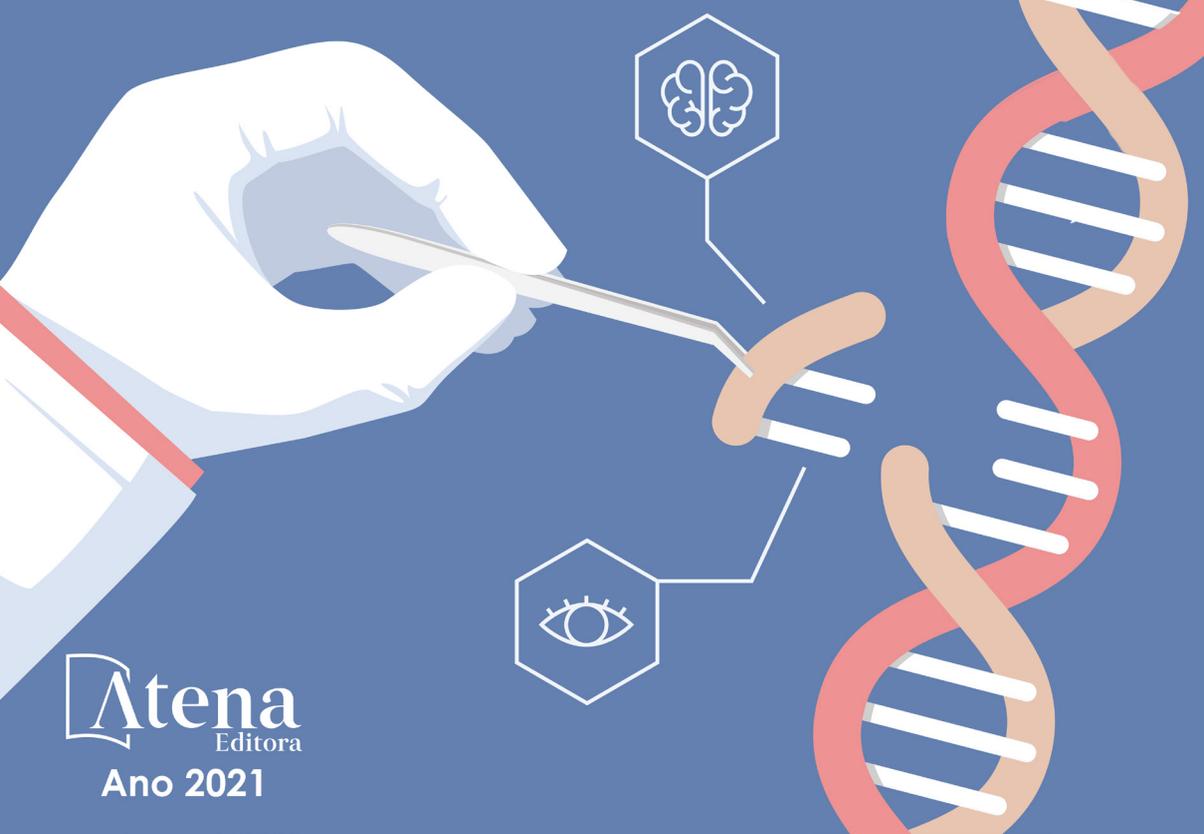


# A GENÉTICA E A CONSTRUÇÃO DE NOVOS PARADIGMAS NAS CIÊNCIAS DA VIDA

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)

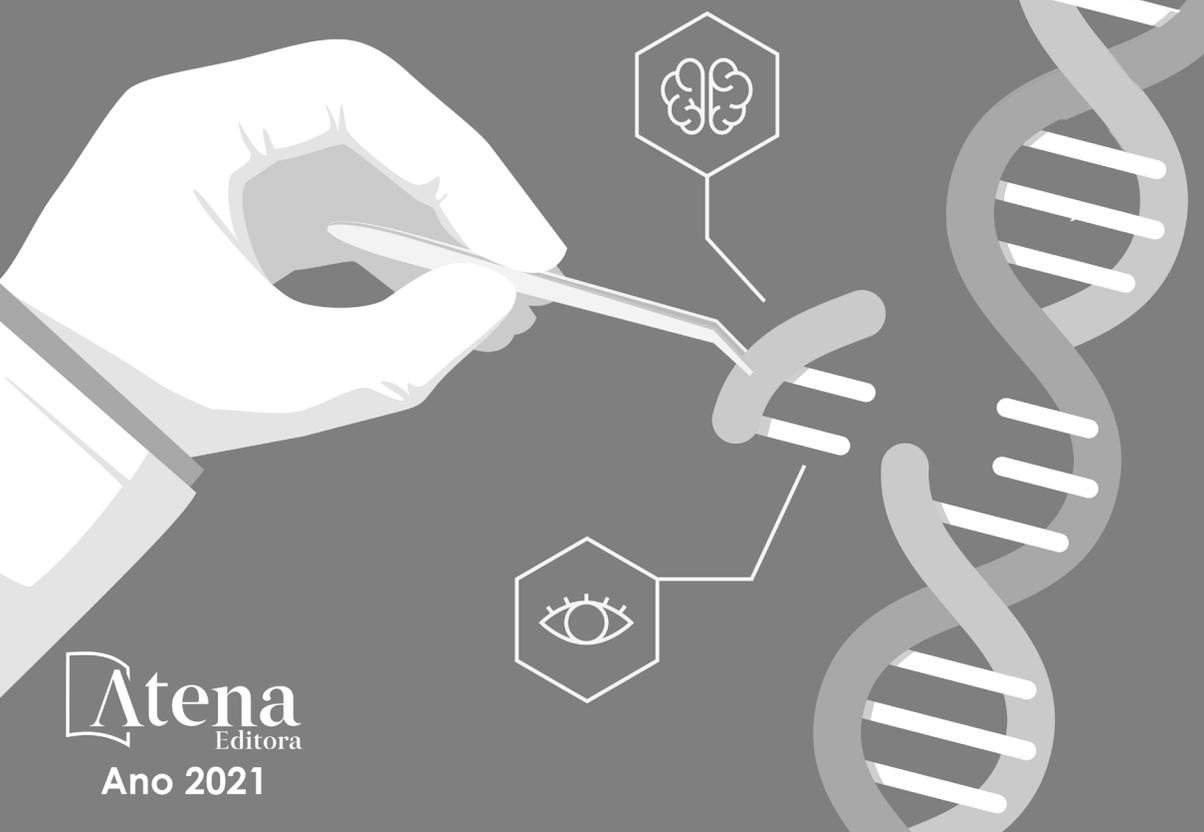


**Atena**  
Editora

Ano 2021

# A GENÉTICA E A CONSTRUÇÃO DE NOVOS PARADIGMAS NAS CIÊNCIAS DA VIDA

Benedito Rodrigues da Silva Neto  
(Organizador)



**Atena**  
Editora

Ano 2021

### **Editora Chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

### **Assistentes Editoriais**

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

### **Bibliotecária**

Janaina Ramos

### **Projeto Gráfico e Diagramação**

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

### **Imagens da Capa**

Shutterstock

### **Edição de Arte**

Luiza Alves Batista

### **Revisão**

Os Autores

2021 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2021 Os autores

Copyright da Edição © 2021 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

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. Crisóstomo Lima do Nascimento – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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 Alfnas

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

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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 Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco

Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará

Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

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

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> 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. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Linguística, Letras e Artes**

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
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<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

### **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. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí  
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais  
Prof. Me. Aleksandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar

Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná  
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa  
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia  
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina  
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
Prof. Dr. Everaldo dos Santos Mendes – Instituto Edith Theresa Hedwing Stein  
Prof. Me. Ezequiel Martins Ferreira – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
Prof. Me. Fabiano Eloy Atilio Batista – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
Prof. Me. Francisco Odécio Sales – Instituto Federal do Ceará  
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás  
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  
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza  
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social  
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe  
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 Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA  
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia  
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  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Luma Sarai de Oliveira – Universidade Estadual de Campinas  
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
Prof. Me. Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva – Governo do Estado do Espírito Santo  
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  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba  
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
Prof<sup>ª</sup> Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

## A genética e a construção de novos paradigmas nas ciências da vida

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
**Bibliotecária:** Janaina Ramos  
**Diagramação:** Maria Alice Pinheiro  
**Correção:** Flávia Roberta Barão  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Organizador:** Benedito Rodrigues da Silva Neto

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

G328 A genética e a construção de novos paradigmas nas ciências da vida / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-916-5

DOI 10.22533/at.ed.165211903

1. Genética. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da (Organizador). II. Título.

CDD 576.5

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa.

## APRESENTAÇÃO

Apresentamos o livro “A Genética e a construção de novos paradigmas nas Ciências da Vida”, um material rico e direcionado à todos acadêmicos e docentes com interesse pela genética.

A genética e suas aplicações tem influenciado diversas pesquisas promissoras em todo o mundo, contribuindo de forma significativa na saúde, agricultura, economia e biotecnologia. Aliada à revolução tecnológica essa subárea tem contribuído muito nos últimos anos com o avanço no campo da pesquisa. Como sabemos a genética possui um campo vasto de aplicabilidades que podem colaborar e cooperar grandemente com os avanços científicos e entender um pouco mais da pesquisa e recursos genéticos é o enfoque desta obra.

Deste modo, abordamos nesta obra assuntos relativos aos avanços e dados científicos aplicados aos recursos genéticos, o leitor poderá se aprofundar em temas direcionados à mitose, saúde e ambiente, célula e saúde, Cromossomo Philadelphia, biometria, DRESS, reações a drogas, exantema, ensino, laboratórios, extração DNA, tecidos vegetais, pureza e integridade, *Stylosanthes* sp., *Hylocereus*, conservação, variabilidade, RNA, método de extração, *Stylosanthes*, telômeros, telomerase, micropropagação, TCL, *Crambe abyssinica* Hochst, germinação, produção, herdabilidade, divergência genética, câncer, *Danio Rerio*, *Eye Disorders*, *Kidney Disease*, *Neurological Disorders*, *In Vivo Animal model*, dentre outros.

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

Desejo a todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

#### **ALTERAÇÕES GENOTÓXICAS, CITOTÓXICAS E MUTAGÊNICAS: UM CONTEÚDO A SER ILUSTRADO E TRABALHADO NO ENSINO MÉDIO**

Rosanne Lopes de Brito  
Cristiano Aparecido Chagas  
Júlio Brando Messias  
Erika Maria Silva Freitas  
Luiz Augustinho Menezes da Silva  
Gerusa Tomaz de Aquino Beltrão  
Mônica Simões Florêncio  
Igor Cassimiro dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.1652119031**

### **CAPÍTULO 2..... 14**

#### **CARACTERIZAÇÃO DO CROMOSSOMO PHILADEPHIA EM TUMORES NÃO-SÓLIDOS: UMA ABORDAGEM CITOGENÉTICA AO CÂNCER**

Caio Bezerra Machado  
Beatriz Maria Dias Nogueira  
Adrhyan Jullyanne de Sousa Portilho  
Manoel Odorico de Moraes Filho  
Maria Elisabete Amaral de Moraes  
Caroline de Fátima Aquino Moreira-Nunes

**DOI 10.22533/at.ed.1652119032**

### **CAPÍTULO 3..... 22**

#### **DIVERSIDADE MORFOLÓGICA DE FRUTOS DE MACAÚBA (*Acrocomia aculeata*)**

Ana Valéria Costa da Cruz  
Beatriz da Silva Rodrigues  
Amando Oliveira Matias  
Michelli Ferreira dos Santos  
Clarissa Gomes Reis Lopes  
Angela Celis de Almeida Lopes  
Sérgio Emílio dos Santos Valente  
Marcones Ferreira Costa

**DOI 10.22533/at.ed.1652119033**

### **CAPÍTULO 4..... 33**

#### **DRESS: SÍNDROME DA HIPERSENSIBILIDADE A DROGAS COM EOSINOFILIA E SINTOMAS SISTÊMICOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Italo Felipe Cury  
Eduarda Pereira Ceroni  
Julia Libanori Fragoso  
Leticia Nunes Montes  
Louise Volpini Lustosa  
Maria Clara Amaral de Arruda Falcão Ferro  
Samara Tatielle Monteiro Gomes

**DOI 10.22533/at.ed.1652119034**

<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>37</b>
ELABORAÇÃO DE MANUAL PRÁTICO COMO INSTRUMENTO PARA ENSINO EM LABORATÓRIOS ACADÊMICOS DE RADIOLOGIA ODONTOLÓGICA	
Johnatan Luís Tavares Góes	
Pedro Luiz de Carvalho	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1652119035</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>44</b>
EXTRAÇÃO DE DNA EM DIFERENTES TECIDOS DA ESPÉCIE LEGUMINOSA FORRAGEIRA <i>Stylosanthes capitata</i> VOGEL	
Fernando Bonifácio-Anacleto	
Carolina Costa Silva	
Priscila Marlys Sá Rivas	
Carlos Alberto Martinez	
Ana Lilia Alzate-Marin	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1652119036</b>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>55</b>
INTRODUÇÃO DE BANCO DE GERMOPLASMA DE PITAYA NO IFES CAMPUS ITAPINA	
Luis Carlos Loose Coelho	
Pamela Vieira Coelho	
Roberto Kirmse	
João Pedro Silva de Abreu	
Jhonathan Elias	
Hércules dos Santos Pereira	
Carolina Maria Palácios de Souza	
Jadier de Oliveira Cunha Junior	
Ana Paula Cândido Gabriel Berilli	
Ronilda Lana Aguiar	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1652119037</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>60</b>
MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE RNA DE ALTA PUREZA A PARTIR DE FOLHAS DA ESPÉCIE <i>Stylosanthes capitata</i> (VOGEL)	
Fernando Bonifácio-Anacleto	
Priscila Marlys Sá Rivas	
Tathyana Rachel Palo Mello	
Carlos Alberto Martinez	
Ana Lilia Alzate-Marin	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1652119038</b>	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>72</b>
O PAPEL DOS TELÔMEROS NA PROTEÇÃO DO DNA E VIABILIDADE CELULAR	
Beatriz Maria Dias Nogueira	
Caio Bezerra Machado	
Adrhyan Jullyanne de Sousa Portilho	
Raquel Carvalho Montenegro	

Manoel Odorico de Moraes Filho  
Maria Elisabete Amaral de Moraes  
Caroline de Fátima Aquino Moreira-Nunes

**DOI 10.22533/at.ed.1652119039**

**CAPÍTULO 10..... 82**

**ORGANOGENESE DE MARACUJAZEIRO (*Passiflora edulis* Sims) POR MEIO DA TÉCNICA TCL (*THIN CELL LAYER*)**

Elias da Cruz Ribeiro  
Inaê Mariê de Araújo Silva-Cardoso  
Jonny Everson Scherwinski-Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.16521190310**

**CAPÍTULO 11..... 90**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES E DESENVOLVIMENTO DO CRAMBE SOB DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO NITROGENADA**

Victor dos Santos Rosa de Oliveira  
Rafael Hydalgo Passeri-Lima  
Juliana Correa Araújo  
João Pedro Vanderlei Machado  
Bruna Rafaela da Silva Menezes

**DOI 10.22533/at.ed.16521190311**

**CAPÍTULO 12..... 101**

**SIMILARIDADES E DISSIMILARIDADES EM EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS DE JAMBU [*Acmella oleracea* (L.) R.K. JANSEN]**

Joyce da Costa Dias  
Mônica Trindade Abreu de Gusmão  
Camila Monteiro Salgado  
Leonel Rodrigues Souza

**DOI 10.22533/at.ed.16521190312**

**CAPÍTULO 13..... 114**

**ZEBRAFISH MODEL IN THE STUDY OF HUMAN DISEASE**

Inês Dias  
Paulo Teixeira  
Fernando Mendes  
Diana Martins

**DOI 10.22533/at.ed.16521190313**

**CAPÍTULO 14..... 134**

**ASSOCIAÇÃO RARA DAS SÍNDROMES XYY E DELEÇÃO DO BRAÇO CURTO DO CROMOSSOMO 18 EM UM RECÉM-NASCIDO: RELATO DE CASO**

Marta Marques de Carvalho Lopes  
Rejane Alves de Carvalho Monteiro  
Isabela Aurora Rodrigues  
Juliana Gonçalves de Araújo Fernandes  
Isabelly Rocha Borges

Luana Marcelina Silva Pereira  
Edynara Rocha Araújo  
Uyara da Silva Cadar  
Ruth Cop Ferreira

**DOI 10.22533/at.ed.16521190314**

**CAPÍTULO 15..... 143**

**SÍNDROME DE DELEÇÃO 18p COMO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL PARA BAIXA ESTATURA: RELATO DE CASO**

Rejane Alves de Carvalho Monteiro  
Marta Marques de Carvalho Lopes  
Isabela Aurora Rodrigues  
Juliana Gonçalves de Araújo Fernandes  
Isabelly Rocha Borges  
Luana Marcelina Silva Pereira  
Uyara da Silva Cadar  
Raquel Tavares Boy da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.16521190315**

**SOBRE O ORGANIZADOR..... 154**

**ÍNDICE REMISSIVO..... 155**

## MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE RNA DE ALTA PUREZA A PARTIR DE FOLHAS DA ESPÉCIE *Stylosanthes capitata* (VOGEL)

Data de aceite: 01/03/2021

Data de submissão: 08/12/2020

### **Fernando Bonifácio-Anacleto**

Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/USP  
Ribeirão Preto – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/0043916542934916>

### **Priscila Marlys Sá Rivas**

Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/USP  
Ribeirão Preto – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/4080101034174287>

### **Tathyana Rachel Palo Mello**

Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – FFCLRP/USP  
Ribeirão Preto – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/9374434116114880>

### **Carlos Alberto Martinez**

Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – FFCLRP/USP  
Ribeirão Preto – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/3370953480222387>

### **Ana Lilia Alzate-Marin**

Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/USP  
Ribeirão Preto – São Paulo  
<http://lattes.cnpq.br/5557045699055496>

**RESUMO:** As espécies de *Stylosanthes* spp. apresentam elevados níveis de polissacarídeos em suas folhas que podem potencialmente interferir e dificultar a extração de ácidos nucleicos de boa qualidade, em especial para o isolamento de RNA. Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi comparar dois protocolos de isolamento de RNA (Trizol+acetato de sódio [TA] e Trizol+sarcosil+acetato de sódio [TSA]) a partir de tecidos foliares da espécie *Stylosanthes capitata* Vogel coletados em um experimento de campo sobre simulação de mudanças climáticas futuras (Trop-T-Face: *Temperature Free Air Controlled Enhancement and Free Air Carbon Dioxide Enrichment da* USP/RP). No protocolo TA foi adicionado acetato de sódio 3M na fase de purificação de RNA, desde que este sal participa na precipitação dos ácidos nucleicos junto com o Etanol. No protocolo TSA, foi adicionado o detergente sarcosil na solução de extração o qual auxilia na solubilização de proteínas, além da adição do acetato de sódio como previamente relatado. Como resultados foram observadas diferenças altamente significativas ( $p < 0,01$ ) para ambas as metodologias de extração em todos os parâmetros estudados. A concentração média de RNA (ng/μL) foi 6,3 vezes superior em TSA (TSA=911,25 vs. TA=145,35). As razões de pureza ao redor de 2,0 e entre 2,0-2,2 para os parâmetros 260/280 e 260/230, respectivamente, foram observados em 96% das amostras do protocolo TSA. Os resultados de integridade do RNA (RIN), o qual é classificado como 1 = RNA degradado a 10 = RNA intacto, confirmam que o protocolo TSA alcançou os melhores resultados devido à melhor qualidade e integridade das

amostras (média de 3,87/TA e 7,25/TSA). Estes parâmetros indicam que para extração do RNA de folhas da espécie *S. capitata*, o método TSA é o mais indicado, com 84% de eficiência, em comparação ao método TA, que alcançou 25%.

**PALAVRAS - CHAVE:** RNA; Método de extração; *Stylosanthes*.

## HIGH-PURITY RNA EXTRACTION METHOD FROM LEAVES OF THE SPECIES *Stylosanthes capitata* (VOGEL)

**ABSTRACT:** *Stylosanthes* spp. species have high levels of polysaccharides in their leaves that can potentially interfere and make it difficult to extract good quality nucleic acids, especially for the isolation of RNA. In this context, the objective of this research was to compare two RNA isolation protocols (Trizol+sodium acetate [TA] and Trizol+sarcosyl+sodium acetate [TSA]) from leaf tissues of the species *Stylosanthes capitata* Vogel collected in a field experiment on simulation of future climate changes (Trop-T-Face: Temperature Free Air Controlled Enhancement and Free Air Carbon Dioxide Enrichment from USP/RP). In the TA protocol 3M sodium acetate was added in the RNA purification phase, since this salt participates in the precipitation of nucleic acids together with Ethanol. In the TSA protocol, sarcosil detergent was added in the extraction solution which helps in protein solubilization, besides the addition of sodium acetate as previously reported. As results, highly significant differences ( $p < 0.01$ ) were observed for both extraction methodologies in all parameters studied. The mean RNA concentration (ng/ $\mu$ L) was 6.3 times higher in TSA (TSA=911.25 vs. TA=145.35). Purity ratios around 2.0 and between 2.0-2.2 for parameters 260/280 and 260/230 respectively, were observed in 96% of samples of the TSA protocol. The results of RNA integrity (RIN), which is classified as 1 = RNA degraded to 10 = RNA intact, confirm that the TSA protocol achieved the best results due to the better quality and integrity of the samples (average of 3.87/TA and 7.25/TSA). These parameters indicate that for extraction of RNA from leaves of the *S. capitata* species, the TSA method is the most indicated, with 84% efficiency, compared to the TA method, which reached 25%.

**KEYWORDS:** RNA; Extraction methods; *Stylosanthes*.

## 1 | INTRODUÇÃO

As moléculas de RNA não são somente intermediárias entre as informações genéticas contidas no DNA e a proteína. Pesquisas recentes vêm elucidando uma gama de possibilidades oriundas das modificações pós-transcricionais nas moléculas de RNA, o que aumenta a complexidade dos produtos transcritos de um mesmo gene. Evidencia-se assim a importância do RNA na determinação de fenótipos (Li e Mason, 2014).

A extração de ácidos ribonucleicos (RNA) do interior de células eucarióticas pode ser realizada para diversas finalidades, desde estudos de expressão gênica, análise funcional dos RNAs, da qualidade dos transcritos, análise da expressão gênica, dentre outras. A maior dificuldade na extração de RNA envolve a alta incidência de ribonucleases (enzimas que se mantêm ativas mesmo na ausência de cofatores), que são capazes de degradar rapidamente as riboses da molécula do RNA. A presença do grupamento

hidroxila no carbono 2' da ribose torna a molécula de RNA mais suscetível a hidrólise pelas ribonucleases (Yockteng et al., 2013). Por isso, os protocolos de extração de RNA devem contar com etapas que visem: 1) A inativação destas enzimas endógenas nas amostras (ex: congelamento das amostras ou tratamento químico) e, 2) A redução da contaminação das amostras por ribonucleases exógenas (ex: utilizando materiais e reagentes autoclavados, limpeza e cuidado com a manipulação das amostras).

As novas tecnologias automatizadas de análise do RNA (como o *RNA sequencing*) são de grande importância para análise de milhões de transcritos de uma determinada população. Entretanto, elas requerem altas concentrações de RNA, com alta qualidade e pureza para sua utilização. Em especial, o isolamento de RNA de plantas para essa finalidade vem sendo um verdadeiro desafio, pois as células vegetais produzem alta quantidade de polissacarídeos (como taninos), polímeros orgânicos (como a lignina) e metabólitos secundários (como terpenos e flavonoides). Estas moléculas complexas são de difícil remoção, o que impossibilita a obtenção de uma RNA de alta qualidade e pureza (Jordon-Thaden et al., 2015).

Em vista disso, inúmeros métodos de extração foram testados e publicados para os mais diversos táxons vegetais (Johnson et al., 2012; Yockteng et al., 2013; Jordon-Thaden et al., 2015). Entretanto, sua grande variabilidade dificulta a escolha de um método padrão. Jordon-Thaden e colaboradores (2015) analisaram diversos métodos empregados para extração de RNA de diferentes táxons vegetais, observando que aqueles que continham Trizol e o reagente sarcosil foram os de maior eficiência.

Como relatado por Chiari et al. (2009), as folhas das plantas das espécies de *Stylosanthes* spp., inclusive as jovens, apresentam elevados níveis de polissacarídeos em suas folhas, os quais podem potencialmente dificultar o isolamento de ácidos nucleicos de alta qualidade, o que representa um desafio (Bonato et al., 2002; Faleiro et al., 2003; Chiari et al., 2009), especialmente em se tratando da extração de RNA. Trabalhos prévios relatam a extração de RNA de *Stylosanthes guianensis* Aubl. usando o reagente Trizol (Sun et al., 2013; Liu et al., 2016).

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi comparar a eficiência de dois protocolos: Trizol + acetato de sódio (TA) e Trizol + sarcosil + acetato de sódio (TSA) no isolamento de RNA a partir de tecidos foliares da espécie *Stylosanthes capitata* coletados em um experimento de campo sobre a simulação de mudanças climáticas futuras em sistema Trop-T-Face.

## 2 | METODOLOGIA

### 2.1 Coleta de amostras foliares de *Stylosanthes capitata*

As amostras de folhas de *Stylosanthes capitata* Vogel, para o estudo foram coletadas de um experimento em campo aberto, denominado Trop-T-Face, que teve por objetivo determinar os efeitos da elevada temperatura (+2 °C) e elevado CO<sub>2</sub> (600 ppm) (Figura 1). Uma descrição mais detalhada deste sistema de simulação Trop-T-Face encontra-se disponível em Martinez et al. (2014) e Haberman et al. (2019). As amostras de folhas coletadas foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. O material foi mantido em -80 °C até o momento da sua utilização para extração do RNA. Foram extraídas 12 amostras em cada protocolo.



Figura 1. Flores de *Stylosanthes capitata* em campo experimental. (Foto: Laboratório de Genética Vegetal, USP-RP)

### 2.2 Protocolos de extração do RNA

O RNA total de folhas foi extraído seguindo o protocolo do Trizol de acordo com o manual do fabricante (Thermo Fisher Scientific) com pequenas modificações especialmente em tempos de centrifugação e períodos de incubação. No protocolo 1, denominado TA, foi adicionado acetato de sódio 3M na fase de purificação de RNA, desde que este sal (CH<sub>3</sub>COONa) diminui a solubilidade em água dos ácidos nucleicos sendo, portanto, comumente usada em precipitações de DNA e RNA com etanol (Maniatis et al., 1982).

No protocolo 2, denominado TSA, além do acetato de sódio foi adicionado o sal sarcosil (C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>NNaO<sub>4</sub>) que atua como detergente na solubilização de proteínas e já foi relatado com sucesso no processo de extração de DNA e RNA em plantas (Cheung et al., 1993; Jordon-Thaden et al, 2015).

### 2.2.1 Protocolo TA – Trizol + acetato de sódio

Aproximadamente 250mg de folhas foram dispostas em tubos de 2mL estéreis e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Os tecidos foram macerados com pistilos estéreis, acoplados em parafusadeira portátil, até obtenção de um pó fino. Adicionou-se 1mL de Trizol (Invitrogen), seguido de homogeneização vigorosa em vórtex. O material foi incubado em temperatura ambiente (20-30 °C) por 2-3 minutos, sendo posteriormente centrifugadas a 4 °C na velocidade de 12.000rpm por 10 minutos.

O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 2mL e acrescido de 200 $\mu$ L de clorofórmio. A mistura foi agitada por inversão (15-20 segundos) e incubada novamente à temperatura ambiente (20-30 °C) por 3 minutos. Submetendo-as em uma nova centrifugação à 4 °C, 12.000rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5mL. Adicionou-se 500 $\mu$ L de isopropanol e após agitação, o material foi incubado para precipitação por 10 minutos à -20 °C. Após a precipitação do RNA, as amostras foram centrifugadas, nas mesmas condições anteriores, por 10 minutos. A seguir, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi lavado com etanol 75%. Após agitação, as amostras foram centrifugadas novamente e o *pellet* foi ressuscitado em 400 $\mu$ L de água ultrapura tratada com o reagente dietilpirocarbonato (DEPC).

Após a primeira ressuspensão do *pellet* de RNA em água, iniciou-se a etapa de separação, que consistiu em adicionar 400 $\mu$ L de clorofórmio. Após agitação em vórtex, as amostras foram centrifugadas a 4 °C na velocidade de 12.000rpm, por 10 minutos. O sobrenadante (cerca de 300 $\mu$ L) foi transferido para um novo tubo e cerca de 900 $\mu$ L de etanol 100% gelado foi misturado a cada amostra. Adicionou-se 30 $\mu$ L de acetato de sódio 3M (Ambion) por amostra e incubou-se por 2 horas a -20 °C (Meng e Feldman, 2010).

Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 4 °C na velocidade de 12.000rpm, por 30 minutos, retirando o sobrenadante em seguida e o *pellet* de RNA foi lavado com 1mL de etanol 75%. As amostras foram novamente centrifugadas nas mesmas condições anteriores por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o *pellet* submetido ao processo de secagem por 10 minutos, o excesso de gotículas de etanol dentro do tubo foi retirado com o auxílio de ponteiros *RNAse free*. O RNA foi ressuscitado em 30 $\mu$ L de água ultrapura DEPC.

### 2.2.2 Protocolo TSA – Trizol + Sarcosil + acetato de sódio

O mesmo protocolo anterior foi realizado, com as seguintes modificações: 1) Adicionou-se 50 $\mu$ L de sarcosil 20% junto ao 1mL do reagente de extração Trizol (Invitrogen), na etapa inicial da extração (Huang et al., 2012; Jordon-Thaden et al., 2015). 2) O tempo de incubação com clorofórmio foi aumentado de 3 para 5 minutos. 3) A velocidade das centrifugações foi aumentada de 12.000 para 14.000 rpm. 4) Nas etapas de precipitação do *pellet* (após incubação com isopropanol e após a última lavagem com etanol 75%) o

tempo de centrifugação foi aumentado de 10 para 20 minutos. 5) O período de incubação das amostras com isopropanol foi de 60 minutos à -20 °C. 6) Todos os reagentes utilizados estavam gelados (com exceção da água DEPC).

### 2.2.3 Tratamento com DNase

Utilizou-se o kit Turbo DNA-free (Ambion), que consiste na adição de 3 $\mu$ L do tampão DNase Buffer 10x e de 1 $\mu$ L da enzima DNase I em 30 $\mu$ L de cada amostra. Os reagentes foram incubados por 25 minutos a 37 °C. Adicionou-se a seguir 1 $\mu$ L do reagente de inativação com incubação a temperatura ambiente por 5 minutos. Por último, as amostras foram centrifugadas a 12.000rpm por 1,5 minutos e o sobrenadante (cerca de 30 $\mu$ L) foram transferidos para um novo tubo *RNA-se free*.

### 2.2.4 Quantificação e qualidade pelo bioanalyser

A concentração de RNA (ng/ $\mu$ L), assim como as razões 260/280 e 260/230 foram mensuradas em NanoDrop 2000c, utilizando 1 $\mu$ L da amostra final. A quantificação e a qualidade e integridade do RNA extraído foram mensuradas por eletroforese capilar realizada no Bioanalisador Agilent, utilizando o Agilent RNA6000 Nano Kit (Agilent Technologies). O programa gerou gráficos com picos de eletroferograma e calculou a integridade do RNA (RIN - *RNA Integrity Number*).

## 2.3 Análise dos resultados

Foram consideradas amostras de qualidade aquelas que apresentaram: alta concentração de RNA, razão 260/280 no valor de 2,0 e a razão 260/230 no valor entre 2,0-2,2 e o RIN igual ou superior a 7,0. A comparação entre os dois métodos de extração foi realizada por comparação destes parâmetros.

## 2.4 Análise estatística

Para os dados de cada protocolo que apresentaram distribuição normal (Shapiro-Wilk e Lilliefors,  $p < 0,05$ ), foram comparados pelo teste *t-Student*, e os que não seguiram normalidade foram comparados com o teste não paramétrico de Mann Whitney. As análises foram conduzidas através dos *softwares* estatísticos Minitab 19 e PAST 4.03.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração do RNA extraído em ng/ $\mu$ L das 12 amostras de *Stylosanthes capitata*, assim como as razões 260/280, 260/230 e o valor de RIN para cada amostra nos diferentes métodos de extração estão dispostos na Tabela 1. A média de concentração de RNA do grupo amostral, extraído pelo método TSA foi estatisticamente superior ( $t = -5,01$ ;

$p < 0,001$ ) do que a observada pelas amostras extraídas pelo método TA (TSA=911,25 vs. TA=145,35 ng/uL). A razão 260/230 foi significativamente superior nas amostras extraídas através do método TSA ( $t = -3,63$ ;  $p = 0,001$ ), e na razão 260/280 observou-se diferenças estatísticas significativas entre as médias do método TA e TSA ( $p = 0,001$ ) segundo o teste de Mann Whitney. O mesmo ocorreu no parâmetro que mede a integridade do RNA (RIN), cujas médias foram TA= 3,88±0,64 e TSA= 7,25±0,22 ( $p = 0,002$ ).

As razões de pureza 260/280 e 260/230 que medem graus de contaminação com proteínas/fenol e fenol/guanidina/etanol/glicerol devem oscilar entre 2,0 e entre 2,0-2,2, respetivamente. Estes valores foram observados em quase 100% das amostras extraídas pelo método com sarcosil, com exceção de duas amostras (1.2, 2.1). Estas amostras, embora apresentem concentração de RNA superior quando extraídas pelo protocolo TSA, apresentam pureza e integridade maior quando extraídas pelo protocolo TA. Uma amostra (4.1) apresentou resultados similares em ambos os métodos.

A Figura 2 mostra o perfil dos picos de eletroforese das amostras corridas pelo método TA (A) e TSA (B). É possível observar que a maioria das amostras extraídas pelo método TA apresentam um pico bastante elevado na altura de 25 nt e menores picos nas alturas de 1000 e 4000 nt (Figura 2A). Já as amostras extraídas pelo método TSA apresentam o padrão oposto: menores picos 25 nt e maiores picos de 1000 e 400 nt (Figura 2B). Isso demonstra claramente como a qualidade e a integridade das amostras extraídas pelo método TSA alcançaram os melhores resultados. Já a Figura 3 apresenta o padrão de bandas eletroforéticas. As bandas mais fortes são observadas nas amostras extraídas pelo método TSA (Figura 3B).

Para determinar a integridade do RNA, os valores de RIN variam de 1 indicando que o material está totalmente degradado e 10 quando o mesmo se encontra completamente intacto (Schroeder et al., 2006). Baseados neste parâmetro pode-se considerar que o método TA alcançou 25% de eficiência e o método TSA alcançou em torno de 83%.

Método TA: Trizol + Acetato de Sódio				Método TSA: Trizol + sarcosil + Acetato de Sódio				
Amostra	Concentração do RNA (ng/μL)	260/280 <sup>1</sup>	260/230 <sup>1</sup>	Integridade do RNA (RIN)	Concentração do RNA (ng/μL)	260/280 <sup>1</sup>	260/230 <sup>1</sup>	Integridade do RNA (RIN)
1.1	92,0	1,93	1,88	2,60	396,0	2,09	2,01	7,40
1.2	73,0	2,03	1,90	7,20	513,0	2,07	2,03	5,70
2.1	64,0	1,96	2,04	7,50	518,0	2,10	2,12	7,20
2.2	63,2	2,02	2,07	4,60	672,0	2,05	2,16	7,30
3.2	137,0	2,01	2,02	2,50	1044,0	2,07	2,12	7,80
4.1	86,0	2,04	1,95	7,50	908,0	2,01	2,03	7,50
4.2	167,0	2,00	2,01	1,90	1985,0	2,03	2,16	7,90
5.1	208,0	1,85	1,89	2,60	1585,0	2,09	2,17	5,70
6.1	170,0	2,03	1,99	2,50	1439,0	2,10	2,16	7,40
6.2	224,0	2,04	1,87	2,60	1000,0	2,04	1,94	7,90
7.1	209,0	2,00	1,99	2,60	306,0	2,03	2,02	7,20
7.2	251,0	2,00	2,03	2,40	569,0	2,03	2,03	8,00
Média	145,35*	1,99	1,97	3,87*	911,25*	2,06	2,08	7,25*
EP <sup>2</sup>	19,74	0,02	0,02	0,64	151,52	0,01	0,02	0,22

<sup>1</sup>Razão de absorvância; <sup>2</sup>Erro padrão da média; (\*) diferem estatisticamente (p<0,01)

Tabela 1. Comparação da concentração do RNA e das razões entre as absorvâncias obtidas na extração das mesmas amostras utilizando o primeiro e o segundo método.

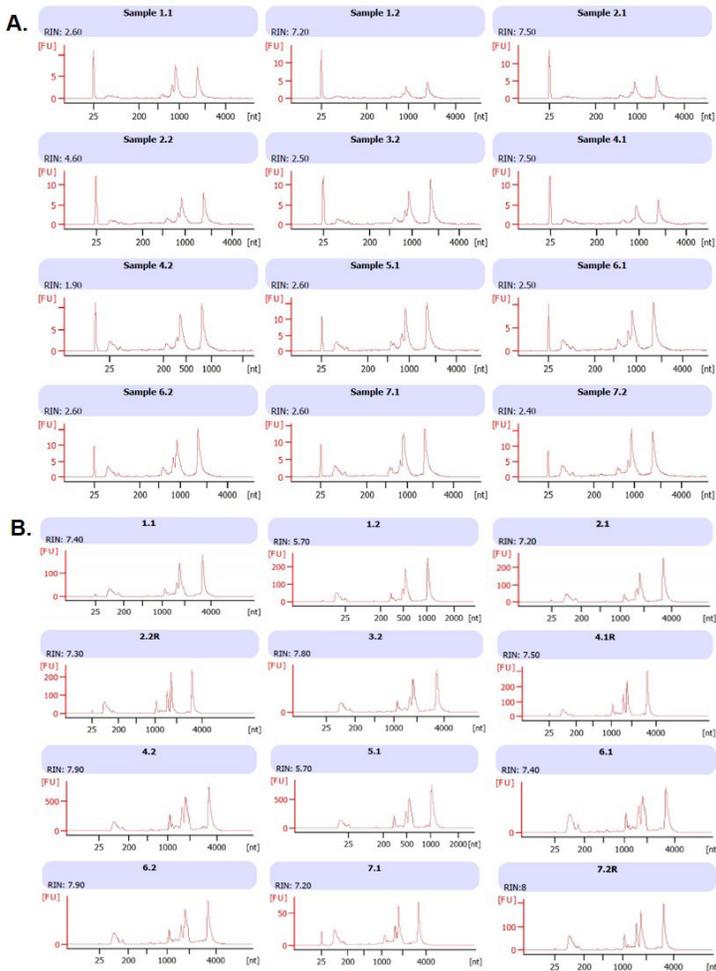


Figura 2. Perfil dos picos de eletroforese capilar obtidas pelo Bioanalyser Agilent RNA 6000 das amostras de RNAs isolados pelas metodologias TA (A) e TSA (B).

As maiores dificuldades com as metodologias estão ligadas a quantidade e qualidade do tecido usado na extração. Folhas amareladas ou muito senescentes foram o fator limitante para obtenção de ótima concentração de RNA, boas razões e valor de RIN acima de 7.0 utilizando o protocolo TSA.

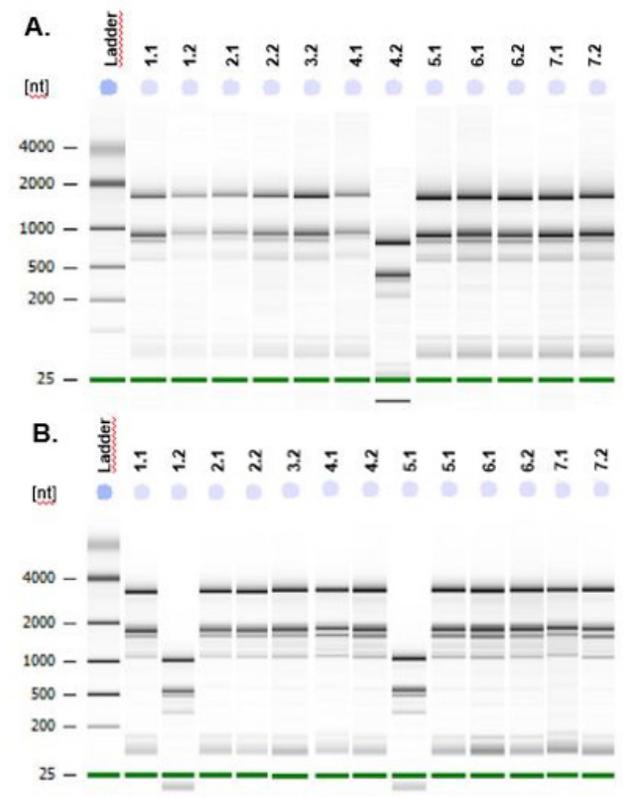


Figura 3. Perfil das bandas de eletroforese capilar obtidas pelo Bioanalyser Agilent RNA 6000 das amostras de RNAs isolados pelas metodologias TA (A) e TSA (B).

Observou-se também que as amostras obtidas dos diferentes tratamentos em campo não parecem interferir na qualidade das amostras, já que houve amostras de igual qualidade em todos os tratamentos.

## 4 | CONCLUSÃO

Estes resultados nos permitem concluir que o protocolo denominado como TSA, que consiste na adição de sarcosil e de outras modificações (de acordo com o mencionado em material e métodos) do protocolo do Trizol, melhora significativamente a concentração, a qualidade e a integridade do RNA extraído de tecido foliar da espécie *S. capitata*.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado pelo Projeto Temático da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Processo 08/58075-8) para C.A.M. e pelo projeto de Pesquisa FAPESP (Processo 15/23930-9) para A.L.A.M. A.L.A.M também foi

apoiada por uma bolsa de Pós-Doutorado Sênior do CNPq (Processo 150737/2014-9). C.A.M. teve apoio do CNPq/ANA/MCTI (Processo 446357/2015-4) e bolsa PQ do CNPq (Processo 306039/2016-8). P.M.S.R. foi apoiada por bolsa DSc CNPq (140144 / 2016-1). F.B.A. foi apoiado por FAPESP/bolsa TTIll (Processo 2013/18633-0) e por CNPq/bolsa DSc (Processo 141921/2019-6). T.R.P.M foi bolsista PD Júnior do CNPq (Processo 500137/2013-7). Agradecemos à Claudia Emília Vieira Wiesel pelo suporte técnico na análise de qualidade do RNA.

## REFERÊNCIAS

BONATO A.L.V.; VERZIGNASSI, J.R.; RESENDE, R.M.S.; FERNANDES, C.D.; LEGUIZAMÓN, G.O.D.C. (2002). **Extração de DNA genômico de *Stylosanthes* spp.** Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico 78.

CHEUNG, W.Y.; HUBERT, N.; LANDRY, B.S. (1993). **A simple and rapid DNA micro extraction method for plant, animal, and insect suitable for RAPD and other PCR analyses.** Genome Research 3:69-70.

CHIARI, L.; DO VALLE, J.V.R.; RESENDE, R.M.S. (2009). **Comparação de três métodos de extração de DNA genômico para análises moleculares em *Stylosanthes guianensis*.** Embrapa Gado de Corte. Circular técnica 36.

FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.; CORDEIRO, M.; KARIA, C. (2014). **Operacionalização da extração de DNA de espécies nativas do cerrado visando análises moleculares.** Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/567935/1/p200410.pdf>

HABERMANN, E.; SAN MARTIN, J.A.B.; CONTIN, D.R.; BOSSAN, V.P.; BARBOZA, A.; BRAGA, M.R.; GROppo, M.; MARTINEZ, C.A. (2019). **Increasing atmospheric CO<sub>2</sub> and canopy temperature induces anatomical and physiological changes in leaves of the C<sub>4</sub> forage species *Panicum maximum*.** PLoS ONE 14:e0212506.

HUANG, C.; PICIMBON, Li, H.Q.; Li, Z.; Liu, Q.; Liu, W. (2012). **An efficient method for total RNA extraction from peanut seeds.** Russian Journal of Plant Physiology 59:129-133.

JOHNSON, M.T.J.; CARPENTER, E.J.; TIAN, Z. et al. (2012). **Evaluating Methods for Isolating Total RNA and Predicting the Success of Sequencing Phylogenetically Diverse Plant Transcriptomes.** Plos One. 7(11):e50226.

JORDON-THADEN, I.E.; CHANDERBALI, A.S.; GITZENDANNER, M.A.; SOLTIS, D.E. (2015). **Modified CTAB and TRIzol Protocols Improve RNA Extraction from Chemically Complex Embryophyta.** Applications in Plant Sciences May; 3(5):1400105.

LI, S.; MASON, C.E. (2014). **The pivotal regulatory landscape of RNA modifications.** Annual Review of Genomics and Human Genetics; 15:127-150.

LIU, P. D.; XUE, Y. B.; CHEN, Z. J.; LIU, G. D.; TIAN, J. (2016). **Characterization of purple acid phosphatases involved in extracellular dNTP utilization in *Stylosanthes*.** Journal of Experimental Botany 67:4141-4154.

MANIATIS, T.; FRITSCH, E.T.; SAMBROOK, J.; ENGEL, J. (1982). **Molecular cloning—A laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 545 S.

MARTINEZ, C.A.; BIANCONI, M.; SILVA, L.; APPROBATO, A.; LEMOS, M.; SANTOS, L.; CURTARELLI, L.; RODRIGUES, A.; MELLO, T.; MANCHON, F. (2014). **Moderate warming increases PSII performance, antioxidant scavenging systems and biomass production in *Stylosanthes capitata* Vogel**. Environmental and Experimental Botany 102:58-67.

MENG, L.; FELDMAN, L. (2010). **A rapid TRIzol-based two-step method for DNA-free RNA extraction from *Arabidopsis* siliques and dry seeds**. Biotechnology Journal 5:183-186.

SCHROEDER, A.; MUELLER, O.; STOCKER, S.; SALOWSKY, R.; LEIBER, M.; GASSMANN, M.; LIGHTFOOT S.; MENZEL W.; GRANZOW M.; RAGG, T. (2006). **The RIN: an RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements**. BMC Molecular Biology 7(1):1-14.

SUN, L.; LIANG, C.; CHEN, Z.; LIU, P.; TIAN, J.; LIU, G.; LIAO, H. (2013). **Superior aluminum (Al) tolerance of *Stylosanthes* is achieved mainly by malate synthesis through an Al-enhanced malic enzyme, SgME1**. New Phytologist 202:209-219.

TRIZOL® Reagent Procol Thermo-Fisher Scientific. Disponível em: [https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/trizol\\_reagent.pdf](https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/trizol_reagent.pdf)

YOCKTENG, R.; ALMEIDA, A.M.R., YEE, Y., ANDRE, T., HILL, C.; SPECHT, C. (2013). **A method for extracting high-quality RNA from diverse plants for next-generation sequencing and gene expression analyses**. Applications in Plant Sciences 1(12):1300070.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ambiente 5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 31, 38, 39, 40, 42, 44, 46, 47, 49, 52, 64, 65, 93, 111, 112

### B

Biometria 5, 22, 23, 24, 28, 32, 102

### C

Cancer 15, 19, 20, 21, 80, 81, 114, 115, 122, 123, 124, 127, 128, 131, 132

Caracterização 6, 14, 22, 23, 25, 28, 31, 32, 58, 99, 103

Célula 5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 73, 74, 76, 77, 80

Conservação 5, 11, 24, 28, 55, 56, 57, 58, 103

Crambe abyssinica Hochst 5, 90, 91, 99

Cromossomo Philadelphia 5, 15

Cromossomos 5, 9, 13, 14, 16, 17, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 135, 136, 138, 144

### D

Danio Rerio 5, 114, 115, 128

Divergência Genética 5, 23, 30, 31, 32, 101, 112

DRESS 5, 6, 33, 34, 35, 36

### E

Ensino 5, 6, 7, 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43

Exantema 5, 33, 34

Extração DNA 45

Eye Disorders 5, 114

### G

Germinação 5, 5, 7, 90, 91, 93, 98, 99, 101, 102, 103, 106, 107, 108, 110, 111, 112, 113

### H

Herdabilidade 5, 101, 106, 110, 111

Hipersensibilidade 6, 33, 34, 35

História da Medicina 15

Hortaliça 101, 102

Hylocereus 5, 56, 57, 112

## **I**

Integridade 5, 44, 45, 51, 52, 60, 65, 66, 69, 76, 77

In Vivo Animal model 5, 114

## **K**

Kidney Disease 5, 114, 125, 132

## **L**

Laboratórios 5, 7, 37, 38, 39, 40, 41, 42

## **M**

Manual de Laboratório 37

Maracujazeiro 8, 82, 83, 84

Medicamentos 14, 33, 34, 35, 72

Método de extração 5, 7, 60, 61

Micropropagação 5, 82

Mitose 5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 136

Morfologia dos frutos 23

## **N**

Neurological Disorders 5, 114, 129

## **P**

Produção 5, 23, 26, 57, 59, 79, 83, 90, 91, 92, 96, 97, 98, 99, 107, 112

Pureza 5, 7, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 51, 52, 60, 62, 66

## **R**

Radiologia 7, 37, 38, 40, 41, 42

Reações a drogas 5, 33, 34

RNA 5, 7, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 77, 78, 119

## **S**

Saúde 5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 33, 37, 42, 138, 154

Sequência didática 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12

Stylosanthes 5, 7, 44, 45, 46, 53, 60, 61, 62, 63, 65, 70, 71

Stylosanthes sp. 5, 45

## **T**

TCL 5, 8, 82, 83, 84, 85, 86, 88

Tecidos vegetais 5, 45, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53

Telomerase 5, 72, 73, 76, 77, 78, 79, 80, 81

Telômeros 5, 7, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 79

Tirosina Quinase 15

## **V**

Variabilidade 5, 22, 23, 26, 27, 55, 56, 57, 58, 62, 75, 103, 110, 150

# A GENÉTICA E A CONSTRUÇÃO DE NOVOS PARADIGMAS NAS CIÊNCIAS DA VIDA

-  [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
-  [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)



# A GENÉTICA E A CONSTRUÇÃO DE NOVOS PARADIGMAS NAS CIÊNCIAS DA VIDA

-  [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)
-  [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

