

# O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



Daniela Reis Joaquim de Freitas  
(Organizadora)

**Atena**  
Editora  
Ano 2021

# O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



Daniela Reis Joaquim de Freitas  
(Organizadora)

**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  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Profª Drª 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  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale 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  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Pablo Ricardo de Lima Falcão – Universidade de Pernambuco  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Ribeiro Simon Cavalcanti – Universidade Católica do Salvador  
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. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
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. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
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  
Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª 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  
Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina  
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. Fernando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra  
Profª Drª 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  
Profª Drª 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  
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 Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federacl 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  
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino  
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  
Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

## **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
Profª Drª 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  
Profª Drª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª 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  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Sidney Gonçalves de Lima – Universidade Federal do Piauí  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

#### **Linguística, Letras e Artes**

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Edna Alencar da Silva Rivera – Instituto Federal de São Paulo  
Profª Drª Fernanda Tonelli – Instituto Federal de São Paulo,  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná  
Profª Drª Miraniide Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª 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  
Profª Ma. Adriana Regina Vettorazzi Schmitt – Instituto Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Alex Luis dos Santos – Universidade Federal de Minas Gerais  
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
Profª Ma. Aline Ferreira Antunes – Universidade Federal de Goiás  
Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras  
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa  
Profª Drª Andrezza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá  
Profª 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  
Profª 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. Carlos Augusto Zilli – Instituto Federal de Santa Catarina  
Prof. Me. Christopher Smith Bignardi Neves – Universidade Federal do Paraná  
Profª Drª 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. Edson Ribeiro de Britto de Almeida Junior – Universidade Estadual de Maringá  
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  
Prof. Me. Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho – Universidade Federal do Cariri  
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/UFGA  
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  
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
Profª Ma. Lilian de Souza – Faculdade de Tecnologia de Itu  
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
Profª Drª Lúvia 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  
Profª Ma. Luana Ferreira dos Santos – Universidade Estadual de Santa Cruz  
Profª Ma. Luana Vieira Toledo – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof. Me. Luiz Renato da Silva Rocha – Faculdade de Música do Espírito Santo  
Profª 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  
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Prof. Dr. Pedro Henrique Abreu Moura – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Prof. Me. Pedro Panhoca da Silva – Universidade Presbiteriana Mackenzie  
Profª Drª Poliana Arruda Fajardo – Universidade Federal de São Carlos  
Prof. Me. Rafael Cunha Ferro – Universidade Anhembi Morumbi  
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
Prof. Me. Renan Monteiro do Nascimento – Universidade de Brasília  
Prof. Me. Renato Faria da Gama – Instituto Gama – Medicina Personalizada e Integrativa  
Profª 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  
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
Profª Ma. Taiane Aparecida Ribeiro Nepomoceno – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
Profª 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



## O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces 2

**Bibliotecária:** Janaina Ramos  
**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Flávia Roberta Barão  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Organizadora:** Daniela Reis Joaquim de Freitas

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

F736 O fortalecimento intensivo das ciências biológicas e suas interfaces 2 / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2021.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-5983-135-7  
DOI 10.22533/at.ed.357212805

1. Ciências biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.

CDD 570

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

## 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

O livro “O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2” é uma obra cujo foco principal está na interrelação das diferentes áreas das Ciências Biológicas e em suas interfaces com outras áreas na produção de conhecimento. O presente volume abordará em seus vinte capítulos o conhecimento interdisciplinar que compõe a grande área de Ciências Biológicas através de artigos científicos originais, pesquisas, relatos de casos e/ou revisões.

Cada um dos estudos selecionados foi desenvolvido em reconhecidas instituições de ensino e pesquisa do país, e aborda as diferentes áreas da Biologia e áreas correlatas, que possuem interface com ela - Parasitologia, Microbiologia, Farmacologia, Zoologia, Botânica, Medicina, Educação em Saúde, Biologia Celular e Molecular, Genética entre outras. É necessário destacar que mais que nunca, biólogos têm estado presentes cada vez mais em áreas de pesquisa antes consideradas específicas de outras profissões. Esta interdisciplinaridade é extremamente importante, pois pesquisas com olhares de diferentes profissionais tendem a ter mais êxito e gerar melhores frutos. Por isto, trabalhos diversos são aqui discutidos com a proposta de ampliar o conhecimento científico e acadêmico, assim como abordar temas atuais e de interesse direto também da comunidade em geral.

Acreditamos que esta obra será importante para a difusão do conhecimento e da ciência e, assim como todas as demais obras da Atena Editora, esta também passará por julgamento de um corpo editorial formado por mestres e doutores. Esperemos que que você faça bom proveito!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1..... 1**

ANÁLISE DOS RISCOS DA AUTOMEDICAÇÃO E A PREVALÊNCIA DESSE HÁBITO ENTRE OS ACADÊMICOS DA FACULDADE UNICESUMAR CAMPUS PONTA GROSSA

Ryan da Silva do Prado

**DOI 10.22533/at.ed.3572128051**

### **CAPÍTULO 2..... 17**

ANÁLISE COMPARATIVA DAS FIBRAS COLÁGENAS E DAS FIBRAS ELÁSTICAS DE CORONÁRIAS E CARÓTIDAS EM PACIENTES AUTOPSIADOS

Luciano Alves Matias da Silveira

Gabriela Ribeiro Juliano

Laura Sanches Aguiar

Guilherme Ribeiro Juliano

Bianca Gonçalves Silva Torquato

Mariana Silva Oliveira

Fernando Pimenta de Paula

Marina Guerra Rotelli

Isadora Ignácio Lourenço

Vicente de Paula Antunes Teixeira

Mara Lúcia da Fonseca Ferraz

**DOI 10.22533/at.ed.3572128052**

### **CAPÍTULO 3..... 43**

AVALIAÇÃO DA DISTÂNCIA GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE *Bursaphelenchus cocophilus*

Arinaldo Pereira da Silva

Josineide Rodrigues da Costa

**DOI 10.22533/at.ed.3572128053**

### **CAPÍTULO 4..... 49**

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA CICATRIZAÇÃO DE PELE DE RATOS WISTAR TRATADOS COM POMADA DE EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE PERESKIA ACULEATA MILLER (ORA – PRO- NÓBIS)

Ana Rosa Crisci

Cauê Aparecido de Jesus Cavé Lima

Rosilene Alves Rodrigues

Vanessa Digilio Vanzo

Jose Norberto Bazon

Wilson Roberto Malfará

Lucila Costa Zini Angelotti

**DOI 10.22533/at.ed.3572128054**

### **CAPÍTULO 5..... 62**

ASPECTOS BIOLÓGICOS DA VIOLÊNCIA OBSTÉTRICA

Monique Rafaela de Oliveira Silva Lopes

Kátia Zeny Assumpção Pedroso

**DOI 10.22533/at.ed.3572128055**

**CAPÍTULO 6..... 79**

***Baccharis milleflora* (LESS.) D.C.: EFEITOS CONTRA FUNGOS OPORTUNISTAS E FATOR DE VIRULÊNCIA**

Ana Lays Braga

Rafael Pereira da Cruz

Joara Nályda Pereira Carneiro

Antonia Thassya Lucas dos Santos

Débora Lima Sales

Victor Juno Alencar Fonseca

Luciene Ferreira de Lima

Henrique Douglas Melo Coutinho

Luiz Everson da Silva

Maria Flaviana Bezerra Morais-Braga

Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues

**DOI 10.22533/at.ed.3572128056**

**CAPÍTULO 7..... 94**

**CONTAMINAÇÃO NO CULTIVO CELULAR: BOAS PRÁTICAS NO LABORATÓRIO**

Giulia Galani Martha

Susane Lopes

Marcelo Maraschin

**DOI 10.22533/at.ed.3572128057**

**CAPÍTULO 8..... 108**

**LA VACUNA RECOMBINANTE EG95 EN HOSPEDEROS INTERMEDIARIOS EL LARGO CAMINO RECORRIDO EN LA BÚSQUEDA DE UNA VACUNA, PARA PREVENIR HIDATIDOSIS. DESDE LA INVESTIGACIÓN HASTA SU APLICACIÓN EN PROGRAMAS DE CONTROL. (1927 - 2016)**

Jensen Oscar

Gertiser María Laura

**DOI 10.22533/at.ed.3572128058**

**CAPÍTULO 9..... 134**

**DISPONIBILIDADE DE INFORMAÇÃO ORNITOLÓGICA DAS UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DO ESTADO DO PARANÁ: PLANOS DE MANEJO**

Adriana Barbosa Bussler

Vagner Cavarzere

**DOI 10.22533/at.ed.3572128059**

**CAPÍTULO 10..... 147**

**ESTUDO DO FUNGO *Rhizopus stolonifer* CONHECIDO COMO BOLOR PRETO DO PÃO**

Laryany Farias Vieira Fontenele

Aliny Lima de Sousa

Luana de Mikelle Rodrigues Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.35721280510**

**CAPÍTULO 11..... 155**

**O PROFESSOR “IDEAL” NA VISÃO DE ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA:  
UM ESTUDO DESCRITIVO**

Edla Helena Salles de Brito  
Débora Rosana Alves Braga  
Dulce Maria de Lucena Aguiar  
Maria Elisa Machado Ferreira Marcelo  
Maria Viera de Lima Saintrain

**DOI 10.22533/at.ed.35721280511**

**CAPÍTULO 12..... 163**

**NODULAÇÃO EM FEIJÃO GUANDU (*Cajanus cajan* L.) EM RESPOSTA À APLICAÇÃO  
DE EXTRATO DE NÓDULOS**

Simone Yasuda Fernandes  
Glaucia Almeida de Moraes  
Lucas Ortega Martins  
Adriana da Silva Ribeiro  
Vinicius Nunes Gomes  
Daniela Fialho Duarte  
Débora de Araújo

**DOI 10.22533/at.ed.35721280512**

**CAPÍTULO 13..... 175**

**OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLOS PARA A EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO EM  
*Physalis* L.**

André Pinto Lima  
Hortência Kardec da Silva  
Rafael Cruz Cordeiro  
Maryelle Vanilla de Abreu Cerqueira  
Jéssica Barros Andrade  
Aparecida Gomes Feitosa  
Joseane Inácio da Silva Moraes

**DOI 10.22533/at.ed.35721280513**

**CAPÍTULO 14..... 183**

**PERSPECTIVAS DEL TRATAMIENTO MÉDICO DE LA ECHINOCOCCOSIS  
QUÍSTICA. GENERACIÓN DE EVIDENCIA CLÍNICA EN SU UTILIZACIÓN PRE Y  
POST QUIRÚRGICA**

Walner Daniel da Rosa Alvarez  
Marcela Risso  
Carlos Russi  
Elisa Figueredo  
Ana María Acuña

**DOI 10.22533/at.ed.35721280514**

**CAPÍTULO 15..... 194**

**PARÂMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS PARA ANÁLISE DE**

## ÁGUA POTÁVEL

Junior Rodoi da Silva  
Victor Abdiel de Souza de Brito  
Arielly Neri de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.35721280515**

## **CAPÍTULO 16.....203**

### PROJETO DE EXTENSÃO CIENTISTA NA ESCOLA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Tatiane do Nascimento Lima  
Edihanne Gamarra Arguelho  
Rogério Rodrigues Faria

**DOI 10.22533/at.ed.35721280516**

## **CAPÍTULO 17.....214**

### REPROGRAMAÇÕES METABÓLICAS EM MELANOMAS RESISTENTES AO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO

Camila Kehl Dias  
Ivi Juliana Bristot  
Fábio Klamt

**DOI 10.22533/at.ed.35721280517**

## **CAPÍTULO 18.....229**

### RECURSOS AROMÁTICOS DA AMAZÔNIA: OBTENÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E APLICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Edilene Carvalho Gomes Ribeiro  
Denise Fernandes Coutinho

**DOI 10.22533/at.ed.35721280518**

## **CAPÍTULO 19.....245**

### TECNOLOGIA DO DNA: CLONAGEM DE DNA EM CÉLULAS VIVAS E PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Claudio Fernando Graciano Martins

**DOI 10.22533/at.ed.35721280519**

## **CAPÍTULO 20.....255**

### TESTES DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA ADAPTADOS PARA ÓLEOS ESSENCIAIS

Cristiane Mengue Feniman Moritz  
Carolina Melchior Pereira  
Nathália Righi Pessôa da Silva  
Larissa Franciscatti Hoffmann  
Adryelen Cassiano Martins  
Giovanna Maísa Macanhan  
Milene Ribeiro da Silva  
Daniella Londero Silva Batisti  
Lidaiane Mariáh Silva dos Santos Franciscato

**DOI 10.22533/at.ed.35721280520**

<b>SOBRE A ORGANIZADORA.....</b>	<b>268</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO.....</b>	<b>269</b>



## TECNOLOGIA DO DNA: CLONAGEM DE DNA EM CÉLULAS VIVAS E PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Data de aceite: 26/05/2021

Data de submissão: 12/03/2021

**Claudio Fernando Graciano Martins**

<http://lattes.cnpq.br/8806964138384536>

**RESUMO:** O advento da tecnologia do DNA possibilitou a obtenção, manipulação e amplificação de DNA de qualquer organismo, levando a grandes avanços da biologia celular e molecular na compreensão sobre o funcionamento das células e suas macromoléculas. As técnicas de clonagem de DNA em células vivas e pela reação em cadeia da polimerase (PCR), permitem isolar uma grande quantidade de um gene de interesse para a pesquisa biológica, incluindo várias aplicações no desenvolvimento de diagnóstico e tratamento para diversas doenças, medicina forense, produção de alimentos e proteínas recombinantes para benefícios da sociedade. O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar a importância do DNA e descrever as técnicas utilizadas para clonar e amplificar segmentos de DNA de interesse para a pesquisa básica e suas aplicações.

**PALAVRAS-CHAVE:** Clonagem de DNA. PCR. Tecnologia do DNA. DNA recombinante.

DNA TECHNOLOGY: DNA CLONING  
IN LIVING CELLS AND POLYMERASE  
CHAIN REACTION

**ABSTRACT:** The advent of DNA technology made

it possible to obtain, manipulate and amplify the DNA of any organism, leading to great advances in cellular and molecular biology in understanding the functioning of cells and their macromolecules. The techniques of DNA cloning in living cells and by the polymerase chain reaction (PCR), allow the isolation of a large amount of a gene of interest for biological research, including several applications in the development of diagnosis and treatment for various diseases, forensic medicine, production of recombinant foods and proteins for the benefit of society. The objective of this bibliographic review is to present the importance of DNA and describe the techniques used to clone and amplify segments of DNA of interest for basic research and its applications.

**KEYWORDS:** DNA cloning. PCR. DNA technology. Recombinant DNA.

### 1 | INTRODUÇÃO

A descoberta da estrutura do DNA na década de 1950 e estudos posteriores, como o conhecimento sobre as atividades das endonucleases de restrição, DNA-ligases e DNA-polimerases levaram ao desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante (rDNA, de recombinant DNA), que consiste na obtenção, manipulação e amplificação de DNA. Essa amplificação, denominada clonagem de DNA, produz diversas cópias idênticas de um gene ou outro segmento de DNA e pode ser realizada em células hospedeiras vivas (*in vivo*) ou em tubo de ensaio (*in vitro*) pela reação em cadeia da

polimerase (PCR).

As técnicas de clonagem e amplificação de DNA são ferramentas essenciais para a pesquisa biológica quando o objetivo é o sequenciamento de DNA, expressão gênica, estudo de mutações (alterações no DNA) ou criação de vários tipos de alterações genéticas.

As técnicas envolvendo o DNA têm efeitos significativos na sociedade com diversas aplicações, incluindo o diagnóstico e tratamento de doenças, produção em larga escala de fármacos, como insulina para diabéticos, análises forenses para esclarecimento de crimes e teste de paternidade; e ainda, o desenvolvimento de animais e plantas transgênicos para melhorar a produção e qualidade dos alimentos.

O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar a importância do DNA e descrever os princípios básicos das técnicas de clonagem de DNA em células vivas e pela PCR e suas aplicações, contribuindo com a divulgação da ciência e estimulando o aprendizado científico.

## 2 | ÁCIDOS NUCLÉICOS: DNA E RNA

Os ácidos nucleicos, DNA (ácido desoxirribonucleico) e RNA (ácido ribonucleico), são polímeros (macromoléculas) formados pela união de monômeros chamados de nucleotídeos. Um nucleotídeo é formado por um açúcar de cinco carbonos (pentose), uma base nitrogenada e um grupo fosfato (REECE et al., 2015). No DNA o açúcar é uma desoxirribose e no RNA é uma ribose. Os nucleotídeos usados na síntese de DNA e RNA contêm cinco bases nitrogenadas diferentes classificadas em purinas (formadas por dois anéis, um anel de seis átomos ligado a outro anel de cinco átomos) e pirimidinas (formada por um anel de seis átomos). As bases purinas são Adenina (A) e Guanina (G), e as pirimidinas incluem Timina (T), Citosina (C) e Uracila (U). Além da diferença do açúcar que compõe o DNA e o RNA, também há diferença na base nitrogenada. Adenina, guanina e citosina são encontradas tanto no DNA quanto no RNA; a timina é observada apenas no DNA e a uracila apenas no RNA (LODISH et al., 2014). Os nucleotídeos são unidos uns aos outros por uma ligação chamada fosfodiéster (um grupo fosfato ligando dois açúcares de dois nucleotídeos) formando uma cadeia polinucleotídica (REECE et al., 2015). O DNA possui duas cadeias polinucleotídicas (fitas) antiparalelas entre si e o RNA apresenta normalmente uma fita única. Os nucleotídeos da dupla-hélice de DNA são unidos por ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas, ocorrendo o pareamento de adenina com timina e citosina com guanina. Esse pareamento das bases revela que uma sequência nucleotídica de uma fita de DNA é exatamente complementar a sequência de nucleotídeos da outra fita (ALBERTS et al., 2017).

A estrutura do DNA de dupla-hélice foi elucidada por James Watson e Francis Crick em 1953, com base nos dados de difração de raios X obtidos por Rosalind Franklin e Maurice Wilkins. A descoberta da estrutura do DNA é considerada por alguns a descoberta

biológica mais importante do século XX e concedeu a Watson, Crick e Wilkins, em 1962, o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina. Rosalind Franklin não foi agraciada com o Prêmio, pois faleceu de câncer em 1958, antes da premiação (GRIFFITHS et al., 2013).

Os dois tipos de ácidos nucleicos permitem que os organismos vivos reproduzam seus componentes complexos de uma geração para outra. O DNA é o material genético que possui a informação para sua própria replicação e também controla a síntese de RNA (transcrição) e, por meio do RNA, controla a síntese de proteínas (tradução). Esse fluxo direcional da informação é conhecido como dogma central da biologia molecular, proposto por Crick em 1956 (REECE et al., 2015). A descoberta da estrutura do DNA e a revelação do dogma central marcaram o início da biologia molecular (LODISH et al., 2014).

### 3 | TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE

O DNA, arquivo de informações da célula, é a principal fonte de compreensão sobre os processos biológicos moleculares celular. Um segmento do DNA com sequências de nucleotídeos que é capaz de produzir uma proteína ou molécula de RNA constitui o gene. O gene é a unidade da hereditariedade, e toda informação genética codificada no DNA de uma célula, representa o genoma de um organismo (COX et al., 2012). O gene é a base da maioria das técnicas da biologia molecular e, portanto, é desejável a capacidade de isolar um gene específico ou alguma região do DNA genômico e amplificá-lo, de modo a obter material necessário para estudo. Isso só tornou possível, em meados da década de 1970, com o surgimento de técnicas que foram coletivamente chamadas de tecnologia do DNA recombinante (GRIFFITHS et al., 2013). Essa tecnologia permite a manipulação e amplificação de sequências de DNA de interesse produzindo um grande número de cópias idênticas. Essa amplificação é denominada clonagem de DNA e pode ser realizada por dois métodos distintos: *in vivo*, através de células hospedeiras vivas; ou *in vitro*, pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tubo de ensaio. (SNUSTAD e SIMMONS, 2017).

Depois de ser clonado, em geral, o gene é sequenciado; isso significa, determinar a ordem da sequência de pares de bases. Se a função do gene for desconhecida, a sequência nucleotídica pode ser comparada a milhares de sequências gênicas armazenadas em bancos de genes digitais (GenBank, por exemplo), as vezes é possível deduzir a função do gene com base na semelhança com outros genes cujas funções são conhecidas. Os bancos de dados de sequências de ácidos nucleicos são recursos importantes tanto para a pesquisa biológica básica quanto para suas aplicações (SNUSTAD e SIMMONS, 2013).

As técnicas de clonagem e amplificação de DNA tornaram-se ferramentas essenciais quando se pesquisa a manutenção do genoma, o controle da expressão gênica e a função das proteínas (WATSON et al., 2015).

## 4 | CLONAGEM DE DNA EM VETORES PLASMIDIAIS DE *ESCHERICHIA COLI*

A clonagem de DNA *in vivo* envolve o corte do DNA de interesse e do vetor de clonagem com endonucleases de restrição, a união dos fragmentos com DNA-ligase formando moléculas de rDNA e a introdução dessas moléculas recombinantes na célula hospedeira para que ocorra a sua replicação (MADIGAN et al., 2016). Há vários tipos de vetores usados na clonagem de DNA, com maior frequência utiliza-se plasmídeos que replicam na bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*). A célula hospedeira de *E. coli* é amplamente utilizada para clonar DNA (LODISH et al., 2014).

### 4.1 Endonucleases de restrição

Endonucleases de restrição ou enzimas de restrição foram descobertas por pesquisadores que estudavam bactérias, e por suas contribuições, em 1978, Werner Arber, Dan Nathans e Hamilton Smith receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia. A descoberta dessas enzimas deu origem a tecnologia do DNA, o que permitiu a produção de moléculas de rDNA (LOENEN et al., 2014).

As endonucleases de restrição são produzidas por bactérias, e sua função biológica é cortar ou digerir em sequências específicas, o DNA estranho de bacteriófagos (fagos) ou outros organismos (COX et al., 2012). Bactérias também produzem enzimas de modificação (metilação), que consiste em adicionar um grupo metil nas sequências específicas de reconhecimento das enzimas de restrição, impedindo a degradação do seu próprio DNA. Desse modo, o DNA bacteriano é protegido ao mesmo tempo em que destrói o DNA estranho (LODISH et al., 2014).

Geralmente, as endonucleases de restrição reconhecem sequências nucleotídicas (sítios de restrição) de 4 a 8 pb (pares de bases) de comprimento e são polindrômicas, isso quer dizer que a sequência de reconhecimento, lida na direção 5' para 3' é a mesma em ambas as direções do DNA (COX et al., 2012).

Diversas classes de endonucleases de restrição são conhecidas; porém, uma classe especial denominada enzimas de restrição tipo II, representa o maior grupo de enzimas caracterizadas e é frequentemente empregada para fragmentar o DNA. Esse tipo de enzima, geralmente faz cortes escalonados (coesivos) no DNA (LOENEN et al., 2014), gerando segmentos curtos de DNA de fita simples nas extremidades dos fragmentos. Se dois fragmentos de DNA de diferentes fontes forem produzidos pela ação da mesma enzima de restrição, ambos terão extremidades coesivas idênticas e poderão ser recombinados *in vitro*. A enzima DNA-ligase é usada para unir covalentemente diferentes fragmentos de DNA, produzindo moléculas de rDNA (TORTORA et al., 2017).

### 4.2 Plasmídeos como vetores de clonagem

A amplificação de uma sequência de DNA *in vivo* exige um vetor de clonagem, o

qual deve fornecer a informação necessária para a produção de numerosas cópias do DNA clonado na célula hospedeira em divisão. Os vetores mais comuns são os plasmídeos. Um plasmídeo é um DNA extracromossômico com replicação autônoma e é naturalmente encontrado em muitas bactérias e eucariotos unicelulares, como as leveduras. Em muitos casos, os plasmídeos contêm genes que conferem resistência a antibióticos para as bactérias (WATSON et al., 2015). Para sobreviverem na célula hospedeira, os plasmídeos incorporam algumas sequências especializadas fazendo uso dos recursos da célula para sua própria replicação e expressão gênica. As mesmas características que permitem os plasmídeos de sobreviverem em um hospedeiro bacteriano ou eucariótico são úteis para sua modificação genética, aperfeiçoando seu uso como vetores de clonagem (COX et al., 2012).

Os vetores utilizados para clonagem de DNA devem conter: uma origem de replicação independente do cromossomo do hospedeiro; um marcador de seleção, geralmente um gene que confere resistência a antibiótico à célula hospedeira, que permite identificar as células que possuem o vetor; um único sítio de clonagem para uma ou mais endonucleases de restrição, que corresponde a um local de clivagem encontrado só uma vez na molécula de DNA do vetor que não interfere nem na origem de replicação nem no gene marcador (SNUSTAD e SIMMONS, 2017).

Alguns vetores além de permitir o isolamento de uma sequência de DNA, também podem expressar proteínas heterólogas (recombinantes). Esses plasmídeos são conhecidos como vetores de expressão e possuem promotores de transcrição, derivados da célula hospedeira, imediatamente próximo ao sítio de clonagem. O promotor em um vetor de expressão pode ser escolhido de tal forma que a expressão do gene de interesse seja regulada pela adição de um composto simples ao meio de cultura, como por exemplo, um açúcar ou um aminoácido (WATSON et al., 2015).

Para clonar um fragmento de DNA em um vetor plasmidial, o DNA do plasmídeo é linearizado por uma endonuclease de restrição que o cliva em um único sítio, e o fragmento de DNA a ser clonado é então inserido nesse sítio utilizando DNA-ligase. Dessa forma, é formada a molécula de rDNA que está pronta para ser introduzida em uma célula hospedeira (ALBERTS et al., 2017).

### 4.3 *Escherichia coli* como célula hospedeira

*E. coli*, provavelmente, é o organismo mais conhecido da biologia e é uma ferramenta muito importante da pesquisa biológica, muitos pesquisadores a consideram quase que um animal de estimação de laboratório (TORTORA et al., 2017). Seu genoma é uma única molécula de DNA circular de fita dupla que contém 4,6 milhões de pares de bases e 4.300 genes (ALBERTS et al., 2017). Como a maioria das bactérias, *E. coli* se reproduz por divisão binária. Dessa forma, uma única célula se divide em duas células-filhas, originando uma população de clones, geneticamente idênticos. Esse processo exige cerca de apenas

20 minutos a 37°C (COX et al., 2012).

A célula bacteriana de *E. coli* possui diversas vantagens como célula hospedeira na clonagem do DNA, entre elas, o crescimento rápido em um meio simples e barato contendo glicose e sais para suprir suas necessidades, seu metabolismo de DNA, assim como vários de seus processos bioquímicos é bem compreendido e seus plasmídeos bem caracterizados (COX et al., 2012; LODISH et al., 2014).

Para que ocorra a propagação do plasmídeo com o rDNA, o mesmo deve ser introduzido na célula de *E. coli* por um mecanismo chamado de transformação, processo pelo qual um organismo hospedeiro pode incorporar o DNA do ambiente. *E. coli* não é transformada naturalmente, porém pode tornar-se competente para receber o DNA do ambiente pela incubação em uma solução com íons de cálcio.

Apenas uma pequena porcentagem de células incubadas conseguirá captar o plasmídeo, portanto um antibiótico para o qual o plasmídeo confere resistência é incluído ao meio de cultivo, a fim de selecionar o crescimento das células que incorporaram o plasmídeo com o rDNA. As células que não captaram o plasmídeo não conseguiram sobreviver porque não possuem resistência ao antibiótico (WATSON et al., 2015). Ao se reproduzir, a célula bacteriana em divisão replica o plasmídeo recombinante e o transmite a seus descendentes. Desse modo, o rDNA com a sequência nucleotídica de interesse é amplificada centenas de vezes. Com o objetivo de verificar o produto plasmídeo recombinante depois de ter sido copiado várias vezes na célula hospedeira, a bactéria pode ser lisada (rompida) e o DNA plasmídeo purificado do restante do conteúdo celular. A sequência de interesse pode ser recuperada pela clivagem do DNA plasmídeo com a mesma endonuclease de restrição que foi usada para inseri-la, e então separá-la do DNA plasmídeo por eletroforese em gel - técnica que separa fragmentos de DNA de diferentes tamanhos (ALBERTS et al., 2017).

## 5 | CLONAGEM DE DNA PELA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

Um método poderoso e versátil para amplificar DNA é a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *polymerase chain reaction*) que fornece uma abordagem mais rápida e direta para clonar DNA. Diferentemente da abordagem tradicional de clonagem usando vetores em células bacterianas, a PCR é realizada totalmente em tubo de ensaio (ALBERTS et al., 2017), e a sequência de DNA ou gene de interesse pode ser amplificado um milhão de vezes ou mais em apenas algumas horas. O uso desse procedimento requer apenas o conhecimento de sequências nucleotídicas curtas que flanqueiam a sequência de interesse. Os bancos de dados de sequências de ácidos nucleicos facilitam a amplificação pela PCR. A técnica da PCR foi desenvolvida por Kary Mullis e em razão da sua importância para a ciência, recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1993 (SNUSTAD e SIMMONS, 2017).

## 5.1 Técnica da PCR

A PCR exige quatro componentes básicos para ser realizada. Esses componentes incluem o segmento de DNA a ser amplificado (DNA-alvo), um par de oligonucleotídeos (primers) iniciadores, quatro desoxirribonucleotídeos trifosfato (dNTPs) e DNA-polimerase (COX et al., 2012; GARIBYAN e AVASHIA, 2013). Os primers são fragmentos curtos de DNA com sequências complementares às extremidades do DNA-alvo e especificam a sequência exata a ser amplificada. A DNA-polimerase é a enzima responsável pela replicação do DNA a partir dos dNTPs. Os dNTPs atuam como blocos de construção usados pela DNA-polimerase para criar o produto de PCR (GARIBYAN e AVASHIA, 2013).

A técnica de PCR consiste em uma série de ciclos de três reações sucessivas envolvendo os quatro componentes mencionados acima. Inicialmente, o DNA-alvo é desnaturado pelo calor a uma temperatura aproximada de 95°C. A alta temperatura é suficiente para quebrar as pontes de hidrogênio que ligam as duas fitas de DNA, dando origem ao DNA fita simples. Após o resfriamento, em torno de 50°C a 65°C, os dois primers podem se anelar (ligar) com suas sequências complementares nas moléculas de DNA fita simples. Em seguida a temperatura é elevada para 72°C, neste momento a DNA-polimerase, na presença dos desoxirribonucleotídeos trifosfato, inicia a síntese de novas fitas de DNA adicionando nucleotídeos às fitas simples do segmento do DNA-alvo. A polimerização vai e volta entre os primers, formando DNA fita dupla. As três reações sucessivas de desnaturação, anelamento dos primers e síntese de DNA são repetidas várias vezes em poucas horas; portanto, o DNA-alvo é amplificado exponencialmente (GRIFFITHS et al., 2013).

Todos os reagentes; ou seja, os componentes necessários para a técnica da PCR, são adicionados em um tubo de ensaio, o qual é colocado em um aparelho chamado termociclador. O termociclador é automático e pode ser ajustado de acordo com a temperatura, tempo e número de ciclos desejados (TORTORA et al., 2017). A chave para a automatização da PCR foi a descoberta da enzima termoestável Taq-polimerase. Essa enzima é uma DNA-polimerase isolada da bactéria *Thermus aquaticus*. Essa bactéria vive em fontes termais e sua DNA-polimerase é estável a altas temperaturas, 95°C. Isso significa que não há necessidade de acrescentar polimerase em cada ciclo da PCR, pois a Taq-polimerase é resistente ao calor e não é destruída durante a desnaturação do DNA (MADIGAN et al., 2016). Uma desvantagem da Taq-polimerase é a ausência da atividade de revisão, acarretando com maior frequência, erros de replicação. Quando há necessidade de alta fidelidade, a DNA-polimerase Pfu (de *Pyrococcus furiosus*) é empregada na PCR. A Pfu-polimerase tem atividade de revisão e é mais estável que Taq-polimerase (SNUSTAD e SIMMONS, 2017). Para suprir a demanda de DNA-polimerases termestáveis para os mercados de PCR, os genes dessas enzimas foram clonados em *E. coli* e produzidos comercialmente em larga escala (MADIGAN et al., 2016).



O DNA-alvo amplificado pela PCR pode ser utilizado para clonagem em *E. coli*. Para o processo de clonagem, antes da amplificação *in vitro*, pode ser incluído junto aos primers, sequências nucleotídicas que são reconhecidas por uma endonuclease de restrição específica que não possui um sítio de reconhecimento dentro do DNA-alvo. Após a amplificação, os segmentos-alvo são tratados com a endonuclease de restrição gerando fragmentos com extremidades coesivas facilitando a produção do rDNA (LODISH et al., 2014).

## 5.2 Transcriptase reversa seguida de PCR (RT-PCR)

Uma variação do método de PCR permite à amplificação de uma sequência de DNA complementar (cDNA). O cDNA é produzido a partir de uma molécula de mRNA (RNA mensageiro) pela enzima transcriptase reversa, isolada originalmente de retrovírus. Os retrovírus têm genomas de RNA que são copiados em DNA que se insere no cromossomo do hospedeiro. Desse modo, a enzima faz uma transcrição reversa sintetizando uma fita de cDNA utilizando como molde o mRNA (GRIFFITHS et al., 2013). O mRNA pode ser purificado a partir de células e a técnica da PCR com transcriptase reversa (RT-PCR) pode ser usada, por exemplo, para detectar sequências nucleotídicas codificadoras de proteínas; isso porque, genes de eucariotos possuem regiões não codificadoras denominadas íntrons (COX et al., 2012).

## 6 | APLICAÇÕES DA TECNOLOGIA DO DNA

A habilidade em manipular o DNA com precisão em um tubo de ensaio ou organismo (tecnologia do rDNA), teve um grande impacto em todos os aspectos da biologia celular e molecular, permitindo uma melhor compreensão sobre o funcionamento das células e suas macromoléculas (por exemplo, proteínas e ácidos nucleicos) (ALBERTS et al., 2017). Uma biblioteca de DNA pode ser construída a partir do genoma completo de qualquer organismo, sendo que todos os fragmentos gerados são clonados em um vetor, com a finalidade de sequenciar o genoma, descobrir genes ou determinar a função gênica (COX et al., 2012).

As técnicas envolvendo o DNA possibilitaram o surgimento de várias aplicações em diversas áreas, como na medicina, na agricultura e na ciência forense, beneficiando de forma ampla a vida humana (ALBERTS et al., 2017).

Uma das contribuições mais importantes da clonagem de DNA para a biologia celular e molecular é a capacidade de produzir qualquer proteína em quantidades quase ilimitadas, uma vez que se conhece o gene que codifica esta proteína (ALBERTS et al., 2017). Diversas proteínas recombinantes humanas são produzidas em larga escala para uso como fármacos; entre elas, insulina, hormônio do crescimento, interferon e fatores de coagulação do sangue (REECE et al., 2015), e ainda proteínas do envoltório viral para uso em vacinas, como exemplo, a vacina contra o vírus da hepatite B (ALBERTS et al., 2017).



A tecnologia do DNA possibilitou o desenvolvimento de plantas e animais transgênicos, isto é, seres vivos que possuem genes de outros organismos, e são conhecidos como organismos geneticamente modificados. Esses organismos têm como vantagens resistência a herbicidas, insetos e doenças microbianas, assim como produtos com melhor qualidade (MADIGAN et al., 2016).

As técnicas envolvendo o DNA permitem o diagnóstico de enfermidades. Pelo uso de PCR e primers específicos ao material genético do microrganismo alvo, é possível rastreá-lo em amostras biológicas para diagnóstico de doenças infecciosas. A PCR também é usada para diagnóstico de doenças genéticas com primers que têm como alvo os genes associados a essas doenças. Entre esses genes identificados em doenças humanas estão os genes da anemia falciforme, hemofilia, fibrose cística, entre outros. Esses genes e seus produtos são alvos potenciais para prevenção ou terapia (REECE et al., 2015). A terapia gênica para doenças hereditárias é o método mais promissor de tratamento eficaz. Esse tratamento consiste na introdução de uma cópia de gene saudável ao genoma de um indivíduo com gene defeituoso. Quando a terapia gênica é eficaz, o gene introduzido sintetiza o produto gênico ausente e restaura as características normais do indivíduo (SNUSTAD e SIMMONS, 2017).

Outra área envolvendo as técnicas de DNA é a medicina forense. A análise forense baseia-se na impressão digital de DNA (DNA fingerprint) pelo fato de que cada indivíduo, com a possível exceção de gêmeos idênticos, possui sequências nucleotídicas de DNA únicas. As análises forenses podem ser usadas para condenar indivíduos que cometeram crimes e ainda, absolver aqueles que foram condenados injustamente, através de amostras biológicas (sangue, sêmen, cabelo, unhas, etc.) coletadas na cena do crime (ALBERTS et al., 2017). A análise da impressão digital de DNA pode ser usada para testes de paternidade e na identificação de restos mortais (SNUSTAD e SIMMONS, 2017).

## 7 | CONCLUSÃO

A clonagem de DNA *in vivo* e *in vitro* tem como finalidade o isolamento, manipulação e amplificação de segmentos específicos de DNA. Essas técnicas de clonagem e amplificação contribuem para novas possibilidades de pesquisa, enriquecendo o conhecimento sobre a organização e funcionamento dos organismos. A tecnologia do DNA é cada vez mais presente no cotidiano das pessoas auxiliando no diagnóstico, tratamento e prevenção de diversas doenças, na produção de proteínas recombinantes, no aperfeiçoamento da produção e qualidade dos alimentos, entre outros.

É evidente que o conhecimento favorece o desenvolvimento tecnológico em diferentes áreas e isso tem efeitos significativos com grandes benefícios à sociedade.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

ALBERTS, B. et al. **Fundamentos da biologia celular**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

COX, M. M.; DOUDNA, J. A.; O'DONNELL, M. **Biologia molecular: princípios e técnicas**. Porto Alegre: Artmed, 2012.

GARIBYAN, L.; AVASHIA, N. **Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR)**. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4102308/>> Acesso em: 15/08/2020

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

LODISH, H. et al. **Biologia celular e molecular**. 7.ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

LOENEN, W. N. et al. **Highlights of the DNA cutters: a short history of the restriction enzymes**. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3874209/>> Acesso em: 15/08/2020

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14.ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

REECE, J. B. et al. **Biologia de Campbell**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

SNUSTAD, P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos de genética**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

TORTOTA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

WATSON, J. D. et al. **Biologia molecular do gene**. 7.ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Amazônia 174, 229, 230, 231, 232, 240, 242  
Análise de água potável 194  
Antimicrobianos naturais 255, 256, 257, 266  
Artérias carótidas 17, 18, 22, 27, 35, 36, 37, 38  
Automedicação 1, 2, 3, 4, 5, 7, 15, 16  
Avaliação histopatológica 49  
Avifauna 134, 135, 138, 141, 142, 143, 146

### B

*Baccharis milleflora* 79, 80, 82, 85, 86, 90, 92  
Bolor preto do pão 147, 149, 150  
*Bursaphelenchus cocophilus* 43, 45, 46, 48

### C

*Cajanus cajan* L. 163, 164, 167, 170  
Células vivas 99, 245, 246  
Cicatrização de pele 49  
Clonagem de DNA 245, 246, 247, 248, 249, 250, 252, 253  
Cultivo celular 94, 95, 105

### D

Difusão em ágar 256, 266  
Distância genética 43, 44, 45, 46  
DNA genômico 175, 177, 179, 180, 181, 182, 247  
Docentes 155, 156, 160, 162

### E

Echinococose cística (*Echinococcus quística*) 108, 109, 183, 184, 187, 190  
Educação superior 155, 161  
Estações ecológicas 134, 143  
Extrato de nódulos 163, 168, 171, 173, 174

### F

Fator de virulência 79, 80

Feijão guandu 163, 167, 168, 169, 171, 172, 173

Fungos oportunistas 79

## G

Gestação 62, 63, 65, 73, 75, 78

## H

Hospedeiros intermediários (*Hospederos intermediarios*) 108, 110, 111, 123, 132

## M

Medicamentos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 11, 12, 50, 52, 60, 61, 63, 88, 215, 230, 231, 239, 241

Melanomas 214, 215, 216, 218, 228

Microdiluição 79, 83, 84, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 266

## O

Odontologia 155, 156, 157, 158, 160, 161, 162

Óleos essenciais 79, 81, 87, 89, 92, 93, 229, 231, 232, 233, 234, 236, 240, 241, 242, 243, 244, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266

## P

Parâmetros físicos-químicos 194

Parâmetros microbiológicos 196

*Pereskia aculeata* Miller 49, 50, 51, 59, 60, 61

*Physalis* L. 175, 176, 179, 180, 181

Projeto de extensão 203, 204, 206, 211, 212

Proteção integral 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 144

## R

Ratos Wistar 49

Reprogramações metabólicas 214

*Rhizopus stolonifer* 147, 149, 152, 153

## T

Testes de sensibilidade antimicrobiana 255

Tratamento médico (tratamiento médico) 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193

## V

Vacina recombinante (vacuna recombinante) 108, 113, 114, 115, 116, 118, 122, 123, 125, 126, 127, 131, 132

# O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



 [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)

 **Atena**  
Editora

Ano 2021

# O Fortalecimento Intensivo das Ciências Biológicas e suas Interfaces 2



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

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

 @atenaeditora

 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

 Atena  
Editora

Ano 2021