



Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa 4

Jesus Rodrigues Lemos
(Organizador)

Atena
Editora

Ano 2020



Ciências Biológicas: Campo Promissor em Pesquisa 4

Jesus Rodrigues Lemos
(Organizador)

Atena
Editora

Ano 2020

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: Natália Sandrini de Azevedo

Edição de Arte: Luiza Batista

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

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

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

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

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros

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

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

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
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
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
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
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
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
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 Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
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
Prof^a Dr^a 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^a Dr^a Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof^a Dr^a Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof^a Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
C569	<p>Ciências biológicas [recurso eletrônico] : campo promissor em pesquisa 4 / Organizador Jesus Rodrigues Lemos. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-5706-140-4 DOI 10.22533/at.ed.404202406</p> <p>1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Lemos, Jesus Rodrigues.</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

Este volume da obra “Ciências Biológicas: Campo promissor em Pesquisa 4” vem trazer ao leitor, em seus capítulos, informações diversas imbuídas em diferentes campos do conhecimento de Ciências da Vida, como o próprio título do e-book sugere: uma área extremamente promissora, dinâmica e passível de aquisição de novas informações a todo momento, vindo, de forma comprometida e eficaz, a atualizar o leitor interessado nesta grande área do conhecimento.

Pesquisadores de diferentes gerações, e diferentes regiões do país, motivados por uma força motriz que impulsiona a busca de respostas às suas perguntas, trazem dados resultantes da dedicação à Ciência, ansiando responder suas inquietações e compartilhar com o leitor, de forma cristalina e didática, seus alcances técnico-científicos, satisfazendo a função precípua da ciência que é a de melhorar a qualidade de vida do homem, enquanto executante do seu papel cidadão e ser social.

Somente por uma questão de ordenação, os 28 capítulos deste volume foram sequenciados levando-se em consideração, primeiramente, estudos, em diferentes vertentes, com organismos vivos, animais e plantas, seguidos por pesquisas oriundas de aspectos didático-pedagógicos, aquelas relacionadas aos progressos de situações-problemas em vegetais, animais e humanos e, por fim, interações entre diferentes organismos no espaço ambiental com um todo.

Em todas estas áreas, as pesquisas conduzem o leitor a acompanhar descobertas/avanços que proporcionam, indubitavelmente, um quadro mais robusto, e que acresce ao que até então se tem conhecimento naquele campo de estudo, das diferentes subáreas das Ciências Biológicas, com viés também para a saúde e bem estar humanos.

Neste sentido, a heterogeneidade deste volume, extremamente rico, irá contribuir consideravelmente tanto na formação de jovens graduandos e pós-graduandos, quanto ser atrativo para profissionais atuantes nas áreas escolar, técnica e acadêmica aqui abordadas, não eximindo também o leitor “curioso” interessado nas temáticas aqui trazidas.

Portanto, aproveitem os assuntos dos seus interesses e boa leitura!

Jesus Rodrigues Lemos

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
SINCRONIZAÇÃO DE RITMOS DIÁRIOS EM POPULAÇÕES DE FORMIGAS SAÚVA (<i>ATTA SEXDENS</i>)	
Mila Maria Pamplona Barbosa Bruna Rezende Malta de Sá Gisele Akemi Oda André Frazão Helene	
DOI 10.22533/at.ed.4042024061	
CAPÍTULO 2	16
CONTRIBUTION TOWARDS THE STUDY OF LEAF ANATOMY OF <i>SMILAX BRASILIENSIS</i> SPRENG. (SMILACACEAE)	
Myriam Almeida Barbosa Marlúcia Souza Pádua Vilela Luciana Alves Rodrigues dos Santos Lima Ana Hortência Fonseca Castro	
DOI 10.22533/at.ed.4042024062	
CAPÍTULO 3	28
ACANTHACEAE DOS JARDINS DO MUSEU DE BIOLOGIA MELLO LEITÃO, SANTA TERESA-ES: ESPAÇO NÃO FORMAL E O ENSINO DE BOTÂNICA	
Elisa Mitsuko Aoyama Alexandre Indriunas	
DOI 10.22533/at.ed.4042024063	
CAPÍTULO 4	41
FORMAÇÃO DE BANCO DE SEMENTES (GERMOPLASMA) COM PLANTAS NATIVAS DA REGIÃO NORTE DO PIAUÍ	
Iara Fontenele de Pinho Maria da Conceição Sampaio Alves Teixeira Jesus Rodrigues Lemos	
DOI 10.22533/at.ed.4042024064	
CAPÍTULO 5	56
REGISTRO DE PLANTAS HOSPEDEIRAS DE CHRYSOMELIDAE NO SUDOESTE DO PARANÁ, COM ÊNFASE EM ALTICINI (GALERUCINAE)	
Lucas Frarão Adelita Maria Linzmeier	
DOI 10.22533/at.ed.4042024065	
CAPÍTULO 6	67
TOBACCOMIXTURE IN THE FIGHT AGAINST COWPEA APHID DURING THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF <i>V. UNGUICULATA</i>	
Marcelo Ferreira de Souza José Ivo Soares Ana Cristina Macedo de Oliveira Sebastião Erailson de Sousa Santos Maíres Alves Cordeiro Jeyce Layse Bezerra Silva Maria Regina de Oliveira Cassundé Ananda Jackellynne Vaz da Silva Lucas Ermeson Soares das Neves	

José Wiliam Pereira Brito
Karol Águida Santos Rocha
Italo Ferreira da Silva

DOI 10.22533/at.ed.4042024066

CAPÍTULO 7 74

WOULD THE VOLATILE TERPENES OF *MESOSPHAERUM SUAVEOLENS* HAVE A PHYTOTOXIC EFFECT?

José Weverton Almeida Bezerra
Rafael Pereira da Cruz
Thaís da Conceição Pereira
Maria Haiele Nogueira da Costa
Emanoel Messias Pereira Fernando
Helder Cardoso Tavares
Talita Leite Beserra
Kleber Ribeiro Fidelis
José Iago Muniz
Maria Aurea Soares de Oliveira
Talina Guedes Ribeiro
Maria Arlene Pessoa da Silva

DOI 10.22533/at.ed.4042024067

CAPÍTULO 8 83

CONHECIMENTO TRADICIONAL DE MICROARTRÓPODES EM UMA COMUNIDADE RURAL DA CAATINGA

Francisco Éder Rodrigues de Oliveira
Mikael Alves de Castro
Marlos Dellan de Souza Almeida
Célio Moura Neto
Helba Araújo de Queiroz Palácio
Jefferson Thiago Souza

DOI 10.22533/at.ed.4042024068

CAPÍTULO 9 98

MALASSEZIA PACHYDERMATIS ISOLADAS DE OTITES DE CÃES E GATOS: IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E SUSCEPTIBILIDADE IN VITRO A ÓLEOS ESSENCIAIS

Raquel Santos da Silva
Ludmilla Tonani
Marcia Regina von Zeska Kress

DOI 10.22533/at.ed.4042024069

CAPÍTULO 10 111

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL OBTIDO DAS FOLHAS DE CROTON SP SOBRE ATRAÇÃO PARA A OVIPOSIÇÃO DO *AEDES AEGYPTI*

Daniel Lobo Sousa
Roseliz Campelo Pachêco
Quirlian Queite Araújo Anjos
Thaimara Gomes Costa
Débora Cardoso da Silva
Simone Andrade Gualberto

DOI 10.22533/at.ed.40420240610

CAPÍTULO 11 116

O ENSINO DE BIOLOGIA SOB A ÓTICA DISCENTE: UM RECORTE AMOSTRAL NA ESCOLA TÉCNICA ESTADUAL EM BARREIRAS - BAHIA

Camila de Carvalho Moreira
Fábio de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.40420240611

CAPÍTULO 12 127

GLOSSÁRIO ONLINE DE BOTÂNICA COMO RECURSO DIDÁTICO PARA O ENSINO MÉDIO

Rebeca Melo Barboza
Bruno Edson-Chaves
Eliseu Marlônio Pereira de Lucena

DOI 10.22533/at.ed.40420240612

CAPÍTULO 13 141

ECOPEDAGOGIA: EDUCAÇÃO PARA O MEIO AMBIENTE

Magda Regina Santiago
Márcio Marastoni
Pero Torquato Moreira

DOI 10.22533/at.ed.40420240613

CAPÍTULO 14 152

ASPECTOS DA SENESCÊNCIA CELULAR EM INDIVÍDUOS IDOSOS SAUDÁVEIS

Thalyta Nery Carvalho Pinto
Juliana Ruiz Fernandes
Gil Benard

DOI 10.22533/at.ed.40420240614

CAPÍTULO 15 165

ANÁLISE *IN SILICO* DA INTERAÇÃO ENTRE AS PROTEÍNAS P53 E CREBBP E SUA RELAÇÃO COM LINFOMAS

Katheryne Lohany Barros Barbosa
Marcos Antonio Batista de Carvalho Júnior
Olívia Basso Rocha
Livia do Carmo Silva
Gabriela Danelli Rosa
Jackeliny Garcia Costa
Kleber Santiago Freitas

DOI 10.22533/at.ed.40420240615

CAPÍTULO 16 173

EFEITO DO EXTRATO DE *UNCARIA TOMENTOSA* E PALMITATO SOBRE A MORTE CELULAR DE MIOBLASTOS C2C12

Bruna Letícia de Freitas
Jeniffer Farias dos Santos
Carla Roberta de Oliveira Carvalho
Viviane Abreu Nunes

DOI 10.22533/at.ed.40420240616

CAPÍTULO 17 184

ALTERAÇÕES NA INTERAÇÃO DAS PROTEÍNAS P53 E TPP1 COMO CAUSA DA ENDOMETRIOSE

Olivia Basso Rocha
Marcos Antonio Batista de Carvalho Junior
Katheryne Lohany Barros Barbosa
Kleber Santiago Freitas
Livia do Carmo Silva
Gabriela Danelli Rosa
Jackeliny Garcia Costa

DOI 10.22533/at.ed.4042024061617

CAPÍTULO 18 192

OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS INIBITÓRIAS SEMELHANTES ÀS BACTERIOCINAS POR *LACTOCOCCUS LACTIS* UTILIZANDO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A MICROORGANISMO CAUSADOR DE CÁRIE

Liz Caroline Mendes Alves
Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.4042024061618

CAPÍTULO 19 209

EFEITOS DO TOLUENO SOBRE O APARELHO RESPIRATÓRIO E REPRODUTOR DE RATOS WISTAR

Ana Rosa Crisci
Marcos Leandro Paoleli dos Santos
Paulo Henrique da Silva Santos
Ângelo Rafael Bueno Rosa
Betina Ferreira Lacerda
Wilson Roberto Malfará
Lucila Costa Zini Angelotti

DOI 10.22533/at.ed.4042024061619

CAPÍTULO 20 221

ESTUDO DA INTERAÇÃO E ENSAIO DE MUTAGÊNESE VISANDO O COMPLEXO ENOS-CALMODULINA POR ABORDAGENS *IN SILICO*

Marcos Antonio Batista de Carvalho Júnior
Olivia Basso Rocha
Katheryne Lohany Barros Barbosa
Livia do Carmo Silva
Gabriela Danelli Rosa
Jackeliny Garcia Costa
Kleber Santiago Freitas

DOI 10.22533/at.ed.4042024061620

CAPÍTULO 21 230

ESTUDO MORFOLÓGICO DO TESTÍCULO DE RATOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA TRATADOS EM PLATAFORMA VIBRATÓRIA

Gabrielly de Barros
Fernando Antonio Briere
Suellen Ribeiro da Silva Scarton
Célia Cristina Leme Beu

DOI 10.22533/at.ed.4042024061621

CAPÍTULO 22 235

ESTUDO MORFOMÉTRICO E ESTEREOLÓGICO EM PLACENTAS DE RATAS COM DIABETES MELLITUS GESTACIONAL INDUZIDO POR ESTREPTOZOTOCINA

Raquel de Mendonça Rosa-Castro

Izadora Renosto

Euro Marques Junior

DOI 10.22533/at.ed.4042024061622

CAPÍTULO 23 249

RELAÇÃO ENTRE AGROTÓXICOS E CÂNCER: UMA ANÁLISE DO GLIFOSATO

Júlio César Silva de Souza

Tatianny de Assis Freitas Souza

DOI 10.22533/at.ed.4042024061623

CAPÍTULO 24 261

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES TÍMICAS RELACIONADAS COM A IDADE DURANTE A INFECÇÃO POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

Rafaela Pravato Colato

Vânia Brazão

Fabricia Helena Santello

Andressa Duarte

José Clóvis do Prado Jr.

DOI 10.22533/at.ed.4042024061624

CAPÍTULO 25 272

O POLIMORFISMO DO GENE GSTM1 EM PACIENTES COM ATEROSCLEROSE

Isabela Barros Lima

Andreia Marcelino Barbosa

Iasmim Ribeiro da Costa

Ulisses dos Santos Vilarinho

Lilian Castilho de Araújo Gianotti

Débora Acyole Rodrigues de Moraes

Kátia Karina Verolli de Oliveira Moura

DOI 10.22533/at.ed.4042024061625

CAPÍTULO 26 279

SÍFILIS GESTACIONAL: DESAFIOS ENFRENTADOS POR ENFERMEIROS E AGENTES COMUNITÁRIOS DE SAÚDE DA ATENÇÃO PRIMÁRIA

Mary Kathleen Marques Xavier

Tarciana Alves Menezes

Daniela de Aquino Freire

Thaís da Silva Oliveira

Juliana da Rocha Cabral

Andreza Cavalcanti Vasconcelos

Martha Sthefanie Borba Costa

Viviane de Souza Brandão Lima

DOI 10.22533/at.ed.4042024061626

CAPÍTULO 27 289

OCORRÊNCIA DE FORAMINIFERA (PROTOCTISTA, GRANULORETICULOSA) NA PRAIA DE ITAGUÁ, UBATUBA, SP

Paulo Sergio de Sena
Ana Paula Barros de Jesus

DOI 10.22533/at.ed.4042024061627

CAPÍTULO 28 295

INTERAÇÃO DE LECTINAS DE TOXOPLASMA GONDII COM RECEPTORES DO TIPO TOLL DE CÉLULAS NATURAL KILLER

Irislene Simões Brigo
Cássia Aparecida Sebastião
Cristina Ribeiro de Barros Cardoso
Maria Cristina Roque Antunes Barreira
Camila Figueiredo Pinzan

DOI 10.22533/at.ed.4042024061628

SOBRE O ORGANIZADOR..... 297

ÍNDICE REMISSIVO 298

OBTENÇÃO DE SUBSTÂNCIAS INIBITÓRIAS SEMELHANTES ÀS BACTERIOCINAS POR *Lactococcus lactis* UTILIZANDO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR: EFEITO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A MICROORGANISMO CAUSADOR DE CÁRIE

Data de submissão: 06/03/2020

Data de aceite: 18/06/2020

Liz Caroline Mendes Alves

Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da
Universidade de São Paulo (USP)
São Paulo, SP

<http://lattes.cnpq.br/2448303617644576>

Ricardo Pinheiro de Souza Oliveira

Departamento de Tecnologia Bioquímico-
Farmacêutico (FBT), Faculdade de Ciências
Farmacêuticas (FCF) da Universidade de São
Paulo (USP)
São Paulo, SP

<http://lattes.cnpq.br/9356367360155337>

RESUMO: A cárie dentária, uma doença bucal ligada a formação de biofilmes, se desenvolve quando o equilíbrio microbiano no ambiente bucal é perturbado. A doença é caracterizada pela dissolução do fosfato de cálcio que compõe as camadas superficiais do esmalte dentário, como consequência de longos períodos de baixo pH na cavidade oral. Essa acidez é proveniente da metabolização de carboidratos fermentáveis (sacarose p. ex.) por microrganismos, especialmente *Streptococcus mutans*, uma das espécies mais estudadas relacionadas à doença. Pelo fato de a doença apresentar alta prevalência (cerca de 80%-90% na população mundial), métodos alternativos de

prevenção da cárie vem sendo estudados, entre eles a utilização de microrganismos probióticos. Bactérias probióticas têm a capacidade produzir substâncias inibitórias semelhantes às bacteriocinas (BLIS - bacteriocin-like inhibitory substance) que possuem efeito bacteriostático ou bactericida em diferentes grupos de bactérias, uma vez que estes peptídeos podem atuar na síntese de parede celular e proteica, replicação ou até mesmo na formação de poros na membrana plasmática da célula alvo. A cepa de *Lactococcus lactis* CECT-4434 foi capaz de produzir substâncias inibitórias semelhantes à bacteriocinas, as BLIS, quando cultivadas em meio de cultura contendo um resíduo de um processo agroindustrial, o bagaço de cana de açúcar. Os sobrenadantes livres de células apresentaram atividade antimicrobiana quando testadas contra a principal bactéria causadora da cárie *Streptococcus mutans* UA159.

PALAVRAS-CHAVE: BLIS; Bacteriocina; Cárie dentária; Probiótico; Bagaço de cana-de açúcar.

OBTAINING BACTERIOCIN-LIKE INHIBITORY SUBSTANCES BY *Lactococcus lactis* USING SUGARCANE BAGASSE: EFFECT OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST CARIE CAUSING MICROORGANISM

ABSTRACT: Dental caries, an oral disease linked to the formation of biofilms, develops

when the microbial balance in the oral environment is disturbed. The disease is characterized by the dissolution of calcium phosphate that makes up the superficial layers of tooth enamel, as a consequence of long periods of low pH in the oral cavity. This acidity comes from the metabolization of fermentable carbohydrates (sucrose, for example) by microorganisms, especially *Streptococcus mutans*, one of the most studied species related to the disease. Since the disease has a high prevalence (around 80%-90% in the world population), alternative methods of preventing caries have been studied, including the use of probiotic microorganisms. Probiotic bacteria have the capacity to produce inhibitory substances similar to bacteriocins (BLIS - bacteriocin-like inhibitory substance) that have a bacteriostatic or bactericidal effect on different groups of bacteria, since these peptides can act in the synthesis of cell and protein walls, replication or even even in the formation of pores in the plasma membrane of the target cell. The strain *Lactococcus lactis* CECT-4434 was able to produce inhibitory substances similar to bacteriocins, the BLIS, when grown in a culture medium containing a residue from an agro-industrial process, sugar cane bagasse. Cell-free supernatants showed antimicrobial activity when tested against the main bacteria causing caries *Streptococcus mutans* UA159.

KEYWORDS: BLIS; Bacteriocin; Dental caries; Probiotics; Sugar cane bagasse.

1 | INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma das doenças mais prevalentes (aproximadamente 50%) em crianças ao redor do mundo (Mathur, V.P. et al., 2018), tanto em países desenvolvidos como subdesenvolvidos (Nobile, C.G.A. et al., 2014). O processo patológico ocorre na superfície dos dentes por meses ou até anos (Bowen, W.H., 2015), e é mediado pela formação de biofilmes (Krzyściak, W. et al., 2013). Biofilmes são aglomerados bacterianos formados sob substâncias extracelulares mucilaginosas. Estes grupamentos, protegidos por uma matriz de exopolissacarídeos, permite a formação de estruturas tridimensionais que protegem as células que os compõem, tornando-as mais resistentes contra antibióticos e mudanças que ocorram no ambiente.

Um dos principais fatores etiológicos da doença é a presença da bactéria *Streptococcus mutans* (Krzyściak, W. et al., 2013). Considerada uma das principais bactérias cariogênicas, *S. mutans* é capaz de produzir glicosetransferases (Gtfs) responsáveis pela síntese de polissacarídeos extracelulares (EPSs). Os EPSs, especialmente glucanos insolúveis em água, contribuem para a formação da placa dentária, estabilidade dos biofilmes e integridade estrutural por permitir a aderência das bactérias à superfície dos dentes e fornecendo a elas proteção contra estímulos nocivos e ataques ambientais (Chen, L. et al., 2016).

A alimentação tem profunda influência no desenvolvimento da cárie dentária. As dietas atuais apresentam uma quantidade crescente de carboidratos fermentáveis, incluindo alimentos com alto teor de amido e com novos carboidratos sintéticos, como sucralose, oligofrutose e outros polímeros de glicose (Gupta, P. et al., 2013). *S. mutans* quebra estes açúcares em ácido lático, o qual leva à desmineralização, ou perda do fosfato de cálcio, das estruturas dentárias. Como resultado, os dentes se tornam “amolecidos” e eventualmente

colapsam sobre si mesmos, formando a cavidade (Heng, C., 2016).

A prevenção da cárie dentária e de doenças periodontais é tradicionalmente direcionada ao controle inespecífico ou mecânico da placa dentária, uma vez que ela é o fator precipitante. Esta abordagem deve preferencialmente diminuir a formação de biofilmes orais sem afetar o equilíbrio da cavidade oral, que é habitada por aproximadamente 1000 espécies diferentes de bactérias, com 10⁸-10⁹ bactérias por mL de saliva ou mg de placa bacteriana (Allaker, R. et al., 2015). Porém, o uso constante de drogas antimicrobianas pode levar à efeitos colaterais no trato gastrointestinal, devido à antibióticos de amplo espectro, resistência bacteriana e reações alérgicas (Seminario-Amez, M. et al., 2017; Laleman, I. et al., 2015). Tendo em vista o desenvolvimento de métodos terapêuticos alternativos para o tratamento e prevenção de doenças comuns na cavidade bucal, começou a ser estudado na Odontologia o uso de micro-organismos probióticos (Caufield et al., 2015; Palombo, E.A., 2011). Os mecanismos de ação dos probióticos na cavidade bucal ainda não são muito bem definidos, mas estão associados com a redução no número de UFCs (unidades formadoras de colônia) de patógenos cariogênicos (Seminario-Amez, M. et al., 2017).

Probióticos, por definição, são microrganismos viáveis que, quando administrados em quantidades adequadas, fornecem benefícios à saúde do hospedeiro (Allaker, R. et al., 2017). São reconhecidos por executar várias ações no sistema digestivo como prevenir a adesão celular e a invasão de bactérias patogênicas, modificar o ambiente intestinal e modular respostas imunes inflamatórias locais e sistêmicas (Floch MH. et al., 2011). No entanto, pesquisas realizadas nos últimos anos (Lin, X. et al., 2017; Cagetti, MG. et al., 2013; Saha, S. et al., 2012) têm relatado o uso de linhagens probióticas na prevenção de doenças orais, incluindo a cárie. Como bactérias probióticas podem produzir diferentes compostos antibacterianos, melhorar a ecologia microbiana oral e raramente causar infecções em humanos, esse organismos representam uma maneira segura e promissora de controlar a cárie (Lin, X. et al., 2017).

As bactérias ácido-láticas (BAL) constituem o principal grupo de microrganismos utilizados como probióticos (Rao, Y. et al., 2012). Os mais importantes gêneros de BAL são *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissela*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* e *Bifidobacterium* (KLEIN et al., 1998). A fim de se prevenir a cárie dentária, probióticos devem aderir à superfície dentária e causar efeitos antagônicos às espécies cariogênicas, como *S. mutans*, *Streptococcus* e *Lactobacillus* (LYE, H. S. et al., 2016). Estudos realizados por Nase et al. (2001) demonstraram uma diminuição significativa na cárie dentária e a redução das contagens salivares de *S. mutans* em pacientes após o consumo de produtos lácteos contendo *L. rhamnosus* por sete meses. Além disso, um estudo feito por Haukioja et al. (2008) também revelou que lactobacilos e bifidobactérias foram capazes de modificar a composição protéica da película salivar e, assim, prevenir especificamente a aderência de *S. mutans*.

Bacteriocinas são proteínas ou peptídeos antimicrobianos produzidos pelos ribossomos de certas linhagens de bactérias, e que podem matar (efeito bacteriocida) ou inibir (efeito bacteriostático) o crescimento de bactérias relacionadas ou não à bactéria produtora, a qual

não sofrerá danos devido a proteínas de imunidade específicas (Yang et al., 2014). Assim como os antibióticos, as bacteriocinas são classificadas como metabólitos secundários, ou seja, não estão diretamente envolvidos no crescimento normal, desenvolvimento ou reprodução das bactérias que os produzem. Considerando a atividade antimicrobiana das bacteriocinas, alguns pesquisadores especulam classificá-las sob a mesma dos antibióticos; mas como bacteriocinas são peptídeos bactericidas e antibióticos são produzidos por complexos multi-enzimáticos, permanece esta demarcação entre os dois agentes antimicrobianos (Ramu, R. et al., 2017).

As bacteriocinas agem sobre bactérias gram-positivas, incluindo *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium botulinum*, bactérias patogênicas e que estão relacionadas a deterioração de alimentos (Hernández et al., 2005). Usualmente, bactérias gram-negativas são naturalmente resistentes às bacteriocinas devido à presença da membrana externa, que age como uma barreira efetiva (Cao-Hoang et al., 2008; Gyawali et al., 2014). No entanto, existem agentes químicos e tratamentos que desestabilizam esta membrana externa, permitindo que as bacteriocinas afetem as bactérias gram-negativas (Gálvez et al., 2014; Chalón et al., 2012; Marttinen, A. et al., 2011). Demonstrou-se que o uso de agentes quelantes e hipoclorito de sódio, por exemplo, são importantes na sensibilização de inúmeras bactérias gram-negativas, incluindo *Aeromonas hydrophila*, *Arcobacter butzleri*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* e *Yersinia enterocolitica* (Prudêncio, C.V. et al., 2015).

Segundo Klaenhammer (1993), quatro classes diferentes de bacteriocinas foram identificadas com base na caracterização bioquímica e genética. A classe I é a dos lantibióticos, como a nisina, pequenos peptídeos com peso molecular inferior a 5kDa e que contêm o aminoácido não usual lantionina e β -metil lantionina; a classe II é formada por peptídeos termoestáveis (< 10kDa) divididos em três subclasses: IIa (pediocina e enterocina), IIb (lactocina G) e IIc (lactocina B); a classe III é composta por peptídeos termolábeis de alto peso molecular (> 30kDa), como helveticina V-1829; o grupo IV é formado por bacteriocinas complexas, compostas por peptídeos associados a lipídeos e carboidratos, que são essenciais para a atividade da bacteriocina, como a lactocina 27. A maioria destas bacteriocinas atuam interagindo com os lipídios aniônicos presentes na membrana plasmática das bactérias gram-positivas, permeabilizando-a por meio da formação de poros, os quais promovem a dissipação da força próton motora (PMF) e a inibição do transporte de aminoácidos (Zacharof, M. et al., 2012; Guilhelmelli, F. et al., 2013; Cotter et al., 2013).

Muitas bactérias ácido-láticas (BALs) produzem bacteriocinas com grande espectro de ação, e essas moléculas apresentam diferentes mecanismos de ação. A maioria das bacteriocinas produzidas por BALs, em particular as que inibem o crescimento de bactérias gram-positivas, exercem seu efeito antimicrobiano interferindo na estrutura do envelope celular (Cotter et al., 2013). Nisina tem como alvo o lipídio II, um intermediário na maquinaria da biossíntese dos peptidoglicanos que compõem o envelope celular, inibindo desse modo a síntese destes peptidoglicanos (Héchar, Y. et al., 2002; Breukink, E. et al., 2006). A

maioria das bacteriocinas da classe II dissipam a força motriz dos prótons na célula alvo, via formação de poros (Héchar, Y. et al., 2002); outras matam ou danificam a célula alvo via ligação ao sistema manose-fosfotransferase (Man-PTS) associado ao envelope celular, e subsequente formação de poros na membrana celular (Cotter et al., 2013). Ainda há aquelas que inibem a expressão gênica (Parks, W. et al., 2007; Vincent and Morero, 2009) e a síntese de proteínas (Metlitskaya, A. et al., 2006) nas células alvo.

Nos processos agroindustriais são gerados subprodutos ou resíduos que quando não são convenientemente reciclados ou processados, podem causar diversos problemas ao meio ambiente. Segundo Heath et al. (1958) muitas bactérias lácticas, como *L. lactis*, podem metabolizar as pentoses pela via fosfocetolase induzida. É nesse contexto que o projeto se torna importante, pois utiliza um resíduo agroindustrial (bagaço de cana-de-açúcar) rico em pentoses (xilo-oligossacarídeos) para produzir biomoléculas de alto valor agregado, como no caso de substâncias inibitórias semelhantes às bacteriocinas (BLIS - bacteriocin-like inhibitory substance). Ademais, a proposta abre um caminho para identificação de uma futura bacteriocina que poderá dificultar a instalação do processo de cárie, contribuindo assim, para o desenvolvimento de métodos alternativos para o controle do biofilme bucal e para a promoção da saúde na cavidade oral.

2 | OBJETIVO

O objetivo do presente projeto é de verificar o efeito da produção de BLIS por *Lactococcus lactis* CECT-4434 utilizando o resíduo da indústria sucro-alcooleira (bagaço de cana).

3 | METODOLOGIA

3.1 LINHAGENS BACTERIANAS

Neste trabalho foi utilizada a bactéria probiótica *Lactococcus lactis* CECT-4434 para a produção de substâncias inibitórias semelhantes às bacteriocinas (BLIS - bacteriocin-like inhibitory substance).

A linhagem bioindicadora causadora da cárie utilizada foi a bactéria *Streptococcus mutans* UA159. Além disso, a linhagem da bactéria *Listeria innocua* 2711 foi empregada como padrão na verificação da ação das BLIS.

3.2 PREPARO DO MEIO DE CULTIVO

O meio de cultivo Man Rogosa e Sharpe (MRS) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) apresenta a seguinte composição, em mg/L: 10,0 de peptona, 10,0 de extrato de carne, 5,0 de extrato de levedura, 20,0 de glicose, 1,0 tween 80, 2,0 de citrato de amônio, 5,0 de acetato de sódio, 10,0 de sulfato de magnésio, 0,05 de sulfato de manganês e 2,0 de fosfato de potássio.

O meio de cultivo lapt G apresenta a seguinte composição, expressa em mg/L: expresso em g/L: 15,0 de peptona, 10,0 de extrato de levedura, 10,0 de triptona e 1 mL de tween 80.

O meio de cultivo TSB (Difco) apresenta a seguinte composição, expressa em g/L: 17,0 de triptona, 3,0 de extrato de soja, 2,5 de glicose, 5,0 de cloreto de soja, 2,5 g de fosfato de dipotássio.

Como meio de cultivo alternativo, será utilizado o bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado com alto conteúdo do prebiótico XOS na produtividade de BLIS em células de *L. lactis* CECT-4434. O licor hidrotérmico do bagaço de cana-de-açúcar será obtido da seguinte forma: o pré-tratamento do bagaço de cana-de-açúcar consistirá em suspender uma quantidade de bagaço (10% w/w, base seca) em água e carregá-lo em um reator de escala laboratorial (7,5 L de volume total, Modelo 4554, Parr, EUA). A temperatura será aumentada desde a temperatura ambiente (25 °C) até 190 °C, durante um período de 1 h. Após 10 min, o reator foi resfriado à temperatura ambiente e o licor rico em pentoses será coletado com a ajuda de um filtro de tela em escala laboratorial (filtro Nutsche, POPE Scientific, EUA). A composição do licor hidrotérmico será caracterizada por hidrólise ácida com ácido sulfúrico e análise por HPLC (Dionex Ultimate 3000, equipado com coluna Aminex HPX-87 H 300 mm x 7,8 mm x 9 mm, a 50 °C, vazão de 0,5 mL/min, fase móvel H₂SO₄ 0,005 M, detector Shodex IR a 40 °C, volume de injeção de 50 mL) (Robl et al. 2013).

3.3 CONDIÇÕES DE CULTIVO

A cepa de *Lactococcus lactis* CECT 4434 foi cultivada em meio MRS (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), por 24 horas a 37°C. Em seguida o meio foi centrifugado a 4470 g, a 4°C por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com solução salina 0,75%, esse processo de lavagem foi repetido duas vezes. E em seguida, a cepa foi cultivada em lapt G em concentrações de 0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25% de licor de bagaço de cana de açúcar.

A cepa bioindicadora (*S. mutans* UA159), previamente criopreservada a -70°C na presença de 20% de glicerol (v/v) foi reativada em 5,0 mL de meio de cultura específico por 16 h a 37°C sem agitação e, para verificação da pureza da cultura, o cultivo foi resfriado em TSB ágar 2%, com incubação overnight a 37°C.

3.4 EXTRAÇÃO DE BLIS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para a extração das substâncias inibitórias semelhantes às bacteriocinas (BLIS), amostras dos cultivos sofreram redução no pH para 2 através da adição de HCl 1,0M, uma vez que o valor do pH afeta a liberação da bacteriocina na célula produtora (Yang et al., 1992). Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4°C por 10 minutos, a 4,470 g. Para exclusão da possibilidade de inativação das BLIS por meio da produção de ácidos orgânicos, pH do sobrenadante livre de células foi ajustado para pH 6,0-6,5 através da adição de NaOH 1,0M, em seguida aquecido em banho-maria a 80°C por 10 minutos para facilitar a extração e garantir a inativação de proteases presentes no meio (Cabo, M.L. et al., 1999). A capacidade

antimicrobiana dos sobrenadantes desta etapa foi testada contra o bioindicador *S. mutans* UA159.

A quantidade de BLIS liberada na primeira extração foi quantificada e expressa em unidades arbitrárias (AU) por mL, utilizando-se o método de diluição crítica de Mayr-Harting et al (1972). O sobrenadante foi serialmente diluído na proporção de 1:2, 1:4, 1:8, 1:10, 1:12, 1:16 e 1:18, em tampão fosfato 25mM pH 7,0. A seguir, 10µL de cada diluição foi colocada sobre placas com ágar 0.75% contendo a cepa indicadora (~106 UFC) e incubada a 37°C por 24 horas. A primeira diluição em que não houve zona de inibição formada foi considerada e, utilizando a expressão matemática:

$$Au = \frac{D \cdot n \cdot 1000}{P}$$

Onde (D) representa o fator de diluição, (n) a primeira diluição não apresentando zona de inibição e (P) o volume de sobrenadante colocado sobre o ágar. Os resultados foram expressos em AU/mL.

As placas de Petri contendo a cepa indicadora de *Listeria innocua* 2711 foram preparadas a partir de cultivos ativos em fase estacionária de crescimento. Estes foram inoculados a 5% em TSG ágar 0,7 e, após suave homogeneização, foram despejados em placas de Petri estéreis. Após solidificação do ágar a temperatura ambiente, as placas foram utilizadas para os testes.

3.5 ANTIMICROBIANO DE *S. mutans* UA159 CONTRA SOBRENADANTES COM BLIS

A atividade antimicrobiana de BLIS foi avaliada frente a bactéria bioindicadora como descrito por Najjar et al. (2009) e exposto no item 3.4. Para isto, células de *S. mutans* foram crescidas em TSB líquido durante 24 horas a 37°C. Após o período de incubação, o cultivo celular foi diluído 100 vezes (~106 UFC/mL) em meio TSB com concentração dobrada e adicionados em placas de 96 poços (100 µL por poço). O controle negativo foi feito utilizando-se solução fosfato 25mM pH 7,0 no volume de 100 µL. As placas foram incubadas por 24h a 30 °C, sendo agitadas a cada 30 minutos. A densidade ótica (630 nm) foi medida em leitor de microplaca Synergy™ HTX (Biotek, Shoreline, WA). Todos os pontos foram realizados em triplicata.

Uma vez que a atividade antimicrobiana está relacionada à concentração de BLIS em solução, foi feito o cálculo desta concentração de acordo com a definição de unidade de bacteriocina (BU) (Cabo, M.L. et al., 1999): é a quantidade de princípio ativo presente, por unidade de volume, em uma amostra capaz de produzir uma inibição de I=0.5, sob determinadas condições experimentais.

3.6 ESTABILIDADE DAS BLIS

Para confirmar a natureza proteica das BLIS, o sobrenadante livre de células foi tratado com 1 mg/mL de pepsina, tripsina e papaína (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO) durante 2 horas a 30°C. Caso o halo de inibição desapareça, o pressuposto pode ser confirmado. Para esse teste foi utilizada a cepa indicadora de *Listeria innocua* 2711.

A estabilidade das BLIS foi avaliada frente a detergentes (Triton X-100, Tween 20, Tween 80 e SDS), solventes orgânicos (acetonitrila e isopropanol), etanol e os sais cloreto de sódio e sulfato de amônio na concentração final de 2%. As amostras contendo BLIS foram incubadas durante 1 hora a 35,7°C, sob agitação de 74 g, e a atividade antimicrobiana foi avaliada de acordo com a técnica de *spot-on-lawn*.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS BLIS

Inicialmente, bactérias da cepa de *Lactococcus lactis* CECT 4434 (produtoras de substâncias inibitórias semelhantes à bacteriocinas) foram cultivadas em MRS, seguindo-se então para o cultivo das mesmas em meio lact G contendo seis diferentes concentrações do licor de bagaço de cana de açúcar. O sobrenadante livre das células foi testado quanto a sua ação antimicrobiana contra o bioindicador *Listeria innocua* 2711 e *S. mutans* UA159.

Para avaliação da atividade antimicrobiana das BLIS foi utilizada a técnica de diluição crítica de Mayr-Harting et al.: o sobrenadante foi serialmente diluído na razão de 1:2 (v/v) em microtubos de centrifugação, utilizando-se solução-tampão fosfato 25mM pH 7. Em seguida, alíquotas de 10µL foram depositadas em placas de Petri contendo a cultura indicadora de *Listeria innocua* 2711. Após o período de incubação de 24 horas a 37°C, a primeira diluição que não apresentou zona de inibição considerada, que no caso foi a diluição de número 4. Considerando-se que o fator de diluição (D) foi igual a 2 (ou seja, proporção de 1:2 entre sobrenadante e tampão fosfato, respectivamente) e que o volume do sobrenadante colocado sobre o ágar (P) foi de 5 mL, a quantidade de BLIS liberada na primeira extração, em unidades arbitrárias por mL (AU/mL) foi de:

$$Au = D^n \cdot 1000 / P$$

$$Au = 2^4 \cdot 1000 / 5$$

$$Au = 3200$$

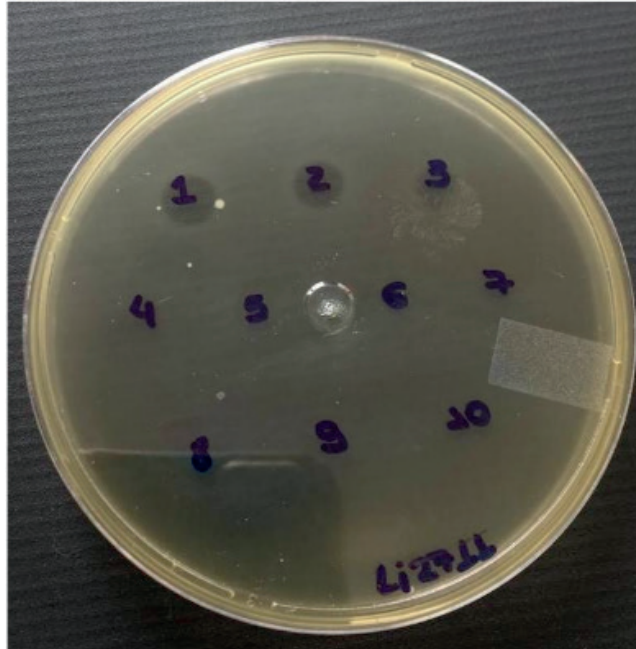


Imagem 1: placa de meio MRS com a cepa indicadora *Listeria innocua* 2711, com os halos de inibição revelando a atividade antimicrobiana da BLIS.

4.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO SOBRENADANTE LIVRE DE CÉLULAS DE *S. mutans* UA159

Neste experimento, os procedimentos foram preparados conforme descrito no item 3.5. Os parâmetros da curva de crescimento foram obtidos através do método de microplacas, que apresenta uma maior sensibilidade em relação à técnica de Dose resposta. A densidade óptica foi medida à 600nm.

As fases de latência, exponencial e estacionária foram observadas para cada sobrenadante livre de células contendo BLIS. O controle do teste foi realizado com o cultivo de *S. mutans* UA159 sem o sobrenadante das produtoras de BLIS e utilizado como referência na comparação com as fases que compõe o crescimento bacteriano. O controle apresentou um intervalo de aproximadamente 7 horas entre a fase de latência e o início da fase exponencial, além de a fase estacionária ter se iniciado após 12 horas do início da medição, com 0,534 de densidade óptica.

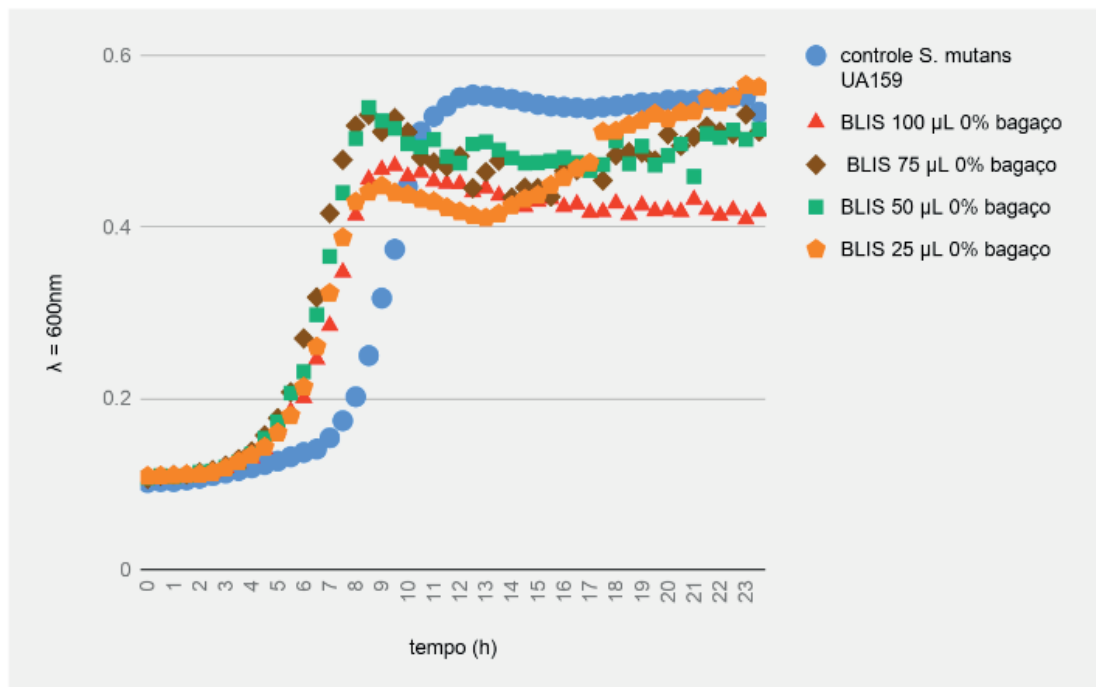


Figura 1: Crescimento de *S. mutans* UA159 em diferentes concentrações de BLIS, obtido na ausência do bagaço de cana de açúcar.

Na figura 1 observa-se que, em todos os volumes analisados, o sobrenadante livre de células de *L. lactis* CECT-4434 foi capaz de retardar o início da fase exponencial do crescimento bacteriano de *S. mutans* UA159. O intervalo entre a fase de latência e a fase exponencial passou de 7 horas (observado no controle) para 5 horas. O crescimento bacteriano foi mais afetado na presença de 100μL de sobrenadante em BLIS, apresentando uma densidade ótica final de 0,418. Os volumes de 75μL, 50μL e 25μL de BLIS apresentaram as seguintes densidades óticas, respectivamente: 0,531, 0,513 e 0,563.

Nota-se também que, na presença de 25μL de sobrenadante, o crescimento bacteriano apresentou uma leve queda 13 horas após o início da leitura, porém o crescimento foi retomado até que a fase de latência fosse atingida.

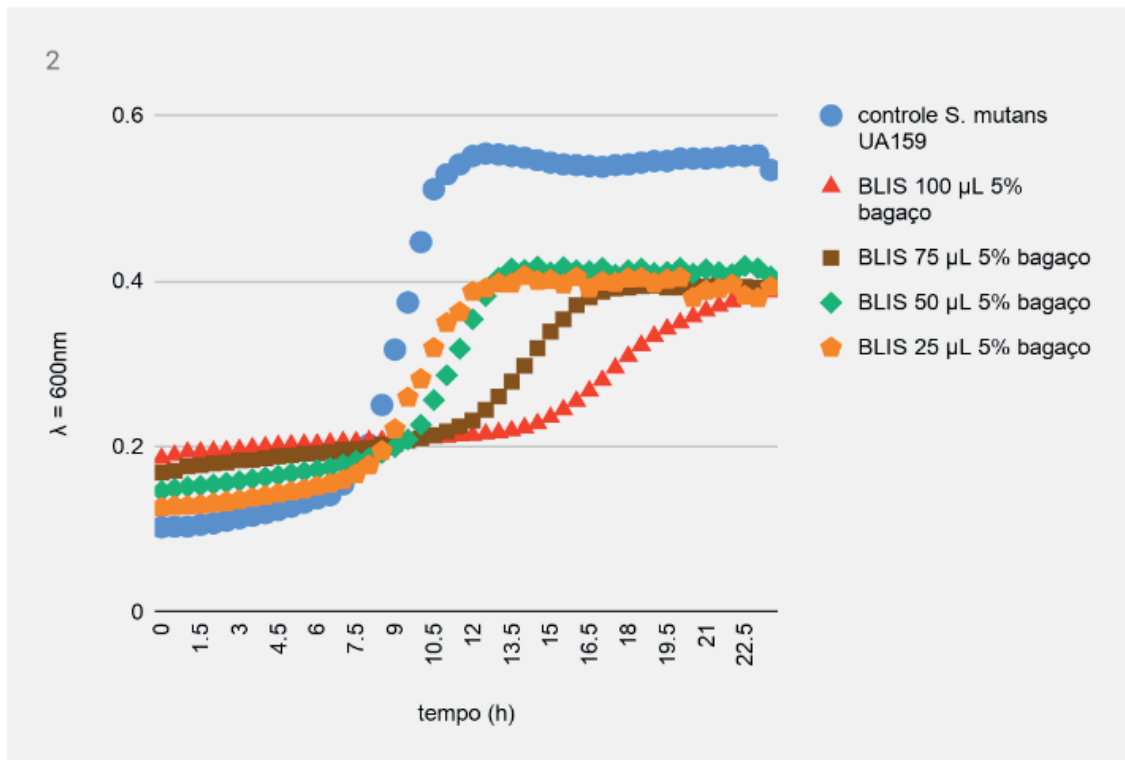


Figura 2: Crescimento de *S. mutans* UA159 em diferentes concentrações de BLIS, obtido na presença de 5% em volume de bagaço de cana de açúcar.

A figura 2 evidencia os resultados obtidos no experimento realizado com *L. lactis* CECT-4434 cultivada em meio contendo 5% (em volume) do licor de bagaço de cana de açúcar. Nota-se que os volumes de 25 μL e 50 μL de sobrenadante apresentaram início da fase exponencial semelhantes, aproximadamente 8 horas após o início da leitura. Neste caso, assim como relatado na figura 2, o crescimento bacteriano se tornou mais lento, e as densidades ópticas finais foram, respectivamente, 0,393 e 0,4053. Já os volumes de 75 μL e 100 μL de sobrenadante foram os que apresentaram uma maior retardação no princípio da fase exponencial, sendo que o segundo volume foi o que causou um maior impacto, apresentando 0,387 de densidade óptica ao final da medição, em comparação com 0,394 do volume de 75 μL .

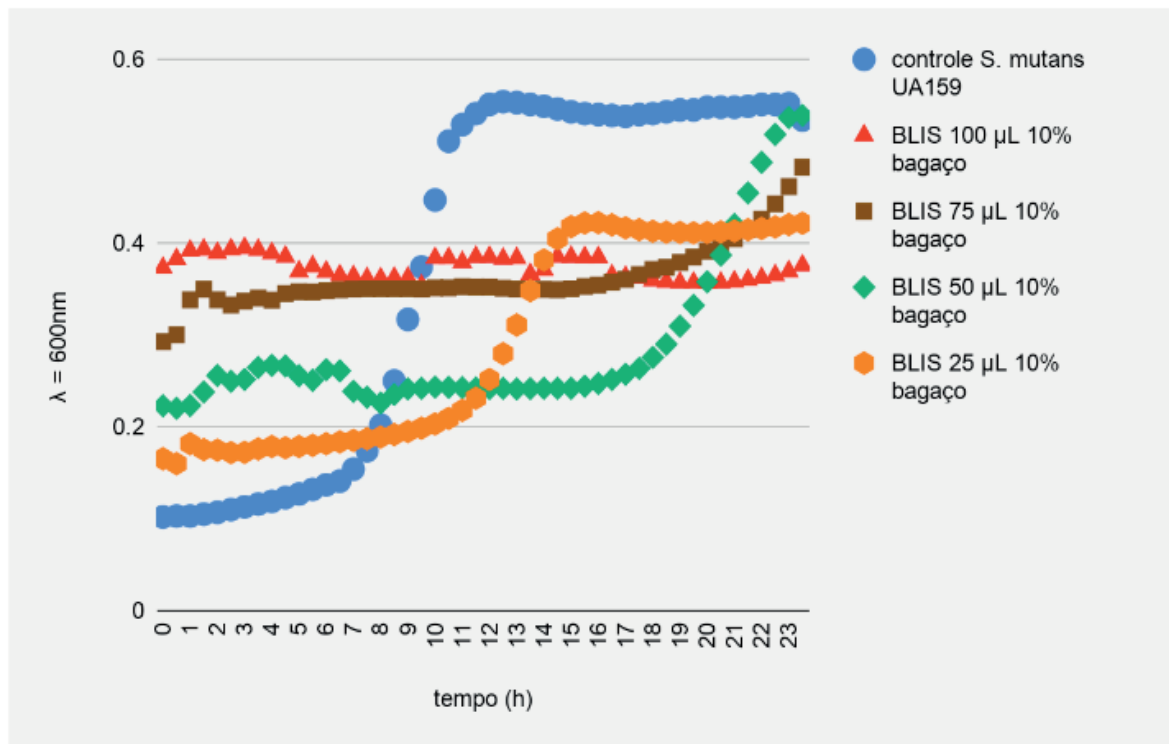


Figura 3: Crescimento de *S. mutans* UA159 em diferentes concentrações de BLIS, obtido na presença de 10% em volume de bagaço de cana de açúcar.

A figura 3 expõe os resultados da atividade antimicrobiana das BLIS de *Lactococcus lactis* CECT-4434 cultivada em meio de cultura contendo 10% (em volume) de licor de bagaço de cana de açúcar. O menor volume de sobrenadante utilizado (25μL) teve o início da fase exponencial atrasado em 5 horas em relação ao controle de *S. mutans* UA159 sem o sobrenadante, com densidade óptica final de 0,422. Por outro lado, os volumes de 50μL e 75μL apresentaram início de crescimento em, respectivamente, 19 e 22 horas, salientando o efeito bacteriostático (Yang et al. 2014) da BLIS nestes volumes. Em 100μL de sobrenadante o crescimento bacteriano foi totalmente inibido.

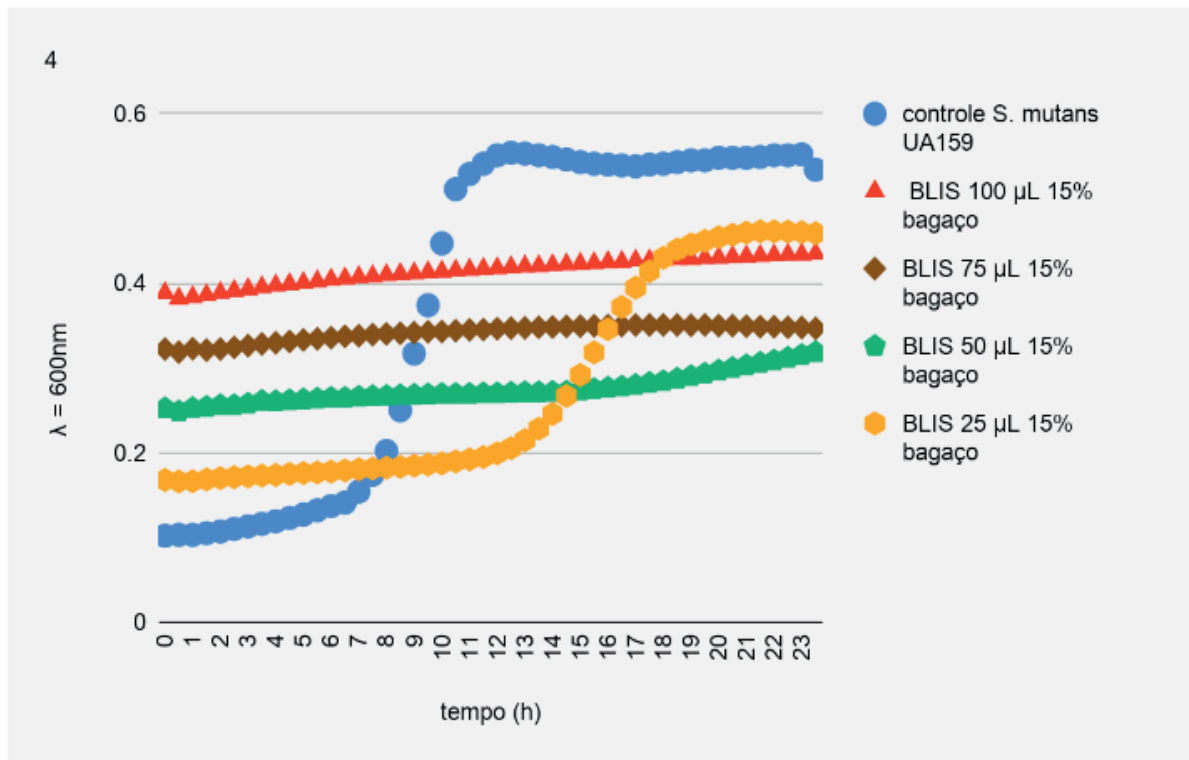


Figura 4: Crescimento de *S. mutans* UA159 em diferentes concentrações de BLIS, obtido na presença de 15% em volume de bagaço de cana de açúcar.

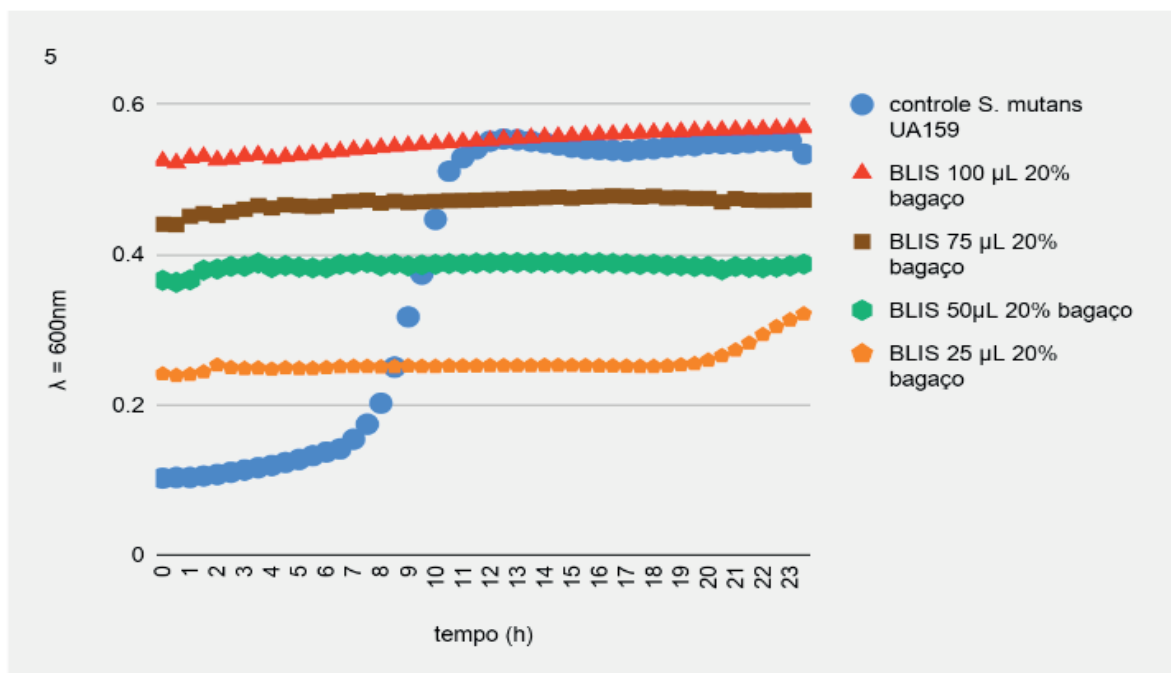


Figura 5: Crescimento de *S. mutans* UA159 em diferentes concentrações de BLIS, obtido na presença de 20% em volume de bagaço de cana de açúcar.

As figuras 4 e 5 apresentaram curvas de crescimento semelhantes, sendo que o sobrenadante obtido em meio com 20% (em volume) de bagaço de cana de açúcar apresentou maiores densidades ópticas finais para 100µL, 75µL e 50µL de BLIS (0,569, 0,473, 0,387 e 0,321, respectivamente) quando comparado aos mesmos volumes obtidos em meio com 15% (em volume) do bagaço (0,435, 0,347, 0,312, respectivamente). Nestes volumes, o

crescimento bacteriano foi totalmente inibido. Em 25µL de sobrenadante, porém, o BLIS obtido em 20% apresentou atividade antimicrobiana mais eficiente em comparação ao meio com 15% de bagaço, uma vez que o primeiro apresentou a fase exponencial 21 horas após o início da leitura, em comparação com as 15 horas do segundo.

4.3 ESTABILIDADE DAS BLIS

O sobrenadante que apresentou atividade antimicrobiana foi submetidos ao teste com as proteases pepsina, tripsina e papaína (item 3.6). Como não se observou a formação de halo de inibição, pôde-se concluir que houve a degradação das BLIS e sua natureza proteica foi confirmada.

	Pepsina	Tripsina	Papaína
<i>Lactococcus lactis</i> CECT-4434	+	+	+

(+) amostras que apresentaram resultado positivo para origem proteica.

Tabela 1: Teste de comprovação de origem proteica do composto antimicrobiano produzido contra *Listeria innocua* 2711.

Na tabela 2, a medida dos halos de inibição gerados pelos sais, solventes e detergentes em relação ao sobrenadante livre das células foi registrada com o intuito de descobrir se essas substâncias interferem a atividade antimicrobiana das BLIS. Como controle, essas substâncias também foram testadas sem o sobrenadante, para verificar se as substâncias possuem ação antimicrobiana na concentração do experimento.

<i>Lactococcus lactis</i> CECT-4434	
TritonX-100	12,99 mm
Tween-20	11,16 mm
Tween-80	11,24 mm
SDS	13,29 mm
Acetonitrila	9,73 mm
Isopropanol	10,30 mm
NaCl	9,76 mm
Sulfato de amônio	10,26 mm
Etanol	10,19 mm

Teste realizado com a técnica de spot-on-lawn, e usando 10 µL para cada ponto, *Lactococcus lactis* CECT 4434 contra *Listeria innocua* 2711.

Tabela 2: Teste de estabilidade a solventes orgânicos, sais e detergentes.

A tabela 2 mostra que, dentre os solventes orgânicos, sais e detergentes utilizados, o SDS é a substância que mais causa alteração na atividade das BLIS e possui atividade apresentando halo (dados não mostrados), com um halo de inibição medindo 13,29mm, em contraste com a acetonitrila, substância que gerou o menor halo de inibição, de 9,73mm.

O controle dos solventes sem o sobrenadante não apresentaram halos, comprovando que a alteração na atividade antimicrobiana foi decorrente da interação dos solventes com o sobrenadante.

5 | CONCLUSÃO FINAL

A partir dos resultados apresentados, a cepa de *Lactococcus lactis* CECT-4434 foi capaz de produzir substâncias inibitórias semelhantes à bacteriocinas, as BLIS, quando cultivadas em meio de cultura contendo um resíduo de um processo agroindustrial, o bagaço de cana de açúcar. Os sobrenadantes livres de células apresentaram atividade antimicrobiana quando testadas contra a principal bactéria causadora da cárie *Streptococcus mutans*, cepa UA159.

A atividade anticariogênica foi capaz de inibir totalmente o crescimento de *S. mutans* UA159 a partir de BLIS obtidas em meio com 10% em volume de bagaço de cana de açúcar, com 100 μ L do volume do sobrenadante.

REFERÊNCIAS

- ALLAKER, R. P.; DOUGLAS, C. I. Non-conventional therapeutics for oral infections. **Virulence**, v. 6, n. 3, p. 196–207, 2015.
- ALLAKER, R. P.; STEPHEN, A. S. Use of Probiotics and Oral Health. **Current Oral Health Reports**, v. 4, n. 4, p. 309–318, 2017.
- BOWEN, W. Dental caries - not just holes in teeth! A perspective. **Molecular Oral Microbiology**, v. 31, n. 3, p. 228–233, 2015.
- BREUKINK, E.; KRUIJFF, B. D. Lipid II as a target for antibiotics. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, n. 4, p. 321–323, 2006.
- CAGETTI, M. et al. The Use of Probiotic Strains in Caries Prevention: A Systematic Review. **Nutrients**, v. 5, n. 7, p. 2530–2550, 2013.
- CAO-HOANG, L. et al. Synergistic action of rapid chilling and nisin on the inactivation of *Escherichia coli*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 1, p. 105–109, 2008.
- CAUFIELD, P. et al. Diversity of Lactobacilli in the Oral Cavities of Young Women with Dental Caries. **Caries Research**, v. 41, n. 1, p. 2–8, 2006.
- CHALÓN, M. C. et al. Membrane-active bacteriocins to control *Salmonella* in foods. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 735–744, 2012.
- CHEN, L. et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation, extracellular polysaccharide production, and virulence by an oxazole derivative. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 2, p. 857–867, 2015.
- COTTER, P. D.; ROSS, R. P.; HILL, C. Bacteriocins — a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 95–105, 2012.
- FLOCH, M. H. Recommendations for Probiotic Use—2008 Response. **Journal of Clinical Gastroenterology**,

v. 43, n. 8, p. 793, 2009.

GUILHELMELLI, F. et al. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013.

GUPTA, P. et al. Role of Sugar and Sugar Substitutes in Dental Caries: A Review. **ISRN Dentistry**, v. 2013, p. 1–5, 2013.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412–429, 2014.

GÁLVEZ, A. et al. Natural Antimicrobials for Food Biopreservation. **Food Biopreservation SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition**, p. 3–14, 2014.

HAUKIOJA, A.; LOIMARANTA, V.; TENOVUO, J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 23, n. 4, p. 336–343, 2008.

HEATH, E. C. et al. **PENTOSE FERMENTATION BY LACTOBACILLUS PLANTARUM**. Disponível em: <<https://www.jbc.org/content/231/2/1009.long>>

HENG, C. **Tooth Decay Is the Most Prevalent Disease**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6373711/>>

HERNÁNDEZ, D.; CARDELL, E.; ZÁRATE, V. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 1, p. 77–84, 2005.

HÉCHARD, Y.; SAHL, H.-G. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. **Biochimie**, v. 84, n. 5-6, p. 545–557, 2002.

KLAENHAMMER, T. R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 12, n. 1-3, p. 39–85, 1993.

KLEIN, G. et al. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 103–125, 1998.

KRZYŚCIAK, W. et al. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 499–515, 2013.

LALEMAN, I.; TEUGHEL, W. **Probiotics in the dental practice: a review**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25485319>>

LIN, X. et al. Effect of Probiotic Lactobacilli on the Growth of *Streptococcus mutans* and Multispecies Biofilms Isolated from Children with Active Caries. **Medical Science Monitor**, v. 23, p. 4175–4181, 2017.

LYE, H. S. et al. Beneficial Properties of Probiotics. **Tropical Life Sciences Research**, v. 27, n. 2, p. 73–90, 2016.

MARTTINEN, A. et al. Short-term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production of supragingival plaque. **Clinical Oral Investigations**, v. 16, n. 3, p. 797–803, 2011.

MATHUR, V. P.; DHILLON, J. K. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 85, n. 3, p. 202–206, 2017.

METLITSKAYA, A. et al. Aspartyl-tRNA Synthetase Is the Target of Peptide Nucleotide Antibiotic Microcin C. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 26, p. 18033–18042, 2006.

NOBILE, C. G. et al. Pattern and severity of early childhood caries in Southern Italy: a preschool-based cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 14, n. 1, 2014.

PALOMBO, E. A. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1–15, 2011.

PARKS, W. M. et al. The action of the bacterial toxin, microcin B17, on DNA gyrase. **Biochimie**, v. 89, n. 4, p. 500–507, 2007.

PRUDÊNCIO, C. V.; SANTOS, M. T. D.; VANETTI, M. C. D. Strategies for the use of bacteriocins in Gram-negative bacteria: relevance in food microbiology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 9, p. 5408–5417, 2015.

RAMU, R. et al. Bacteriocins and Their Applications in Food Preservation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 00–00, 2015.

RAO, Y.; LINGAMNENI, B.; REDDY, D. **Probiotics in oral health--a review**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22866427>>

SAHA, S. et al. Probiotics as oral health biotherapeutics. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 12, n. 9, p. 1207–1220, 2012.

SEMINARIO-AMEZ, M. et al. Probiotics and oral health: A systematic review. **Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal**, 2017.

VINCENT, P.; MORERO, R. The Structure and Biological Aspects of Peptide Antibiotic Microcin J25. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 538–549, 2009.

YANG, R.; JOHNSON, M. C.; RAY, B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 10, p. 3355–3359, 1992.

YANG, S.-C. et al. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, 2014.

ZACHAROF, M.; LOVITT, R. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. **APCBEE Procedia**, v. 2, p. 50–56, 2012.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aedes Aegypti 111, 112, 113, 114, 115

Agrotóxicos 60, 95, 97, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260

Anatomia foliar 16, 26

Antifúngicos 98, 99, 100, 101, 102, 104, 105, 107, 108

Antimicrobiana 52, 54, 108, 192, 195, 197, 198, 199, 200, 203, 205, 206

Aprendizagem 29, 39, 116, 117, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 139, 142, 150

Aterosclerose 272, 273, 274, 275, 276, 277

Atta 1, 2, 4, 5, 14, 15

B

Besouro 60, 61, 90

Botânica 26, 28, 30, 38, 40, 47, 58, 111, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 297

C

Caatinga 45, 49, 50, 51, 53, 54, 55, 75, 77, 81, 83, 84, 85, 92, 95, 111, 112

Câncer 154, 170, 185, 188, 190, 211, 219, 249, 250, 251, 252, 254, 255, 258, 259, 277

Cárie dentária 192, 193, 194

Comunidade rural 55, 81, 83, 85

Conhecimento tradicional 9, 83, 84, 85, 90

Croton sp. 111, 112, 113

D

Diabetes 174, 175, 181, 182, 183, 235, 236, 237, 238, 239, 245, 246, 247, 248, 278

E

Educação básica 119, 127, 129, 139

Educação não formal 28

Endometriose 184, 185, 186, 190

Ensino de biologia 10, 116, 132, 139

Envelhecimento 153, 154, 155, 160, 161, 184, 190, 261, 262, 264, 265, 266, 267, 268

Estreptozotocina 235, 236, 237, 238, 241, 245

F

Foraminíferos 289, 291, 292, 293, 294

Formiga 5, 7, 89, 94

G

Gene 14, 55, 82, 165, 166, 167, 168, 172, 182, 224, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278

Germoplasma 41, 42, 43, 44, 45, 52, 53, 54, 55

Gestação 211, 237, 238, 241, 245, 263, 280, 282, 284, 286, 288

L

Lectinas 295

Lentinula edodes 235, 236, 237, 238, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246

Leucemia 166

M

Material didático 42, 127, 135, 138, 139

Meio ambiente 26, 44, 60, 85, 97, 112, 141, 142, 143, 145, 146, 147, 148, 150, 196, 212, 219, 250, 252, 254, 255, 257, 259

Mutação 165, 166, 167, 168, 170, 171, 189, 224, 227, 228

O

Obesidade 181, 230, 231, 232, 233, 234

Óleos essenciais 98, 99, 100, 101, 102, 104, 105, 106, 107, 108, 112

P

Pesticida 68

Pilosocereus gounellei 75, 76

Planta hospedeira 56, 59

Plataforma vibratória 230, 231, 232, 233, 234

Proteínas 152, 157, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 184, 185, 186, 188, 189, 194, 195, 196, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 228, 237, 239, 267, 295, 296

Protoctista 289, 290

Q

Qualidade da água 114

S

Saúde humana 97, 112, 253, 254

Saúde pública 211, 212, 219, 237, 250, 251, 254, 261, 269, 271, 272, 281, 288

Sementes 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 134

Sífilis 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288

Sistema imune 98, 100, 154, 263, 264, 265, 266, 267

Sustentabilidade 141, 142, 143, 144, 146, 149

T

Telômeros 155, 156, 157, 160, 185, 186, 188, 189, 190

Tolueno 209, 210, 211, 212, 213, 214, 216, 217, 218, 219

Toxoplasma gondii 295, 296

Trypanosoma cruzi 261, 262, 268, 269, 270, 271

U

Uncaria tomentosa 173, 175, 176, 177, 178, 180, 181

V

Vigna unguiculata 68

 **Atena**
Editora
2 0 2 0