óleo essencial 74, 157, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 186

## P

Parasitologia 59, 60, 66, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 299

Plantas medicinais 37, 46, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 76, 93, 95, 96, 97, 98, 99, 167, 189, 219, 276

Polpa de frutas 19

## Q

Qualidade 1, 4, 5, 15, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 61, 72, 73, 135, 139, 141, 146, 151, 158, 160, 161, 174, 204, 276, 294, 312, 316, 321, 334, 335, 336, 347, 348, 349, 350, 364

Queimaduras 12, 13, 14, 15, 16, 17, 37, 218

## R

Recém-nascido 292, 293, 295, 296, 297, 298

Recursos genéticos 117, 122, 147, 169, 170, 171, 215

Reservatório 255, 258, 260, 261

## S

Samambaias 181, 191, 192, 193

Saúde 14, 22, 25, 27, 37, 52, 59, 60, 66, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 96, 98, 190, 218, 242, 243, 244, 245, 247, 248, 279, 281, 282, 284, 285, 287, 288, 292, 293, 294, 295, 297, 298, 301, 312, 313, 317, 321, 332, 335, 349, 350, 351, 355, 357, 362

Seeds 11, 100, 102, 104, 215

Simbiose 258, 260, 263, 265

Síndromes hipertensivas 292, 293, 294, 295, 297, 298

Sistema respiratório 76, 250, 251, 252, 253, 255, 256

## T

Tecido adiposo 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18

Teles pires 250, 251, 252

Toxicidade 44, 45, 46, 93, 94, 167, 224, 231, 232, 236, 237, 238, 239, 240, 299, 301, 304, 309, 310, 355

Transgenic soybean 100

## V

Vegetais 9, 44, 59, 69, 71, 73, 74, 79, 95, 97, 122, 140, 159, 168, 190, 192, 203, 205, 209, 240, 270, 271, 273, 336, 347, 349

 **Atena**  
Editora

**2 0 2 0**