# As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA DANIELE BEZERRA DOS SANTOS (ORGANIZADORES)



# As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA DANIELE BEZERRA DOS SANTOS (ORGANIZADORES)



Editora chefe

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo 2023 by Atena Editora Ellen Andressa Kubisty Copyright © Atena Editora

Luiza Alves Batista Copyright do texto © 2023 Os autores Nataly Evilin Gayde Copyright da edição © 2023 Atena

Editora Thamires Camili Gayde

> Imagens da capa Direitos para esta edição cedidos à

> > iStock Atena Editora pelos autores.

Edição de arte Open access publication by Atena

Luiza Alves Batista Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons, Atribuição-Não-Comercial-Não Derivativos 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 alterála 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 Biológicas e da Saúde

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Beatriz Duarte Vieira - Universidade de Brasília

Profa Dra Ana Paula Peron - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

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

Profa Dra Camila Pereira - Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa - Universidade Federal de Ouro Preto

Profa Dra Daniela Reis Joaquim de Freitas - Universidade Federal do Piauí

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes

Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril - Universidade de Fortaleza

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<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco

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. Guillermo Alberto López - Instituto Federal da Bahia

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 Delta do Parnaíba-UFDPar

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

Prof. Dr. José Aderval Aragão - Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior - Universidade Federal do Oeste do Pará

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal

Profa Dra Larissa Maranhão Dias - Instituto Federal do Amapá

Profa Dra Lívia do Carmo Silva - Universidade Federal de Goiás

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana Martins Zuliani - Pontifícia Universidade Católica de Goiás

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

Profa Dra Maria Tatiane Goncalves Sá - Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Max da Silva Ferreira - Universidade do Grande Rio

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> 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

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

Profa Dra Sheyla Mara Silva de Oliveira - Universidade do Estado do Pará

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profa Dra Taísa Ceratti Treptow - Universidade Federal de Santa Maria

Profa Dra Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro - Universidade do Vale do Sapucaí

Profa Dra Vanessa Lima Gonçalves - Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profa Dra Welma Emidio da Silva - Universidade Federal Rural de Pernambuco

## As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão

Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga

Revisão: Os autores

Organizadores: Clécio Danilo Dias da Silva

Daniele Bezerra dos Santos

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

C569 As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade / Organizadores Clécio Danilo Dias da Silva, Daniele Bezerra dos Santos. – Ponta Grossa - PR: Atena. 2023.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-258-1697-5

DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.975232509

1. Ciências biológicas. I. Silva, Clécio Danilo Dias da (Organizador). II. Santos, Daniele Bezerra dos (Organizadora). III. 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 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; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de e-commerce, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

As ciências biológicas têm sido a vanguarda de uma jornada de descobertas que remodelaram profundamente nossa visão da vida e do mundo natural. Do micromundo das estruturas moleculares ao macrocosmo dos ecossistemas complexos, essa abrangente disciplina tem construído uma base sólida para avanços que ecoam positivamente em toda a sociedade. Ela se estabelece como a força motriz que impulsiona o progresso, deixando uma marca indelével em nosso planeta. Esses avanços reverberam em melhorias substanciais na saúde humana, na nutrição, na qualidade do ambiente e na nossa compreensão intrínseca da vida. À medida que exploramos continuamente as fronteiras da biologia, traçamos um caminho luminoso em direção a um futuro mais saudável e sustentável, onde a ciência se torna a luz que guia nosso desenvolvimento.

É com grande satisfação que apresentamos o Este E-Book «Avanços nas Ciências Biológicas e seus Impactos na Sociedade». Composto por 15 capítulos cuidadosamente desenvolvidos por professores, pesquisadores, estudantes de graduação e pós-graduação de diversas regiões do Brasil, o E-Book mergulha nas várias áreas das ciências biológicas, incluindo Botânica, Zoologia, Parasitologia, Genética, Bioquímica e muito mais.

Cada capítulo é uma peça essencial deste mosaico de conhecimento que busca entender e aplicar os princípios da biologia para melhorar nossa qualidade de vida. Este E-Book não apenas enriquecerá sua compreensão, mas também o instigará a explorar as fascinantes áreas das ciências biológicas e a forma como elas se entrelaçam com a nossa existência. Esteja convidado a embarcar nessa jornada conosco, a mergulhar e descobrir como as ciências biológicas moldam nosso presente e iluminam nosso caminho rumo a um futuro brilhante e sustentável.

Clécio Danilo Dias da Silva Daniele Bezerra dos Santos

CAPITULO 1 1
CISTOCENTESE - REVISÃO DE LITERATURA  Yasmim Colares Patriota de Souza  Priscilla Cardoso Alves  Andrielle Zimmermann Külzer  Myjeel Klobukoski Borstnez  Cibely Galvani Sarto  https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325091
CAPÍTULO 2 3
LEISHMANIOSES EM FOCO: O ESTADO DA ARTE Adalberto Alves Pereira Filho https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325092
CAPÍTULO 3 18
FLEBOTOMÍNEOS - IMPORTÂNCIA, DIVERSIDADE E SUA IMPORTÂNCIA NA TRANSMISSÃO DAS LEISHMANIOSES  Adalberto Alves Pereira Filho  https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325093
CAPÍTULO 435
ZONEAMENTOS TERRITORIAIS DE ÁREAS FAVORÁVEIS A Diachasmimorpha longicaudata VISANDO BIOCONTROLE DA PRAGA QUARENTENÁRIA AUSENTE Anastrepha curvicauda  Rafael Mingoti Maria Conceição Peres Young Pessoa Cauê Chaves Pereira Jeanne Scardini Marinho-Prado Marco Antonio Ferreira Gomes Bárbara de Oliveira Jacomo Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos  to https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325094
CAPÍTULO 5
MICROALGAS PLANCTÔNICAS EM DOIS LAGOS DE PESQUE-PAGUE EM CRATO – CE  Maraiza Gregorio de Oliveira Joice Layanne Guimarães Rodrigues Márcia Taíza Pereira da Cruz José Weverton Almeida-Bezerra Karolyna Pereira Martins Raquel Furtado dos Santos Moura José Thyálisson da Costa Silva Cícero dos Santos Leandro Maria Ivaneide Rocha Ademar Maia Filho

Maria Irismã Libório Góes

Sírleis Rodrigues Lacerda	
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325095	
CAPÍTULO 6	<b>67</b>
CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FLORES E FRUTOS EM ACESSO DE CAMUCAMUZEIRO	os
Walnice Maria Oliveira do Nascimento	
ttps://doi.org/10.22533/at.ed.9752325096	
CAPÍTULO 7	75
ARBORIZAÇÃO URBANA COMO FERRAMENTA NO ENSINO DE BOTÂNIO NOS ESPAÇOS FORMAL E NÃO FORMAL DE APRENDIZAGEM E ARAGUAÍNA, TO  Claudia Scareli-Santos Vitória Silva Rolim Welledes Moreno Aguiar	
o https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325097	
CAPÍTULO 8	38
O ENSINO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA COM ENFOQUE NA BOTÂNICANOS FINAIS, POR MEIO DE TRILHAS INTERPRETATIVAS  Denilson Elias Lima Silva Aline Locatelli Jurandy das Chagas Lima  to https://doi.org/10.22533/at.ed.9752325098	<b>;</b> Α,
CAPÍTULO 9	95
PERCEPÇÃO E POSSIBILIDADES PARA O USO DE RECURSOS DIDÁTICO POR DISCENTES DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS NO ESTÁG CURRICULAR SUPERVISIONADO  Cibele Oliveira Carvalho  Maria Edilania da Silva Serafim Pereira  Aline Cardoso Rodrigues Bezerra  Marcos Aurélio Figueiredo dos Santos  Dieferson Leandro de Souza  Jeovane Henrique de Souza  José Thyálisson da Costa Silva  Ademar Maia Filho  Amanda Maria Tavares Moreira  Maria Aparecida Barbosa Ferreira Gonçalo  José Weverton Almeida-Bezerra  Rafael Pereira da Cruz	วร
CAPÍTULO 1010	)9
RELATO DE EXPERIÊNCIA: O USO DE GLOSSÁRIO NA DISCIPLINA I	DΕ

Ana Carolina Pereira de Jesus Camila Cristina Sousa Gomes Francisco Gustavo Ibiapina de Morais Jessica da Silva Teixeira Kerolayne Lopes da Costa Rafaela Pamella de Meneses Santos Ruth Raquel Soares de Farias  https://doi.org/10.22533/at.ed.97523250910
CAPÍTULO 11 12
ANÁLISE DE EPÍTOPOS DAS PROTEÍNAS NS1 E E DOS VÍRUS ZIKA, FEBR AMARELA E DENGUE PARA PROPOSIÇÃO DE TESTE DE DIAGNÓSTICO Stefanny Paula Silva Souza Marcos Lazaro Moreli
€ https://doi.org/10.22533/at.ed.97523250911
CAPÍTULO 1214
DOUBLE MINUTE CHROMOSOMES IN Anastrepha fraterculus (Wiedemann (DIPTERA: Tephritidae): A MODEL FOR CANCER STUDIES  Alicia L. Basso  Cecilia E. Schenone  https://doi.org/10.22533/at.ed.97523250912
CAPÍTULO 1314
PADRÃO DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA GC-RICA EM ACESSO FEIJÃO-FAVA ( <i>Phaseolus lunatus</i> L.) DO BRASIL E DO MÉXICO Yago de Oliveira Martins Amanda Ellen Torres Silva Andreza Francisca dos Anjos Sousa Luhara Maria Souza Chaves Silva Thales da Silva Antonio Carlito Bezerra dos Santos Thaysson Rodrigues Lopes Gardene Maria de Sousa Ana Paula Peron Regina Lúcia Ferreira Gomes Ângela Celis de Almeida Lopes Lidiane de Lima Feitoza
CAPÍTULO 1416
IMPORTÂNCIA FITOQUÍMICA DOS ALIMENTOS NA SINALIZAÇÃO CELULA E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA Graziela Moreira Loiola Yasmin Moreto Guaitolini Matheus Correia Casotti

Aléxia Stefani Siqueira Zetum Luana Santos Louro Thomas Erik Santos Louro Gabriel Mendonça Santana Lorena Souza de Castro Altoé Flávia de Paula Geralda Gillian Silva Sena Elizeu Fagundes de Carvalho Iúri Drumond Louro Débora Dummer Meira
₫ https://doi.org/10.22533/at.ed.97523250914
CAPÍTULO 15178
EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO E EXPOSIÇÃO AO CALOR SOBRE A FUNÇÃO CARDÍACA  Ronaldo André Castelo dos Santos de Almeida Gabriel Souza de Jesus Clarice Chagas de Páucar Luana Basílio Ferreira Marilene da Mata Gomes Patrício Gabrielle de Lima Monzato Ana Késsia do Nascimento Gomes César Francisco Maricato da Rosa Emerson Lopes Olivares Anderson Luiz Bezerra da Silveira  to https://doi.org/10.22533/at.ed.97523250915
SOBRE OS ORGANIZADORES202
ÍNDICE REMISSIVO203

## **CAPÍTULO 1**

## CISTOCENTESE - REVISÃO DE LITERATURA

Data de aceite: 01/09/2023

## Yasmim Colares Patriota de Souza

Médica Veterinária Autônoma

## Priscilla Cardoso Alves

Médica Veterinária Autônoma

### Andrielle Zimmermann Külzer

Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, CCR/UFSC *campus* Curitibanos

#### Myjeel Klobukoski Borstnez

Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, CCR/UFSC *campus* Curitibanos.

### Cibely Galvani Sarto

Docente CEBSU/CCR/UFSC campus
Curitibanos

RESUMO: Acistocentese é um procedimento que é amplamente utilizado na medicina veterináriaem pequenos animais. Consiste em um método de coleta de urina, a qual tem como principal vantagem diminuição do risco de contaminação da urina, quando comparado a coleta espontânea ou por passagem de sonda urogenital, sendo assim é considerado o melhor método para cultivo microbiológico (GREGORY, 2005).

Para a realização desse procedimento, preconiza-se o auxílio da ultrassonografia, a fim de identificar a posição exata da vesícula urinária. Além disso, propicia uma maior segurança ao médico veterinário para a execução da técnica, evitandoassim, possível complicação por perfuração errônea na cavidade abdominal, aumentando o risco de atingir outros órgãos. Esse resumo tem como objetivo revisar na literatura, a partir da plataforma Scielo, a técnica de cistocentese, bem como seus benefícios e malefícios em comparação com as outras técnicas de coleta de urina. Anteriormente à realização da coleta, é necessário realizar a tricotomia na região abdominal e assepsia com álcool a 70%. A técnica consiste na localização da vesícula urinária através da ultrassonografia, quando localizado, faz-se a punção da agulha acoplada em uma seringa, em um ângulo oblíquo de 45°, posicionada no sentido craniocaudal (RUBIN, 2002). Ao visualizar a imagem ultrassonográfica, é possível observar o posicionamento da agulha, e, assim, confirmar se a mesma adentrou a vesícula urinária ou não. O tamanho da agulha está relacionada com o tamanho e peso do animal, sendo assim, animais maiores e com maior gordura em região

abdominal, necessitam de uma agulha de maior tamanho para a realização da técnica. No que se refere a indicação para essa técnica de coleta, recomenda-se em casos em que pacientes apresentam obstrução uretral e necessitam da redução da pressão vesical. Além disso, para análise laboratorial indica-se essa técnica também, pois há uma redução de contaminação da urina por elementos presentes em região de prepúcio, uretra, pênis, vulva, entre outros, sendo então imprescindível a assepsia do local da punção previamente a realização da coleta. Ademais, há vantagem também sob a passagem de sonda urogenital, pois essa pode ocasionar lesão no trato urinário inferior e acarretar em alteração na urina. Contudo, tem como principal desvantagem o maior risco de ruptura vesical ao se comparar com os métodos de coleta (LITTLE, 2012). Posto isto, a cistocentese é uma técnica que promove a obtenção da urina com menos risco de contaminação, sendo a melhor escolha para coleta de urina, mas, a qual, é necessária prática para sua execução, além da escolha correta da agulha para não haver risco de ruptura da vesícula urinária.

PALAVRAS-CHAVE: coleta; ultrassonografia; urina.

## **REFERÊNCIAS**

GREGORY, C. R. Sistema Urinario. In: LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Patología clínica veterinária.** 4ª. ed. [S.I.]: Multimedica, 2005.

RUBIN, S. I. Exploración clínica del aparato urinario: Perros y gatos. In: RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G.; HOUSTON, D. M. **Examen i diagnostico clínico em veterinária.** 1ª. ed. Madri: Elsevier Science, 2002. Cap. 18, p. 469-479.

LITTLE, S.E. The Cat Clinical Medicine and Management. 1.ed. Saunders, 2012.

## **CAPÍTULO 2**

## LEISHMANIOSES EM FOCO: O ESTADO DA ARTE

Data de aceite: 01/09/2023

#### Adalberto Alves Pereira Filho

http://lattes.cnpq.br/9165045834831122

RESUMO: As leishmanioses são um grupo de doenças infecciosas causadas parasitas do gênero Leishmania e transmitidas através da picada de flebotomíneos. Essas doencas são consideradas importantes problemas de saúde pública em várias partes do mundo devido à sua alta prevalência e ampla distribuição geográfica. A epidemiologia das leishmanioses varia de acordo com a região e a espécie de Leishmania envolvida. Estima-se que cerca de 1 bilhão de pessoas estejam em risco de contrair a doença em mais de 98 países em desenvolvimento ou desenvolvidos. As leishmanioses estão presentes em cinco continentes: Europa, África, Ásia, América e Oceania. No Brasil, as leishmanioses também representam um importante problema de saúde pública. O país é considerado endêmico para a leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT). A LV, também conhecida como calazar, apresenta uma ampla distribuição geográfica no território brasileiro, afetando principalmente as regiões Norte,

Nordeste, Centro-Oeste e parte da região Sudeste. Já a LT é mais comum nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. A LV no Brasil é causada principalmente pela Leishmania infantum, transmitida pelo vetor Lutzomyia longipalpis. A doença possui um ciclo enzoótico que envolve principalmente cães como reservatórios, mas também pode afetar outros mamíferos, incluindo o homem. A LT, por sua vez, é causada por diferentes espécies de Leishmania, com Lutzomyia spp. atuando como vetores. Fatores como a urbanização desordenada, migração populacional, desmatamento. degradação ambiental е mudancas climáticas têm contribuído para o aumento da incidência das leishmanioses no Brasil e em outros países. Além disso, a co-infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e a desnutrição são fatores de risco importantes para o desenvolvimento de formas graves da doença. O controle das leishmanioses envolve medidas como o diagnóstico precoce, tratamento adequado dos casos, controle vetorial, medidas de prevenção individual (como o uso de repelentes e mosquiteiros) e ações de educação em saúde. A vacinação contra a LV é uma estratégia em estudo, mas ainda não está amplamente disponível. Nesta

mini revisão, apresentamos alguns aspectos e definições das leishmanioses.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmanioses, Leishmaniose Tegumentar, Leishmaniose Visceral

ABSTRACT: Leishmaniases are a group of infectious diseases caused by parasites of the genus Leishmania and transmitted through the bite of phlebotomine sand flies. These diseases are considered significant public health problems in various parts of the world due to their high prevalence and wide geographical distribution. The epidemiology of leishmaniases varies according to the region and the species of Leishmania involved. It is estimated that about 1 billion people are at risk of contracting the disease in more than 98 developing or developed countries. Leishmaniases are present on five continents: Europe, Africa, Asia, America, and Oceania. In Brazil, leishmaniases also represent a significant public health issue. The country is considered endemic for both visceral leishmaniasis (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL). VL, also known as kala-azar, has a wide geographical distribution in the Brazilian territory, mainly affecting the North, Northeast, Midwest, and part of the Southeast regions. On the other hand, CL is more common in the North, Northeast, and Midwest regions. VL in Brazil is mainly caused by Leishmania infantum, transmitted by the vector Lutzomyia longipalpis. The disease has an enzootic cycle that mainly involves dogs as reservoirs, but it can also affect other mammals, including humans. CL, on the other hand, is caused by different species of Leishmania, with Lutzomyia spp. acting as vectors. Factors such as disorderly urbanization, population migration, deforestation, environmental degradation, and climate change have contributed to the increasing incidence of leishmaniases in Brazil and other countries. Additionally, co-infection with the human immunodeficiency virus (HIV) and malnutrition are important risk factors for the development of severe forms of the disease. The control of leishmaniases involves measures such as early diagnosis, appropriate treatment of cases, vector control, individual prevention measures (such as the use of repellents and mosquito nets), and health education actions. Vaccination against VL is a strategy under study but is not widely available yet. In this mini-review, we present some aspects and definitions of leishmaniases.

**KEYWORDS:** Leishmaniases, Cutaneous Leishmaniasis, Visceral Leishmaniasis.

## **LEISHMANIOSES**

As leishmanioses são doenças negligenciadas de grande importância, tanto devido às altas taxas de prevalência, estimando-se que cerca de 14 milhões de pessoas estejam infectadas e aproximadamente 350 milhões estejam em risco de infecção, quanto à sua ampla distribuição geográfica. Essas doenças estão presentes nos cinco continentes (Europa, África, Ásia, América e Oceania) e são registradas em 98 países, tanto em desenvolvimento quanto desenvolvidos (Alvar et al. 2012; WHO 2013).

Essas doenças são infecto-parasitárias e podem apresentar um caráter zoonótico, envolvendo animais domésticos ou silvestres como reservatórios. Elas têm incidência nas Américas, Europa, África, Região do Mar Mediterrâneo e China. Além disso, podem ter um caráter antroponótico, com transmissão restrita aos seres humanos, ou seja, os humanos funcionam como seus próprios reservatórios. Esses casos são restritos a países como

Índia, Bangladesh, Nepal e oeste da África (Monteiro et al. 2005; Alvar et al. 2012).

As leishmanioses são causadas por protozoários digenéticos pertencentes ao gênero Leishmania, Ross 1903, da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Esses parasitas têm uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados mamíferos, incluindo canídeos, roedores, edentados (tatu, preguiça, tamanduá), marsupiais (gambás), primatas não humanos e seres humanos (Brasil 2007). O gênero *Leishmania* é subdividido em dois subgêneros: *Leishmania* e *Viannia*, com base no desenvolvimento dos parasitas no aparelho digestivo do vetor. O subgênero *Leishmania* se desenvolve principalmente no trato digestivo médio e anterior do vetor, enquanto o subgênero *Viannia* tem uma fase de desenvolvimento que ocorre no intestino posterior (Lainson et al. 1979; Lainson et al. 1987; Lainson 2010).

O gênero *Leishmania* compreende cerca de 30 espécies, das quais aproximadamente 20 são patogênicas para os seres humanos (Lainson & Shaw 1998; Ashford 2000; Desjeux 2004; Ready 2013). Dependendo da espécie de Leishmania e do estado imunológico do hospedeiro, as leishmanioses apresentam uma ampla gama de manifestações no homem, que podem ser divididas em dois grupos principais: 1 - Leishmaniose Visceral (LV), conhecida como calazar, causada pelas espécies L. (L.) donovani e *L.* (*L.*) *infantum*, e 2 - Leishmaniose Tegumentar (LT), do subgênero *Leishmania*, com a forma cutânea causada por *L.* (*L.*) *major*, *L.* (*L.*) *tropica* e *L.* (*L.*) *aethiopica*, que também causa Leishmaniose Cutâneo-Difusa no Velho Mundo. Nas Américas, a LT é causada principalmente por *L.* (*L.*) *amazonensis* e L. (L.) *mexicana*, além de espécies do subgênero *Viannia*: L. (*Viannia*) *braziliensis*, L. (V.) *guyanensis*, L. (V.) *shawi*, L. (V.) *lainsoni*, L. (V.) *naiffi*, L. (V.) *lindenbergi*, L. (V.) *peruviana*, L. (V.) *utingensis*, L. (V.) *colombiensis* e *L.* (V.) *panamensis*. Também existe a forma cutaneomucosa (LCM), causada principalmente por *L.* (*V.*) *braziliensis* e raramente por L. (V.) *guyanensis*, e a cutâneo-difusa (LCD), causada por *L.* (*L.*) *amazonensis* (Ashford 2000; Desjeux 2004; Kaye & Scott 2011) (QUADRO1).

Espécies	Forma Clínica	
Novo e Velho Mundo – Subgênero <i>Leishmania</i> (Saf'Janova, 1982)		
Leishmania (Leishmania) donovani (Laveran & Mesnil, 1903)	Leishmaniose Visceral	
Leishmania (L.) infantum (Nicole, 1908)	Leishmaniose Visceral	
Leishmania (L.) tropica (Wright, 1903)	Leishmaniose Cutânea	
Leishmania (L.) major (Yakimoff & Schokhor, 1914)	Leishmaniose Cutânea	
Leishmania (L.) aethiopica (Bray, Ashford & Bray, 1973)	Leishmaniose Cutânea e Cutâneo-Difusa	
Leishmania (L.) mexicana (Biagi, 1953)	Leishmaniose Cutânea	
Leishmania (L.) amazonensis (Lainson & Shaw, 1972)	Leishmaniose Cutânea e Cutâneo-Difusa	
Novo Mundo - Subgênero Viannia (Lainson & Shaw, 1987)		
Leishmania (Viannia) braziliensis (Vianna, 1911)	Leishmaniose Cutânea e Cutaneomucosa	
Leishmania (V.) guyanensis (Floch, 1954)	Leishmaniose Cutânea e Cutaneomucosa	

## CICLO BIOLÓGICO DE Leishmania spp.

O principal modo de transmissão da leishmaniose para os mamíferos, incluindo os humanos, ocorre através da picada de fêmeas infectadas de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae; Phlebotominae), pertencentes aos gêneros *Lutzomyia* nas Américas e Phlebotomus no Velho Mundo (Sherlock 2003). Esses insetos regurgitam formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro vertebrado. Os agentes causadores das leishmanioses possuem duas formas principais: a forma promastigota encontrada no trato digestivo dos flebotomíneos vetores e a forma amastigota, que é um parasita intracelular obrigatório das células do sistema monocítico fagocitário (Bates 2007).

O ciclo biológico do gênero *Leishmania* spp. é um processo complexo e ainda não completamente compreendido, envolvendo mudanças comportamentais, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, que variam entre as espécies do parasita (Ready 2013).

De acordo com Teixeira et al. (2013) a infecção dos flebotomíneos (1) ocorre durante o repasto sanguíneo, quando a fêmea pica um hospedeiro infectado e ingere células sanguíneas e outras células, especialmente macrófagos, que contêm formas amastigotas (2). No trato digestivo do vetor, ocorre a ruptura da membrana dos macrófagos e os parasitas são liberados (3). Na região anterior do trato digestivo, as amastigotas se transformam em promastigotas procíclicos (4) dentro da matriz peritrófica. Com a ruptura da matriz peritrófica, as promastigotas migram para o epitélio do trato digestivo, onde se multiplicam e se fixam pelo flagelo (5). Após a divisão, elas migram para a região anterior do intestino até a válvula estomodeal (6), onde se concentram e passam por um processo de diferenciação chamado metaciclogênese (Sacks & Perkins 1984). Durante a metaciclogênese, as promastigotas reduzem seu tamanho corporal, tornam-se extremamente móveis, altamente infecciosas e passam a ser chamadas de promastigotas metacíclicas. Ao danificar a válvula estomodeal através da ação da quitinase (Rogers et al. 2008) e bloquear fisicamente o intestino anterior devido à produção de proteofosfoglicanos filamentosos pelas formas promastigotas (Rogers et al. 2004), as formas metacíclicas migram para a probóscide, são regurgitadas e transmitidas ao hospedeiro vertebrado através da picada, iniciando assim um novo ciclo.

A infecção ocorre em humanos e outros vertebrados quando a fêmea infectada

do flebotomíneo (7) pica o mamífero, regurgitando formas promastigotas metacíclicas (8) durante o repasto sanguíneo, que penetram na pele do hospedeiro, aderindo e invadindo macrófagos (9). As formas metacíclicas, dentro do vacúolo parasitóforo, começam a se diferenciar (10) em amastigotas (11) (Stuart et al. 2008), aderindo ao vacúolo parasitóforo e se multiplicando por divisão binária (12) até ocupar a maior parte do citoplasma (13). Em seguida, a membrana do macrófago se rompe, liberando os amastigotas (14) no tecido, onde podem invadir novos macrófagos (15) ou serem ingeridos por uma nova fêmea de flebotomíneo durante o repasto sanguíneo.

#### LEISHMANIOSE VISCERAL

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença negligenciada endêmica em aproximadamente 88 países, com uma estimativa de 500.000 novos casos e 59.000 mortes anualmente (WHO 2010). A LV possui uma ampla distribuição geográfica e pode ser encontrada na Ásia, Europa, Oriente Médio, África e nas Américas. Nas Américas, a doença é também conhecida como leishmaniose visceral americana (LVA) ou calazar (Brasil 2003). A LV é uma zoonose crônica de grande importância epidemiológica nas Américas, especialmente no Brasil, devido à sua alta incidência e ampla distribuição. Ela pode apresentar formas graves que podem levar à morte se não forem adequadamente tratadas (Gontijo & Melo 2004).

O quadro clínico da LV se agrava principalmente quando está associado à desnutrição e à infecção pelo vírus HIV, o que contribui para o aumento da mortalidade. Além disso, as crianças são particularmente afetadas pela doença em áreas endêmicas. Os sintomas mais comuns da LV humana incluem fraqueza, perda de peso, febre intermitente, anemia, anorexia, pancitopenia e esplenomegalia com ou sem hepatomegalia (WHO 2010). Do ponto de vista epidemiológico, a LV pode ser uma antroponose causada por *L. donovani* ou uma zoonose causada por *L. infantum*.

No ciclo enzoótico silvestre, a cadeia de transmissão envolve espécies de canídeos silvestres, como *Dusicyon vetulus*, *Cerdocyon thous* e *Chrysocyon brachyurus*, como reservatórios primários, possivelmente junto com outros mamíferos silvestres, como o marsupial do gênero *Didelphis* (Deane 1956; Sherlock et al. 1984; Braga et al. 1986).

O cão (*Canis familiaris*) é o reservatório doméstico da doença no ambiente urbano (Gontijo & Melo 2004). Esse animal, devido ao intenso parasitismo na pele, é altamente eficiente na manutenção do parasito nos focos endêmicos, facilitando, assim, a infecção dos vetores (Moreno & Alvar 2002).

Em relação aos vetores, as espécies de flebotomíneos *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lainson 1983; Lainson & Shaw 2005; Shaw & Lainson 1987) e *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *cruzi* são os principais vetores da Leishmaniose Visceral Zoonótica (LVZ) no Brasil (Santos et al. 1998). A espécie *L. cruzi* foi considerada vetor da *Leishmania infantum* 

em Mato Grosso do Sul, pois não ocorria *L. longipalpis* na região de Corumbá no período estudado. Além disso, o flebotomíneo foi encontrado com infecção natural por *L. infantum*, o agente etiológico da LV (Santos et al. 1998).

A urbanização desempenha um papel crucial na disseminação da LV. A mudança epidemiológica que ocorreu na ecologia da LV, favorecendo a ocorrência da doença em áreas rurais e periféricas de centros urbanos, está principalmente relacionada às ações humanas que atuam diretamente no meio ambiente, à migração de pessoas infectadas da área rural para a periferia das cidades, contribuindo como fonte de infecção para indivíduos suscetíveis, e à adaptação de espécies de flebotomíneos ao ambiente modificado pelo homem (Harhay et al. 2011).

A domiciliação do principal vetor, *Lutzomyia longipalpis*, parece ser estimulada por fatores como a destruição de habitats silvestres, a disponibilidade de fontes alimentares animais e humanas, a presença de vegetação densa em quintais, o acúmulo de lixo e a presença de abrigos de animais silvestres dentro das áreas urbanas. Isso facilita o surgimento de criadouros, aumentando a probabilidade de novos surtos em áreas endêmicas e sua propagação para novos locais no país (Costa et al. 1995).

Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo o Brasil o país com o maior número de casos notificados. A doença é considerada endêmica no Brasil, afetando cinco regiões do país, com casos humanos registrados em 24 estados (Queiroz et al. 2012).

A primeira grande epidemia urbana no Brasil ocorreu em Teresina (PI), capital do Piauí. Posteriormente, a doença foi localizada em Natal (RN) e São Luís (MA), e posteriormente se espalhou para outras regiões do país (Werneck 2010).

Desde então, várias cidades brasileiras têm apresentado um número preocupante de casos autóctones da doença ao longo das últimas décadas. A doença se espalhou para áreas centrais do Brasil, como a região Centro-Oeste, com casos em Campo Grande (MS) e Várzea Grande (MT), e na região Sudeste, em Araçatuba e Bauru (SP), Rio de Janeiro (RJ) e Montes Claros, Paracatu, Belo Horizonte e Governador Valadares (MG), chegando até o estado do Rio Grande do Sul, onde o primeiro caso da doença foi detectado em 2009. Isso coloca a LV como uma doença emergente e reemergente no Brasil (Brasil 2003, Alves & Bevilacqua 2004, Maia-Elkhoury et al. 2008, Brasil 2011).

No período de 2000 a 2011, a região Nordeste registrou o maior número de casos humanos. Foram confirmados 23.659 casos, correspondendo a 56,0% dos casos totais do país. Dentre esses, 6.514 ocorreram no estado do Maranhão, representando a maior proporção da região Nordeste, com 28,0% dos casos, seguido pelo estado do Ceará com 5.106 (22,0%) casos e o estado da Bahia com 4.489 (19,0%) casos registrados (Brasil 2011).

No Maranhão, a LV foi registrada no final da década de 70, espalhando-se para vários bairros da capital, São Luís, e posteriormente para outros municípios da ilha (Gama

et al. 1998, Mendes et al. 2002, Silva et al. 2008).

Estudos têm demonstrado que o fortalecimento da cadeia epidemiológica da doença no estado do Maranhão parece estar associado às condições precárias de vida e habitação da população com LV (Nascimento et al. 2005, Ponte et al. 2011, Silva et al. 2008).

Os índices de mortalidade tendem a aumentar, uma vez que grande parte da população possui baixo poder aquisitivo e não tem acesso a métodos de diagnóstico e tratamentos específicos. Isso reforça a hipótese de que essa classe da população torna-se mais vulnerável à doença (Gontijo & Melo 2004).

Além disso, os impactos ambientais causados pelo homem têm exercido uma forte influência na dinâmica epidemiológica da LV. Desmatamentos, poluição e aquecimento global podem estar relacionados à expansão da doença e ao seu estabelecimento efetivo nas grandes cidades (Reithinger & Davies 2002, Desieux 2004).

#### LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

Na Leishmaniose Tegumentar (LT), a forma mais comum é a forma cutânea, com incidência anual de novos casos variando entre 0.7 a 1.3 milhões no mundo (Alvar et al. 2012). No homem as formas clínicas de LT, que nas Américas é genericamente chamada de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), incluem desde quadros assintomáticos, formas tegumentares de gravidade variável, que podem se apresentar como uma simples lesão cutânea até forma cutaneomucosa, que causa desfiguração grave (Gontijo & Carvalho, 2003). A maioria dos casos de LT ocorre nas Américas, Bacia do Mediterrâneo, Ásia Central e Oriente Médio. Grande parte dos casos da doença está associada à desnutrição, deslocamento populacional, condições precárias de habitação, sistema imunológico fraco e falta de recursos (WHO 2013).

A LTA foi tradicionalmente caracterizada como uma zoonose, com o homem sendo infectado após se encontrar exposto aos ciclos de transmissão silvestre. Este padrão epidemiológico sofreu mudanças, demonstradas por um crescente número de casos de leishmaniose humana, na América. A urbanização e alteração do ecossistema onde a transmissão ocorre são os principais fatores que contribuíram para a expansão da doença (Desjeux 2001). Tanto a diversidade genética das leishmânias, como a resposta imune diferenciada do hospedeiro à infecção influenciam a forma clínica da doença (Cunningham 2002). Por isso características como o tipo de lesão e o conhecimento dos agentes etiológicos de cada região podem colaborar para o diagnóstico da doença (Lainson & Shaw 1987).

No Brasil, já no início do século XIX, a LTA, era uma doença endêmica na região amazônica, de onde se difundiu para as regiões Norte e Nordeste do país, por meio de migrações humanas, iniciadas com o ciclo da borracha (Vale & Furtado 2005). No início do século XX, essa protozoose, passou a apresentar grande impacto médico e social, devido

à abertura de estradas e de áreas de colonização agrícola, onde os trabalhadores ficavam expostos à infecção, devido ao contato com ambientes naturais, antes inalterados, onde existiam os reservatórios e vetores das diferentes espécies.

O número de casos de LTA cresceu no Brasil na última década com o surgimento em todos os estados da Federação. Desde então a doença ganhou importância em saúde pública no país, sendo observado em áreas intradomiciliares ou no peridomicílio, especialmente na região Nordeste, onde fatores socioeconômicos, como condições de habitação, pobreza, processo de migração e falta de saneamento básico, têm contribuído para esta situação (Brasil 2006; Brasil 2007; Costa 2005). Este aumento pode ser explicado, em parte, pela melhoria no diagnóstico e na notificação dos casos, mas também pelo controle inadequado do inseto vetor, aumento da detecção de LTA associada a infecções oportunistas (como exemplo a AIDS) e o aparecimento de resistência aos medicamentos utilizados no tratamento das leishmanioses (Reithinger et al. 2007).

A Região Nordeste tem contribuído com o maior número de casos, representando cerca de 37,6% das notificações (11.303 casos) no período de 1980 a 1996 no Brasil. Neste contexto, o Maranhão tem grande importância, visto que participou com 33,6% dos casos registrados entre 1980 e 1996, sendo este o estado mais afetado pela doença nesse período (Martins et al. 2004). Liderando com o maior coeficiente de detecção de casos de LT por 100.000 hab. na região Nordeste, de 1996 a 2011, o Maranhão chegou a apresentar índices de até 98,7% no ano de 2001 (Brasil 2013a). Os altos índices da LTA se justificam por ser o Maranhão um estado cuja economia é basicamente agrícola e pelo fato da doença estar ligada às áreas de ocupação recente (Silva et al. 1979; Silva et al. 1981). Nesse sentido o homem do campo adquire a doença ao adentrar em áreas inabitadas onde entra em contato com o ciclo silvestre da mesma, rompendo o equilíbrio ecológico existente nas florestas primárias onde estão presentes os mamíferos reservatórios, insetos vetores e o protozoário agente da doença (Costa et al. 1998; Coelho-Neto et al. 2012).

De acordo com Gontijo & Carvalho (2003), Lainson & Shaw (2005) e Cruz (2010) até o momento sete espécies de *Leishmania*, pertencentes aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, foram identificadas, no Brasil, como causadoras de LTA humana. São elas:

Leishmania (Viannia) guyanensis: de grande relevância, principalmente em função da sua alta frequência na região Amazônica, na margem norte do Rio Amazonas no Brasil (Amazonas, Pará, Amapá e Roraima), nas Guianas, Peru, Equador, Venezuela e Colômbia (Davies et al. 2000). Causa predominantemente úlceras cutâneas, únicas ou múltiplas, devido a picadas simultâneas de flebotomíneos ou de metástases linfáticas secundárias (Dedet 1990). O risco de infecção está associado ao ciclo silvestre. A doença ocorre com frequência em indivíduos que exercem atividades profissionais em matas, muitas vezes apresentando um caráter ocupacional. Os reservatórios são desdentados e marsupiais, como a preguiça (Choloepus didactylus), o tamanduá (Tamandua tetradactyla), e o gambá (Didelphis albiventris). As principais espécies de fle-

- botomíneos envolvidas na transmissão são: *Lutzomyia umbratilis*, *Lutzomyia anduzei* e *Lutzomyia whitmani*, sendo o primeiro incriminado como o principal vetor.
- Leishmania (Viannia) naiffi que ocorre nos Estados do Pará e Amazonas, e na Guiana Francesa, tendo o tatu (Dasypus novemcinctus) como reservatório natural. O parasita causa LTA de evolução benigna e seus principais vetores são Lutzomyia squamiventris, Lutzomyia paraensis, Lutzomyia ayrozai, que apresentam antropofilia e cujos hábitos zoofílicos são pouco conhecidos (Lainson & Shaw 2005).
- Leishmania (Viannia) shawi: responsável por casos esporádicos no Amazonas e Pará, e tem como reservatórios vários animais silvestres como macacos (Cebus apella), preguiças (Choloepus didactylus), sendo o vetor Lutzomyia whitmani, que tem como habitat natural, troncos de árvores em florestas primárias (Lainson & Shaw 2005).
- Leishmania (Viannia) lainsoni: registrada na Amazônia, sendo descrita no Pará, Peru e Bolívia. Como hospedeiro suspeito de reservatório natural tem a paca (Agouti paca) e como único vetor conhecido, a Lutzomyia ubiquitalis, causando leishmaniose cutânea (Camargo & Basano 2004; Lainson & Shaw 2005).
- Leishmania (Viannia) lindenbergi: presente em Belém (PA). Até o momento foi isolada somente de casos humanos, e o provável vetor envolvido é Lutzomyia antunesi (Lainson & Shaw 2005).
- Leishmania (Viannia) braziliensis: é a espécie mais prevalente no homem no Brasil e pode causar lesões cutâneas e mucosas. A L. (V.) braziliensis foi a primeira espécie descrita e determinada como agente etiológico da LTA. Apresenta ampla distribuição, desde a América Central até o norte da Argentina, sendo observada em todas as áreas endêmicas do País, de norte ao sul, tanto em áreas de colonizações antigas, onde o ambiente se encontra bastante modificado, assumindo características epidemiológicas distintas no decorrer do tempo, devido à larga distribuição de espécies de flebotomíneos vetores (Andrade-Filho et al. 2007). Está associada à presença de animais silvestres ou domésticos. Tem sido descrita nos estados da Rondônia, Amazonas, Pará, Pernambuco, Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Grisard et al. 2000; Silva 2005; Pita-Pereira et al. 2009). A transmissão está associada principalmente aos seguintes vetores: Lutzomyia wellcomei, em áreas silvestres dos estados do Pará, Amazonas e Ceará; Lutzomyia whitmani, em áreas de cerrado e caatinga nos estados do Ceará, Bahia, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais, Pernambuco; Lutzomyia intermedia e provavelmente Lutzomyia migonei e Lutzomyia fisheri, nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (Marzochi & Marzochi 1994); e Lu. pessoai no Rio Grande do Sul (Porto Alegre) (da Silva & Grunewalde 1999). L. braziliensis já foi isolada de roedores silvestres (Akodon sp., Bolomys lasiurus, Nectomys

squamipes, Oryzomys sp.) e sinantrópicos (Rattus rattus), felídeos (Felis catus), canídeos (Canis familiaris), eqüídeos (Equus caballus, Equus asinus) e marsupiais (Didelphis sp.). O papel desempenhado por estes mamíferos no ciclo de transmissão da doença ainda é incerto, contudo há evidências de que os roedores silvestres seriam os prováveis reservatórios primários (Brasil 2007, Camargo & Basano 2004; Silva 2005; Lainson & Shaw 2005).

Apenas uma espécie do subgênero *Leishmania* a *Leishmania* (*L.*) *amazonensis* é considerada agente etiológico da LTA no Brasil. A infecção ocorre em diferentes regiões do país, distribuindo-se principalmente na região Norte, Amazônia, Pará e Rondônia; Nordeste, Maranhão e Bahia; Sudeste em Minas Gerais, no Centro-Oeste em Goiás e Mato Grosso do Sul (Lainson & Shaw 2005; Dorval et al. 2006), e no Sul foi reportada no Paraná (Silveira et al. 1990; Silveira et al. 1999) e Santa Catarina (Grisard et al. 2000). É responsável pela leishmaniose cutânea e leishmaniose cutâneo difusa anérgica. Geralmente a transmissão está associada à presença de roedores silvestres (*Proechimys* sp., *Oryzomys* sp., *Nectomys* sp. e *Dasyprocta* sp.) marsupiais (*Metachirus* sp., *Didelphis* sp., *Philander* sp. e *Marmosa* sp.) e a raposa (*Cerdocyonthous thous*). Os principais vetores são *Lutzomyia flaviscutellata* e *Lutzomyia olmeca nociva e Lutzomyia reducta* (Camargo & Basano 2004; Silva 2005; Brasil 2006).

## **CONCLUSÃO**

Em resumo, as leishmanioses representam um desafio global em termos de saúde pública. A epidemiologia dessas doenças é complexa e varia entre os países e regiões. No Brasil, a LV e a LT são endêmicas, apresentando uma distribuição geográfica ampla. O controle efetivo das leishmanioses requer uma abordagem integrada, envolvendo medidas de prevenção, diagnóstico e tratamento adequado, além de ações para combater os fatores ambientais e sociais que contribuem para a disseminação da doença.

## **REFERÊNCIAS**

Alvar J, Vélez DI, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, Boer M,WHO Leishmaniasis Control Team 2012. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. *Plos One 7* (5): e35671.

Alves WA, Bevilacqua PD 2004. Quality of diagnosis of canine visceral leishmaniasis in epidemiological surveys: an epidemic in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, 1993-1997. *Cad Saúde Pública 20*: 259-265.

Andrade Filho JD, Galati EA, Falcão AL 2007. *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) geographical distribution and epidemiological importance. *Mem Inst Oswaldo Cruz 102*(4): 481-487.

Ashford RW 2000. The leishmaniases as emerging and reemerging zoonoses. Int J Parasitol 30: 1269-1281.

Bates P 2007. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *Int J Parasitol 37*:1097-1106.

Braga RR, Lainson R, Shaw JJ, Ryan L, Silveira FT 1986. Leishmaniasis in Brazil. XXII: Characterization of Leishmania from man, dogs and the sandfly Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) isolated during an outbreak of visceral leishmaniasis in Santarem, Para State. *Trans R Soc Trop Med Hyg 80*: 143–145.

Brasil – Ministério da Saúde 2003. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. Editora do Ministério da Saúde. Brasília. 120 pp.

Brasil – Ministério da Saúde 2006. *Atlas de Leishmaniose Tegumentar Americana Diagnóstico clínico e diferencial.* Editora do Ministério da Saúde. Brasília. 136 pp.

Brasil – Ministério da Saúde 2007. *Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana*. Editora do Ministério da Saúde, Brasília, 180 pp.

Brasil – Ministério da Saúde 2011. *Manual de vigilância da Leishmaniose Visceral*. Editora do Ministério da Saúde, Brasília, 78 pp.

Brasil – Ministério da Saúde: Portal da Saúde 2013. [cited 2013 Nov 14] Available from:http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012\_11\_coeficiente\_deteccao\_lta\_entre\_1990\_e\_2011.pdf. Acesso em 14 de novembro de 2013.

Camargo LMA, Basano SA 2004. Leishmaniose Tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Rev Bras Epidemiol* 7(3): 328-337.

Coelho-Neto GT, Rodrigues FMD, Menezes, JGPB, GAMA MEA, GONÇALVES EGR, Silva AR, Laurenti MD, Silveira FT, Corbett CEP, Gomes CMC 2012. Estudo epidemiológico de pacientes com leishmaniose tegumentar americana em Buriticupu, pré-amazônia maranhense. *Revista Ciências da Saúde 14* (2):133-138.

Costa JML 2005. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. Gazeta Médica da Bahia 75:3-17.

Costa JML, Balby IT, Rocha EJ, Silva AR, Rebêlo JM, Ferreira LA, Gama ME, Branco MR, Burattini MN, Soares NJ 1998. Comparative study of American tegumentary leishmaniasis between childhood and teenagers from the endemic area of Buriticupu, Maranhão, and Corte de Pedra, Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop 31*(3): 279-288.

Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, Silva AR 1995. A Leishmaniose Visceral no Estado do Maranhão, Brasil. A Evolução de uma Epidemia. *Cad Saude Publica 11 (2)*: 321-324.

Cruz CFR 2010. Leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Bandeirantes – Paraná, entre 2000 e 2009, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 135pp.

Cunninghal AC 2002. Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania. Experimental and molecular Pathology 72*: 132-141.

da Silva OS, Grunewald J 1999. Contribution to the sand fly fauna (Diptera: Phlebotominae) of Rio Grande do Sul, Brazil and *Leishmania* (*Viannia*) infections. *Mem Inst Oswaldo Cruz 94*(5): 579-82.

Davies CR, Reithinger R, Campbell-Lendrum D, Feliciangeli D, Borges R, Rodrigues N 2000. The epidemiology and control of leishmaniasis in Andean countries. *Cad Saude Publica 16*(4):925-950.

Deane LM. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Serviço Nacional de Educação Sanitária 1956; Rio de Janeiro, Brasil, 162 pp.

Dedet JP 1990. Cutaneous leishmaniasis in French Guiana: a review. Am J Trop Med Hyg 43:25-28.

Desjeux P 2001. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. *Trans R Soc Trop Med Hyg 92*: 239-243.

Desjeux P 2004. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis 27*: 305-318.

Dorval MEC, Oshiro ET, Cupollilo E, Camargo de Castro AC, Ales TP 2006. Ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por *Leishmania* (*Leishmania*) amazonensis. Rev Soc Bras Med Trop 39: 43-46.

Gama MEA, Barbosa JS, Pires B, Cunha AKB, Freitas AR, Ribeiro IR, Costa JML 1998. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas tem sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. *Cad Saude Publica 14*(2): 381 - 90.

Gontijo B, Carvalho MLR 2003. Leishmaniose tegumentar americana. *Rev Soc Bras Med Trop 36*(1): 71-80.

Gontijo CMF, Melo MN 2004. Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. *Rev Bras Epidemiol 7*: 338-349.

Grisard EC, Steindel M, Shaw JJ, Ishikawa EAY, Carvalho-Pinto CJ, Eger-Mangrich I, Toma HK, Lima JH, Romanha AJ, Campbell DA 2000. Characterization of *Leishmania* sp. strains isolated from autochthonous cases of human cutaneous leishmaniasis in Santa Catarina State, southern Brazil. *Acta Trop 74*(1):89-92.

Harhay MO, Olliaro PL, Costa DL, Costa CHN 2011. Urban parasitology:visceral leishmanisis in Brazil. *Trends Parasitol* 27 (9): 403-409.

Kaye P & Scott P 2011.Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nature Reviews Microbiology 9* (8): 604-15.

Lainson R 1983. The American leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. *Trans R Soc Trop Med Hyg 77*: 569-596.

Lainson R, Ready PD, Shaw JJ 1979. Leishmania in phlebotomid sandflies. VII. On the taxonomics status of Leishmania peruviana, causative agent of Peruvian "uta", as indicated by its development in the sandfly, *Lutzomyia longipalpis*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B. Biological Science 206* (1164): 307-318.

Lainson R, Ryan L, & Shaw JJ 1987. Infective stages of Leishmania in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz 82*: 421-424.

Lainson R, Shaw JJ 1998. New World leishmaniasis: The Neotropical Leishmania species. In L Collier, A Baeows, M Sussman (eds), Microbiology and Microbial Infections 5: 241-266.

Lainson R, Shaw JJ 2005. New World Leishmaniasis. In: Cox,FEG, Wakelin, D, Gillespie, SH, Despommier, DD, eds.Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections; 10th ed. London: ASM Press: 313–349.

Lainson R, Shaw JJ. New World Leishmaniasis. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD, (eds). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections: parasitology*. 10th ed. London: Hodder Arnold ASM Press; 2005. p. 313-49.

Lainson R. 2010. The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Rev Pan-Amaz Saude 1*: 13-32.

Maia-Elkhoury AN, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA 2008. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Publica 24*: 2941- 2947.

Martins LM, Rebêlo JMM, Santos MCFV, Silva, AR, Ferreira LA. Ecoepidemiologia da leishmaniose tegumentar no Município de Buriticupu, Amazônia do Maranhão, 1996 a 1998. *Cad Saúde Púb 20*(3):735-43, 2004.

Marzochi MC, Marzochi KB 1994. Tegumentary and visceral leishmaniases in Brazil: emerging anthropozoonosis and possibilities for their control. *Cad Saude Publica 10* (Suppl 2): 359-75.

Mendes WS, Silva AA, Trovão JR, Silva AR, Costa JM 2002. Space expansion of the American visceral leishmaniasis in São Luís, Maranhão, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop 35*: 227-231.

Monteiro EM, Silva JCF, Costa RT, Costa DC, Barata RA, Paula EV, GLL Machado-Coelho, Rocha MF, Fortes-Dias CL, Dias ES 2005. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop 38*(2): 147-152.

Moreno J, Alvar J 2002. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends Parasitol* 18: 399-405.

Nascimento MDSB, Souza EC, Silva LM, Leal PC, Cantanhede KL, Bezerra GFB, et al. Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhao, Brasil. *Cad Saude Publica 21*:1801-1807.

Ponte CB, Souza NC, Cavalcante MN, Barral AMP, Aquino DMC, Caldas AJM 2011. Risk factors for *Leishmania chagasi* infection in an endemic area in Raposa, State of Maranhão, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop 44*(6):717-721.

Queiroz MFM, Varjao JR, Moraes SC, Salcedo GE 2012. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, State of Mato Grosso, Brazil, and the influence of environmental variables on the vector density of Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912). *Rev Soc Bras Med Trop 45*(3): 313-317.

Ready PD 2013. Biology of Phlebotominae Sand Flies as Vectors of Disease Agents. *Annu Rev Entomol* 58: 227-250.

Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S 2007. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis 7*(9): 581-596.

Sacks DL, Kamhawi S 2001. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interaction in Leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol 55*: 453-483.

Sacks DL, Perkins PV 1984. Identification of an infective stage of *Leishmania* promastigotas. *Science* 223: 1417-1419.

Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freita RA, Malaco MAF 1998. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector os American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol 12*: 315-317.

Shaw JJ & Lainson R. Ecology and epidemiology: New World. In Peters W & Killick- Kendrick R (Eds), The Leishmaniasis in Biology and Medicine; Academic Press Inc, London, 1987; v. I, p. 291-363.

Sherlock IA 2003. A Importância dos Flebotomíneos. In. Rangel EF e Laison R 2003. *Flebotomíneos do Brasil*, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p. 15-21.

Sherlock IA, Miranda JC, Sadigurski M, Grimaldi G 1984. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Mem Instit Oswaldo Cruz 79*: 511.

Silva AR, Martins G, Melo JEM, Araújo JP, Mendes MG 1979. Surto epidêmico de leishmaniose tegumentar americana ocorrido na colonização agrícola de Buriticupu (Estado do Maranhão), Brasil. Rev Inst Med Trop 21: 43-50

Silva AR, Mendes JR, Rodrigues MJ, Carvalho ZS, Reis FMP, Melo JEM, Moraes JCO 1981. Leishmaniose cutânea difusa (LCD). Registro de um caso em Buriticupu, Estado do Maranhão, Brasil. *Rev Inst Med Trop 23*: 31-35.

Silva AR, Tauil PL, Cavalcante MN, Medeiros MN, Pires BN, Gonçalves EG 2008. Epidemiological situation of visceral leishmaniasis on the Island of São Luís, State of Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop 41*: 358:364.

Silva DA 2005. Aspectos Ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) e suas implicações na epidemiologia das leishmanioses em Cotia, Estado de São Paulo, Brasil, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 77pp.

Silveira TG, Teodoro U, Arraes SM, Lonardoni MV, Dias ML, Shaw JJ, Ishikawa EA, Lainson R 1990. Na autochthonous case of cutaneous leishmaniasis caused by *Laeishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* Lainson & Shaw, 1972 from the north of Paraná State, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz 85*: 475-476.

Silveira TGV, Arraes SMAA, Bertolini DA, Teodoro U, Lonardoni MVC, Roberto ACBS 1999. Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Paraná, Sul do Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop 32*: 413-423.

Stuart K, Brun R, Croft S, Fairlamb A, Gurtler RE, McKerrow J, Reed S, Tarleton R 2008. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. *Journal of Clinical Investigation 118*: 1301-1310.

Teixeira DE, Benchimol M, Rodrigues JCF, Crepaldi PH, Pimenta PFP, de Souza W 2013. Atlas didático Ciclo de vida de *Leishmania*. Fundação CECIERJ/Consórcio CEDERJ, Rio de Janeiro, 64 pp.

Vale ECS, Furtado T 2005. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. *An Bras Dermatol* 80: 421-428.

Werneck GL 2010. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. Cad Saúde Pública 26(4):644-645.

WHO – World Health Organization – Leishmaniasis. [cited 2013 Nov 14] Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/. Acesso em 14 de novembro de 2013.

WHO – World Health Organization 2010. Control of the Leishmaniases. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases. Geneva: World Health Organization.

Pita-Pereira D, Souza GD, Zwetsch A, Alves CR, Britto C, Rangel EF 2009. First report of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in a periurban area of South Brazil using a multiplex polymerase chain reaction assay. *American Journal and Trop Med and Hygiene 80*: 593-595.

Young DC, Duncan MA 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandfies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem of Entomol Institute 54:* 881pp.

## **CAPÍTULO 3**

## FLEBOTOMÍNEOS - IMPORTÂNCIA, DIVERSIDADE E SUA IMPORTÂNCIA NA TRANSMISSÃO DAS I FISHMANIOSES

Data de aceite: 01/09/2023

#### **Adalberto Alves Pereira Filho**

http://lattes.cnpq.br/9165045834831122

**RESUMO**: Os flebotomíneos são pequenos insetos da família Psychodidae e subfamília Phlebotominae, sendo conhecidos como mosquitos-palha. Eles desempenham um papel crucial na saúde pública, pois são vetores de parasitas do gênero Leishmania, responsáveis pela transmissão das leishmanioses, um grupo de doenças tropicais negligenciadas. Esses insetos estão amplamente distribuídos em diversas regiões do mundo, sendo mais comuns na Região Neotropical. Existem cerca de 900 espécies conhecidas de flebotomíneos, com os gêneros Phlebotomus e Lutzomyia sendo os principais envolvidos transmissão de Leishmania do Velho Mundo e do Novo Mundo, respectivamente. flebotomíneos possuem hábitos crepusculares e noturnos, sendo atraídos por fontes de calor e umidade. As fêmeas são as responsáveis pela transmissão da doença, alimentando-se do sangue de mamíferos, incluindo humanos, para suprir suas necessidades de reprodução. Os machos, por sua vez, se alimentam de

néctar e sucos de frutas. O ciclo de vida dos flebotomíneos é composto por estágios de ovo, larva, pupa e adulto. As larvas se desenvolvem em locais ricos em matéria orgânica em decomposição, geralmente de origem vegetal. Os adultos possuem uma vida relativamente curta, vivendo em média de 10 a 20 dias. A identificação das fontes alimentares sanguíneas dos flebotomíneos é de grande importância epidemiológica, permitindo compreender sua relação com os hospedeiros reservatórios e a dinâmica de transmissão da doenca. Técnicas moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), têm sido utilizadas para identificar as fontes alimentares de sangue desses insetos. Além disso, as técnicas de biologia molecular também têm sido aplicadas na detecção e identificação de infecções por Leishmania spp. nos flebotomíneos. A PCR-RFLP é uma das técnicas mais utilizadas para esse fim, permitindo a identificação do DNA do parasita no inseto vetor. A diversidade faunística dos flebotomíneos varia de acordo com a região e a interferência humana no meio ambiente. Nesta mini revisão apresentamos alguns aspectos da biologia dos flebotomíneos.

**PALAVRAS-CHAVE**: Flebotomíneos, Psychodidae, *Phlebotomus*, *Lutzomyia* 

ABSTRACT: Phlebotomine sand flies are small insects belonging to the family Psychodidae and subfamily Phlebotominae, known as sandflies. They play a crucial role in public health as they act as vectors for parasites of the genus Leishmania, responsible for the transmission of leishmaniases, a group of neglected tropical diseases. These insects are widely distributed in various regions of the world, being most common in the Neotropical Region. There are about 900 known species of phlebotomine sand flies, with the genera Phlebotomus and Lutzomyia being the main ones involved in the transmission of Leishmania in the Old World and the New World, respectively. Phlebotomine sand flies have crepuscular and nocturnal habits, being attracted to sources of heat and humidity. Females are responsible for disease transmission, feeding on the blood of mammals, including humans, to meet their reproductive needs. Males, on the other hand, feed on nectar and fruit juices. The life cycle of phlebotomine sand flies consists of egg, larva, pupa, and adult stages. Larvae develop in places rich in decomposing organic matter, usually of plant origin. Adults have a relatively short lifespan, living on average from 10 to 20 days. Identifying the blood-feeding sources of phlebotomine sand flies is of great epidemiological importance, allowing us to understand their relationship with reservoir hosts and disease transmission dynamics. Molecular techniques, such as Polymerase Chain Reaction (PCR), have been used to identify the blood-feeding sources of these insects. Additionally, molecular biology techniques have also been applied to detect and identify Leishmania spp. infections in phlebotomine sand flies. PCR-RFLP is one of the most commonly used techniques for this purpose, enabling the identification of the parasite's DNA in the vector insect. The faunistic diversity of phlebotomine sand flies varies according to the region and human interference in the environment. In this mini-review, we present some aspects of the biology of phlebotomine sand flies.

**KEYWORDS**: Phlebotomine sand flies, Psychodidae, Phlebotomus, *Lutzomyia* 

## **QUEM SÃO OS FLEBOTOMÍNEOS?**

Os flebotomíneos são dípteros hematófagos pertencentes à família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Apresentam vários nomes populares, de acordo com a região, dos quais se pode citar: asa dura, asa branca, tatuquira, birigui, cangalha, cangualhina, arrupiado, pela-égua (Forattini 1973; Camargo & Barcinski 2003). São de grande importância em Saúde Pública, principalmente por transmitirem protozoários do gênero Leishmania. Além das leishmânias, algumas espécies de flebotomíneos podem estar envolvidas na transmissão de outros tripanosomatídeos, fungos, bactérias, vírus e até mesmo outros protozoários que não tripanosomatídeos como o *Plasmodium* sp. (Forattini 1973; Shaw 1992; Shaw et al. 2003).

Distribuem-se por quase todas as regiões do mundo, sendo mais abundantes na Região Neotropical, com maior número de espécies e densidade que variam de acordo com a estação climática (Sherlock 2003).

São insetos que apresentam desenvolvimento holometábolo caracterizando por apresentar uma fase de ovo, uma fase larval que compreende quatro estádios, uma fase pupa e então o adulto (Killick-Kendrick 1999; Rebêlo 1999). As formas imaturas têm habitat

terrestre, as larvas são pequenas (<12mm), claras, vermiformes, com cápsula cefálica escura e esclerotizada. Apresentam grande mobilidade ao se deslocarem em busca de alimento, desenvolvendo-se em locais ricos em matéria orgânica em decomposição, especialmente de natureza vegetal. Ainda assim, pouco se sabe a respeito dos criadouros dos flebotomíneos. Os adultos são de cor palha ou castanhos, com cerca de 2 a 4mm de comprimento, possuem vôo saltado e quando em repouso mantêm as asas eretas em forma de "V" (Aguiar & Medeiros 2003). A superfície corporal é bastante permeável apresentando um revestimento quitinoso delgado, necessitando assim, abrigar-se em locais onde possam proteger-se das mudanças bruscas que ocorrem no meio ambiente (Aguiar et al. 1987).

Ambos os sexos necessitam de carboidratos como fonte de energia, alimentando-se de néctar de flores, frutos, seiva vegetal e de substâncias excretadas por afídeos (pulgões). Apenas as fêmeas estão adaptadas, com o respectivo aparelho bucal, a picar a pele de mamíferos, realizando o repasto sanguíneo (Sherlock 2003). As fêmeas adultas alimentam-se principalmente durante o período crepuscular e noturno e são atraídas às residências pelo fototropismo positivo (Killick-Kendrick 1999; Sharma & Singh 2008). Algumas espécies possuem um alto grau de antropofilia e endofilia, enquanto que outras são ecléticas e exofílicas.

Com relação ao ciclo de vida completo, este varia conforme a espécie e aos fatores ambientais, sendo constituído em média: fase embrionária (de 7 a 10 dias); fase larvária (de 15 a 60 dias); fase de pupa (de 7 a 14 dias) e adulto, cuja longevidade dura em média 20 dias (de 10 a 20 dias para as fêmeas alimentadas). A longevidade da fêmea está relacionada intimamente com a relação do número de repastos sanguíneos, ou seja, quanto maior o número de repastos sanguíneos, maior sua sobrevivência. Isso parece ser diferente no caso de fecundidade, pois existem evidências que as fêmeas fecundadas vivem menos que as virgens (Forattini 1973).

O desenvolvimento do ovo ao adulto é de aproximadamente um mês em temperaturas médias de 25°C. As temperaturas baixas afetam o crescimento larvário e a atividade do inseto adulto fica diminuída, aumentando o tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto. Apresentam pequeno raio de dispersão, cerca de 500 metros (Forattini 1973; Morrison et al. 1993).

Segundo Young & Duncan (1994), no novo mundo a subfamília Phlebotominae é composta pelos gêneros *Lutzomyia* França, 1924, *Brumptomyia* França & Parrot, 1921 e Warileyia Hertig, 1940. Enquanto no velho mundo são conhecidos os gêneros Phlebotomus Rondani & Berté, 1840, Sergentomyia França & Parrot, 1920 e Chinius Leng, 1987. As espécies de importância médica pertencem aos gêneros Lutzomyia e Phlebotomus.

Em todo o mundo são conhecidas aproximadamente 900 espécies de flebotomíneos (Galati 2003; Ready 2013), sendo o gênero *Phlebotomus* responsável pela transmissão de espécies de Leishmania do Velho Mundo e o gênero *Lutzomyia* espécies do Novo Mundo (Killick-Kendrick 1990; Lainson et al. 1987).

Nas Américas as primeiras espécies registradas de flebotomíneos foram descritas em 1907 por Coquillet, e até 1940, somente 33 espécies eram conhecidas. A partir da descoberta de que algumas espécies de flebotomíneos estariam participando como vetor na transmissão de agentes patogênicos ao homem e a outros animais, os estudos sobre esses insetos aumentaram consideravelmente, visando entre outras coisas conhecer o seu ciclo vital e identificar qual o vetor existente em determinada região, considerando-se as diferentes espécies apontadas como tal (Aragão 1922; Barretto 1943; Forattini 1973).

Atualmente, nas Américas já foram registradas cerca de 510 espécies e 375 no Velho Mundo. Mais de 100 espécies são suspeitas de agirem como vetores de *Leishmania* sp., mas pouco mais de 50 são realmente vetores comprovados (Lainson & Rangel 2005). O gênero Lutzomyia é relativamente bem estudado devido, sobretudo, ao papel de várias espécies como vetores de agentes etiológicos das leishmanioses nas Américas (Martins et al. 1977; Young & Duncan 1994).

As principais espécies de flebotomíneos associadas com a transmissão de leishmânias dermotrópicas nos seres humanos são: Lutzomyia (Nyssomia) intermedia (Lutz & Neiva, 1912); L. (N.) neivai (Pinto, 1926); L. (N.) whitmani (Antunes & Coutinho, 1939); L. (N.) umbratilis Ward & Fraiha, 1977; L. (N.) flaviscutellata (Mangabeira, 1942); L. (N.) antunesi (Coutinho, 1939); L. (migonei) migonei (França, 1920); L. (Pintomyia) fischeri (Pinto, 1926); L. (P.) pessoai (Coutinho & Barretto, 1940); L. (P.) wellcomei; L. (P.) complexa (Mangabeira, 1941); L. (P.) ayrozai (Barretto & Coutinho, 1940); L. (P.) paraensis (Costa Lima, 1941); L. (P.) amazonensis (Root, 1934); L. (P.) hirsuta hirsuta (Mangabeira, 1942); L. (Trichophoromyia) ubiquitalis (Mangabeira, 1942); L. (L.) gomezi; L. (Viannamyia) tuberculata (Mangabeira, 1941) (Rangel & Lainson 2009).

No Brasil a literatura incrimina cientificamente *L. longipalpis* como o principal vetor da LV, pois tem sido frequentemente encontrado naturalmente infectado e, já foi coletado sugando cães e raposas (reservatórios de *L.(L.) infantum*), possuindo um alto grau de antropofilia (Deane 1956; Lainson & Shaw 1979; Lainson & Shaw 2005) e *L. (L.) cruzi* (Mangabeira, 1938) tem sido incriminado como transmissor em alguns municípios da região Centro-Oeste (Santos et al. 1998; Missawa et al. 2011). Alguns pesquisadores, no entanto, discordam desse termo antropofílico e consideram L. longipalpis como uma espécie eclética, "catholic feeding habitats" (Sant'Anna 2014, comunicação pessoal).

A distribuição geográfica das espécies de flebotomíneos é influenciada por diversos fatores, como: barreiras físicas, precipitação pluviométrica, vegetação, luminosidade e abundância de hospedeiros vertebrados (Arias et al. 1985). A presença de animais no peridomicílio tem papel fundamental na epidemiologia das leishmanioses, pois possibilita a concentração de um grande número de flebotomíneos nesse ambiente (Teodoro et al. 2001; Teodoro et al. 2007). Essa abundância de animais domésticos (principalmente cães e aves) no peridomicílio promoveria a atração de flebotomíneos, atraídos pelo odor (cairomônios) ou liberação de CO2 (Gelle-Oliveira et al. 2010).

Os flebotomíneos compreendem insetos tipicamente de matas, porém devido a ação antrópica, que pode afetar a diversidade, a densidade e estratégia de sobrevivência (Azevedo et al. 1991), tem conseguido explorar novos ambientes, aproximando-se cada vez mais do peridomícilio (Forattini et al. 1976). Esse processo de saída do ambiente silvestre e adaptação dos flebotomíneos a novos ambientes, como resultado direto da alteração do meio ambiente provocada pelo homem, tem permitido que os vetores se aproximem cada vez mais do peridomicílio e domicílio, levando a um novo padrão na transmissão de LT, o peridoméstico e mesmo o doméstico (Costa-Simone et al. 2007; Madeira et al. 2003, Queiroz et al. 2012).

No estado do Maranhão foram realizados vários estudos com a finalidade de conhecer a fauna de flebotomíneos em municípios de diferentes fitorregiões. Os espécimes de flebotomíneos foram capturados entre os anos de 1982 a 2005, em ambientes domiciliares e florestais de 47 municípios, com uso de armadilhas luminosas CDC. Foram encontradas 91 espécies, sendo quatro pertencentes ao gênero Brumptomyia e 87 ao gênero Lutzomyia (Rebêlo et al. 2010b).

Esses estudos mostraram que muitas espécies são encontradas em ambientes florestais preservados, mas a diversidade diminui nas florestas primárias alteradas e nas matas secundárias (Rebêlo et al. 2000a,b; Marinho et al. 2008). Muitas destas espécies têm invadido o ambiente antrópico, sendo encontradas no peridomicílio, onde se associam com animais domésticos, com possibilidade de adentrar ao domicílio e sugar o homem (Dias et al. 2003; Oliveira-Pereira et al. 2006).

O conhecimento da fauna de flebotomíneos é de grande importância devido à capacidade desses insetos de transmitirem *Leishmania* (Andrade-Filho et al. 2001). Somase a isso, o fato de que o conhecimento das flutuações das populações de flebótomos permite melhor orientação e planejamento de medidas anti-vetoriais efetivas, principalmente durante os períodos do ano em que esses vetores são mais abundantes, possibilitando assim o controle da transmissão da doença ao homem (Lainson & Shaw 1979; Almeida et al. 2010).

## **FONTE ALIMENTAR DE FLEBOTOMÍNEOS**

O estudo do conteúdo intestinal de insetos hematófagos vetores de patógenos é de grande importância ecológica e epidemiológica, pois permite verificar o grau de relação do vetor para com o hospedeiro reservatório infectado, levando a compreensão dos vários componentes do ciclo de transmissão. Algumas espécies de flebotomíneos, por exemplo, se alimentam exclusivamente em um vertebrado específico, enquanto outros são oportunistas e se alimentam de vários hospedeiros, incluindo espécies que servem como reservatórios de Leishmania (Christensen et al. 1982; Meece et al. 2005; Oshaghi et al. 2006a).

Os estudos das fontes sanguíneas de alimentação de flebotomíneos aliados à

pesquisa da infecção natural por *Leishmania* spp., têm sido muito úteis para melhor conhecer a epidemiologia das leishmanioses, aumentando o entendimento sobre os hospedeiros preferenciais na natureza. A identificação da fonte alimentar sanguínea pode indicar os reservatórios potenciais de *Leishmania* spp. (Barata et al. 2005; Haouas et al. 2007), ou até mesmo o papel protetor ou atrativo que certos animais poderiam desempenhar, em relação ao homem, em área de transmissão destes parasitos (Oliveira-Pereira et al. 2008). Tais estudos vêm auxiliar nas atividades de controle e vigilância dessa doença (Dias et al. 2003, Garlapati et al. 2012; Quaresma et al. 2012).

As técnicas de identificação de repasto sanguíneo foram inicialmente baseadas em análises imunológicas (Ngo & Kramer 2003), utilizando nas décadas de 20 e 40 testes de precipitação para identificar hospedeiros vertebrados (Reeves & Hammon 1944), de coloração de anticorpo fluorescente dos eritrócitos para detectar o DNA do hospedeiro, na década de 70 (McKinney et al. 1972) e início dos anos 80 e 90 ensaios imunoenzimáticos (ELISA) (Hunter & Bayly 1991, Chow et al. 1993) e a difusão em gel de agarose (Srinivasan & Panicker 1992).

Algumas dessas técnicas são até hoje utilizadas, determinando as fontes alimentares sanguíneas de flebotomíneos empregando testes de precipitina como nos trabalhos de Barata et al. (2005) no Estado de Minas Gerais e de Dias et al. (2003); Oliveira-Pereira et al. (2008); Fonteles (2009) no Estado do Maranhão.

Entretanto, estes testes consomem tempo e apresentam baixa sensibilidade (Sant'Anna et al. 2008; Ravasan et al. 2009), além de apresentarem reatividade cruzada entre as espécies, requerem a produção de anticorpos específicos para uma ampla gama de hospedeiros potenciais, e são incapazes de apontar reservatórios imprevisíveis (Haouas et al. 2007).

Recentemente abordagens moleculares, mais sensíveis e precisas, baseadas em técnicas moleculares como a Reação da Cadeia da Polimerase (PCR), têm sido utilizadas na identificação da fonte alimentar sanguínea de flebotomíneos, como o gene prepronociceptin (Haous et al. 2007; Jaouadi et al. 2013) e regiões do citocromo b (Steuber et al. 2005; Sant'anna et al. 2008). A identificação de um conjunto de iniciadores universais dirigidos para as regiões conservadas do gene mitocondrial do citocromo b (cyt b) de vertebrados por Kocher et al. (1989), e alguns protocolos desenvolvidos no trabalho anterior de Irwin et al. (1991) descrevem iniciadores capazes de amplificar o gene do citocromo b de vários mamíferos, permitindo a amplificação de sequências nucleotídicas relevantes para amostras de DNA mitocondrial encontradas no repasto sanguíneo em artrópodes hematófagos (Kent & Noris 2005; Molaei et al. 2008; Steuber et al. 2005). Este gene tem uma comprovada utilidade para a identificação de fontes alimentares sanguíneas de artrópodes, já que um número variável de mitocôndrias pode ocorrer em uma única célula. Embora os eritrócitos maduros não apresentem mitocôndrias, outras células sanguíneas como leucócitos contribuem com um número significativo de mitocôndrias (Tyler 1992).

A PCR seguida pela digestão com enzimas de restrição (PCR-RFLP) tem mostrado ser uma análise fácil, confiável e rápida para a identificação do DNA. A PCR-RFLP se mostra exequível quando comparada com outros métodos de biologia molecular tais como T-RFLP e RFLP-hibridização cujos custos são mais onerosos, e menos usados em países em desenvolvimento (Oshaghi et al. 2006a).

A análise de PCR-RFLP do citocromo b foi usada em trabalhos anteriores na identificação da origem de fontes alimentares sanguíneas em carrapatos Ixodes ricinus (Kirstein & Gray 1996), na mosca tsé-tsé (Steuber et al. 2005) em mosquitos do gênero Anopheles (Oshaghi et al. 2006a,b) e flebotomíneos (Quaresma et al. 2012; Ravasan et al. 2009) e vem sendo cada vez mais utilizada na pesquisa da origem da fonte alimentar sanguínea de insetos hematófagos. Em flebotomíneos Ravasan et al. (2009) mostraram que esta técnica apresentou ótimos resultados na identificação da alimentação sanguínea desses insetos capturados no campo, sendo capaz de identificar fontes alimentares mistas de alimentação.

# A APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE BIOLOGIA MOLECULAR NA DETECÇÃO DA INFECÇÃO DE FLEBOTOMÍNEOS POR *Leishmania spp.*

Anteriormente, a investigação da infecção de flebotomíneos por *Leishmania* spp. era realizada através da dissecação do inseto e observação direta do parasita por microscopia óptica, ou pelo isolamento usando técnicas apropriadas de cultura do parasito ou inoculação do material obtido em animais de laboratório. Entretanto, tais procedimentos consumiam tempo, e requeriam grande habilidade técnica, principalmente devido ao tamanho reduzido dos insetos (Oliveira-Pereira et al. 2006; Carvalho et al. 2008).

As taxas de infecção natural de flebotomíneos por *Leishmania* spp. constituem uma importante ferramenta para estudos epidemiológicos de leishmanioses e de competência vetorial, pois possibilitam informações sobre a distribuição geográfica desses parasitos em vetores potenciais.

A literatura cita alguns registros, em flebotomíneos, de infecções concomitantes por *Leishmania* e *Endotrypanum* (Barbosa et al. 2006). Considerando que a morfologia e o desenvolvimento de *Leishmania* (Viannia) spp. e *Endotrypanum* sp. nos flebotomíneos são muito parecidas (Shaw 1992; Franco et al. 1997), tais métodos de diagnósticos tornam-se inespecíficos na distinção destes organismos, uma vez que baseado na sua morfologia e no seu desenvolvimento estes protozoários não podem ser facilmente diferenciados (Barbosa et al. 2006). Soma-se a isto a dificuldade do processamento de um grande número de amostras, necessário para estudos epidemiológicos (Pita-Pereira et al. 2005).

Diversos autores têm utilizado técnicas de Biologia Molecular em estudos sobre as leishmanioses, sobretudo em trabalhos que visam detectar, identificar e caracterizar estes parasitos em infecções humanas, caninas e em reservatórios Cortes et al. 2004;

Gontijo 2000; Volpini et al. 2004). Em flebotomíneos, as principais vantagens do uso de tais técnicas no estudo da infecção natural, são a sensibilidade e especificidade, independente do número, estágio, e localização dos parasitos no tubo digestório dos flebotomíneos (Perez et al. 1994).

A reação em cadeia da polimerase (PCR – Polymerase Chain Reaction) permitiu o rápido desenvolvimento do estudo de sequências de ácidos nucléicos (Molina & Tobo 2004), e veio substituir as técnicas de dissecação do inseto e observação direta do parasito, sendo empregada com sucesso na determinação da infecção natural de flebotomíneos com boa especificidade e sensibilidade (Soares et al. 2010).

Para a detecção e identificação de *Leishmania* spp. em amostras, sem a necessidade do cultivo prévio dos parasitos, diversas regiões do DNA têm sido pesquisadas. Entre os vários alvos podemos citar, o gene da pequena subunidade do RNA ribossomal (SSU rRNA) (Van Eys et al. 1992), o gene hsp70 (Garcia et al. 2004), o gene codificador para gp63 (Guerbouj et al. 2001) e o kDNA (Disch et al. 2005; Assis et al. 2009). Outra região bastante estudada é a ITS1 do gene rRNA. Esta região situa-se entre a pequena unidade do rRNA (SSU) e o gene 5.8S rRNA. Sequências do ITS1 têm sido extensivamente estudadas em Leishmania spp.(Schonian et al. 2001). A PCR-RFLP baseada na amplificação dessa região pela PCR e a subsequente utilização de enzimas de restrição, capazes de reconhecer e clivar a fita dupla da molécula de DNA em sítios específicos tem possibilitado a determinação de parasitos do gênero Leishmania em amostras clínicas, hospedeiros acidentais e potenciais reservatórios (Schonian et al 2003).

A pesquisa por PCR de *Leishmania* spp. em flebotomíneos, seguida pela técnica de polimorfismo dos comprimentos de fragmentos de restrição (PCR-RFLP) têm-se mostrado de fácil realização, confiável, e rápida na identificação do DNA do parasito no inseto vetor, sendo utilizada em diversos trabalhos (Margonari et al. 2010; El-Beshbishy et al. 2013).

A PCR é uma técnica amplamente utilizada na pesquisa de Leishmania em flebotomíneos. A PCR permite a amplificação de sequências específicas de ácidos nucleicos, como o DNA de *Leishmania*, a partir de amostras coletadas de flebotomíneos infectados. Essa técnica molecular tem se mostrado altamente sensível e específica, permitindo a detecção e identificação precisa do parasita.

Na pesquisa de *Leishmania* em flebotomíneos, a PCR é frequentemente utilizada para identificar a presença do DNA do parasita nas amostras dos insetos. Ela pode ser realizada com a utilização de primers específicos que se ligam a regiões conservadas do genoma de *Leishmania*, permitindo a amplificação seletiva do DNA do parasita. Após a amplificação, os produtos de PCR podem ser analisados por técnicas como eletroforese em gel, sequenciamento ou PCR-RFLP (Polimorfismo do Comprimento dos Fragmentos de Restrição), para identificar a espécie de Leishmania presente.

A PCR oferece várias vantagens na pesquisa de Leishmania em flebotomíneos. Ela é capaz de detectar a presença do parasita mesmo em baixas concentrações, o que é

especialmente importante quando se trata de amostras com baixa carga parasitária. Além disso, a PCR permite a identificação precisa da espécie de Leishmania, o que é essencial para entender a epidemiologia e a transmissão das leishmanioses.

No entanto, é importante ressaltar que a PCR requer cuidados adequados para evitar a contaminação das amostras com DNA de outros organismos. O uso de controles negativos e positivos, além de boas práticas de laboratório, ajuda a garantir a confiabilidade dos resultados. Além disso, é necessário considerar que a PCR é uma técnica de laboratório que exige infraestrutura adequada e expertise técnica para ser realizada corretamente.

#### **CONCLUSÃO**

Em resumo, os flebotomíneos são insetos vetores de grande importância médica, transmitindo parasitas do gênero Leishmania e causando as leishmanioses. O estudo desses insetos abrange sua diversidade, seus hábitos alimentares, sua ecologia e a detecção de infecções por Leishmania. Compreender esses aspectos é fundamental para o controle e prevenção dessas doenças.

Em suma, a PCR desempenha um papel fundamental na pesquisa de Leishmania em flebotomíneos, permitindo a detecção sensível e específica do parasita. Essa técnica molecular contribui para o entendimento da epidemiologia das leishmanioses, auxiliando na identificação das espécies de Leishmania presentes nos vetores e no estudo da transmissão dessas doencas.

#### **REFERÊNCIAS**

Abbasi I, Cunio R, Warbug A 2009. Identification of Blood Meals Imbibed by Phlebotominae Sand Flies Using Cytochrome B PCR and Reverse Line Blotting. *Vector Borne Zoonotic Dis* 9(1): 79-86

Afonso MM, Gomes AC, Meneses CR, Rangel EF 2005. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia* (N.) *intermedia* (Diptera: Psychodidae), vector of cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Cad Saude Publica 21*: 1816-1820.

Aguiar GM & Medeiros WM 2003. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. In Rangel EF & Lainson R (eds), *Flebotomíneos do Brasil*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p.207-255.

Aguiar GM, ML Vilela, RB Lima. 1987. Ecology of the sandflies of Itaguai, an area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz 82*: 583-4.

Almeida PS, Nascimento JC, Ferreira AD, Minzão LD, Portes F, Miranda AM, Faccenda O, Andrade Filho JD. Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Bras Entomol 2010; 54: 304-310.

Andrade-Filho JD, Valente MB, Andrade WA, Brazil RP, Falcão AL 2001. Flebotomíneos do Estado do Tocantins, Brasil (Diptera: Psychodidae). *Rev Soc Bras Med Trop 34*(4): 323-329.

Aragão H de B 1922. Transmissão da leishmaniose no Brasil pelo *Phlebotomus intermerdius. Bras med 36*: 129-130.

Arias JR, Miles MA, Naiff RD, Povoa MM, De Freitas RA, Biancardi CB, CASTELLON EG 1985. Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. *Am J Trop Med Hyg 34* (6): 1098-1108.

Assis TSM, Caligiorne RB, Romero GAS, Rabello A 2009. Detection of LeishmaniakDNA in human serum samples for the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg 103* (12): 1269-1272.

Azevedo ACR, Rangel EF 1991. A study of sandfly species (Diptera, Psychodidae; Phlebotominae) in a focus of cutaneous leishmaniasis in the municipality of Baturité, Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 86: 405-410.

Barata RA, França-Silva JC, Mayrink W, Silva JC, Prata A, Lorosa ES, Fiúza JA, Gonçalves CM, Paula KM, Dias ES 2005. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmanioses visceral, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop 38*(5): 421-425.

Barbosa AF, Oliveira SMP, Bertho AL, Franco, AMR, Rangel EF 2006. Single and concomitant experimental infections by *Endotrypanum*spp. and *Leishmania* (*Viannia*) *guyanensis*(Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in the neotropical sand fly *Lutzomyialongipalpis* (Diptera: Psychodidae). *MemInst Oswaldo Cruz* 101:851–856.

Barreto M 1943. Observações sobre a biologia, em condições naturais, dos flebótomos do Estado de São Paulo (Diptera, Psychodidae). Tipografia Rossolito,162p.

Beier, JC, PV Perkins, RA Wirtz 1988. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on Anopheles (Diptera: Culicidae) in Kenya. *J Med Entomol 25*: 9-16.

Bull CG, King WV 1923. The identification of the bloodmeal of mosquitoes by means of the precipitin test. *Am J Trop Med Hyg 3*: 491-496.

Burkot TR, WG Goodman, GR DeFoliart 1981. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg 30*: 1336-1341.

Camargo LMA, Barcinski MA 2003. Leishmanioses, feridas bravas e Kalazar. Ciência e cultura 1: 34-37.

Che Lah EF, Ahamad M, Harin MS, Ming HT 2012. Establishment of a molecular tool for blood meal identification in Malaysia. *Asian Pac J Trop Biomed 2*(3): 223-227.

Chow E, RA Wirtz, TW Scott 1993. Identification of blood meals in *Aedes aegypti* by antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Am Mosq Control Assoc Assoc 9*: 196-205.

Christensen HA, Arias JR, Vasquez AM, Freitas RA 1982. Host of sandfly vectors of *Leishmania* braziliensis guyanensis in the Central Amazon of Brazil. *Annals of the Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 31:239-242.

Cortes S, Rolão N, Ramada J, CampinoL 2004. PCR as a rapid and sensitive tool inthe diagnosis of human and canine leishmaniasis using Leishmaniadonovanis.l.-specifickineplastidprimers. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 98: 12-17.

Costa JC, Lorosa ES, Moraes JLP, Rebêlo JM 2013. Espécies de Culicoides (Diptera; Ceratopogonidae) e hospedeiros potenciais em área de ecoturismo do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde (Online) 4(3): 11-18.

Costa-Simone M, Cechinel M, Bandeira V, Zannuncio JC, Lainson R, Rangel EF 2007. *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *whitmani* s.l. (Antunes & Coutinho, 1939) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): geographical distribution and the epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil – minireview. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 102:149-53. 2007.

Cruz CFR 2010. Leishmaniose tegumentar americana (LTA) no município de Bandeirantes – Paraná, entre 2000 e 2009, Dissertação de Mestrado, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 135pp.

Deane LM 1956. Leishmaniose visceral no Brasil. Estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará. Tese de Livre Docência. Faculdade de Medicina, USP, 162 pg

Dias FOP, Lorosa ES, Rêbelo JMM 2003. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Caderno de Saúde Pública 19*: 1373-1380.

Dias FOP, Lorosa ES, Rêbelo JMM 2003. Fonte alimentar sangüínea e a peridomiciliação de Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Caderno de Saúde Pública 19*: 1373-1380.

Disch J, Pedras MJ, Orsini M, Pirmez C, De Oliveira MC, Castro M, Rabello A 2005. *Leishmania* (*Viannia*) subgenus kDNA amplification for the diagnosis of mucosal leishmaniasis. *DiagnMicrobiol Infect Dis* 51 (3):185-190.

El-Beshbishy HA, Al-Ali KH, El-Badry AA 2013. Molecular characterization of Leishmania infection in sand flies from Al-madinahAl-munawarah province, western Saudi Arabia. *ExpParasitol* 134(2):211-215.

Foranttini OP 1973. Entomologia médica, 4th ed., EDUSP, São Paulo 658 pp.

Forattini OP, Rabello EX, Galati EAB 1976. Novos encontros de flebotomoíneos no Estado de São Paulo, Brasil, com especial referência a *Lutzomyia longipalpis. Rev Saúde* Públ 10: 125-128.

Franco AMR, Tesh RB, Guzman H, Deane MP, GrimaldiJr G 1997. Development of Endotrypanum (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in experimentally infected phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol 34*: 189- 192.

Galati EAB 2003. Classificação de Phlebotominae. In Rangel EF & Lainson R (eds), *Flebotomíneos do Brasil*, Fiocruz, Rio de Janeiro, p.23-51.

Galati EAB 2008. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) da Província Espeleológica do Vale do Ribeira, PhD Thesis, Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo,

Garcia L, Kindt A, Bermudez H, Llanoos-Cuentas A, De Doncker S, Arevalo J, Tintaya KWQ, Dujardin JC 2004. Culture-Independet Species Typing of Neotropical *Leishmania* for Clinical Validations of a PCR-Based Assay Targeting Heat Schock Protein 70 Genes. *J ClinMicrobiol* 42: 2294-2297.

Garlapati RB, Abbasi I, Warburg I, Warburg A, Poché D, Poché R 2012. Identification of bloodmeals in wild caught blood fed *Phlebotomus argentinpes* (Diptera: Psychodidae) using cytochrome b PCR and reverse line blotting in Bihar, India. *Journal of Medical Entomology 107*: 515-521.

Gelle-Oliveira GM, Figueiró-Filho EA, Andrade GMC, Araújo LA, Gelle-Oliveira ML, Cunha RV 2010. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista Pan Amazônica de Saúde 1*: 83-94.

Gontijo CMF 2000. Leishmaniose Tegumentar em Minas Gerais: Estudos Moleculares deamostras de Leishmania isoladas de casos humano. Tese (Doutorado em Parasitologia) –Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 158 pp.

Guerbouj S, Victoir K, Guizani I, Seridi N, Nuwayri-Salti N, Belkaid M, Ismail RB, Le Ray D, Dujardin JC 2001. Gp63 gene polymorphism and population structure of *Leishmania donovani* complex: influence of the host selection pressure? *Parasitology* 122: 25-35.

Hajjaran H, Mohebali M, Alimoradi S, Abaei MR, Edrissian GH 2009. Isolation and characterization of pathogenic Leishmaniaturanica from Nesokiaindica (Rodentia, Muridae) by PCR-RFLP and ITS1 sequencing in Iran. *Trans R Soc Trop Med Hyg 103*(11):1177-1179.

Haouas N, Pesson B, Boudabous R, Dedet JP, Babba H, Ravel C 2007. Development of a molecular tool for the identification of Leishmania reservoir hosts by blood meal analysis in the insect vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 77(6): 1054-1059.

Hunter FF, R Bayly 1991. ELISA for identification of blood meal source in black flies (Diptera: Simuliidae). *J Med Entomol 28*: 527-532.

Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J Mol Evol* 32: 128-144.

Jaouadi K, Haouas N, Chaara D, Boudabous R, Gorcii M, Kidar A, Depaquit J, Pratlong F, Dedet JP, Babba H 2013. Phlebotomine (Diptera, Psychodidae) blood meal sources in Tunisian cutaneous leishmaniasis foci: could Sergentomyia minuta, which is not an exclusive herpetophilic species, be implicated in the transmission of pathogens? *Ann Entomol Soc Am 106*: 79-85

Kent RJ, Coetzee M, Mharakurwa S, Norris DE 2006. Feeding and indoor resting behaviour of the mosquito *Anopheles longipalpis* in an area of hyperendemic malaria transmission in southern Zambia. *Med Vet Entomol 20*(4): 459–463.

Kent RJ, Norris DE 2005. Identification of mammalian bood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targetion cytochrome b. *American Journal of Medical Hygiene 73*(2): 336-342.

Khanra S, Datta S, Mondal D, Saha P, Bandopadhyay SK, Roy S, Manna M 2012. RFLPs of ITS, ITS1 and hsp70 amplicons and sequencing of ITS1 of recent clinical isolates of Kala-azar from India and Bangladesh confirms the association of *L. tropica* with the disease. *Acta Trop 124*(3): 229-234.

Killick-Kendrick R 1990. Phlebotomine vectors of the leishmaniases: a review. *Med Vet Entomol 4* (1):1-24

Killick-Kendrick R 1999. The biology and control of phlebotominae sand flies. Clin Dermatol 17: 279-289

Kirstein F, Gray JS 1996. A molecular marker for the identification of the zoonotic reservoirs of *Lyme borreliosis* by analysis of the blood meal in its European vector *Ixodes ricinus*. *Appl Environ Microbiol* 62: 4060-4065.

Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Pääbo S, Villablanca FX, Wilson AC 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci* 86:6196–6200

Lainson R & Rangel EF 2005. *Lutzomyia longipalpis* and the ecoepidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. *Mem Inst. Oswaldo Cruz 100*: 811-27.

Lainson R & Shaw JJ 1979. The role of animals in the epidemiology of the South American leishmaniasis. In: *The Biology of the Kinetoplastida*. Lumsden, WHR & Evans, DA (eds), v. 2. Academic Press, London.

Lainson R & Shaw JJ 2005. New World Leishmaniasis. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections: parasitology. 10th ed. London: Hodder Arnold ASM Press, p. 313-49.

Lainson R, Ryan L, Shaw JJ 1987. Infective stages of Leishmania in the sandfly vector and some observations on the mechanism of transmission. *Mem Inst Oswaldo Cruz 82* (3): 421-424.

Lorosa ES, Andrade RE, Rebêlo JMM, Vinhaes MC 1998. Estudo das fontes alimentares através da reação de precipitina e grau de infectividade em *Triatroma rubrofasciata* (De Geer, 1773) coletado na Ilha de São Luís - Maranhão. *Entomologia y Vectores 5* (06): 241-250.

Machado da Silva AV, Magalhães MAFM, Peçanha Brazil R, Carreira JC 2011. Ecological study and risk mapping of leishmaniasis in an endemic area of Brazil based on a geographical information systems approach. *Geospat Health* 6(1): 33-40.

Madeira MF, Uchoa CMA, Leal CA, Silva RMM, Duarte R, Magalhães CM, Serra CMB 2003. *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* em cães naturalmente infectados. Rev *Soc Bras Med Trop 36*: 551-555.

Marassá AM, Consales CA, Galati EAB, Nunes VLB 2006. Identificação do sangue ingerido por *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *almerioi* (Galati & Nunes, 1999) pela técnica imunoenzimática do ELISA de captura no sistema avidina-biotina. *Rev Soc Bras Med Trop 39*: 183-186.

Margonari C, Soares RP, Andrade-Filho JD, Xavier DC, Saraiva L, Fonseca AL, Silva ME, Borges EC, Sanguinette CC, Melo MN 2010. Phlebotominae Sand Flies (Diptera:Psychodidae) and Leishmania Infection in Gafanhoto Park, Divinópolis, Brazil. *J Med Entomol* 47(6):1212-1219.

Marinho RM, Fonteles RS, Vasconcelos GC, Azevêdo PCB, Moraes JLP, Rebêlo JMM 2008. Flebotomíneos (Díptera, Psychodidae) em reservas florestais da área metropolitana de São Luís, Maranhão, Brasil. *Rev Bras Ent 52*: 112-116.

Martins AV, Silva J, Falcão AL 1977. Estudos sobre os flebótomos do estado de Minas Gerais. XIII: descrição do macho e redescrição de fêmea de Lutzomyia misionensis (Castro,1960) (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Rev Bras Biol 96*: 75- 79.

McKinney RM, JT Spillane, PHolden 1972. Mosquito blood meals: identification by a fluorescent antibody method. *Am J Trop Med Hyq 21*: 999-1003.

Meece JK, Reynolds CE, Stockwell PJ, Jenson TA, Christensen JE, Reed KD 2005. Identification of Mosquito Bloodmeal Source by Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Profile Analysis of the Cytochrome B Gene. *J Med Entomol* 42(4):657-667.

Missawa NA, Veloso MAE, Maciel GBML, Michalsky EM, Dias ES 2011. Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por Lutzomyia cruzi no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 76-78.

Molaei G, Andreadis TG, Armstrong PM, Diuk-Wasser M 2008. Host-feeding patterns of potential mosquito vectors in Connecticut, U.S.A.: Molecular analysis of bloodmeals from 23 species of *Aedes*, *Anopheles, Culex, Coquillettidia, Psorophora*, and *Uranotaenia. J Med Entomol 45*: 1143-1151.

Morrison AC, Ferro C, Morales A, Tesh RB, Wilson ML 1993. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J Med Entomol* 30: 427-435.

Mukabana WR, Takken W, Knols BGJ 2002. Analysis of arthropod bloodmeals using molecular genetic markers. *Trends Parasitol 18*(11): 505-509.

Nery LCR, Lorosa ES, Franco AMR 2004. Feeding preference of the sand flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in an urban forest patch in the city of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz 99*: 571-574.

Ngo KA, Kramer LD 2003. Identification of Mosquito Bloodmeals Using Polymerase Chain Reaction (PCR) With Order-Specific Primers. *J Med Entomol* 40(2):215-222

Oliveira-Pereira YN, Moraes JLP, Lorosa ES, Rebêlo JMM 2008. Preferência alimentar sanguínea da Amazônia do Maranhão, Brasil. Cad Saude Publica *24*(9):2183-2186.

Oliveira-Pereira YN, Rebêlo JMM, Moraes JLP, Pereira SRF 2006. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, *Lutzomyia*) por *Leishmania*sp na Amazônia maranhense. *RevSocBrasMed Trop 39*(6): 540-543.

Oliveira-Pereira YNO, Rebêlo JMM, Moraes JLP, Pereira SRF 2006. Diagnóstico molecular da taxa de infecção natural de flebotomíneos (Psychodidae, Lutzomyia) por *Leishmania* sp. na Amazônia maranhense. *Rev Soc Bras Med Trop 39*: 540-543.

Oshaghi MA, Chavshin AR, Vatandoost H 2006a. Analysis of mosquito bloodmeals using RFLP markers. *Exp Parasitol* 114: 259-264.

Oshaghi MA, Chavshin AR, Vatandoost H, Yaaghoobi F, Mohtarami F, Noorjah N 2006b. Effects of post-ingestion and physical conditions on PCR amplification of host blood meal DNA in mosquitoes. *Exp Parasitol* 112: 232–236.

Perez JE, Ogusuku E, Ingá R, Lopez M, Monje J, Paz L, Nieto E, Earevato J, Guerra H 1994. Natural Leishmania infection of *Lutzomyia* spp. in Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 88: 16-14.

Pita-Pereira D, Alves CR, Souza MB, Brazil RP, Bertho AL, Barbosa AF, Britto CC 2005. Identification of naturally infected *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyiamigonei* with *Leishmania* (Viannia) *braziliensis* in Rio de Janeiro (Brazil) revealed by a PCR multiplex non-isotopic hibridisation assay. *Trans R SocTropMedHyg 99*: 905-913.

Pita-Pereira D, Souza GD, ZwetschA, Alves CR, Britto C, Rangel EF 2009. Shor Report: first report of *Lutzomyia* (*Nyssomyia*) *neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in a periurban area of south Brazil using a multiplex polymerase chain reaction assay. *Am J Trop Med Hyg 80*: 593–595.

Quaresma PF, Carvalho GML, Ramos MCN, Andrade Filho JD 2012. Natural Leishmania sp. reservoirs and phlebotomine sandfly food source identification in Ibitipoca State Park, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz 107*(4): 480-485.

Queiroz MFM, Varjão JR, Moraes SC, Salcedo GE 2012. Analysis of sandflies (Diptera: Psychodidae) in Barra do Garças, state of Mato Grosso, Brazil, and teh influence of environmental variables on the vector density of Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912). Rev *Soc Bras Med Trop 45*(3): 313-317.

Rangel E, Lainson R 2009. Proven and putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil: aspects of their biology and vectorial competence. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 104(7): 937-954.

Ravasan NM, Oshaghi MA, Javadian E, Rassi Y, Sadraei J, Mohtarami F 2009. Blood Meal Identification in Field-Captured Sand flies: Comparison of PCR-RFLP and ELISA Assays. *J Arthropod Borne Dis 3*(1): 8-18

Ready P 2013. Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. *Annual Rev Entomology* 58: 227-250.

Rebêlo JMM, Oliveira ST, Barros VLL. 2000a. Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Lagoas, Município de Buriticupu, Amazônia Maranhense. I - Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização recente. *Rev Soc Bras Med Trop 33*:11-19.

Rebêlo JMM, Oliveira ST, Silva FS 2000b. Flebotomíneos da Amazônia maranhense.IV. Riqueza e abundância relativa das espécies em área de colonização antiga. *Entomologia Y Vectores 7*: 61-72.

Rebêlo JMM, Rocha RV, Moraes JLP, Silva CRM, Leonardo FS, Alves GA 2010. The fauna of phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in different phytogeographic regions of the state of Maranhão, Brazil. *Rev Bras entomol 54*: 494-500.

Reeves WC, WM Hammon 1944. Feeding habits of the proven and possible mosquito vectors of western equine and St. Louis Encephalitis in the Yakima Valley, Washington. *Am J Trop Med Hyg 24*: 131-134.

Rossi E, Bongiorno G, Ciolli E, Di Muccio T, Scalone A, Gramiccia M, Gradoni L, Maroli M 2008. Seasonal phenology, host-blood feeding preferences and natural *Leishmania* infection of *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in a high-endemic focus of canine leishmaniasis in Rome province, Italy. *Acta Trop 105*: 158-165.

Sant'Anna MRV, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Calvacante RR, Alexander B, Bates PA 2008. Blood meal identification and parasite infection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. *Acta Trop 107*: 230-237.

Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freita RA, Malaco MAF 1998. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector os American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol 12*: 315-317.

Schonian G, Nasereddin A, Dinse N, Schweynoch C, Schallig HDFH, Presber W, Jaffe CL 2003. PCR diagnosis and characterization of Leishmania in local and imported clinical samples. *DiagnMicrobiol Infect Dis* 47:349-358.

Schonian G, Schnur L, el Fari M, Oskam L, Kolesnikov AA, Sokolowska-Kohler W, Presber W 2001. Genetic heterogeneity in the species *Leishmania tropica* revealed by different PCR-based methods. *Trans R Soc Trop Med Hyg 95*: 217–224.

Sharma U, Singh S 2008. Insect vectors of Leishmania: distribution, physiology and their control. *J Vector Borne Dis* 45: 255-272.

Shaw JJ 1992. Endotrypanum, a unique intraerythrocytic flagellate of New World tree sloths. An evolutionary link or an evolutionary backwater? *Cienc Cult 44*: 107-116.

Shaw JJ 1992. Endotrypanum, a unique intraerythrocytic flagellate of New World tree sloths. An evolutionary link or an evolutionary backwater? *Cien Cult 44*: 107-116.

Shaw JJ, Rosa AT, Souza A, Cruz AC 2003. Os flebotomíneos brasileiros como hospedeiros e vetores de determinadas espécies. In Rangel EF & Lainson R (eds), *Flebotomíneos do Brasil,* Fiocruz, Rio de Janeiro, p.337-351.

Sherlock IA. A importância dos flebotomíneos. In Rangel EF & Lainson R (eds), *Flebotomíneos do Brasil,* Fiocruz, Rio de Janeiro, p.15-21.

Soares MRA, Carvalho CC, Silva LA, Lima MSC, Barral AMP, Rebêlo JMM, Pereira SRF 2010. Análise molecular da infecção natural de *Lutzomyia longipalpis* em área endêmica de leishmaniose visceral no Brasil. *Caderno de Saúde Pública26* (12): 2409-2413.

Srinivasan R, Panicker KN 1992. Identification of bloodmeals of phlebotomine sandflies using the agarose gel diffusion method. *Southeast Asian J Trop Med Publ Health 23*: 486–488.

Steuber S, Abdel-Rady A, Clausen PH 2005. PCR-RFLP analysis: a promising techinique for host species identification of blood meals from tsetse flies (Diptera: Glossinidae). *Parasitol Res 97*: 247-54.

Svobodová M, Sádlová J, Chang KP, Volf P 2003. Distribution and feeding preference of the sand flies *Phlebotomus sergenti* and *P. papatasi* in a cutaneous leishmaniasis focus in Sanliurfa, Turkey. *Am J Trop Med Hyg 68*: 6-9.

Tempelis CH 1975. Host-feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology. *J Med Entomol* 11: 635-653.

Teodoro U, Lonardoni MVC, Silveira TGV, Dias AC, Abbas M, Alberton D, Santos DR 2007. Luz e galinhas como fatores de atracÃo de *Nyssomyia whitmani* em ambiente rural, Paraná, Brasil. *Rev Saude Publica 41*: 383-388.

Teodoro U, Silveira TGV, Santos DR, Santos ES, Santos AR, Oliveira O, Kühl JB 2001. Freqüência da fauna de flebotomíneos no domicílio e em abrigos de animais domésticos no peridomicílio, nos municípios de Cianorte e Doutor Camargo, Estado do Paraná, Brasil. *Rev Patol Trop 30*(2): 209-233.

Tyler DD 1992. Mitochondrion in the cell. In: The mitochondrion in health and disease. VCH Publishers Inc.. New York, 95-146

Van Eys GJ, Schoone GJ, Kroon NC, Ebelin SB 1992. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. *Mol BiochemParasitol* 51: 133-142.

Volpini AC, Passos, VMA, Oliveira GC, Romanha AJ 2004. PCR-RFLP to identify *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* and L.(*Leishmania*) *amazonensis* causing american cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop 90*: 31-37.

Washino RK, Tempelis CH 1983. Mosquito host bloodmeal identification: methodology and data analysis. *Annu Rev Entomol 28*: 179-201.

Young DC, Duncan MA 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandfies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Mem of Entomol Institute 54:* 881pp.

## **CAPÍTULO 4**

# ZONEAMENTOS TERRITORIAIS DE ÁREAS FAVORÁVEIS A Diachasmimorpha longicaudata VISANDO BIOCONTROLE DA PRAGA QUARENTENÁRIA AUSENTE Anastrepha curvicauda

Data de submissão: 19/07/2023

Data de aceite: 01/09/2023

#### **Rafael Mingoti**

Embrapa Territorial Campinas, São Paulo http://lattes.cnpq.br/3479283038505977

#### Maria Conceição Peres Young Pessoa

Embrapa Meio Ambiente Jaguariúna, São Paulo http://lattes.cnpq.br/7609273004875279

#### Cauê Chaves Pereira

Bolsista Embrapa Territorial/Graduando Geografia-UNICAMP (período: agosto/2021 a dezembro/2022) Campinas, São Paulo http://lattes.cnpq.br/6364045939215825

#### Jeanne Scardini Marinho-Prado

Laboratório de Quarentena "Costa Lima"/
Embrapa Meio Ambiente
Jaguariúna- São Paulo
http://lattes.cnpq.br/8742593129238690

#### **Marco Antonio Ferreira Gomes**

Embrapa Meio Ambiente Jaguariúna, São Paulo http://lattes.cnpq.br/5589120793657544

#### Bárbara de Oliveira Jacomo

Bolsista Embrapa Territorial/Graduanda Ciências Biológicas-UNICAMP (período: novembro/2019 a julho/2021) Campinas, São Paulo http://lattes.cnpq.br/9208682264184448

#### Beatriz de Aguiar Giordano Paranhos

Embrapa Semiárido Petrolina, Pernambuco http://lattes.cnpq.br/6606136052148527

RESUMO: O parasitoide Diachasmimorpha longicaudata (Ashmead. 1905) (Hymenoptera: Braconidae) vem sendo utilizado no controle de moscas-das-frutas. Anastrepha curvicauda (syn. Toxotrypana curvicauda) (Gerstaecker, 1860) (Diptera: Tephritidae) é praga quarentenária ausente (PQA) no Brasil e ataca, preferencialmente, mamão no exterior, embora existam relatos de ataques a outros cultivos, incluindo manga. O parasitoide, presente no Brasil, exerce o biocontrole de larvas de A. curvicauda no exterior. Para prospectar seu potencial uso futuro e eficaz no Brasil, em caso de sua presença no país, é preciso conhecer locais em que fatores abióticos propiciem seu desenvolvimento conjunto ao da PQA. Este trabalho apresenta zoneamentos territoriais de áreas brasileiras favoráveis ao melhor desenvolvimento do parasitoide D. longicaudata visando o controle biológico da PQA A. curvicauda, em pelo menos um mês do ano, na presença de frutíferas de mamão ou manga localizadas, ou não, em áreas frágeis nacionais. Técnicas de geoprocessamento foram utilizadas, assim como: a) dados de literatura internacional, para as condições de favorabilidade ao maior desenvolvimento do parasitoide; b) zoneamentos territoriais de áreas brasileiras aptas a *A. curvicauda*, obtidas por modelagem de nicho ecológico (GARP/Openmodeller); c) T e UR médias mensais nacionais (período de 1961 a 2021 obtidas a partir do BDMEP/INMET; d) malha municipal do país (IBGE); e e) planos de informação de áreas frágeis nacionais (aquíferos livres, solos porosos e pluviosidades maiores 250 mm). Os zoneamentos indicaram as localidades nacionais favoráveis ao melhor desenvolvimento do parasitoide, contribuindo com as políticas públicas de defesa fitossanitária nacional.

**PALAVRAS-CHAVE:** controle biológico; mosca-das-frutas; modelagem de nicho ecológico; praga quarentenária; SIG; Brasil

# TERRITORIAL ZONING MAPS OF FAVORABLE AREAS FOR *Diachasmimorpha* longicaudata AIMING AT THE BIOCONTROL OF THE ABSENT QUARANTINE PEST *Anastrepha curvicauda*

**ABSTRACT-** The parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) has been used in the control of the fruit flies. Anastrepha curvicauda (Gerstaecker, 1860) (Diptera: Tephritidae) is an absent quarantine pest (AQP) in Brazil and attacks, mainly, papaya fruit crops abroad, although there are reports of attacks in other crops, such as mango. The parasitoid, present in Brazil, performs the biocontrol of larvae of A, curvicauda abroad. To prospect its future and effective potential uses in Brazil, in case of its presence in the country, it is necessary to know the places where abiotic factors favor its development along with the AQP. This work presents the territorial zoning maps of Brazilian areas favorable to the better development of the parasitoid D. longicaudata aiming at the biological control of the AQP A. curvicauda in at least one month in the year, considering the presence of the fruit crops of papaya or mango located, or not, in fragile areas. Geoprocessing techniques were used, as well as: a) the international literature data for favorable conditions to the better development of the parasitoid; b) territorial zoning maps of Brazilian areas apt for A. curvicauda, obtained through ecological niche modeling (GARP/Openmodeller); c) national monthly averages for temperature and humidity (period from 1961 to 2021) obtained from those of BDMEP/INMET; d) municipality grid of the country (IBGE); and e) information plans of the national fragile areas (free aguifers, porous soils and rainfall greater than 250 mm). The zoning maps indicated the national localities favored to the better development of the parasitoid, contributing for public policies of national phytosanitary defense.

**KEYWORDS:** biological control; fruit flies; ecological niche modeling; quarantine pest; GIS; Brazil.

## 1 I INTRODUÇÃO

A mosca-das-frutas do mamão *Anastrepha curvicauda* (Gerstaecker, 1860) (syn. *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker, 1860 (Diptera: Tephritidae) é praga quarentenária ausente (PQA) no Brasil (BRASIL, 2022). Esse inseto-praga é uma das principais pragas da fruteira de mamão no exterior (Norrbom et al., 2018), embora haja relatos de literatura

internacional sobre seus ataques em outros cultivos, incluindo em manga (Ferracini et al, 2022a).

Anastrepha curvicauda está presente em áreas da América do Norte, América Central e Caribe e da América do Sul (Venezuela e Colômbia) (Boscán & Godoy, 1998; Martinez & Burbano, 2006; Australia Plant Health, 2021; Cabi, 2021; Jacomo et al., 2021; Mingoti et al., 2022a).

A presença do inseto em países da América do Sul eleva o risco de entrada desse inseto-praga exótico no Brasil, que é um dos principais produtores mundiais de mamão com as principais regiões produtoras da frutífera encontradas ao Sul e Oeste da Bahia, ao Norte do Espírito Santo, ao Norte de Minas Gerais, ao Norte do Rio Grande do Norte e no Ceará (Pereira et al., 2022; Mingoti et al., 2022c). Acrescenta-se também o risco a ataques da PQA em frutíferas de mangas, as quais se destacam em áreas localizadas no Vale do São Francisco (Petrolina-PE / Juazeiro-BA), Livramento de Nossa Senhora (Sudoeste da Bahia), Jaíba e Janaúba (Norte de Minas Gerais) e Monte Alto e Taquaritinga (Ribeirão Preto) em São Paulo (Pereira et al., 2022; Mingoti et al., 2022c). Por essa razão, a PQA *A. curvicauda* foi priorizada pelo Departamento de Sanidade Vegetal (DSV) da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para ações de pesquisa (BARBOZA et al., 2018; FIDELIS et al., 2018).

O parasitoide solitário *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead, 1905) (Hymenoptera: Braconidae) vem sendo destacado como bioagente (endoparasitoide larval) utilizado no controle de tefritídeos (Paladino et al., 2010; Rohr et al., 2019), entre eles *A. curvicauda* (Gerstaecker, 1860) (Diptera: Tephritidae). Por já encontrar-se no Brasil, essa estratégia de controle biológico poderia também vir a ser utilizada em programas de manejo integrado da PQA *A. curvicauda*, em caso de entrada no país, principalmente em cultivos hospedeiros presentes em áreas frágeis, onde o uso de controle químico tenha que ser evitado em decorrência de maiores potenciais de transportes de seus princípios ativos (Ferracini et al., 2022a,b).

O Projeto Defesalnsetos (Embrapa SEG n. n.40.18.03.007.00.00) vêm pesquisando e disponibilizando vários resultados abordando pragas quarentenárias (ausentes e presentes), como também pragas de importância econômica. O projeto priorizou como áreas frágeis nacionais aquelas encontradas principalmente em locais com a presença de aquíferos não confinados (freáticos, aflorantes ou livres) e com solos altamente porosos, tais como os encontrados em áreas de aquíferos sedimentares granulares e sedimentares ou metassedimentares de natureza química/orgânica (cársticos), associados às áreas nacionais com pluviosidades anuais superiores a 250 mm (Ferracini et al., 2020; 2022a,b). Essas condições contribuem para intensificar o transporte de princípios ativos de agrotóxicos de maiores potenciais de lixiviação e/ou escoamento superficial aplicados no controle de insetos-praga (Ferracini et al., 2020; 2022a,b). Desse modo, entre os resultados já disponibilizados pelo projeto, com foco na PQA *Anastrepha curvicauda*, citam-se: a)

zoneamentos das áreas aptas à PQA *A. curvicauda* por modelagem de nicho ecológico (ENM) em algoritmo *Genetic Algorithm for Rule-set Production* (GARP) (plataforma OpenModeller) (Jacomo et al., 2021); b) zoneamentos das áreas aptas à PQA *A. curvicauda*, considerando areas brasileiras com fruteiras de mamão (Mingoti et al., 2022a); c) zoneamentos das áreas aptas à PQA *A. curvicauda*, considerando areas brasileiras com fruteiras de mamão ou manga (Mingoti et al., 2022b); d) avaliações de potencial de transportes (lixiviação ou escoamento superficial) de princípios ativos de agrotóxicos identificados como utilizados para o controle do inseto no exterior (Ferracini et al., 2022a,b); e) zoneamento de áreas nacionais aptas ao parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Pereira et al., 2022); f) zoneamento de areas brasileiras aptas ao parasitoide *D. longicaudata* e à PQA *A. curvicauda* em pelo menos um mês do ano, em áreas de cultivos de frutíferas de **mamão ou manga** (Pereira et al., 2022); e g) planos de informações geográficas intermediários, determinando a presença dessas áreas frágeis (Ferracini et al., 2020; 2022a).

Este trabalho apresenta os zoneamentos territoriais de áreas brasileiras favoráveis ao melhor desenvolvimento do parasitoide *D. longicaudata,* visando o controle biológico da PQA *A. curvicauda*, em pelo menos um mês do ano, na presença de frutíferas de mamão ou manga localizadas, ou não, em áreas frágeis nacionais, elaborados pelo projeto Defesalnsetos para subsidiar políticas públicas, em caso de entrada desse inseto-praga exótico no país.

# 2 I ZONEAMENTO TERRITORIAL DE ÁREAS FAVORÁVEIS A Diachasmimorpha longicaudata E À PQA Anastrepha curvicauda COM PRESENÇA DOS PLANTIOS HOSPEDEIROS DE MAMÃO OU MANGA

O zoneamento de áreas nacionais favoráveis concomitantemente ao melhor desenvolvimento de *D. longicaudata* e à PQA *A. curvicauda*, em pelo menos um mês do ano, em locais com as fruteiras hospedeiras de mamão ou manga foi realizado (Pereira et al., 2022), com a análise parcial dos resultados apresentada pelos mesmos autores. Para a elaboração desse zoneamento, Pereira et al. (2022) consideraram as seguintes informações:

a) Zoneamento de potenciais nichos ecológicos de *A. curvicauda*, (Jacomo et al., 2021) (Figura 1). Esse zoneamento foi elaborado usando algoritmo *Genetic Algorithm for Rule-set Production* (GARP) em plataforma OpenModeller (Santana, 2009; Souza Muñoz et al., 2011; Cria, 2021). Nele foram considerados: a1) pontos de ocorrências de *A. curvicauda* no exterior, obtidos na plataforma *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF) e no *Centre for Agriculture and Bioscience International* (CABI); a2) informações climáticas obtidas no WorldClim2, com as de precipitação, temperatura máxima (Tmax), temperatura média (Tmed), temperatura mínima (Tmin) e umidade relativa (UR) substituídas por dados médios nacionais, a partir dos recuperados no Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (período de 1961 a

2018) (INMET, 2020) e disponibilizados em arquivos em formato de texto, padronizados e convertidos para geodatabase do tipo "ponto em aplicativo ArcMap". Os dados foram interpolados usando o método de cokrigagem simples, em grade de pontos de 100 km entre pontos; a3) processamento feito no SIG ESRI ArcGIS v.10.7 adotando sistema de referência WGS 84 em coordenadas geográficas, com pixel igual a 10 min ou 0,1667°.

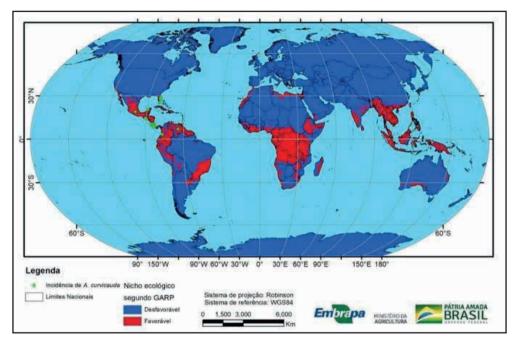


Figura 1. Zoneamento de potenciais nichos ecológicos de *A. curvicauda*, elaborado usando algoritmo GARP em plataforma OpenModeller (Fonte: Jacomo et al., 2021)

b) Zoneamento de áreas brasileiras com condições climáticas favoráveis, em ao menos um mês do ano, ao melhor desenvolvimento do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* (Pereira et al., 2022) (Figura 2). O zoneamento fez uso de condições que conferem ao parasitoide *D. longicaudata* seu melhor desenvolvimento de todas as suas fases de vida e progênie, definidas pelos intervalos de temperaturas médias (Tmed) de 21 a 28°C e de umidades relativas médias (URmed) entre 50 e 70% recuperados de literatura (Ashley et al., 1976; Meirelles, 2011; Meirelles et al., 2015) e valores médios climáticos nacionais, obtidos a partir de dados meteorológicos de 573 estações convencionais disponíveis na base de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) para o período de janeiro/1961 a dezembro/2021. As informações de T médias e UR também foram recuperadas da BDMEP/INMET e organizadas em arquivos do tipo Planilha Microsoft Excel, com cálculos das médias e dos desvios padrões mensais realizados em software Libre Office Calc (versão 7.2). Os dados foram convertidos em arquivos do tipo shapefile para serem trabalhados em ArcMap (versão 10.7.1). Posteriormente, foram realizadas interpolações dos dados dos

desvios padrões de T e de UR, pelo método de *Inverse Distance Weighted* (IDW) com fator de ponderação igual a dois, e para os dados dos valores médios desses parâmetros meteorológicos pelo método de Cokrigagem, considerando como variável auxiliar dados de temperatura média mensal obtidos para os anos de 1950 a 1990, por Alvares et al. (2013), em grade de pontos de 100 km de equidistância. A partir da função de álgebra de mapas (Map Algebra), disponível no pacote de ferramentas ArcToolbox do software ArcGis 10.7.1, foram realizadas operações de cruzamento espacial considerando as condições climáticas favoráveis ao melhor desenvolvimento de *D. longicaudata* para indicar áreas aptas ao parasitoide em pelo menos um mês ao ano no país. A área favorável ao bioagente *D. longicaudata* em território nacional foi apresentada, adotando o sistema de referência SIRGAS 2000 e o sistema de projeção equidistante de Albers (IBGE, 2020), para viabilizar o posterior cruzamento com o zoneamento de áreas aptas a *A. curvicauda*.

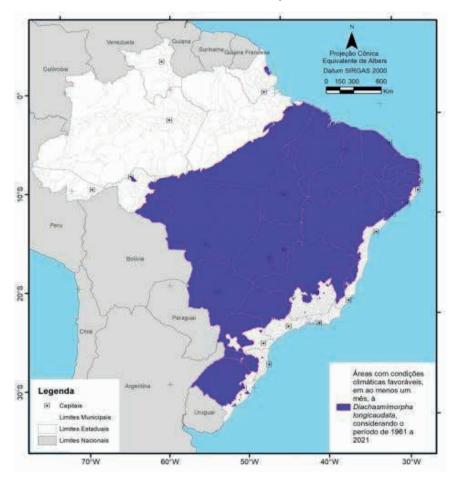


Figura 2. Áreas brasileiras com condições climáticas favoráveis, em ao menos um mês, ao melhor desenvolvimento de *Diachasmimorpha longicaudata*, considerando valores médios do período de 1961 a 2021 (Fonte: Pereira et al., 2022)

c) Zoneamento de áreas brasileiras favoráveis à PQA Anastrephacurvicauda em fruteiras de mamão ou manga (Mingoti et al., 2022b) (Figura 3). Nele foram considerados o zoneamento de áreas brasileiras aptas à PQA, obtido por GARP/Openmodeller (Jacomo et al., 2021) (Figura 1) e dados municipais de áreas com frutíferas de mamão ou de manga, obtidos da Pesquisa Agrícola Municipal para o ano de 2017 e do Censo Agropecuário de 2017, ambos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), via Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA)/IBGE. Os dados foram padronizados em planilhas Microsoft Excel e unidos a cada município do shapefile da malha municipal do país de 2017 (IBGE, 2018), fazendo uso das mesmas técnicas de geoprocessamento já informadas.

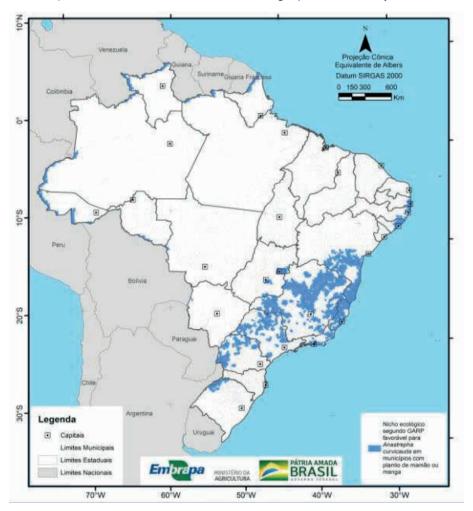


Figura 3. Zoneamento de áreas favoráveis à PQA *Anastrepha curvicauda*, considerando as fruteiras de mamão ou manga (Fonte: Mingoti et al., 2022b)

Assim, a partir do cruzamento das informações supracitadas, utilizando os mesmos recursos de geoprocessamento, foi disponibilizado o **zoneamento de áreas nacionais** 

favoráveis concomitantemente ao melhor desenvolvimento de *D. longicaudata* e à PQA *A. curvicauda*, em pelo menos um mês do ano, em locais com as fruteiras hospedeiras de mamão ou manga (Pereira et al., 2022) (Figura 4).

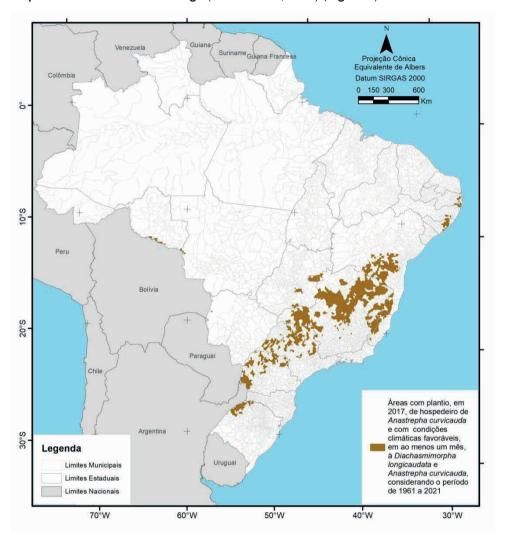


Figura 4. Zoneamento de áreas favoráveis ao desenvolvimento ótimo de *Diachasmimorpha* longicaudata e da PQA *Anastrepha curvicauda*, em ao menos um mês do ano, considerando áreas nacionais com as fruteiras de mamão ou manga (Fonte: Pereira et al., 2022)

Com base na análise dos dados disponibilizados por este zoneamento (**Figura 4**) foram identificadas 15 unidades da federação, bem como seus 565 municípios pertencentes a 51 macrorregiões e 144 microrregiões estaduais, presentes em todas as regiões geográficas brasileiras e favoráveis ao melhor uso do parasitoide *D. longicaudata* como estratégia de controle biológico da PQA *A. curvicauda*, em ao menos um mês do ano, nessas áreas nacionais com fruteiras de mamão ou manga (**Tabela 1**).

Regiões/Unidades da Federação	Qtd_Microrregiões	Qtd_Macrorregiões	Qtd_Municípios
Região Norte			
Rondônia	2	2	3
Região Nordeste			
Alagoas	5	2	35
Bahia	12	3	65
Paraíba	6	2	18
Pernambuco	5	3	15
Rio Grande do Norte	1	1	3
Região Centro-Oeste			
Distrito Federal	1	1	1
Goiás	3	3	5
Mato Grosso	1	1	1
Mato Grosso do Sul	1	1	1
Região Sudeste			
Espirito Santo	9	4	23
Minas Gerais	40	11	128
São Paulo	31	10	123
Região Sul			
Paraná	21	6	97
Rio Grande do Sul	6	1	47
TOTAL	144	51	565

Obs.: Qtd = quantidades.

Tabela 1. Número de microrregiões, macrorregiões e municípios por unidade da federação favoráveis ao desenvolvimento ótimo do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* e da PQA *Anastrepha curvicauda*, em ao menos um mês do ano, em presença de fruteiras de mamão ou manga.

Nesse zoneamento, a aptidão ao parasitoide mostrou-se predominante em municípios das **regiões Sudeste** (em 25 macrorregiões, 80 microrregiões e 274 municípios), **Sul** (em sete macrorregiões, 27 microrregiões e 144 municípios) e **Nordeste** (em 11 macrorregiões, 29 microrregiões e 136 municípios), embora também presentes nas regiões **Centro-Oeste** (em seis macrorregiões, seis microrregiões e oito municípios) e **Norte** (em duas macrorregiões, duas microrregiões e três municípios).

As maiores favorabilidades municipais foram observadas em Minas Gerais, nas macrorregiões de Campos das Vertentes (microrregião de São João Del Rei), Central Mineira (microrregiões de Bom Despacho, Curvelo e Três Marias), Jequitinhonha (microrregiões de Almenara, Araçuaí, Capelinha, Diamantina e Pedra Azul), Metropolitana de Belo Horizonte (microrregiões de Belo Horizonte, Ouro Preto, Pará de Minas e Sete Lagoas), Noroeste de Minas (microrregiões de Paracatu e Unaí), Norte de Minas (microrregiões de Bocaiuva, Grão Mogol, Janaúba, Januária, Montes Claros, Pirapora e

Salinas). Oeste de Minas (microrregiões de Divinópolis e Piuí), Sul/Sudoeste de Minas (microrregiões de Passos e de São Sebastião do Paraíso), Triangulo Mineiro/Alto Paranaíba (Araxá, Frutal, Ituiutaba, Patos de Minas, Patrocínio, Uberaba e Uberlândia), Vale do Mucuri (microrregiões de Nanuque e Teófilo Otoni) e Vale do Rio Doce (microrregiões de Aimorés, Caratinga, Governador Valadares, Mantena e Pecanha). Em São Paulo a aptidão foi observada em municípios presentes nas macrorregiões de Aracatuba (microrregiões de Aracatuba e Biriqui), Araraquara (microrregião de Araraquara), Assis (microrregiões de Assis e Ourinhos), Bauru (microrregiões de Bauru, Botucatu e Lins), Campinas (microrregiões de Campinas, Moji Mirim, Pirassununga e São João da Boa Vista), Marília (microrregião de Marilia), Piracicaba (microrregiões de Limeira e Rio Claro), Presidente Prudente (microrregiões de Adamantina, Dracena e Presidente Prudente), Ribeirão Preto (microrregiões de Barretos, Batatais, Franca, Ituverava, Jaboticabal, Ribeirão Preto e São Joaquim da Barra), São José do Rio Preto (microrregiões de Auriflama, Catanduva, Nhandeara, Movo Horizonte, São José do Rio Preto e Votuporanga). Já no estado do Espirito Santo, municípios aptos foram observados nas macrorregiões de Central Espíritosantense (microrregiões de Afonso Claudio e Santa Teresa), Litoral Norte Espíritosantense (microrregiões de Montanha e São Mateus), Noroeste Espírito-santense (microrregiões de Barra de São Francisco, Colatina e Nova Venécia) e Sul Espíritosantense (microrregiões de Alegre e Cachoeiro do Itapemirim). Assim sendo, as grandes areas produtoras de mamão ou manga presentes nas macrorregiões aptas desses estados foram acima destacadas (sublinhadas). Relata-se também a aptidão nos municípios de Janaúba e Jaíba, ambos de Minas Gerais, e os de Monte Alto e Taquaritinga, em São Paulo; importantes areas produtoras de manga, já citadas. Na Bahia, aptidões foram observadas em municípios presentes nas macrorregiões de Centro Norte Baiano (microrregiões de Feira de Santana e Itaberaba), Centro Sul Baiano (microrregiões de Boquira, Brumado, Guanambi, Itapetinga, Jequié, Livramento do Brumado, Seabra e Vitoria da Conquista) e Sul Baiano (microrregiões de Ilhéus-Itabuna e Porto Seguro). Foi observada aptidão para os municípios de Livramento de Nossa Senhora, presente na macrorregião do Centro-Sul Baiano. No Rio Grande do Norte foram identificados municípios aptos pertencentes a macrorregião do Leste Potiguar (microrregião do Litoral Sul). Não foram observadas aptidões para o estado do Ceará.

3 I ZONEAMENTO TERRITORIAL DE ÁREAS FAVORÁVEIS AO MELHOR DESENVOLVIMENTO DO PARASITOIDE *Diachasmimorpha longicaudata* E DA PQA *Anastrepha curvicauda*, EM AO MENOS UM MÊS DO ANO, CONSIDERANDO PRESENÇA DE FRUTÍFERAS HOSPEDEIRAS DE MAMÃO OU MANGA EM ÁREAS FRÁGEIS

A partir do zoneamento de áreas favoráveis ao desenvolvimento ótimo de *D. longicaudata* e da PQA *A. curvicauda*, em ao menos um mês do ano, considerando

áreas nacionais com as fruteiras de mamão ou manga (**Figura 4**) (Pereira et al., 2022), o cruzamento dessas informações com aquelas disponibilizadas em planos de informações de areas frágeis (Ferracini et al., 2020; Ferracini et al., 2022a,b) foi realizado, resultando no zoneamento territorial de áreas brasileiras favoráveis ao melhor desenvolvimento do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* e da PQA *Anastrepha curvicauda*, em ao menos um mês do ano, considerando presença de frutíferas hospedeiras de mamão ou manga em áreas frágeis (**Figura 5**). O cruzamento foi realizado em mesmo SIG já citado.

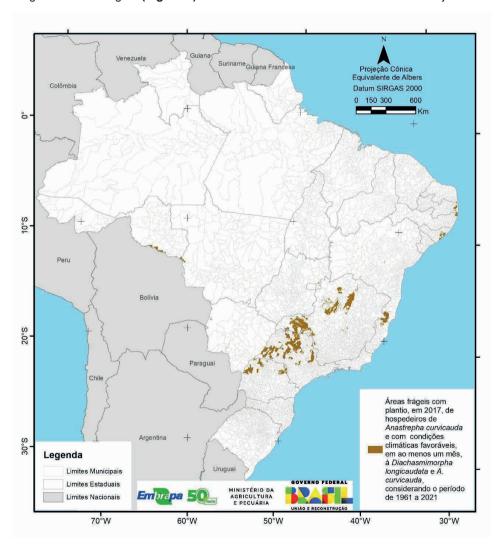


Figura 5. Zoneamento territorial de áreas brasileiras favoráveis ao melhor desenvolvimento do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* e da PQA *Anastrepha curvicauda*, em ao menos um mês do ano, considerando presença de frutíferas hospedeiras de mamão ou manga em áreas frágeis

Com base na análise dos resultados fornecidos por este zoneamento (**Figura 5**), 286 municípios, pertencentes a 81 microrregiões estaduais, distribuídas em todas as regiões do país mostraram-se favoráveis ao uso do parasitoide *D. longicaudata* no controle da PQA *A. curvicauda* em frutíferas hospedeiras de mamão ou manga localizadas em áreas frágeis (**Tabela 2**).

Unidades da Federação	Qtd_Microrregiões	Qtd_Municípios
Alagoas	3	22
Bahia	5	15
Espírito Santo	4	8
Goiás	1	1
Mato Grosso	1	1
Mato Grosso do Sul	1	1
Minas Gerais	15	55
Paraíba	5	16
Paraná	10	33
Pernambuco	2	6
Rio Grande do Norte	1	3
Rondônia	2	3
São Paulo	31	122
TOTAL	81	286

Tabela 2. Quantidades de microrregiões e de municípios aptos ao melhor desenvolvimento do bioagente *Diachasmimorpha longicaudata* e da PQA *Anastrepha curvicauda*, em ao menos um mês do ano, considerando presença de frutíferas hospedeiras de manga ou mamão em áreas frágeis.

A região Sudeste apresentou a maior quantidade de municípios aptos, totalizando 185 municípios distribuídos em 50 microrregiões estaduais. Estes municípios encontraram-se localizados nas seguintes Unidades da Federação: São Paulo (185 municípios distribuídos em 50 microrregiões), Minas Gerais (55 municípios distribuídos em 15 microrregiões) e Espírito Santo (oito municípios distribuídos em quatro microrregiões). A região Nordeste apresentou a segunda maior quantidade de municípios aptos, totalizando 62 municípios, distribuídos em 16 microrregiões estaduais, localizados em Alagoas (22 municípios distribuídos em 3 microrregiões), Paraíba (16 municípios distribuídos em cinco microrregiões), Bahia (15 municípios distribuídos em cinco microrregiões), Pernambuco (seis municípios distribuídos em duas microrregiões) e Rio Grande do Norte (três municípios distribuídos em uma microrregião). Na região Sul foram observados 33 municípios aptos, distribuídos em 10 microrregiões do Paraná. Na região Centro-Oeste observaram-se três municípios de três microrregiões estaduais aptos, a saber em Goiás (um município de uma microrregião), Mato Grosso (um município de uma microrregião) e Mato Grosso do Sul (um município de uma microrregião).

Na **região Norte**, três municípios de **Rondônia**, distribuídos em duas microrregiões estaduais, apresentaram favorabilidade ao uso de *D. longicaudata* nas condições do zoneamento realizado. Tratando-se de áreas frágeis, a análise dos resultados deste zoneamento apresentou os municípios aptos, conforme apresentado a seguir por macrorregião estadual.

Na região Nordeste, a aptidão deu-se no estado de Alagoas, ocorrendo na macrorregião Leste Alagoano (municípios de Atalaia, Barra de Santo Antonio, Barra de São Miguel, Boca da Mata, Branquinha, Cajueiro, Capela, Coqueiro Seco, Coruripe, Jequiá da Praia, Maceió, Marechal Deodoro, Messias, Murici, Paripueira, Pilar, Rio Largo, Roteiro, Santa Luzia do Norte, São Luís do Quitunde, São Miguel dos Campos e Satuba). Também foi observada na Bahia, nas macrorregiões Centro Norte Baiano (município de Boa Vista do Tupim), Centro Sul Baiano (municípios de Barra da Estiva, Ituacu, Palmas de Monte Alto, Sebastião Laranjeiras, Tanhaçu e Urandi) e Sul Baiano (municípios de Caravelas, Ibirapuã, Lajedão, Medeiros Neto, Mucuri, Nova Viçosa, Teixeira de Freitas e Vereda), como também na Paraíba, macrorregiões de Agreste Paraibano (município de Araçagi) e Mata Paraibana (Municípios de Alhandra, Caaporã, Capim, Conde, Cruz do Espirito Santo, Cuité de Mamanguape, Mamanguape, Marcação, Mari, Mataraca, Pedras de Fogo, Pitimbu, Rio Tinto, Santa Rita e Sapé). Ainda na região Nordeste, observouse aptidão em Pernambuco, nas macrorregiões Mata Pernambucana (municípios de Aliança, Condado, Goiana, Itambé e Itaquitinga) e Metropolitana de Recife (município de Itapissuma), e no Rio Grande do Norte, na macrorregião Leste Potiguar (municípios de Baía Formosa, Canguaretama e Pedro Velho).

Na região Sudeste observou-se favorabilidade ocorrendo no Espírito Santo, macrorregiões do Litoral Norte Espírito-Santense (municípios de Montanha, Mucuri, Pedro Canário, Pinheiros e Ponto Belo) e do Noroeste Espírito-Santense (municípios de Boa Esperança, Ecoporanga e Nova Venécia). Também foi constatada aptidão em Minas Gerais, nas macrorregiões Central Mineira (municípios de Augusto de Lima, Biquinhas, Buenópolis e Três Marias), Jequitinhonha (município de Gouveia), Metropolitana de Belo Horizonte (municípios de Baldim, Funilândia, Jaboticatubas, Jequitibá, Lagoa Santa, Santana de Pirapama e Sete Lagoas), Noroeste de Minas (municípios de Brasilândia de Minas, Dom Bosco, João Pinheiro, Natalândia e Paracatu), Norte de Minas (municípios Bocaiúva, Buritizeiro, Capitão Enéas, Claro dos Poções, Espinosa, Francisco Dumont, Francisco Sá, Glaucilândia, Jaíba, Janaúba, Januária, Lassance, Montes Claros, Nova Porteirinha, Olhos D'água, Pirapora, Porteirinha, São Francisco, Várzea da Palma e Verdelândia), Sul/Sudoeste de Minas (municípios de Delfinópolis, Pratápolis e São Sebastião do Paraíso) e do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba (municípios de Araquari, Comendador Gomes, Conceição das Alagoas, Frutal, Ituiutaba, Iturama, Lagoa Formosa, Monte Alegre de Minas, Patrocínio, Prata, Sacramento, São Francisco de Sales, Uberaba, Uberlândia e Veríssimo). Por sua vez, em São Paulo as áreas aptas foram observadas

nas macrorregiões de Aracatuba (municípios de Alto Alegre, Aracatuba, Brejo Alegre, Clementina, Coroados e Piacatu), de **Araraguara** (municípios de Araraguara, Borborema, Ibitinga, Itápolis e Motuca), de Assis (municípios de Nantes, Quatá e Sarutaiá), de Bauru (municípios de Balbinos, Botucatu, Cafelândia, Duartina, Guaimbê, Guarantã, Lins, Piratininga e Sabino), de Campinas (municípios de Aquaí, Artur Nogueira, Campinas, Casa Branca, Engenheiro Coelho, Estiva Gerbi, Itobi, Mogi Guacu, Mogi Mirim, Santo Antonio de Posse e Tambaú), de Marília (Marilia e Ocaucu), de Piracicaba (municípios de Conchal, Iracemápolis, Limeira e Rio Claro), de Presidente Prudente (municípios de Adamantina, Álvares Machado, Anhumas, Caiabu, Caiuá, Dracena, Emilianópolis, Flora Rica, Flórida Paulista, Irapuru, Junqueirópolis, Mariápolis, Mirante do Paranapanema, Osvaldo Cruz, Ouro Verde, Pacaembu, Parapuã, Pracinha, Presidente Epitácio, Presidente Prudente, Presidente Venceslau, Rinópolis, Salmourão, Santo Anastácio, Taciba e Tupi Paulista), de Ribeirão Preto (Barretos, Bebedouro, Cândido Rodrigues, Colômbia, Fernando Prestes, Guará, Ituverava, Jardinópolis, Miguelópolis, Monte Alto, Monte Azul Paulista, Orlândia, Pedregulho, Pirangi, Pitagueiras, Ribeirão Preto, Sales de Oliveira, Santa Ernestina, Santo Antonio da Alegria, Taiacu, Taiúva, Taquaral, <u>Taquaritinga</u> e Vista Alegre do Alto) e de São José do Rio Preto (Álvares Florence, Américo de Campos, Bady Bassitt, Catanduva, Cedral, Cosmorama, Elisiário, Floreal, Guaraci, Ibirá, Ipiguá, Itajobi, Jaci, José Bonifácio, Magda, Marapoama, Monte Aprazível, Neves Paulista, Nhandeara, Nova Aliança, Olímpia, Paraíso, Pindorama, Potirendaba, Santa Adélia, São José do Rio Preto, Sebastianópolis do Sul, Tabapuã, Tanabi, Ubarana, Uchoa e Urupês).

Ainda conforme o zoneamento obtido, a aptidão foi notada também na Região Centro-Oeste do país, ocorrendo no estado de Goiás, na macrorregião Leste Goiano (município de Formosa), em Mato Grosso, na macrorregião Norte Mato-Grossense (município de Comodoro), e no Mato Grosso do Sul, na macrorregião Pantanais Sul Mato-Grossense (município de Corumbá).

Na **região Norte**, a aptidão deu-se somente no estado de **Rondônia**, **nas macrorregiões do Leste Rondoniense** (município de Alto Alegre dos Parecis) e na de **Madeira-Guaporé** (municípios de Alta Floresta D´Oeste e de São Francisco do Guaporé).

Já na região Sul foi observada favorabilidade ocorrendo somente no estado do Paraná, nas macrorregiões do Noroeste Paranaense (municípios de Alto Paraná, Altônia, Cianorte, Esperança Nova, Iporã, Itaúna do Sul, Ivaté, Maria Helena, Marilena, Paranavaí, Perobal, Pérola, São Jorge do Patrocínio, Umuarama e Xamberê), na do Norte Central Paranaense (municípios de Cafeara, Floraí, Londrina, Madaguaçu, Maringá, Nova Esperança e São Jorge do Ivaí) e na do Norte Pioneiro Paranaense (municípios de Carlópolis, Conselheiro Mairinck, Figueira, Ibaiti, Jaboti, Jacarezinho, Japira, Pinhalão, Santana do Itararé, Sigueira Campos e Tomazina).

Desse modo, nas áreas frágeis com cultivos de manga ou mamão acima indicadas, principalmente nas grandes áreas produtoras dessas frutíferas (assinaladas pelo

sublinhado), caso a PQA *A. curvicauda* venha a ocorrer no Brasil, existe grande potencial para uso do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* como estratégia de controle biológico, em pelo menos um mês do ano, como principal alternativa à ausência de controle químico favorável ao uso nessas áreas frágeis.

### **4 I CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Em caso de ingresso da PQA *A. curvicauda* no país, uma maior necessidade de uso de controles químico ou biológico desse inseto-praga é esperada em áreas com presença de seus cultivos hospedeiros. Por essa razão, os zoneamentos territoriais de áreas aptas ao parasitoide *D. longicaudata* e à PQA *A. curvicauda*, em pelo menos um mês do ano, realizados e aqui apresentados considerando localidades com ocorrência de frutíferas de mamão ou manga são estratégicos para orientar políticas públicas nacionais.

Municípios brasileiros foram identificados a partir desses zoneamentos, sinalizando locais de maior eficácia no emprego da estratégia de controle biológico pelo parasitoide *D. longicaudata* com foco na PQA *A. curvicauda*. Acrescenta-se ainda que essa alternativa de biocontrole também poderia ser utilizada nas áreas frágeis nacionais, assinaladas em zoneamento aqui apresentado, onde o uso de agrotóxicos com princípios ativos de maior potencial de transportes por lixiviação e/ou por escoamento superficial deveriam ser evitados. Nesse particular, os municípios aptos ao parasitoide em áreas das frutíferas hospedeiras de mamão ou manga foram aqui nominados.

Contudo, os resultados apresentados não consideraram áreas municipais com as frutíferas de manga ou mamão inferiores a 50 plantas e nem aquelas presentes em áreas urbanas (residências, praças, por exemplo) ou indígenas, pela inexistência de informações oficiais nacionais. Essas áreas podem igualmente servir de abrigo e viabilizar dispersões do inseto-praga para outras áreas. Do mesmo modo, situações especificas presentes em áreas irrigadas no território brasileiro não foram aqui consideradas, pela ausência de dados climáticos nacionais oficiais disponibilizados para as áreas de cultivos irrigados do país. Nesse particular, salienta-se que a irrigação por microaspersão pode favorecer a ocorrência de microclimas específicos, que podem favorecer a aptidão ao desenvolvimento de insetos-pragas quarentenários nessas condições (PESSOA et al., 2016).

#### **REFERÊNCIAS**

AUSTRALIA PLANT HEALTH. Toxotrypana curvicauda. Fruit Fly ID Australia, 2021. Disponível em: https://fruitflyidentification.org.au/species/anastrepha-curvicauda/. Acesso em: 20 jun. 2021.

BARBOSA, F. F. L.; ALEXANDRE, J. R.; MORAIS, E. F.; LOHMANN, T.; SILVA, M. L. da. **Priorização de pragas quarentenárias ausentes**: **metodologia e lista das 20 pragas mais importantes**. Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2017. 24p. il. (Embrapa Mandioca e Fruticultura. Documentos, 220). Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/170414/1/DOC-220-Laranjeira-Ainfo.pdf Acesso em: 12 jul. 2022.

BOSCÁN, N.; GODOY, F. Levels of infestation of the papaya fruit fly *Toxotrypana curvicauda* **Gerst.** In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 1., 1998, Canoabo and Bejuma, Venezuela. [Abstracts...]. Penang, Malaysia: FAO/IAEA, 1998. p. II-19.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (SDA). **Portaria SDA nº 617 de 11 de julho de 2022.** Diário Oficial da União (DOU), n. 130, Seção 1, pg.09-13, de 12/07/2022. Disponível em: https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=515&pagina=9&data=12/07/2022

CRIA. Centro de Referência de Informação Ambiental. **OpenModeller.** Disponível em: http://openmodeller.cria.org.br/modelagem. Acesso em: 30 jun. 2021.

FERRACINI, V. L.; PESSOA, M. C. P. Y.; MINGOTI, R.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. de O.; GOMES, M. A. F.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. G. A. Estratégias prospectivas de uso de controle químico para o manejo sustentável de *Anastrepha curvicauda* em mamão. In: OLIVEIRA-JUNIOR, J. M. B.; CALVÃO, L. B. (org). **Entomologia: estudos sobre a biodiversidade, fisiologia, controle e importância médica dos insetos 2.** Ponta Grossa, PR: Atena, 2022a. cap. 2. p. 14-50. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1151842/1/Ferracini-Estrategias-prospectivas-2022.pdf Acesso em: 10/01/2023.

FERRACINI, V. L.; PESSOA, M. C. P. Y.; MINGOTI, R.; RAMOS, G. G.; JACOMO, B. de O.; GOMES, M. A. F.; DAMACENO, T. G.; SIQUEIRA, C. de A. Avaliação de potencial controle químico de *Anastrepha curvicauda* em cultivo de mamão nacional por modelagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 28., 2022b, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, CE: SEB, 2022. p. 904. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1150548/1/RA-FerraciniVL-et-al-XXVIII-CBE-2022-p904.pdf Acesso em: 04/02/2023.

FERRACINI, V. L. F.; PESSOA, M. C. P. Y. P.; MINGOTI, R.; GOMES, M. A. F.; MARINHO-PRADO, J. S.; RAMOS. G. G.; DAMACENO, T. G.; SIQUEIRA, C. de A.; JACOMO, B. de O. **Seleção de produtos químicos para o controle de** *Aleurocanthus woglumi* e de *Drosophila suzukii*. Jaguariúna, SP: Embrapa, 22/dezembro/2020. 74p. (Relatório Técnico comprovação entrega resultado ProjDEFESAINSETOS enviado DSV/SDA/Mapa)

FIDELIS, E. G.; LOHMANN, T. R.; SILVA, M. L. da; PARIZZI, P.; BARBOSA, F. F. L. (Ed.). **Priorização de pragas quarentenárias ausentes no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2018a, 510 p. il. p. 73-94. Disponível em: https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1108710/priorizacao-de-pragasquarentenarias-ausentes-no-brasil.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (GBIF). Free and open access to biodiversity data. Disponível em: https://www.gbif.org. Acesso em: 20 jun. 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Municipais** – Ano-base 2018. Disponível em: ftp://geoftp.ibge.gov.br/organizacao\_do\_territorio/malhas\_territoriais/malhas\_municipais/municipio\_2018/Brasi l/BR/ Acesso em: 02 out. 2019.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **Banco de Dados Meteorológicos do INMET**. Disponível em: https://bdmep.inmet.gov.br/ Acesso em: 17 ago. 2020.

JACOMO, B. de O.; MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S. Estimativa de nicho ecológico de *Anastrepha curvicauda* em território brasileiro por algoritmos de modelagem. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2021, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Zootecnia, 2021. 12 p. Evento online. CIIC 2021. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/225838/1/5955.pdf Acesso em: 20 set. 2021.

MARTINEZ, J. C.; BURBANO, O. I. I. Survey of fruit fly parasitoids and predators in cultivated and wild host in the province of Vélez (Santander- Colombia). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 7.; MEETING OF THE WORKING GROUP ON FRUIT FLIES OF THE WESTERN HEMISPHERE, 6., 2006, Salvador. **Proceedings...** Salvador: Fruitfly, 2006.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; JACOMO, B. DE O.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. A. J. Territorial zoning of Brazilian areas favorable to *Anastrepha curvicauda* (Diptera: Tephritidae) in papaya crop. **Journal of Agricultural Sciences Research**, v. 2, n. 3, p.10, 2022a. Disponível em:

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; JACOMO, B. de O.; SIQUEIRA, C. de A.; PARANHOS, B. A. G. Prospecção de áreas brasileiras favoráveis à *Anastrepha curvicauda* em fruteiras de mamão ou manga. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 28., 2022b, Fortaleza. Biodiversidade: conhecer, conservar e utilizar: **anais**. Fortaleza: SEB, 2022. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1150559/1/RA-PessoaMCPY-et-al-XXVIII-CBE-2022-p905.pdf Acesso em: 13/jul/2023.

MINGOTI, R.; PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. de A. G.; PEREIRA, C. C.; GARCIA, J. B. Zoneamentos territoriais de áreas brasileiras mais favoráveis ao desenvolvimento de bioagentes utilizados em outros países para o controle das pragas quarentenárias ausentes *Anastrepha curvicauda* (syn. *Toxotrypana curvicauda*), *Lobesia botrana* e *Bactrocera dorsalis*, Campinas/SP: Embrapa, 2022c. 48p. (Relatório Técnico comprovação entrega resultado ProjDEFESAINSETOS)

NORRBOM, A. L.; BARR, N. B.; KERR, P.; MENGUAL, X.; NOLAZCO, N.; RODRIGUEZ, E. J.; STECK, G. J.; SUTTON, B. D.; URAMOTO, K.; ZUCCHI, R. A. Synonymy of Toxotrypana Gerstaecker with Anastrepha Schiner (Diptera: Tephritidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 120, n. 4, p.834-841, 2018.

PALADINO, L.Z.; PAPESCHI, A.G.; CLADERA, J.L. Immature stages of development in the parasitoid wasp, *Diachasmimorpha longicaudata*. **Journal of Insect Science**. 2010, v.10, n.56. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3014816/ ou em doi: 10.1673/031.010.5601. PMID: 20569133; PMCID: PMC3014816.

PEREIRA, C. C.; MINGOTI, R.; MARINHO-PRADO, J. S.; PARANHOS, B. G. A.; PESSOA, M. C. P. Y. Zoneamento territorial de áreas favoráveis ao melhor desenvolvimento de *Diachasmimorpha longicaudata*. In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2022, Campinas. **Anais...**Campinas: Instituto Agronômico, 2022. Evento online. CIIC 2022. N° 22501. p. 1-10.

PESSOA, M. C. P. Y.; MARINHO-PRADO, J. S.; MINGOTI, R.; PRADO, S. de S.; LOVISI FILHO, E.; SILVA, A. de S.; MOURA, M. S. B. de; SILVA FILHO, P. P. da; SÁ, L. A. N. de; PRADO, S. de S.; SPADOTTO, C. A.; FARIAS, A. R. Estimativas de potencial adaptação de *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock (Praga Quarentenária A2) – Estudo de caso para dois perímetros irrigados do Vale do São Francisco. Campinas, SP: Embrapa Gestão territorial, 2016c. 2 p. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/161389/1/20161202-NotaTecnica-9.pdf Acessado em: 21. out. 2021.

ROHR, R. A.; JANNKE, S. M.; REDAELLI, L. R. Does *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) have a preferential instar to parasitize Tephritidae (Diptera)? **Iheringia**, Série. Zoologia, v. 109, p. 7, p. 2019. DOI: https://doi.org/10.1590/1678-4766e2019014.

## **CAPÍTULO 5**

# MICROALGAS PLANCTÔNICAS EM DOIS LAGOS DE PESQUE-PAGUE EM CRATO – CE

Data de submissão: 15/08/2023

Data de aceite: 01/09/2023

#### Maraiza Gregorio de Oliveira

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/5531655755169344

#### Joice Layanne Guimarães Rodrigues

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/6448383707446325

#### Márcia Taíza Pereira da Cruz

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Missão Velha, CE http://lattes.cnpq.br/4307002310394419

#### José Weverton Almeida-Bezerra

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpg.br/5570296179611652

#### Karolyna Pereira Martins

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Missão Velha, CE http://lattes.cnpq.br/8269126220732228

#### Raquel Furtado dos Santos Moura

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas,

Missão Velha, CE http://lattes.cnpg.br/4338464292850824

#### José Thyálisson da Costa Silva

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Missão Velha, CE http://lattes.cnpq.br/7171446303333616

#### Cícero dos Santos Leandro

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE

http://lattes.cnpg.br/7323619730656059

#### Maria Ivaneide Rocha

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato. CE

http://lattes.cnpq.br/9970719739461824

#### **Ademar Maia Filho**

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpg.br/9570480278376163

#### Maria Irismã Libório Góes

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato. CE http://lattes.cnpq.br/5798844435599479

#### Sírleis Rodrigues Lacerda

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/6359091951627625

RESUMO: Pesque-paque ou pesqueiro, são ambientes de recreação onde é praticada uma categoria de pesca esportiva. Geralmente se concentra próximo aos centros urbanos, depende quali-quantitativamente da água, e são compostos por vários grupos de seres vivos, dentre eles as microalgas planctônicas (fitoplâncton) que possuem grande importância na manutenção da vida aquática, pois são a base da cadeia alimentar e a principal fonte de oxigênio. Com isso, objetivou-se identificar a composição e estrutura da comunidade de microalgas planctônicas de dois lagos localizados no Pesque-Paque Quinta dos Lobos, Crato-CE, em diferentes períodos (chuvoso e pós-chuvoso). As amostras foram coletadas mensalmente de março/17 a agosto/17. Para o estudo da composição da comunidade de microalgas planctônicas foram realizados arrastos horizontais com rede de plâncton (20 µm) e as amostras foram fixadas com formou a 4%. Para análise qualitativa foi usado microscópio óptico Motic BA310 acoplado a uma câmara fotográfica e bibliografias especializadas. Foram determinadas Riqueza de espécies, abundância relativa, frequência de ocorrência e os índices de diversidade e equitabilidade. E para análise das variáveis físico-químicas foi utilizada a garrafa de Van Dorn na subsuperfície dos lagos e sonda HANNA. Foram identificadas 96 espécies, distribuídas em cinco classes taxonômicas: Cyanophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Euglenophyceae e Zygnemaphyceae. A maior riqueza de espécies foi das Chlorophyceae, seguida de Euglenophyceae e Cyanophyceae. Cinco espécies apresentaram-se como muito frequentes, 16 frequentes, 41 pouco frequentes e 34 raras. A comunidade de microalgas planctônicas apresentou alta diversidade no L1, tendo o L2 apenas média diversidade, e em ambos os lagos as espécies estiveram uniformemente distribuídas. O presente estudo é um dos poucos realizados na Região Nordeste e possui grande importância, uma vez que possibilita contribuir para o conhecimento acerca da diversidade das espécies da comunidade de microalgas planctônicas em lagos de pesquepaque do Estado do Ceará.

PALAVRAS-CHAVE: Pesqueiro, Fitoplâncton, Quinta dos Lobos, Chlorophyceae.

#### PLANKTONIC MICROALGAE IN TWO FISHING POND LAKES IN CRATO - CE

**ABSTRACT:** Fishing ponds or fishing spots are recreational environments where a category of sport fishing is practiced. They are usually located near urban centers, reliant on water quality and quantity, and are composed of various groups of organisms, including planktonic microalgae (phytoplankton), which hold significant importance in maintaining aquatic life as they form the base of the food chain and the primary source of oxygen. Thus, the objective of this study was to identify the composition and structure of the planktonic microalgae community in two lakes situated at Quinta dos Lobos Fishing Pond, Crato-CE, during different periods (rainy and post-rainy). Samples were collected monthly from March/17 to August/17. For the assessment of planktonic microalgae community composition, horizontal tows were conducted using a plankton net (20  $\mu$ m), and the samples were fixed with 4%

formaldehyde. Qualitative analysis was performed using a Motic BA310 optical microscope coupled with a photographic camera and specialized literature. Species richness, relative abundance, occurrence frequency, diversity, and evenness indices were determined. For the analysis of physicochemical variables, Van Dorn bottles were used to collect subsurface water from the lakes, and a HANNA probe was employed. A total of 96 species were identified, distributed across five taxonomic classes: Cyanophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Euglenophyceae, and Zygnemaphyceae. Chlorophyceae exhibited the highest species richness, followed by Euglenophyceae and Cyanophyceae. Among the species, five were highly frequent, 16 were frequent, 41 were less frequent, and 34 were rare. The planktonic microalgae community showed high diversity in L1, while L2 exhibited moderate diversity; both lakes demonstrated uniform distribution of species. This study is one of the few conducted in the Northeast Region and holds significant importance, as it contributes to understanding the diversity of planktonic microalgae species in fishing pond lakes in the state of Ceará.

KEYWORDS: Fishing spot, Phytoplankton, Quinta dos Lobos, Chlorophyceae

### 1 I INTRODUÇÃO

O desenvolvimento do setor pesqueiro no Brasil é potencialmente elevado, graças as condições naturais que o mesmo apresenta (PIZAIA et al., 2008). Este potencial é referente à sua extensão costeira de mais de oito mil quilômetros, e à sua dimensão territorial, que dispõe de, aproximadamente 13% da água doce renovável do planeta (ROCHA et al., 2013). Segundo Venturieri (2002) os pesqueiros começaram a se expandir a partir da década de 1990, representando um enorme impulso para o desenvolvimento da piscicultura e sendo responsável por aproximadamente 90% da comercialização de peixes vivos.

O pesque-pague ou pesqueiro, ambiente de recreação e empreendedorismo é uma categoria de pesca esportiva que se concentra próximo aos centros urbanos, para que possa atender não somente aos sistemas de comercialização de peixes, como também a procura por serviços de lazer em ecossistemas naturais e aos múltiplos usos do corpo d'água (MERCANTE et al., 2011). São lagos artificiais ou naturais, onde os alevinos são criados com ração para que seu desenvolvimento seja rápido e o ganho de peso dos animais ocorra em curto tempo (PANDOLPHO et al., 2013). Pezzato e Scorvo (2000) descrevem a existência de três módulos deste sistema: o "pesque e pague", em que o cliente-pescador paga uma pequena taxa de ingresso, porém tem a obrigação de levar todo o peixe que pescar, cobrado por quilo; o "pague e pesque", em que o cliente-pescador paga uma taxa maior de ingresso e leva todo peixe que conseguir pescar; e o "pesque e solte", em que o cliente-pescador paga uma taxa de ingresso e pode optar entre devolver ou comprar o peixe capturado.

As atividades nos pesqueiros tem sido uma importante fonte de lazer e turismo, além de gerar empregos e ser uma nova fonte de renda, principalmente para os produtores rurais (ALENCAR et al., 2011). O desenvolvimento deste tipo de atividade produtiva, entretanto, depende quali-quantitativamente da água. Sendo assim a poluição causada

nos mananciais ou por ações antrópicas são de grande risco para a qualidade da água dos pesqueiros, podendo contribuir para o declínio da qualidade ambiental, social e econômica (TIAGO; GIANESELLA, 2003).

O fitoplâncton é composto por organismos capazes de converter energia luminosa em energia química (fotossíntese) e apresenta fundamental importância na manutenção da vida aquática, pois faz parte dos diversos seres que compõem a matriz biológicas dos ecossistemas aquáticos (CARRARO, 2009). A comunidade de microalgas planctônicas (Fitoplâncton), é composta por um conjunto diversificado de grupos taxonômicos de algas e cianobactérias. São organismos de fundamental importância nos ambientes aquáticos, pois iniciam a fase biológica dos nutrientes juntamente com as macrófitas aquáticas e as algas perifíticas, sendo a base da cadeia alimentar (BEYRUTH, 1996).

Dentre os organismos que constituem a composição da comunidade de microalgas planctônicas nos ambientes de água doce, segundo Esteves (2011), destacam-se os grupos: Cyanophyta (Cyanobacteria), Chlorophyta, Charophyta, Euglenophyta, Heterokontas (incluem as diatomáceas, crisofíceas e xantofíceas), Chryptophyta e Dinoflagelados. Porém, a composição e dinâmica da comunidade fitoplanctônica é influenciada pela qualidade da água (SILVA, 2005). O processo causado pelo aumento da concentração de nutrientes, especialmente fósforo e nitrogênio em um dado ecossistema aquático, que tem como consequência o aumento da produtividade de diversos de seus compartimentos e alterações diversas sobre seu funcionamento, denomina-se eutrofização. Como decorrência desse processo, o ecossistema aquático passa da condição de oligotrófico ou mesotrófico para eutrófico ou mesmo hipereutrófico (ESTEVES, 2011).

As florações de cianobactérias apresentam grande impacto social, econômico e ambiental, afetando toda a biota aquática, desde zooplâncton até os peixes e macrófitas (HONDA et al., 2006), sobretudo em pesqueiros (ELER et al., 2001). Sendo assim é relevante o conhecimento da dinâmica da comunidade fitoplanctônica, pois as flutuações temporais e espaciais em sua composição e biomassa podem ser indicadoras eficientes das alterações naturais ou antrópicas nos ecossistemas aquáticos (HARRIS, 1986). Portanto, o presente trabalho busca contribuir para o conhecimento acerca da diversidade das espécies da comunidade de microalgas planctônicas e relacionar sua presença com a qualidade da água tendo em vista a grande escassez de informações sobre estes organismos em sistemas de pesque-paque.

#### 2 I MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Caracterização da área de estudo

O Município de Crato, com área total de 1.176,5 km², com a Caatinga arbustiva como tipo de vegetação predominante, apresenta clima Tropical Quente Semiárido Brando e Tropical Quente Sub-úmido. A estação chuvosa compreende os meses de fevereiro a maio,

sendo que as chuvas mais intensas ocorrem nos meses de março e abril, com pluviosidade média anual de 1090,9 mm, e a temperatura média variando de 24°C a 26°C. O estudo foi realizado no Pesque-Pague Quinta dos Lobos localizado no Distrito de Belmonte, Munícipio de Crato-CE, possui dois lagos situados a 628 e 622 m de altitude respectivamente, com as seguintes coordenadas geográficas L1: (7° 15' 30" S e 39° 26' 42" W) e L2: (7° 15' 31" S e 39° 26' 41" W) e distam 25,5 m entre si. Esses lagos existem a mais ou menos oito anos e a área superficial dos lagos 1 e 2 é de 1.276 e 471,4 m² respectivamente, possuindo assim formas e medidas diferentes. São abastecidos com água oriunda de poços profundos ou de sistemas de abastecimento público e atingem a profundidade máxima de 2,20 m no L1 e 2,30 m no L2 e mínima de 1,30m no L1 e 1,50 m no L2.

#### 2.2 Coleta e Análise do Fitoplâncton

#### 2.2.1 Coleta do fitoplâncton

As coletas para estudo qualitativo foram realizadas mensalmente no período de março a agosto/2017, compreendendo meses do período chuvoso e pós chuvoso (FUNCEME, 2017). As amostras foram coletadas manualmente e com o auxílio de um barco, por meio de arrasto horizontal da região mediana para as marginais dos lagos, utilizando rede de plâncton com abertura de malha de  $20~\mu m$ . Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno, devidamente etiquetadas e preservadas em solução de formol a 4%.

#### 2.2.2 Análise qualitativa

As amostras foram analisadas por meio de microscópio óptico Motic BA310 acoplado a uma câmara fotográfica. Para a identificação e sistematização dos táxons foram usadas bibliografias especializadas, tais como: Anagnostidis e Komárek (1988); Bicudo e Bicudo (1970); Bicudo e Menezes (2006); Compére (1976); Desikachary (1959); Franceschini et al. (2010); Parra, Gonzalez e Delarrosa (1983); Prescott (1951, 1954); Round, Crawnford e Mann (1992); Sant'Anna (1984); Sant'Anna et al. (2006, 2012); e Wehr e Sheath (2003).

#### 2.3 Tratamento numérico dos dados

Considerou-se como riqueza o número de espécies presentes em cada amostra. Além disso, A abundância relativa dos táxons expressa em porcentagem, foi calculada através da seguinte fórmula proposta por Lobo e Leighton (1986). A Frequência de Ocorrência (F) (%) das espécies foi calculada com base na presença e na ausência das espécies, em relação ao número de amostras nas quais cada espécie ocorreu e o número total de amostras analisadas, através da fórmula descrita por Mateucci e Colma (1982). Já o Índice de diversidade (H') foi estimado pelo índice de Shannon e Weaver (1963). O índice de equitabilidade (J') por sua vez foi calculado a partir da diversidade específica pela

#### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas 96 espécies, dessas 74 no L1 e 69 no L2, distribuídas em cinco classes taxonômicas (Cyanophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Euglenophyceae e Zygnemaphyceae) (Tabela 1). As classes mais representativas nos dois lagos foram Clorophyceae 55% (53 spp.), seguida de Euglenophyceae 21% (20 spp.) e Cyanophyceae 18% (17 spp.). As espécies exclusivas nestes lagos totalizaram 49, já as espécies comuns foram menos expressivas, com 47.

#### Cyanophyceae

Anabaena spiroides Klebahn

Aphanocapsa delicatissima West e G. S. West

Aphanocapsa holsatica (Lemmermann) G. Cronberg & Komárek

Aphanocapsa incerta (Lemmermann) Cronberg & Komarek

Chroococcus dispersus (Keissler) Lemmermann

Chroococcus sp.

Chroococcus turgidus (Kützing) Nägeli

Merismopedia elegans (Ehrenberg) Kützing

Merismopedia glauca A. Braun ex Kützing

Merismopedia punctata Meyen, nom. illeg.

Merismopedia sp.

Merismopedia tenuissima Lemmermann

Microcystis incerta (Lemmermann) Lemmermann

Oscillatoria sp.

Pseudoanabaena galeata Böcher

Romeria sp.

Synechococcus elongatus (Nägeli) Nägeli

#### Chlorophyceae

Actinastrum hantzschii Lagerheim

Ankistrodesmus fusiformis Corda ex Korshikov

Chlorella minutissima Fott e Nováková

Chlorella sp.

Chlorella vulgaris Beyerinck (Beijerinck)

Coelastrum microporum Nägeli

Coelastrum pseudomicroporum Korshikov

Coelastrum reticulatum (P. A. Dangeard) Senn

Coenochloris fottii (Hindák) Tsarenko

Coenochloris pyrenoidosa Korshikov

Coronastrum sp.

Crucigenia fenestrata (Schmidle) Schmidle

Crucigenia sp.1

Crucigenia sp.2

Crucigeniella apiculata (Lemmermann) Komárek

Crucigeniella crucifera (Wolle) Komárek

Desmodesmus armatus (R. Chodat) E. Hegewald

Desmodesmus maximus (West & G. S. West) Hegewald

Dictyosphaerium ehrenbergianum Nägeli

Dictyosphaerium pulchellum H. C. Wood

Eutetramorus tetrasporus Komárek

Kirchneriella contorta (Schmidle) Bohlin

Kirchneriella lunaris (Kirchner) K. Möbius

Kirchneriella obesa (West) West & G. S. West

Kirchneriella roselata Hindák

Monoraphidium contortum (Thuret) Komárková- Legnerová

Oocystis borgei J. W. Snow

Oocystis lacustris Chodat

Oocystis parva West & G. S. West

Radiococcus planktonicus J. W. G. Lund

Radiococcus sp.

Scenedesmus abundans(O. Kirchner) Chodat

Scenedesmus acuminatus (Lagerheim) Chodat

Scenedesmus acutus Meyen

Scenedesmus apinosus (Chodat) E. Hegewald

Scenedesmus arcuatus Lemmermann, ForschBer

Scenedesmus bicaudatus Dedusenko

Scenedesmus decorus Hortobagyi

Scenedesmus ecornis(Ehrenberg) Chodat

Scenedesmus indicus Philipose ex Hegewald, Engelberg e Paschma

Scenedesmus opoliensis P. G. Richter

Scenedesmus producto-capitatus Schmula

Scenedesmus quadricauda (Turpin) Brébisson

Scenedesmus sp.

Sphaerocystis schoeteri Chodat

Stauridium tetras (Ehrenberg) E. Hegewald

Tetraëdron gracile (Reinsch) Hansgirg

Tetraëdron minimum (A. Braun) Hansgirg

Tetraëdron muticum (A. Braun) Hansgirg

Tetraëdron triangulare (Chodat) Komárek

Tetraëdron trigonum (Nägeli) Hansgirg

Tetrastrum staurogeniaeforme f. brasiliensi C. Bicudo &Ventrice

#### Zygnemaphyceae

Cosmarium sp.

Euastrum sp.

Staurastrum leptocladum Nordstedt

Staurastrum sp.

#### Euglenophyceae

Euglena acus (O. F. Müller) Ehrenberg

Euglena proxima Dangeard

Euglena sp.1

Euglena sp.2

Lepocinclis acus (O. F. Müller) Marin e Milkoniam

Lepocinclis acuta Prescott

Lepocinclis ovum (Ehrenberg) Lemmermann

Lepocinclis playfairiana (Deflandre) Deflandre

Lepocinclis sp.

Lepocinclis sphagnophila Lemmermann

Phacus acuminatus Stokes

Phacus gigas A. M. Cunha

Phacus longicauda (Ehrenberg) Dujardin

Phacus sp.1

Phacus sp.2

Trachelomonas armata (Ehrenberg) F. Stein

Trachelomonas pulchella Drezepolski

Trachelomonas sp.

Trachelomonas volvocina (Ehrenberg) Ehrenberg

Trachelomonas volvocinopsis Svirenko

#### Bacillariophyceae

Cocconeis sp.

Nitzschia sp.

**Tabela 3** - Táxons de microalgas planctônicas registrados nos Lagos do pesque-pague Quinta dos Lobos, Crato/CE no período de mar./17 a ago./17.

Analisando as classes em cada lago, Chlorophyceae também foi considerada a mais expressiva (39 espécies em cada lago), seguida de Euglenophyceae (17 e 12 espécies) e Cyanophyceae (13 e 12 espécies), resultados esses que corroboram com dois trabalhos realizados nesses mesmos pesque-pagues por Góes et al. (2013) que buscou conhecer a diversidade de algas planctônicas e sua relação com a qualidade da água no L1 e Góes et al. (2016) que objetivou conhecer a composição fitoplanctônica ocorrente no L1 e L2, em ambos os estudos a riqueza das espécies foi mais representativa na mesma sequência do presente estudo. Nos estudos de Góes (2015) no L1 e L2, Chlorophyceae também

apresentou maior riqueza das espécies em ambos os lagos. Esses resultados ainda possuem semelhança com os estudos de Matsuzaki; Mucci e Rocha (2004), Sant'Anna; Gentil e Silva (2006), Lachi e Sipaúba-Tavares (2008) e Millan (2009) realizados em pesqueiros no estado de São Paulo, e com Góes et al. (2011) realizado em um pesqueiro do Clube recreativo Grangeiro, Crato/CE com a classe Chlorophyceae possuindo maior representatividade.

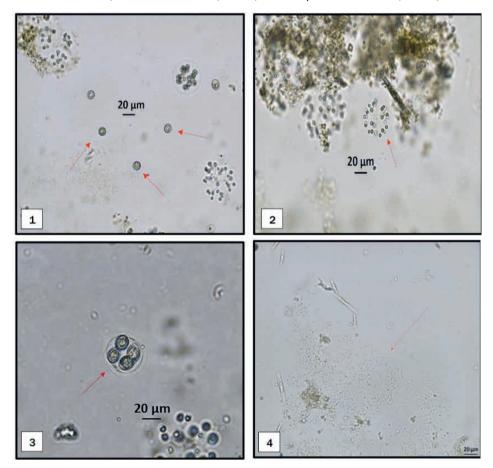
A classe Chlorophyceae é a que agrupa o maior número de gêneros e espécies dentro da divisão Chlorophyta, com aproximadamente 350 e 2.500 respectivamente, com organismos predominantemente microscópicos e de águas continentais (FRANCESCHINI et al., 2010). Sendo que a grande maioria habita preferencialmente, lagos de meso a eutróficos e são cosmopolitas (ESTEVES, 2011). Quanto a abundância relativa dos táxons identificados, cinco espécies mostraram-se dominantes e distribuídas em três classes: Chlorella vulgaris, Dictyosphaerium pulchellum e Oocystis lacustris (Chlorophyceae), Aphanocapsa delicatissima (Cyanophyceae) е Trachelomonas volvocinopsis (Euglenophyceae) (Figura 1) e apenas Cosmarium sp. foi abundante, já as demais espécies apresentaram-se como pouco abundantes e raras (28 spp. e 62 spp. respectivamente). No ambiente estudado predominou a classe Chlorophyceae, corroborando com os estudos de Góes et al. (2016), com os de Silva (2005) e Millan (2009) que associaram essa dominância ao período chuvoso. O gênero Dictyosphaerium, são típicos de ambientes meso a eutrófico, podendo produzir florações em reservatórios e viveiros de peixes (FRANCESCHINI et al., 2010).

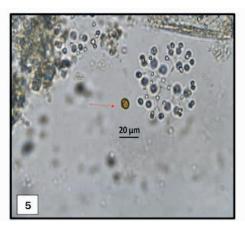
O gênero *Aphanocapsa* mostrou-se dominante, fato também notado nos estudos realizados por Góes et al (2016) no mesmo ambiente do presente estudo. Resultados similares ainda foram observados nos estudos de Sant' Anna; Gentil e Silva (2006), realizados em 30 pesqueiros na região metropolitana de São Paulo, onde os autores associam a dominância das Cyanobacterias as estratégias adaptativas, que a mesma possui. As Euglenophyceas são vistas geralmente em água doce, principalmente naquelas ricas em matéria orgânica (ESTEVES, 2011). O gênero *Trachelomonas* dominante pode sugerir que essa classe pode ter sido beneficiada pela baixa transparência da água (GENTIL; TUCCI; SANT'ANNA, 2008).

Com relação a frequência de ocorrência, levando em consideração o total de organismos identificados nos dois lagos, foram registradas cinco espécies muito frequente (> 70%): Aphanocapsa delicatissima, Crucigenia sp. 1, Dictyosphaerium pulchellum, Oocystis lacustris e Trachelomonas volvocinopsis. E ainda 16 espécies frequentes, 41 pouco frequentes e 34 raras. Os gêneros Aphanocapsa e Trachelomonas representaram maior frequência de ocorrência (92%). Esses organismos apesar de serem todos cosmopolitas e de ambientes lóticos e lênticos, tem preferência por ecossistemas de meso a eutróficos, sendo comuns principalmente em lagos (FRANCESCHINI et al., 2010). A presença constante da A. delicatissima (Cyanophyceae) pode ser preocupante, levando

em consideração que algumas espécies desse gênero produzem hepatotoxinas do tipo microcistinas e está dentro do grupo de gêneros mais potencialmente tóxicos de água doce do Brasil (CALIJURI; ALVES; SANTOS, 2006), esse gênero também se mostrou frequente nas pesquisas realizadas por Rosini, Sant'Anna e Tucci (2013a) na região metropolitana de São Paulo, estando presente em sete dos dez lagos estudados. Sendo as demais espécies muito frequentes pertencentes ao grupo de algas verdes, típicas de ecossistemas com muita matéria orgânica (meso a eutróficos) e que vivem na superfície, de acordo com Rosini, Sant'Anna, Tucci (2012) esse grupo além de muito abundante tem vasta distribuição em águas continentais.

Os valores de Riqueza, diversidade e equitabilidade apresentaram-se variados tanto no Lago 1 quanto no Lago 2 (L1 e L2) e também em ambos os períodos de estudo (chuvoso e pós-chuvoso). No L1, os valores de riqueza oscilaram entre 23 e 31, a diversidade entre 2,62 e 3,17 bits.ind-1 e a equitabilidade entre 0,88 e 0,94. Já no L2 os valores de riqueza variaram de 18 a 28, a diversidade de 2,55 a 2,99 e a equitabilidade de 0,87 a 0,92.





Prancha 1. (1) Chlorella Vulgaris, (2) Dictyosphaerium pulchellum, (3) Oocystis lacustris, (4)
Aphanocapsa delicatissima. (5) Trachelomonas volvocinopsis.

Com relação aos 96 táxons encontrados, 74 no L1 e 69 no L2, a menor riqueza mostrou-se no mês de abril./17 no L2, possivelmente pela presença de dominância de *D. pulchellum* e *A. delicatissima* não possibilitando a coexistência de muitas espécies. Em ambos os Lagos (L1 e L2), os menores valores de diversidade e equitabilidade foram registrados no mês de jun./17, isso está associado aos maiores valores de abundância relativa da Chloroficea *C. vulgaris* e da Cyanobacteria *A. delicatissima*, respectivamente, pois a dominância dessas espécies interferiu na distribuição dos demais táxons, resultando em uma média diversidade.

Nesses mesmos pesqueiros Góes (2016) e Gentil (2007) em três dos 30 pesqueiros analisado, também relacionaram os baixos valores de diversidade e equitabilidade a dominância de Cyanobateria. No L1 a comunidade de microalgas planctônicas esteve representada como alta (50%) e media (50%) diversidade, já no L2 apresentou apenas média diversidade, sendo que o maior valor de diversidade apareceu no mês de mar/17 no periodo chuvoso. Góes (2015) em estudos nesses mesmos pesque-pagues associou essas diferenças registradas nos lagos a fatores autóctones como as espécies cultivadas e os táxons dominantes do fitoplâncton, além do tipo de manejo. A equitabilidade foi considerada significativa tanto no L1 quanto no L2, com valores bem próximos de 1 em todos os meses de estudo, mostrando que os táxons da comunidade de microalgas planctônicas estiveram uniformemente distribuídos em ambos os lagos nos dois períodos de estudo.

## 41 CONCLUSÕES

O estudo da composição da comunidade de microalgas planctônicas nos Lagos 1 e 2 do pesque-pague Quinta dos Lobos revelou a presença de 96 espécies distribuídas em cinco classes taxonômicas: Cyanophyceae, Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Euglenophyceae e Zygnemaphyceae. A classe Chlorophyceae apresentou a maior diversidade de espécies

em ambos os lagos, seguida por Euglenophyceae e Cyanophyceae. As espécies mais comuns e dominantes foram principalmente da classe Chlorophyceae, incluindo *Oocystis lacustris*, *Chlorella vulgaris* e *Dictyosphaerium pulchellum*, enquanto *Crucigenia* sp.1 e *Dictyosphaerium pulchellum* foram frequentes. As variações nas condições físico-químicas e na estrutura da comunidade de microalgas não foram influenciadas pelos períodos de estudo, mas provavelmente pelo manejo aplicado. A diversidade foi alta apenas no Lago 1, com o Lago 2 exibindo diversidade moderada. Ambos os lagos apresentaram distribuição uniforme de espécies e o pH estava de acordo com os padrões estabelecidos pela regulamentação ambiental. Este estudo é significativo na Região Nordeste, contribuindo para o entendimento da diversidade das microalgas em lagos de pesque-paque no Ceará.

### **REFERENCIAS**

ALENCAR, S. R.; SEIXAS, E. N. C.; TAVEIRA, L. K. P. D.; ROQUE, R.L.; MELO JÚNIOR, H. N. Avaliação ambiental, Físico-Química e Microbiológica do Pesque-Pague do Clube Recreativo Grangeiro, Crato CE. Caderno de Cultura e Ciência, Ano VI, Crato, v. 10, n. 1, p.28-36, 2011.

ALVES, W.S.; SILVA, P. B.; MELO JÚNIOR, H. N. Variação Sazonal da Qualidade da Água em Pesque Pague Do Semiárido Cearense. **Caderno de Cultura e Ciência, Ano XI,** Crato, v. 15, n. 1, p.93-103, 2016.

ANAGNOSTIDIS, K.; KOMÁREK, J. **Modern approach to the classification system of cyanophytes:** 3 - Oscillatoriales. Algological Studies, 50-53, 1988. p. 327-472.

BEYRUTH, Z. Comunidade fitoplanctônica da represa Guarapiranga: 1991-92 - Aspectos ecológicos, sanitários e subsídios para reabilitação da qualidade ambiental. 1996. 196 f. Tese (Doutorado) - Curso de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

BICUDO, C. E. de M.; BICUDO, R. M. T. **Algas de águas continentais brasileiras:** chave ilustrada para identificação de gêneros. São Paulo: Fundação Brasileira para o Desenvolvimento do Ensino de Ciências, 1970. 228p.

BICUDO, C. E. de M.; MENEZES, M. **Gênero de algas de águas continentais do Brasil:** chave para identificação e descrições. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006. 502p.

CALIJURI, M. do C.; ALVES, M. S. A.; SANTOS, A. C. A. dos. **Cianobactérias e Cianotoxinas em Águas Continentais.** São Carlos/ São Paulo: Rima, 2006. 118 p.

CARRARO, F. G. P. Estrutura do Fitoplâncton e sua Utilização como Indicador de Condições Ecológicas no Reservatório de Pedra, Bahia.. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

DESIKACHARY, T. V. Cyanophyta. New Delhi: Indian Council of agricultural Research, 1959. 686p.

ELER, M. N.; CECCARELLI, P. S.; BUFON, A. G. M.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Mortandade de peixes (matrinxã, *Brycon cephalus*, e pacu, *Piaractus mesopotamicus*) associada a uma floração de cianobactérias em pesque-pague, município de Descalvado, Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim Técnico do Cepta,** Pirassununga, v. 14, p.35-45, 2001.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos da Limnologia.** 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda, 2011. 790 p.

FRANCESCHINI, I. M.; BURLIGA, A. L.; REVIERS, B.; PRADO, J. F.; REIG, S. H. **Algas: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica.** Artmed, São Paulo, 2010. 332p.

FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia. Pós-estação chuvosa. Disponível em: <a href="http://www.funceme.br/index.php/perguntas-frequentes#site">http://www.funceme.br/index.php/perguntas-frequentes#site</a>. Acesso em: 17 nov. de 2016.

GENTIL, R. C. Estrutura e dinâmica da comunidade fitoplanctônica de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, em dois períodos: primavera e verão. Tese (Doutorado em biodiversidade vegetal e meio ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente do Estado de São Paulo. 2007.

GENTIL, R. C.; TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP. **Hoehnea**, v. 35, n. 2, p. 265-280, 2008.

GÓES, M. I. L.; OLIVEIRA, E. C. C.; SANTOS, C. N.; CAMPOS, T. F.; MACÊDO, J. C. A.; LACERDA, S. R. Microalgas Planctônicas (Chlorophyta) em Pesqueiro na Região do Cariri-Ceará. In: 62° CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. **Anais do 62° Congresso Nacional de Botânica**, Fortaleza, 2011.

GÓES, M. I. L.; NASCIMENTO, K. J.; VIEIRA, R. de S.; LACERDA, S. R. Comunidade Fitoplanctônica em Sistema de pesque-pague: Avaliação da qualidade da água. In: III ENCONTRO NACIONAL DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL E V ENCONTRO NORDESTINO DE BIOGEOGRAFIA. v. 1, p. 610-619. Anais do III Encontro Nacional de Educação Ambiental e V Encontro Nordestino de Biogeografia. João Pessoa, 2013.

GÓES, M. I. L. Composição e Estrutura da Comunidade Fitoplanctônica em Dois Lagos de Pesqueiros no Semiárido Cearense. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) Universidade Regional do Cariri-URCA, Crato, 2015. 78 p.

GÓES, M. I. L.; NASCIMENTO, K. J. do.; RANGEL, A. J.; FERREIRA, R. J.; SANTOS, T. M. L.; LACERDA, S. R. Planktonic microalgae in recreational fishponds of the Crato municipality, Ceará state/ Brazil. Rama- Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá, v. 9, n. 1, p.163-179, 2016.

HARRIS, G. P., **Phytoplankton ecology, structure, function and fluctuation**. London: Chapman & Hall, 1986. 384 p.

HONDA, R.Y.; MERCANTE, C. T. J.; VIEIRA, J. M. dos S.; ESTEVES, K. E.; CABIANCA, M. A. de A.; AZEVEDO, M. T. de P. Cianotoxinas em Pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo. In: ESTEVES, K. E. e; SANT'ANNA, C. L. **Pesqueiros sob uma Visão Integrada de Meio Ambiente, Saúde Pública e Manejo.** São Carlos: RiMa, 2006. p. 49-62.

LACHI, G. B.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Qualidade da água e composição fitoplanctônica de um viveiro de piscicultura utilizado para fins de pesca esportiva e irrigação. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 29-38, 2008.

MATEUCCI, S. D.; COLMA, A. La Metodologia para el Estudo de La Vegetacion. **Collection de Monografias Científicas.** [s. 1.]., n. 22, 1982. 168 p.

MATSUZAKI, M.; MUCCI, J. L. N.; ROCHA, A. A. Comunidade fitoplanctônica de um pesqueiro na cidade de São Paulo. **Revista de Saúde pública**, v. 38, n. 5, p. 679-686, 2004.

MERCANTE, C. T. J.; COSTA, S. V.; SILVA, D.; CABIANCA, M. A.; ESTEVES, K. E.

Qualidade da água em pesque-pague da região metropolitana de São Paulo (Brasil): avaliação através de fatores abióticos (período seco e chuvoso). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 27, n. 1, p. 1-7, 2005.

MERCANTE, C. T. J.; SILVA, D.; COSTA, S. V. Avaliação da Qualidade da Água de Pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo por Meio do Uso de Variáveis Abióticas e Clorofila In: ESTEVES, K. E.; SANT'ANNA, C. L. **Pesqueiros sob uma Visão Integrada de Meio Ambiente, Saúde Pública e Manejo**. São Carlos: Rima, 2006. p. 37-48.

MERCANTE, C. T. J.; PEREIRA, J. S.; MURUYAMA, L. S.; CASTRO, de P. M. G.; MENEZES, de L. C. B.; SENDACZ, S.; GENARO, A. C. D. Qualidade da água de efluentes de pesqueiros situados na bacia do Alto Tietê. **Bioikos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 41-52, 2011.

MILLAN, R. N. **Dinâmica da qualidade da água em tanques de peixes de sistema pesque-pague: aspecto físico – químico e plâncton**. Dissertação (mestrado em aquicultura) Campus de Jaboticabal, São Paulo, 2009. 87p.

PANDOLPHO, L.V. R. A. B.; GUIMARÃES, A. G.; DEUS, R. B. de; NASCIMENTO, A. G. do; GUARDA, V. L. M. Identificação e teste de toxicidade "in vivo" do extrato bruto de cianobactérias em pesquepagues da região dos Inconfidentes - MG. **RevInter-Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 29-44, 2013.

PARRA, O. O.; GONZALEZ, M.; DELARROSA, V. Manual taxonômico del fitoplancton de águas continentales: com especial referência al fitoplâncton de Chile. V. Chlorophyceae. Parte 1: Vovocales, chlorococcales y ulotricales. Concepción: Editoral Universidad de Concepción, 1983. 151p.

PEZZATO, L.E.; SCORVO, F.J.D. Situação da aquicultura na região sudeste. In: VALENTI, W.C. (Ed.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília: CNPq. Ministério da Ciência e Tecnologia, p. 73-106, 2000.

PIELOU, E. C. Ecological diversity. New York: J. Wiley & Sons, 1975. 165 p.

PIZAIA, M. G.; CAMARA, M. R. G.; SANTANA, M. A.; ALVES, R. A piscicultura no Brasil: um estudo sobre a produção e comercialização de "Oreochromis niloticus". Rio Branco-Acre, 2008. 16 p. Disponível em <a href="http://www.sober.org.br/palestra/9/497.pdf">http://www.sober.org.br/palestra/9/497.pdf</a> Acesso em 27 de agosto de 2017.

PRESCOTT, G. W. **Algae of the western great lakes area:** with an illustrated key to the genera of desmids and fresh water diatoms. USA: Cranbrook Institute of Science, 1951. 977p.

PRESCOTT, G. W. The freshwater algae. USA: Cranbrook Institute of Science, 1954. 348p.

ROCHA, C. M. C. da; RESENDE, E. K. de; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p.4-6, 2013.

ROSINI, E. F.; SANT'ANNA, C. L.; TUCCI, A. Chlorococcales (exceto Scenedesmaceae) de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, Brasil: levantamento florístico. **Hoehnea**, São Paulo v.39, n.1, p.11-38,2012.

ROSINI, E. F.; SANT'ANNA, C. L.; TUCCI, A. Cyanobacteria de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 2, p. 399-417, 2013a.

ROUND, F. E.; CRAWNFORD, R. M.; MANN, D. G. **The diatoms:** biology & morphology of the genera. New York: Cambrigde University Press, 1992. 747p.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. The mathematical theory of communication. Urbana: Illinois University Press, 1963. 177 p.

SANT'ANNA, C. L. Chloroccales (Chlorophyceae) do Estado de São Paulo, Brasil. Germany: Stauss & Cramer, 1984. 348p.

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T.; AGUJARO, L. F.; CARVALHO, M. C.; CARVALHO, L. R.; SOUZA, R. C. R. **Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras.** Rio de Janeiro. Interciência: São Paulo. Sociedade Brasileira de Ficologia – SBFic, 2006. 58 p.

SANT'ANNA, C. L.; GENTIL, R. C.; SILVA, D. Comunidade Fitoplanctônica de Pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo. In: ESTEVES, K. E. e SANT'ANNA, C. L. **Pesqueiros sob uma Visão Integrada de Meio Ambiente, Saúde Pública e Manejo**. São Carlos: RiMa, 2006, p.49-62.

SHANNON, C. E.; WEAVER, W. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.1963.

SILVA, D. da. Dinâmica de populações de *Microcystis* (Cyanobacteria) em pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. Dissertação (mestrado em biodiversidade vegetal e meio ambiente), Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2005.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Limnologia aplicada à aquicultura. São Paulo: Funep. 1994.

TIAGO, G. G.; GIANESELLA, S. M. F. O uso da água pela aquicultura: estratégias e ferramentas de implementação de gestão. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 29, n.1, p. 1 - 7, 2003.

VENTURIERI, R. **Pesque-pague no estado de São Paulo:** Vetor de desenvolvimento da piscicultura e opção de turismo e lazer. Eco associação para estudos de meio ambiente. São Paulo: Ipsis Grafica e Editora, 2002. 160 p.

WEHR, J. D.; SHEATH, R. G. (Eds.). **Freshwater algae of North America:** ecology and classification. Amsterdam: Academic Press, 2003.

## **CAPÍTULO 6**

# CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE FLORES E FRUTOS EM ACESSOS DE CAMUCAMUZEIRO

Data de aceite: 01/09/2023

#### Walnice Maria Oliveira do Nascimento

RESUMO - O camucamuzeiro (Myrciaria dubia) é frutífera nativa da região amazônica, ocorre espontaneamente nas várzeas e margens dos rios e lagos. No Brasil, pode ser encontrado nos Estados do Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima. Este trabalho teve como objetivo realizar a caracterização morfométrica de flores e frutos em acessos de camucamuzeiro, visando o estabelecimento de descritores morfológicos para a espécie. O estudo foi realizado em flores de dez acessos estabelecidas no BAG camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental, Foram caracterizados os sequintes (Cpatu-04, 05, 06, 09, 11, 12, 15, 16, 20 e 21). Para a caracterização das fores foram coletadas dez flores por acesso avaliando as seguintes estruturas: número de estames, comprimento do estilete e do pedicelo. Para a caracterização dos frutos foram utilizados 40 frutos por acesso, com as seguintes avaliações: massa, comprimento, diâmetro, espessura de casca e número de sementes por fruto. Os resultados obtidos com a caracterização das flores de camucamu permitiu verificar que houve variação em todas as estruturas florais avaliadas. com destague para o número de estames. As flores apresentaram estames com média de 126,8. Os acessos Cpatu-05 e Cpatu-21 diferiram dos demais com 163.1 e 162.1 estames, respectivamente. Para o comprimento do estilete, o acesso Cpatu-05 teve a maior média, (1,16 cm). Com relação ao tamanho do pedicelo, o acesso Cpatu-20 apresentou flores com a maior média (0,38 cm). Na caracterização dos frutos foi observada massa média, de 7,91 g, com máximo de 8,28 g e mínimo de 5,07 g. Os acessos Cpatu-04, 11 e 21 foram as que se destacaram em relação à massa. com frutos apresentando peso acima de 8 gramas. A média para o comprimento e diâmetro dos frutos foi de 2.20 cm. e 2.31 cm, respectivamente. Portanto, conclui-se que caracterização morfométrica de flores e frutos de camucamuzeiro permitiu a identificação de ampla variabilidade genética entre os acessos estabelecidos no Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental

**PALAVRAS-CHAVE:** Comprimento; Descritores: Estame: Estilete.

ABSTRACT - The Myrciaria dubia is a fruit

tree native to the Amazon region, occurring spontaneously in floodplains and on the banks of rivers and lakes. In Brazil, it can be found in the states of Amazonas, Pará, Rondônia and Roraima. This work aimed to carry out the morphometric characterization of fruits and flowers in Myrciaria dubia accessions, aiming at establishing morphological descriptors for the species. The study was carried of ten accessions established in the Active Germplasm Bank of Embrapa Amazônia Oriental. The following accessions were characterized (Cpatu-04, 05, 06, 09, 11, 12, 15, 16, 20 and 21). For the characterization of flowers, ten flowers per access were collected, evaluating the following structures: number of stamens, stylet length and pedicel length. For the characterization of the fruits, 40 fruits per access were used, with the following evaluations: mass, length, diameter, peel thickness and number of seeds per fruit. The results showed that the M. dubia fruits have an average mass of 7.91 g, with a maximum of 8.28 g and a minimum of 5.07 g. The accessions Cpatu-04, 11 and 21 were the ones that stood out in terms, with fruits weighing more than 8 grams. The average fruit length and diameter were 2.20 cm and 2.31 cm, respectively. For the characterization of the flowers, there was variation in all the floral structures evaluated, with emphasis on the number of stamens. The accessions presented flowers with an average of 126.8 stamens. The accession Cpatu-05 and Cpatu-21 differed from the others with 163.1 and 162.1 stamens, respectively. For stylet length, the Cpatu-05 access had the highest average (1.16 cm). Regarding pedicel size, the Cpatu-20 acess had flowers with the highest average (0.38 cm). The morphometric characterization of flowers and fruits of allows the identification of wide genetic variability among the accessions established in the Active Germplasm Bank of Myrciaria dubia of Embrapa Amazônia Oriental. **KEYWORDS:** Descriptors, length, stamens, style.

## 1 I INTRODUÇÃO

O camucamuzeiro (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh), planta nativa da Amazônia, no Brasil é encontrada nos seguintes Estados (Pará, Amapá, Amazonas, Rondônia, Roraima e Mato Grosso) e também na Amazônia Peruana, Colombiana e Venezuelana (PETERS; VÁSQUEZ, 1988; VILACHICA, 1996).

Estudos de morfologia floral são utilizados em pesquisas para ajudar na compreensão da relação entre estruturas reprodutivas e os polinizadores, além da diferenciação entre genótipos da mesma espécie. A flor de *M. dubia* é hermafrodita do tipo pincel "brushflower", protógina. Alguns autores consideraram a espécie com alogamia facultativa, não obrigatória, aceitando a geitonogamia, podendo ainda, a espécie ser polinizada pelo vento (PETERS; VÁSQUEZ, 1988; VILLACHICA, 1996; MAUÉS; COUTURIER, 2002).

A espécie possui inflorescência do tipo axilar com várias flores de 1,0 a 1,5 mm de comprimento emergindo do mesmo ponto, sendo quatro flores subsésseis, dispostas aos pares com brácteas que medem 1,5 mm de comprimento e 1,0 mm de diâmetro arredondado e ciliado; as bractéolas ovaladas, persistentes e ápice arredondado, unidas na base formam um invólucro capuliforme; possuem hipanto séssil, caduco após a antese, glabro nas suas superfícies interna e externa; lóbulos do cálice arredondados. Estilete de 10 a 11 mm de comprimento. Pétalas em número de quatro, de cor branca com 3 a 4 mm de largura,

ovaladas, côncavas, glandulosas, ciliadas. Cálice com as sépalas diferenciadas, não persistentes; ovário ínfero e numerosos estames com anteras funcionais. (VILLACHICA, 1996).

A importância da caracterização dos recursos genéticos são etapas necessárias e imprescindíveis à manutenção e utilização sustentável de espécies nativas em programas de melhoramento e pesquisa correlata, que resultarão na identificação de genótipos superiores e em indicação de variedades comerciais. Além disso, a preservação dos recursos genéticos de fruteiras, particularmente os acessos de camu-camu, tem valor estratégico para a Embrapa Amazônia Oriental. Em experimento desenvolvido com a caracterização da flor em acessos de camucamuzeiro foi possível verificar que, número de estame e o comprimento do estilete podem ser utilizados como descritores morfológicos visando à diferenciação entre genótipos. O mesmo aconteceu com a morfometria e a composição centesimal de frutos, onde foi possível observar a variabilidade genética entre as progênies (RIBEIRO et al., 2011; PANTOJA et al., 2011).

Visando a futura elaboração de descritores para a espécie *Myrciaria dubia*. O trabalho teve como objetivo realizar a caracterização morfométrica em flores e frutos de acessos de camucamuzeiro estabelecidos no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental.

### 21 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a caracterização morfológica de flores e frutos em dez acessos de camucamuzeiro estabelecidos na forma de progênie pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de camu-camu da Embrapa Amazônia Oriental em Belém, PA, com as seguintes coordenadas geográficas de 48°26'45"W e 1°26'31"S. Os acessos estão identificados com os seguintes nomes fantasia: Cpatu-04, 05, 06, 09, 11, 12, 15, 16, 20 e 21. O BAG- camu-camu foi implantado no ano de 1994, provenientes de coletas as margens dos rios Javari e Jandiatuba, afluentes do rio Solimões (AM), e dos rios Trombetas e Tapajós (PA). O BAG está regularizado junto ao MMA com credenciamento 035/2010-SECEX-CGEN.

## 2.1 Caracterização morfológica da flor

Para caracterização morfológica das estruturas florais foram coletadas dez flores por acesso logo após a antese. As amostras após a coleta foram acondicionadas em embalagens individuais e levadas imediatamente para o laboratório (Figura 1). Foram avaliadas as seguintes estruturas: número de estames (NE), comprimento do estilete (CE) e comprimento do pedicelo (CPD). Os dados morfométricos das flores foram mensurados com auxílio de lupa, régua milimétrica e paquímetro digital.



Figura 1. Flores de camucamuzeiro com diferentes números de estames. Foto: Walnice Nascimento

## 2.2 Caracterização morfológica do fruto

A caracterização dos frutos foi efetuada com base na amostra de 40 frutos de cada acesso, os frutos forma colhidos em completo estágio de maturação (com o epicarpo roxo), identificados e analisados quanto às seguintes estruturas: massa do fruto (MF), comprimento (CF), diâmetro do fruto (DF), espessura da casca (ESC), número de sementes por fruto (NSF). A determinação da massa dos frutos foi feito em balança analítica com precisão de 0,001g. O diâmetro, o comprimento do fruto e a espessura da casca foram determinados com auxílio de paquímetro digital, sendo o primeiro medido na porção mais larga do fruto e o segundo considerando-se a distância compreendida entre as cicatrizes do pedúnculo e do estigma (Figura 2). A espessura da casca foi medida após a abertura dos frutos e retirada da polpa e sementes.



**Figura 2.** Determinação do comprimento e massa de fruto em acessos de camucamuzeiro. Fotos: Walnice Nascimento.

Todas as descrições usadas para a caracterização morfométrica de flores e frutos de camucamuzeiro foram baseadas em Peters e Vasquez (1988) e Villachica (1996). Foi seguida a recomendação sugerida por, Burle e Oliveira (2010). Usando como referência a publicação direcionada para o desenvolvimento de novos descritos de germoplasma (BIOVERSITY..., 2007).

Os dados de caracterização das estruturas florais foram submetidos à análise de variância. E as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SILVA; AZEVEDO, 2016). Os dados obtidos com a morfometria dos frutos foram analisados por meio de estatística simples, envolvendo médias, máximos e mínimos e desvio-padrão.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Caracterização morfológica da flor

Houve variação significativa entre todas as estruturas florais avaliadas, com destaque para o número de estames (NE), com média de 126,8 estames por flor, nos dez acessos avaliados (Tabela 1). Resultado semelhante foi verificado por Bacelar-Lima (2009), em três grupos populacionais de camucamuzeiro no Estado do Amazonas, onde caracterizou flores com número médio de 127,6 estames. As flores dos acessos Cpatu-05 e Cpatu-21 apresentaram as maiores médias, com diferença significativa das demais, com 163,1 e 162,1 estames, respectivamente. Para o comprimento do estilete (CE) o acesso Cpatu-5, apresentou a maior média (1,16 cm), os menores comprimentos foram verificados nos acessos Cpatu-15 e Cpatu-20, com médias de 0,86 e 0,92 cm, respectivamente. O acesso Cpatu-20 apresentou flores com maior tamanho do pedicelo (CP), média de 0,38 cm. Esses resultados assemelham-se aos obtidos por Ribeiro et al. (2011), quando realizou a caracterização de progênies de camucamuzeiro.

Acessos	Nº estames	Comprimento estilete (cm)	Comprimento Pedicelo (cm)
Cpatu -04	115,6*cd	0,99 abc	0,33 abc
Cpatu -05	163,1 a	1,16 a	0,32 abc
Cpatu -06	112,6 d	1,08 abc	0,21 c
Cpatu -09	138,0 b	1,04 abc	0,19 c
Cpatu -11	88,0 e	1,02 abc	0,35 ab
Cpatu -12	135,1 bc	1,09 abc	0,22 bc
Cpatu -15	139,0 b	0,86 c	0,24 bc
Cpatu -16	113,1 d	0,99 abc	0,28 abc
Cpatu -20	101,0 de	0,92 bc	0,38 a
Cpatu -21	162,1 a	1,12 ab	0,23 bc
Média	126,76	1,03	0,28
Máximo	163,1	1,12	0,38

Mínimo	88.0	0.86	0.19
1011111110	00,0	0,00	0,10

<sup>\*</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre sí pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 1.** Características morfométricas avaliadas em flores de *Myrciaria dubia*. (n=10). Belém, PA. 2022

## 3.2 Caracterização morfológica do fruto

Os resultados obtidos evidenciaram que os frutos de camu-camu apresentaram massa média de 7,91±1,52 g, com valores, máximo de 8,28 g e mínimo de 5,07 g. Os acessos Cpatu-11; Cpatu-06 e Cpatu-21 foram os que se destacaram em relação à massa de frutos, com frutos apresentando massa acima de 8 gramas. O comprimento e diâmetro médio dos frutos foram de 2,20±0,17 cm, e 2,31±0,18 cm, respectivamente. Os frutos apresentaram média de duas sementes. A espessura de casca variou de 0,24 a 0,39 mm com média de 0,31 mm (Tabela 2).

Acessos	Massa do fruto (g)	Comp. fruto (cm)	Diâmetro fruto (cm)	Espessura casca (cm)	N° semente p/ fruto
Cpatu -04	7,85	2,25	2,37	0,25	2
Cpatu -05	7,68	2,19	2,40	0,39	2
Cpatu -06	8,18	2,30	2,44	0,25	2
Cpatu -09	9,45	2,37	2,48	0,24	2
Cpatu -11	8,28	2,23	2,04	0,34	2
Cpatu -12	8,14	2,22	2,39	0,32	3
Cpatu -15	7,65	1,93	2,06	0,37	1
Cpatu -16	7,95	2,18	2,36	0,34	2
Cpatu -20	5,77	2,04	2,16	0,35	1
Cpatu -21	8,18	2,30	2,44	0,25	2
Média	7,91	2,20	2,31	0,31	2
Máximo	8,28	2,37	2,48	0,39	3
Mínimo	5,07	1,93	2,04	0,24	1
Des. padrão	1,52	0,17	0,18	0,09	0,57

**Tabela 2.** Médias da massa, comprimento, diâmetro, espessura da casca e número de semente do fruto de *Myrciaria dubia* (n = 40). Belém, PA, 2022.

Na avaliação de frutos de camucamuzeiro em plantas estabelecidas no BAG do INIA, em Pucallpa, no Perú, Riva Ruiz (1994), encontrou valores para a massa variando, de 8 a 10 gramas. Na caracterização morfométrica de 25 matrizes de camucamuzeiro feito por Oliveira et al. (2010) foram encontrados frutos com massa bem semelhantes, com média de 8,25 g, mínimo de 5,07 g e máximo de 10,98 g. Pantoja et al. (2011) também avaliaram a massa de frutos em 15 progênies de camucamuzeiro do BAG da Embrapa

Amazônia Oriental e verificaram que a progênie Cpatu-51 foi a que se destacou em relação ao tamanho dos frutos, com frutos pesando acima de 10 gramas.

### 41 CONCLUSÃO

A caracterização morfométrica de flores e frutos de camucamuzeiro permitiu a identificação de ampla variabilidade genética entre os acessos estabelecidos no Banco Ativo de Germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental.

## **REFERÊNCIAS**

BACELAR-LIMA, C.G. Estudos da biologia reprodutiva, morfologia e polinização aplicada à produção de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) adaptadas à terra firme da Amazônia Central, Brasil. Manaus: INPA, 2009. 121p. (Tese doutorado em Botânica).

BIOVERSITY INTERNATIONAL. **Guiderlines for the development of crop** descriptor lists. Rome, Italy: 2007. 72p. (Bioverticy Tecnical Bulletin Series).

BURLE, M.L; OLIVEIRA, M. do S.P. **Manual de curadores - Vegetal/ Caracterização morfológica**. Brasília, DF: Embrapa Recurso Genéticos e Biotecnologia; Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2010. 15p. (Documento / Embrapa Recurso Genéticos e Biotecnologia, 312: Documentos / Embrapa Amazônia Oriental, 378).

MAUÉS, M.M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do Camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) no Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, v. 25, n. 4, p. 441-448. 2002.

OLIVEIRA, J.C. de; NASCIMENTO, W.M.O. do; RIBEIRO, O.D.; ALMEIDA, E.G.L. Características físicas de fruto de acessos do banco de germoplasma de camucamuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 14., 2010. Belém. CD-Room.

PANTOJA, J. dos S.; NASCIMENTO, W.M.O. do; RIBEIRO, O.D.; BARROS, H.S.D. Morfometria de frutos em progênies estabelecidas no BAG-Camu-camu. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA, 15., 2011. **Anais...**, 4p. 2011.

PETERS, C.M.; VASQUEZ, A. Estudios ecológicos de Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Produccion de frutos em poblaciones naturales. **Folia Amazônica**, v. 1, n.1, p.83-99. 1988.

RIBEIRO, O.D.; NASCIMENTO, W.M.O. do; BARROS, H.S.D.; PANTOJA, J. dos S. Caracterização morfológica da flor do camucamuzeiro. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA, 15., 2011. **Anais...**, 4p. 2011.

RIVA RUIZ, R. **Tecnologia de produción agronomica del camu camu**. In: CURSO SOBRE MANEJO E INDUSTRIALIZACÓN DE LOS FRUTALES NATIVOS EM LA AMAZONÍA PERUANA. Pucallpa, 1994. **Memoria.** Pucallpa: INIA, 1994. p. 13-18.

SILVA, F. de A.S.; AZEVEDO, C.A.V. de. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **Afr. J. Agric. Res**, v.11, n.39, p.3733-3740, 2016. DOI: 10.5897/AJAR2016.11522.

VILLACHICA, H. El cultivo del camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> (H.B.K.) McVaugh) en la Amazônia Peruana. Tratado de Cooperacion Amazônica. Lima-Peru. 1996. 95p.							

## **CAPÍTULO 7**

# ARBORIZAÇÃO URBANA COMO FERRAMENTA NO ENSINO DE BOTÂNICA NOS ESPAÇOS FORMAL E NÃO FORMAL DE APRENDIZAGEM EM ARAGUAÍNA, TO

Data de submissão: 12/08/2023 Data de aceite: 01/09/2023

### Claudia Scareli-Santos

Universidade Federal do Norte do Tocantins - UFNT Araguaína – Tocantins http://lattes.cnpq.br/3000305136161931 https://orcid.org/0000-0002-3243-6189

#### Vitória Silva Rolim

Universidade Federal do Norte do Tocantins - UFNT Araguaína – Tocantins http://lattes.cnpq.br/5338679121609208 https://orcid.org/0000-0003-3495-6740

#### **Welledes Moreno Aquiar**

Universidade Federal do Norte do Tocantins - UFNT Araguaína – Tocantins http://lattes.cnpq.br/1055990454412597 https://orcid.org/0009-0007-8459-086X

RESUMO: Neste capítulo objetivou-se elaborar quadros informativos para o ensino de Botânica relacionados com a arborização da cidade de Araguaína, Tocantins. Foram realizadas buscas sobre publicações referentes a arborização na cidade, leituras dos documentos oficiais Base Nacional Comum Curricular, Documento Curricular do Tocantins e da

matriz recomposição da área de Ciências da Natureza e suas tecnologias, seguida da elaboração dos quadros para a unidade temática Vida e evolução, associadas com as habilidades educacionais dos anos iniciais do ensino fundamental e foram bibliografias específicas. Os resultados evidenciaram a existência de poucos estudos sobre arborização na cidade de Araguaína; os quadros temáticos ilustrativos evidenciaram os aspectos morfológicos das vegetais, bem como associações quanto a diversidade e associação das plantas com os demais integrantes do meio ambiente, apresentam informações pertinentes, as quais poderão elucidar e melhorar o ensino de Botânica, além de despertar o interesse em saber mais sobre a arborização dos bairros, tornando pessoas mais atentas a vegetação e dessa forma, mitigando os efeitos da cequeira botânica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cegueira botânica, Cidade, Ensino de Ciências, Ipê.

URBAN AFFORESTATION AS A TOOL IN BOTANY TEACHING IN FORMAL AND NON-FORMAL LEARNING SPACES IN ARAGUAÍNA, TO

ABSTRACT: In this chapter, the objective

was to elaborate informative tables for the teaching of Botany related to the afforestation of the city of Araguaína, Tocantins. Searches were carried out on publications referring to afforestation in the city, readings of the official documents National Common Curricular Base, Curricular Document of Tocantins and recomposition matrix of the Natural Sciences and its technologies area followed by the elaboration of tables for the thematic unit Life and evolution, associated with the educational skills of the early years of elementary school and were specific bibliographies. The results showed the existence of few studies on afforestation in the city of Araguaína; the illustrative thematic tables showed the morphological aspects of the plants, as well as associations regarding the diversity and association of the plants with the other members of the environment, they present relevant information, which may elucidate and improve the teaching of Botany, in addition to arousing interest in learn more about the afforestation of neighborhoods, making people more aware of vegetation and, therefore, mitigating the effects of botanical blindness.

**KEYWORDS:** Plant blindness, City, Science teaching, Ipê.

## 1 I INTRODUÇÃO

O ensino de Botânica nas escolas é um desafio constante para os professores, o qual é maximizado pelo analfabetismo botânico (UNO, 2009), pelo conteúdo rico em termos técnicos, pela falta de tempo, insegurança e disposição dos professores para desenvolver e aplicar atividades teórico-práticas (KATON; TOWATA; SAITO, 2013; SALATINO; BUCKERIDGE, 2016; KINOSHITA et al., 2006, ALVES; GIL; AGUIAR-DIAS, 2022). Somando a estes fatores temos a redução do conteúdo e da quantidade de ilustrações presentes nos livros didáticos quando comparados com a zoologia (de SALE, 2021; MATTOS; RIBEIRO; GÜLLICH, 2019; URSI et al., 2018; CAIXETA; CAMPOS; CASTRO, 2021) e das abordagens que distanciam do cotidiano vivenciado pelos educandos (CUSTÓDIO; PIETROCOLA, 2004).

Entretanto as dificuldades encontradas nas atividades de ensino de botânica não são recentes, bem como as preocupações sobre o tema, e foram citadas por diferentes autores, destacando Wandersee e Schussler (2001) que apresentaram o termo "cegueira botânica" que é uma condição dos seres humanos que ocasionam a não visualização e compreensão do ambiente de forma holística, logo impossibilita reconhecer de imediato as interações entre animais e plantas, bem como das funções estéticas que a vegetais desempenham, alterando a paisagem dos ambientes urbanos e rurais.

Logo, ensinar sobre temas botânicos exige do educador o enfrentamento das dificuldades visíveis e não perceptíveis, do analfabetismo, do apagamento dos conteúdos botânicos nos livros didáticos e, também, a busca contínua por soluções para minimizar a cegueira botânica (ROLIM; SCARELI-SANTOS, 2023).

Ursi et al. (2018) ressaltam as ações que podem assegurar que o aprendizado sobre os vegetais ocorra na sua melhor forma, reforçam a importância da inserção de uma contextualização histórica, cultural e do dia-a-dia, bem como inserir os momentos de

diálogo sobre evolução, cidadania, questões éticas e sociais durantes as ações de ensino de Botânica dentro e fora do espaco escolar.

As ofertas de cursos de atualização aos professores poderão possibilitar conhecimento e treinamento de ferramentas tecnológicas (URSI et al., 2018), bem como a atualização na formação docente, os quais podem envolver as ações de educação ambiental (BRASIL; RAMOS; SANTOS, 2021; BRASIL, SCARELI-SANTOS, 2021; BRASIL, SCARELI-SANTOS, 2022).

Dentre as estratégias para minimizar a cegueira botânica estão as atividades práticas desenvolvidas nos espaços formal (SCARELI-SANTOS; VULCÃO; MACIEL, 2019; SCARELI-SANTOS; SILVA; TEIXEIRA, 2020; COSTA; MOTA; BRITO, 2021) e não formais de aprendizagem destacando as ações vivenciadas em atividades lúdicas, sensoriais (SCARELI-SANTOS et al., 2023), em ambientes como as feiras livres (GOMES, 2023) e parques urbanos (HARDOIM et al., 2012).

Os locais arborizados e públicos das cidades como as ruas, avenidas, praças e parques também podem ser espaços de aprendizagem para o ensino de diferentes áreas do saber, proporcionando conhecimento interdisciplinar. A realização do presente estudo surgiu após o episódio da floração de diferentes espécies de ipês, no início do mês de agosto de 2023, na cidade de Araguaína, localizada ao norte do estado do Tocantins, com a seguinte pergunta norteadora: além da beleza cênica, que proporciona encantamento à população, em plena estação seca e quente, de que forma podemos ensinar sobre os vegetais em associação a arborização urbana?

#### 2 | OBJETIVOS

Objetivou-se elaborar quadros informativos para o ensino de Botânica relacionados com a arborização da cidade de Araguaína, Tocantins.

### 31 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa apresentou duas etapas, iniciando pelas leituras dos documentos norteadores como a Base Nacional Comum Curricular (BNCC, 2018), Documento Curricular do Tocantins (TOCANTINS, 2019) e da matriz recomposição da área de Ciências da Natureza e suas tecnologias (TOCANTINS, 2023), seguida da elaboração de uma lista de temas e detalhamento das atividades a serem desenvolvidas, para a unidade temática Vida e evolução, associadas com as habilidades educacionais, para o ensino fundamental anos iniciais.

A segunda etapa consistiu da revisão bibliográfica sobre o tema arborização, seguida de análise e leitura da literatura científica, seguida da escolha dos materiais e elaboração dos quadros temáticos ilustrativos e informativos; também foram selecionadas

as ilustrações sendo que parte delas corresponde a arquivos pessoais dos autores; ao final são apresentadas as referências utilizadas em cada quadro.

## **4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após as análises dos documentos norteadores para a área de Ciências da Natureza e suas tecnologias, unidade temática Vida e Evolução foram selecionadas quatro habilidades da BNCC (2018), descritas a seguir:

**(EF02CI04)** - Descrever características de plantas e animais (tamanho, forma, cor, fase da vida, local onde se desenvolvem etc.) que fazem parte de seu cotidiano e relacionálas ao ambiente em que eles vivem.

**(EF02CI06)** - Identificar as principais partes de uma planta (raiz, caule, folhas, flores e frutos) e a função desempenhada por cada uma delas, e analisar as relações entre as plantas, o ambiente e os demais seres vivos.

**EF03Cl04)** - Identificar características sobre o modo de vida (o que comem, como se reproduzem, como se deslocam etc.) dos animais mais comuns no ambiente próximo.

**(EF04C104)** - Analisar e construir cadeias alimentares simples, reconhecendo a posição ocupada pelos seres vivos nessas cadeias e o papel do Sol como fonte primária de energia na produção de alimentos

Os resultados referentes à revisão bibliográfica, sobre a arborização da cidade de Araguaína, evidenciaram somente a existência das publicações de Teixeira (2021) e Brandão et al. (2022) para os setores Noroeste e Jardim das Flores, respectivamente. Os trabalhos apresentam listagens de espécies vegetais utilizadas na arborização nas calçadas e nas praças dos setores, destacando diferentes espécies de plantas, como os lpês, Oitizeros e Nim.

#### Quadros temáticos ilustrativos

Foram elaborados os quadros intitulados: "A importância das árvores nos centros urbanos" (Figura. 1); "Conheça mais sobre os ipês" (Figura 2); "O oitizeiro: um exemplo de angiosperma na arborização" (Figuras 3 e 4); "Ampliando os horizontes sobre a Diversidade Vegetal" (Figuras 5 e 6). Todos apresentam inicialmente as habilidades, os textos complementares, ilustrações e curiosidades; ao final são citadas as referências bibliográficas.

Os resultados evidenciaram que os quadros com conteúdo informativo e complementar sobre os vegetais apresentam informações pertinentes, as quais poderão elucidar e melhorar o ensino de Botânica, além de despertar o interesse em saber mais sobre a arborização dos bairros, tornando pessoas mais atentas a vegetação e, dessa forma, mitigando os efeitos da cegueira botânica.

## A importância das árvores nos centros urbanos

### Habilidade da Base Nacional Comum Curricular (BNCC, 2018)

**EF02CI04:** Descrever características de plantas e animais (tamanho, forma, cor, fase da vida, local onde se desenvolvem etc.) que fazem parte de seu cotidiano e relacioná-las ao ambiente em que eles vivem.

## Características gerais

As plantas são seres eucariontes, pluricefulares e autotróficos. Elas são encontradas nos mais diversos ambientes terrestres, além de ambientes aquáticos. Elas atuam como produtores das cadeias alimentares, realizam a fotossíntese, o que garante a manutenção do gás oxigênio na atmosfera do planeta (GODOY, DELL'AGNOLO; MELO, 2020).

Eucarionte: Célula que possui núcleo; Pluricelulares: Possui várias células Autotróficos: Produzem o seu próprio alimento

## **Importância**

As árvores são os principais elementos de ligação entre seres humanos e natureza, passam a disputar espaço na paisagem com outros elementos de caráter prático como postes, fiação elétrica e telefônica e calçadas (MONICO, 2001) causando diversos problemas.

A Educação Ambiental deve auxiliar na superação destes problemas com o intuito de formar cidadãos ativos e capazes de agir frente às dificuldades enfrentadas. (AVILA, 2008). A arborização urbana tornou-se objeto de estudos de várias Ciências, além de importante componente em planejamentos urbanísticos que levem em conta fatores ecológicos e ambientais (MONICO, 2001).

A vegetação urbana desempenha funções muito importantes nas cidades, dentre estas estão:

- · Melhorar o efeito estético;
- Proporcionar sombra para os pedestres e veículos;
- · Proteger e direcionar o vento;
- Reduzir o impacto da água de chuva e seu escorrimento superficial;
- Amenizar a poluição sonora (PIVETTA; SILVA FILHO, 2002)

## Árvores na cidade

O Setor Jardim das Flores apresenta ruas pavimentadas, possui centro comunitário, posto de saúde e na região central está a Praça das Mãos, que recebeu este nome em função da escultura no formato de mãos unidas. A praça é bem arborizada (Fig. 1) com bancos e campo gramado para prática de esportes. Na lateral direita da praça está a escola de ensino fundamental e uma creche de tempo integral, entre os dois prédios foi separado um espaço para área verde.



Figura 1. Vista geral da praça das Mãos, localizada no setor Jardim das flores, em Araguaína, TO. Fonte: Aguiar, W. M. (2023).

Proporcionam muitas vantagens na cidade, pois:

- auxiliam na diminuição da temperatura, pois, absorvem os raios solares;
- refrescam o ambiente pela grande quantidade de água transpirada pelas folhas;
- melhoram a qualidade do ar (PIVETTA; SILVA FILHO, 2002)

## Referências Bibliográficas

AVILA, Ângela Luciana de. A arborização como instrumento de Educação Ambiental no ensino fundamental. 2008. 48 î Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Educação Ambiental, Centro de Ciências Rurais, Universidado Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

BRASIL. Base Nacional Comum Curricular – Educação é a base. Brasília, DF MEC/Secretaria de Educação Básica, 2018. Disponível em:

http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC EI EF 110518 versaofinal site.pdf. Acesso: 18 jul. 2023.

GODOY, Leandro Pereira de; DELL'AGNOLO, Rosana Maria; MELO, Wolney. Candido de. Multiversos Ciências da Natureza, Matéria, Energia e Vida. Ensino Médio, 1º ed. São Paulo. Editora FTD. 2020.

MONICO, Ilza Maria. Árvores e arborização urbana na cidade de Piracicaba/SP: um olhar sobre a questão à luz da Educação Ambiental. 2001. 165 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

PIVETTA, Kathia Fernandes Lopes; SILVA FILHO, Demóstenes Ferreira da. Arborização urbana – boletim acadêmico. Unesp/FCAV/FUNEP. Pag. 1. Jaboticabal-SP, 2002.

Figura 1. Quadro "A importância das árvores nos centros urbanos".

## Conheça mais sobre os Ipês

### Habilidades da Base Nacional Comum Curricular (BNCC, 2018)

(EF02CI06) Identificar as principais partes de uma planta (raiz, caule, folhas, flores e frutos) e a função desempenhada por cada uma delas, e analisar as relações entre as plantas, o ambiente e os demais seres vivos.

(EF03C104) Identificar características sobre o modo de vida (o que comem, como se reproduzem, como se deslocam etc.) dos animais mais comuns no ambiente próximo

## Ipê-rosa

O ipê-rosa é uma espécie arbórea, da família Bignoniaceae. Ela pode atinge altura de 25 a 30 m, ocorre naturalmente desde o sudeste do México até a Venezuela e costa do Equador em várias formações florestais. No Brasil, é utilizada na arborização de parques, ruas e avenidas devido ao rápido crescimento e florescimento intenso (SOCOLOWSKI; TAKAKE, 2007).

## Ipê-rosa na cidade de Araguaína, Tocantins

No setor Noroeste os ipê-rosa estão bastante presentes no local. Em estudo de levantamento de plantas no bairro, constatou a intensa utilização da planta com 87 indivíduos encontrados (TEIXEIRA, 2021). Já no setor Jardim das Flores, as espécies também são utilizadas para a arborização (Fig. 1) e durante um censo foram encontrados 118 indivíduos desta espécie distribuídos na praça e nas calçadas (BRANDÃO et al., 2021).



**Figura 1.** Vista geral da Praça da Mãos, no setor Jardim das Flores. **Fonte:** Aguiar W. M (2023).

## Conhecendo o Ipê-rosa

Seu caule é bastante utilizado para uso comercial, na fabricação de moveis, brinquedos dentre outros. Possui folhas palmadas com cinco folíolos, do qual durante o inverno caem ficando apenas suas inflorescências. A árvore fornece sombra e muitos animais como os pássaros fazem morada em suas copas (SOCOLOWSKI; TAKAKE, 2007; VIEIRA, ESPOARTOSA, SLUSARSKI, 2023).

As inflorescências são rosadas a magenta com interior amarelo e encantam pessoas com o seu esplendor e os frutos são vagens que contém sementes aladas no seus interior, quando maduros os frutos abrem de forma espontânea e as sementes são dispersadas pelo vento (SOCOLOWSKI; TAKAKE, 2007).

## Saiba mais sobre os ipês e seu cultivo

https://www.youtube.com/watch?v=6AbJkp XJxm0



https://www.youtube.com/watch?v=\_IMm AsFlYmI&t=1s

## Referências Bibliográficas

BRASIL. **Base Nacional Comum Curricular – Educação é a base.** Brasília, DF: MEC/Secretaria de Educação Básica, 2018. Disponível em:

http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC\_EI\_EF\_110518\_versaofinal\_site.pdf. Acesso: 18 jul. 2023.

BRANDÃO, Walktom Higor et al. Plantas urbanas do setor jardim das flores, Araguaina, Tocantins. In: MARIANO, Wagner dos Santos (org). Aspectos Formativos e Informativos em ensino, saúde e ambiente. São Carlos: Pedro & João Editores, 2022. 248p. Programa Arborização Urbana – UNIPAMPA. 18 de outubro de 2019. Disponível em 2001.

https://www.youtube.com/watch?v=\_IMmAsFIYmI&t=1s\_Acesso\_em: 25\_jul. 2023

Rádio e TV Unifev. 15 de setembro de 2022. Disponível em: <a href="https://www.youtube.com/watch?v=6AbJkpXJxm0">https://www.youtube.com/watch?v=6AbJkpXJxm0</a> . Acesso em 25 jul. 2023

SOCOLOWSKI, Fabio; TAKAKI, Massanori. Germinação de sementes e emergência de plântulas de *Tabebula rosea* (Bertoloni) A.P. De Candolle (Bignoniaceae), uma sepcie exótica com potencial invasor. Árvore, Viçosa, v.31, n.2, p.229-238, 2007. Disponível em: <a href="https://www.scielo.brj/rarv/a/9TKKFHTy49WTDzmbhFyr5NN/?lang=ptk.format-html#">https://www.scielo.brj/rarv/a/9TKKFHTy49WTDzmbhFyr5NN/?lang=ptk.format-html#</a> Acesso em: 21 jul. 2023.

TEIXEIRA, Raires Lisboa. diagnóstico da arborização urbana na região do setor Noroeste, Araguaina-TO. 2021. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) Universidade Federal do Tocantins, Araguaina, 2021.

Tocanins, Araguania, 2021.
VIEIRA, Kalimy Gabrielly Cruz; ESPARTOSA, Karina Dias; SLUSARSKI, Simone Rodrigues. Arborização urbana interativa: Implementação de placas com QR Code para descrição de individuos vegetais. In: PINHO, Moura; SCHUEDA, Marco Anfônio; BROSTULIN, Daniele do Racio (org.). Tecnologia e Inovação em Ciências Agrárias e Biológicas Avanços para a sociedade atual. Seven. 2023.

Figura 2. Quadro "Conheça mais sobre os ipês".

## O Oitizeiro: um exemplo de Angiosperma na arborização

### Habilidades da Base Nacional Comum Curricular (BNCC, 2018)

(EF02CI06) Identificar as principais partes de uma planta (raiz, caule, folhas, flores e frutos) e a função desempenhada por cada uma delas, e analisar as relações entre as plantas, o ambiente e os demais seres vivos.

(EF04CI04) Analisar e construir cadeias alimentares simples, reconhecendo a posição ocupada pelos seres vivos nessas cadeias e o papel do Sol como fonte primária de energia na produção de alimentos

## Angiospermas

As Angiospermas são o mais diverso grupo vegetal existente no nosso planeta. Acredita-se que exista pelo menos 260.000 espécies vivas, as quais ocupam praticamente quase todos os habitats da Terra. Possui uma grande diversidade morfológica, com diferente tipos de raízes, caules, folhas, flores e frutos (SANTOS; CHOW-HO, 2014).



Habitat é o lugar onde um organismo vive e se desenvolve.

Flor hermafrodita: apresentam estruturas masculinas e femininas na mesma flor.

## Espécies recorrentes no Tocantins e em Araguaína

As Angiospermas estão bastante presentes em nossas vidas, você pode vê-las no seu quintal, do vizinho ou até mesmo na esquina do bairro onde moramos.

Ao observar os estudos realizados no estado do Tocantins sobre arborização urbana, se destaca as plantas do grupo das Angiospermas. Em Gurupi, tem a predominância do Oiti (*Licania tomentosa*) em diversas localidade da cidade, como também, munguba (*Pachira aquática*) e jambeiro (*Syzygium malaccensis* (SANTOS, JOSÉ, SOUSA, 2013; OLIVEIRA et al., 2018; SILVA et al., 2019). Já em Palmas ao realizar um inventário das árvores presentes na Praça dos girassóis destacou o ipê-rosa (*Handroanthus heptaphyllus*) como a espécie mais abundante (PANTA, 2017).

Quando voltamos nosso olhar para a cidade de Araguaína Brandão et al. (2022) inventariou as plantas presentes nas calçadas do Setor Jardim das Flores, diagnosticando que o Oiti (*Licania tomentosa*), Ipê-rosa (*Tabebuia rosea*) e o Nim (*Azadirachta indica*) foram as espécies mais abundantes. Teixeira (2021) ao fazer o levantamento das plantas presente no setor Noroeste destacou, Ipê-rosa (*Tabebuia rosea*), Oiti (*Licania tomentosa*) e Murta-decheiro (*Murraya paniculata*) como mais ocorrentes no setor.

## **Oitizero** (Licania tomentosa)

As árvore podem chegar até 20 m de altura, de copa muito frondosa e atraente (Fig. 1A). As inflorescências (Fig. 1B) ocorrem em espigas ramosas, medindo de 15 cm a 30 cm de comprimento, do qual se agrupam pequenas flores brancas e hermafroditas, sendo polinizadas principalmente por abelhas (CARVALHO, 2014; SOUSA et al., 2022).

Devido ao trabalho de coleta de pólen realizado pelas abelhas, voando de flor em flor, ocorre a reprodução cruzada dessa planta, resultando na produção de fruto (Fig. 1C) é uma drupa de epicarpo carnoso, de formato oval, medindo de cinco cm a 16 cm de comprimento, quando maduro o fruto apresenta casca amarelada e no seu interior está uma única semente grande envolta em massa amarela, pegajosa e fibrosa. Os frutos exalam um excelente aroma e possuem cor vibrante, o que atrai a atenção de animais, como os morcegos, responsáveis pela dispersão das sementes (Fig.1D). No entanto, a dispersão também acontece pela gravidade, que recebe o nome de autocórica, com o fruto caindo espontaneamente da árvore (CARVALHO, 2014).

O oitizeiro corre naturalmente em floresta de restinga e floresta da Mata Atlântica, no entanto é bastante cultivada nas demais regiões em virtude de seus frutos comestíveis, cujas amêndoas são ricas em óleo. Essa espécie tem sido muito usada no paisagismo e principalmente para arborização de calçadas. Sua madeira pode ser utilizada na construção civil e obras hidráulicas (Fig. 1E e 1F) (CARVALHO, 2014).

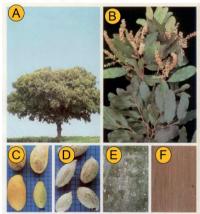


Figura 1. Oitizeiro (Licania tomentosa). A)Vista geral da árvore; B) detalhe das flores; C) frutos em destaque; D) sementes em destaque; E) caule em destaque; F) parte interna do caule. Fonte: Lorenzi (1992)

Figura 3. Quadro "O oitizeiro: um exemplo de Angiosperma na arborização".

## O Oitizeiro: um exemplo de Angiosperma na arborização



BRASIL. Base Nacional Comum Curricular – Educação é a base. Brasília, DF: MEC/Secretaria de Educação Básica, 2018. Disponível em: http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC\_EI\_EF\_110518\_versaofinal\_site.pdf. Acesso: 18 jul. 2023.

BRANDÃO, Walktom Higor et al. Plantas urbanas do setor jardim das flores, Araguaína, Tocantins. In: MARIANO, Wagner dos Santos (org). **Aspectos Formativos e Informativos em ensino, saúde e ambiente**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2022. 248p.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. Espécies Arbóreas Brasileiras-Otit-da-Praia. Brasilia: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v. 5, 2014. Disponível em: <a href="https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1140567">https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1140567</a> Acesso em: 19 jul. 2023.

LORENZI, Harri. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. Disponível em: <a href="https://aeaesp.com.br/wp-content/uploads/2019/09/%C3%81rvores-Brasileiras-Lorenzi-volume-1-compactado.pdf">https://aeaesp.com.br/wp-content/uploads/2019/09/%C3%81rvores-Brasileiras-Lorenzi-volume-1-compactado.pdf</a> Acesso em: 07 ago. 2023

SANTOS, Deborah Yara Alves Cursino dos; CHOW-HO, Fanly Fungyi. Caracterização das Angiospermas (Anthophyta). Diversidade e evolução das plantas. São Paulo: USP/Univesp/Edusp, 2014. Disponível em: <a href="https://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade\_evolução\_plantas\_PLC0022/DivEvoPlan\_top08.pdf">https://midia.atp.usp.br/impressos/lic/modulo03/diversidade\_evolução\_plantas\_PLC0022/DivEvoPlan\_top08.pdf</a>. Acesso em 19 iul. 2023.

OLIVEIRA, Lucicléia Mendes, et al. Inventário da arborização urbana e descrição das características físicas das principais vias do setor central de Gurupi (TO). Ambiência, Guarapuava, v. 14, n. 3, p. 477- 495, 2018. Disponível em: <a href="https://revistas.unicentro.br/index.php/ambiencia/article/view/3502%C2%AD">https://revistas.unicentro.br/index.php/ambiencia/article/view/3502%C2%AD</a> . Acesso em 19 jul. 2023.

PANTA, Maxwell Viana. **Estudo da vegetação arbórea da Praça dos Girassóis, Palmas- TO.** 2017. 49 f. Dissertação (Mestre em Ciências Florestais e Ambientais)- Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais da Universidade Federal do Tocantins, Gurupi. Disponível em:

https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/447/1/Maxwell%20Viana%20Panta%20-%20Disserta%c3%a7%c3%a3o.pdf. Acesso em 19 jul. 2023.

SANTOS, André Ferreira dos; JOSÉ, Anderson Cleiton; SOUSA, Patrícia Aparecida de. Fitossociologia e diversidade de espécies arbóreas das praças centrais do município de Gurupi-TO. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana.** Curitiba, v. 8, n. 4, p. 36-46, 2013. Disponível em: <a href="https://revistas.ufpr.br/revsbau/article/view/66511">https://revistas.ufpr.br/revsbau/article/view/66511</a>. Acesso em: 19 jul. 2023.

SILVA, Allan Deyvid Pereira et al. Arborização das praças de Gurupi–TO–Brasil: composição e diversidade de espécies. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, Curitiba, v. 14, n. 4, p. 1-12, 2019. Disponível em: <a href="https://revistas.urfpr.br/revsbau/article/view/67547">https://revistas.urfpr.br/revsbau/article/view/67547</a>. Acesso em: 19 jul. 2023.

SOUSA, Luana Mateus de et al. Síndrome de Polinização das Espécies Arbóreas e Arbustivas do Campus do Pici - Fortaleza, Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v.15, n.5, p. 2238-2259, 2022. Disponível em: <a href="https://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/253906">https://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/253906</a>. Acesso em: 19 jul. 2023.

TEIXEIRA, Raires Lisboa. Diagnóstico da arborização urbana na região do setor Noroeste, Araguaína-TO. 2021. 50f, trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biologia) Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2021.

**Figura. 4** Referências bibliográficas utilizadas na elaboração do quadro: "O oitizeiro: um exemplo de Angiosperma na arborização".

## Ampliando os horizontes sobre a Diversidade Vegetal

## Habilidade da Base Nacional Comum Curricular (BNCC, 2018)

(EF02CI06) Identificar as principais partes de uma planta (raiz, caule, folhas, flores e frutos) e a função desempenhada por cada uma delas, e analisar as relações entre as plantas, o ambiente e os demais seres vivos.

## Características gerais

A grande diversidade de tamanhos e de formas vegetais é familiar a todos. As plantas variam, em sua altura, de menos de 1 cm a mais de 100 m. Apesar de sua aparente diversidade, o corpo de todas as plantas com sementes apresenta o mesmo plano básico. O corpo vegetativo é composto de três órgãos: o caule, a raiz e as folhas, cada um com uma direção, ou polaridade, diferente de crescimento. No geral caule cresce para cima e apoia a parte da planta acima do solo. A raiz, que ancora a planta e absorve água e nutrientes, cresce em profundidade no solo. As folhas, cuja função principal é a fotossíntese, crescem lateralmente a partir dos nós caulinares (TAIZ; ZEIGER; MOLLER, 2021).

## **Importância**

O Brasil detém sozinho 13% da biodiversidade mundial, possui também o maior sistema fluvial do mundo, indiscutivelmente, tem a mais vasta biota continental. A maior biodiversidade terrestre e de água doce brasileira encontra-se na bacia Amazônica, com cerca de 40% das florestas tropicais no mundo. Além disso, o Brasil possui dois hotspots, que são o Cerrado (Fig.1A) e a Mata Atlântica, e também a maior área úmida tropical que se localiza no Pantanal (MEDEIROS et al., 2011).

Hotspots: área prioritária para conservação, com alta biodiversidade e muito ameaçada.

## Árvores no Tocantins

Tabebuia rosea é uma espécie arbórea, da família Bignoniaceae (Fig. 1A), que atinge altura de 25 a 30 m, possui folhas palmadas com cinco foliolos, inflorescências terminais com flores rosadas a magenta com interior amarelo (SOCOLOWSKI; TAKAKE, 2007).

Licania tomentosa é conhecida popularmente como oiti ou oitizeiro (Fig. 1B), pertence à família Chrysobalanaceae, possui raízes pouco profundas, tronco ereto, geralmente apresenta casca cinzenta; sua copa é globosa, com folhas simples, distribuídas de forma alterna nos ramos e tomentosas. As folhas são recobertas por tricomas finos, por esse motivo se deu o nome à espécie (RODRIGUES, 2018).





Figura 1: Imagens das espécies *Tabebula rosea* (A) *e Licania tomentosa* (B) no Setor Jardim das Flores em Araguaina, TO. Fonte: Aguiar, W. M., (2023)

Azadirachta indica é uma planta que pertence à família Meliaceae, conhecida como nim (Fig. 2). Ela cresce bem em áreas de clima tropical e subtropical. O porte da árvore pode variar de 15 a 20 m de altura, com tronco de 30 a 80 cm de diâmetro, relativamente curto e duro, com coloração marrom avermelhada. O diâmetro da copa varia de oito a 12 m podendo atingir 15 m em árvores isoladas. São árvores atrativas, com grande quantidade de folhas sempre verdes. As raízes penetram profundamente no solo (BRASIL, 2013).



Figura 2: Imagem da espècie *Azadirachta indica* no Setor Jardim das Flores em Araguaina/TO. Fonte: Aguiar, W.M. (2023).

Figura 5. Quadro: "Ampliando seus conhecimentos sobre a diversidade vegetal".

## Ampliando os horizontes sobre a Diversidade Vegetal



BRASIL. Base Nacional Comum Curricular – Educação é a base. Brasília, DF: MEC/Secretaria de Educação Básica, 2018. Disponível em:

http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC\_EI\_EF\_110518\_versaofinal\_site.pdf. Acesso: 18 jul. 2023.

BRASIL, Roseane Barros. Aspectos botânicos, usos tradicionais e potencialidades de *Azadirachta indica* (NEEM). **Enciclopédia Biosfera**: Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 3252-3268, 01 dez. 2013.

MEDEIROS, Aurélia Barbosa de et al. A Importância da educação ambiental na escola nas séries iniciais. **Revista Faculdade Montes Belos**, Montes Belos, v. 4, n. 1, p. 1-17, set. 2011.

RODRIGUES, Rayannie Batista. Morfometria de *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch sob diferentes condições de poda na arborização urbana de Itacoatiara, Amazonas. 2018. 57 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Florestal do Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara, Universidade do Estado do Amazonas, Itacoatiara, 2018.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo; MOLLER, Ian Max. **Fundamentos de fisiologia vegetal**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2021. Tradução: Armando Molina Divan Junior ... et al.. Disponível em: <a href="https://encurtador.com.br/koxyU">https://encurtador.com.br/koxyU</a>. Acesso em: 04 ago. 2023.

SOCOLOWSKI, Fabio; TAKAKI, Massanori. Germinação de sementes e emergência de plântulas de *Tabebuia rosea* (Bertoloni) A.P. de Candolle (Bignoniaceae), uma espécie exótica com potencial invasor. **Revista Árvore**, Viçosa, v.31, n.2, p.229-238, 2007. Disponível em: <a href="https://www.scielo.br/j/rarv/a/9TkKFHTy49wTDzmbhFvr5NN/?lang=pt&format=html#">https://www.scielo.br/j/rarv/a/9TkKFHTy49wTDzmbhFvr5NN/?lang=pt&format=html#</a> Acesso em: 21 jul. 2023.

Fig. 6 Referências bibliográficas utilizadas do quadro "Ampliando seus conhecimentos sobre a diversidade vegetal".

## **5 I CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Todos os ambientes podem ser utilizados como locais de aprendizagem e serem associados com os conteúdos apresentados em sala de aula, os quais podem ser trabalhados de forma lúdica instigando a curiosidade e o espírito competitivo em ações dinâmicas durante o ensino de Botânica, bem como proporcionar meios para que os alunos estabeleçam associações da vivência diária com o aprendizado, de forma ampla e contextual identificando todos os elementos com os quais convivem.

Os quadros temáticos ilustrativos com informações locais podem minimizar os efeitos da cegueira botânica, possibilitando associar sobre o que é ensinado nas aulas teóricas com o que está presente na arborização da cidade de Araguaína, Tocantins.

## **REFERÊNCIAS**

ALVES, R. M; GIL, A. S. B; AGUIAR-DIAS, A. C. A. Ensino de Botânica na Amazônia: Práticas docentes e aprimoramentos necessários. Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias Vol. 21, Nº 1, 1 - 21. 2022. Disponível em: <a href="http://reec.uvigo.es/volumenes/volumen21/REEC\_21\_1\_1\_ex1791\_521.pdf">http://reec.uvigo.es/volumenes/volumen21/REEC\_21\_1\_1\_ex1791\_521.pdf</a>. Acesso em 25 jul. 2023

BRANDÃO, W. H. et al. Plantas urbanas do setor Jardim das Flores, Araguaína, Tocantins, p. 217 – 228. In: MARIANO, Wagner dos Santos (org). **Aspectos Formativos e Informativos em Ensino**, **Saúde e Ambiente**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2022. 248p.

BRASIL, A. O. M.; RAMOS, C. O.; SANTOS, K. S. Educação Ambiental na visão dos concluintes da Licenciatura em Biologia da Educação a Distância de um dos polos da Universidade Federal do Tocantins/Universidade Aberta do Brasil. **Revista Sítio Novo**, Palmas, v. 5, n. 3, p. 114 - 123, jul./set. 2021. Disponível em: <a href="https://sitionovo.ifto.edu.br/index.php/sitionovo/article/view/1027/322">https://sitionovo.ifto.edu.br/index.php/sitionovo/article/view/1027/322</a>. Acesso em: 03 jul. 2021.

BRASIL, A. O. M.; SCARELI-SANTOS, C. As concepções dos professores do Colégio Rui Barbosa de Araguaína, Tocantins, sobre os temas educação ambiental, interdisciplinaridade e sustentabilidade. **Revista Querubim**, Niterói, v. 05, n. 45, p. 10 - 17, out. 2021. Disponível em: <a href="https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2561/633">https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2561/633</a>. Acesso em: 26 nov. 2021.

BRASIL, A. O. M.; SCARELI-SANTOS, C. Educação Ambiental no Colégio Rui Barbosa em Araguaína, Tocantins: percepções e realizações no cotidiano da atividade docente interdisciplinar. In: SILVA, Américo Junior Nunes da. (Org.) A educação enquanto instrumento de emancipação e promotora dos ideais humanos. 1. ed. Ponta Grossa, PR: Atena, 2022, p. 123 -134. Disponível em: <a href="https://www.atenaeditora.com.br/post-artigo/60792">https://www.atenaeditora.com.br/post-artigo/60792</a>. Acesso em: 21 fev. 2022.

BRASIL. **Base Nacional Comum Curricular – Educação é a base.** Brasília, DF: MEC/Secretaria de Educação Básica, 2018. Disponível em: <a href="http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC\_EI\_EF\_110518\_versaofinal\_site.pdf">http://basenacionalcomum.mec.gov.br/images/BNCC\_EI\_EF\_110518\_versaofinal\_site.pdf</a>>. Acesso em: 01 ago. 2023.

CAIXETA, W. S.; CAMPOS, N. A.; CASTRO, A. L. S. A desvalorização do Cerrado em livros didáticos de biologia do ensino médio. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, Rio Branco, v.8 n.1, p. 48 - 58, jan/abr. 2021. Disponível em: <a href="https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/4145">https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/4145</a>. Acesso em 18 jul. 2023.

COSTA, A. M. M.; MOTA, A. P. A; BRITO, S. F. B. Publicações sobre ensino de Botânica: o que os estudos dos anos de 2017 a 2020 mostram? **Arquivos do Mudi**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 111 - 126, ago. 2021. Disponível em: <a href="https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/55811/751375152540">https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/55811/751375152540</a>. Acesso em: 10 ago. 2023.

CUSTÓDIO, J. F.; PIETROCOLA, M. Princípios nas ciências empíricas e o seu tratamento em livros didáticos. **Ciência & Educação**, Bauru, v. 10, n. 3, p. 383 - 399, dez. 2004. Disponível em: <a href="https://www.scielo.br/j/ciedu/a/vjNFGwcXb9qvkRdmfszW44J/?format=pdf&lang=pt">https://www.scielo.br/j/ciedu/a/vjNFGwcXb9qvkRdmfszW44J/?format=pdf&lang=pt</a>. Acesso em: 10 ago. 2023.

De SALE, A; K. D. **Análise do Conteúdo de Botânica nos Livros Didáticos do Ensino Médio**. 2021. 70f. Monografia (especialização em Ensino de Biociências e Saúde) - Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ

GOMES, C. B. A feira ECOSOL como potencial interdisciplinar dos espaços não formais para a educação básica. 2023, 111f. Dissertação (Mestrado acadêmico em Ensino de Ciências e Matemática) - Programa de Pós-Graduação de Ensino de Ciências e Matemática, Universidade Federal do Norte do Tocantins, Araguaína, TO.

HARDOIM, E. L. et al. Espaços urbanos e suas possibilidades para o ensino, p. 47 - 57. In: ALMEIDA, Jeane Alves; FERREIRA, Gecilane (org). **Sociedade, Educação e meio ambiente**. São Carlos: Pedro & João Editores, 2012. 157p.

KATON, G. F.; TOWATA, N.; SAITO, L. C. A Cegueira Botânica e o uso de estratégias para o Ensino de Botânica. In: **Botânica no Inverno**. São Paulo: Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2013. Disponível em: <a href="https://vdocuments.com.br/apostila-botanica-no-inverno-2013.html?page=187">https://vdocuments.com.br/apostila-botanica-no-inverno-2013.html?page=187</a>. Acesso em: 17 nov. 2022.

KINOSHITA, L. S.; TORRES, R.B.; TAMASHIRO, J. Y.; FORNI-MARTINS, E. R. **A Botânica no ensino básico**: relatos de uma experiência transformadora. São Carlos: RiMa, 2006.

MATTOS, K. R. C.; RIBEIRO, W. A.; GÜLLICH, R. I. C. Análise do conteúdo de Botânica nos livros didáticos de Biologia do Ensino Médio. **Amazônia Revista de Educação em Ciências e Matemática, Belém** v.15, n. 34, jul./dez 2019. p. 210 - 224. Disponível em: <a href="https://periodicos.ufpa.br/index.php/revistaamazonia/article/view/7046">https://periodicos.ufpa.br/index.php/revistaamazonia/article/view/7046</a>>. Acesso em 28 fev. 2022.

ROLIM, V. S.; SCARELI-SANTOS, C. Uso de estratégia metodológica ilustrativa para conhecer os ciclos de vida dos vegetais: desconstruindo a cegueira botânica. **Revista Querubim**, Niterói, v. 04, n. 49, p. 103 - 109, fev. 2023. Disponível em: <a href="https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2779/832">https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2779/832</a>. Acesso em: 26 jul. 2023.

SALATINO, A.; BUCKERIDGE, M. "Mas de que te serve saber botânica?" **Revista Estudos Avançados**, São Paulo, v. 30, n. 87, p. 177 -196, mai./ago., 2016. Disponível em: <a href="https://doi.org/10.1590/S0103-40142016.30870011">https://doi.org/10.1590/S0103-40142016.30870011</a>>. Acesso em 10. mai. 2023.

SCARELI SANTOS, C.; VULCÃO, M. A. S.; MACIEL, J. C. S. Jogo didático e a disciplina botânica: o que a folha me ensina? Vamos descobrir "desfolhando". **Revista Querubim**, Niterói, v. 2, n. 38, p. 69 - 73, jun. 2019.

SCARELI SANTOS, C.; SILVA, H. R. R.; TEIXEIRA, R. L. A guirlanda do conhecimento: uma forma diferente de ensinar botânica. **Revista Querubim**, Niterói, v. 2, n. 40, p. 42 - 46, fev. 2020. Disponível em: <a href="https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2091/279">https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2091/279</a>>. Acesso em 20 jul.2023.

SCARELI-SANTOS, C.; FERREIRA, K. M.; SILVA, K. T. G.; SÁ, M. D. S.; SILVA, R. M. O uso do espaço não formal para o ensino de botânica: aprendendo sobre diversidade, procedência e comercialização do arroz e do feijão em duas feiras livres em Araguaína, TO. **Revista Querubim**, Niterói, v. 05, n. 45 p. 34 - 40, 2021. Disponível em: https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2561/633. Acesso em 08 ago. 2023

SCARELI-SANTOS, C.; ROLIM, V. S.; da Silva, I. S.; VIEIRA, A. P. C.; Cruz, A. A.; Costa, M. G. Aprendendo sobre os vegetais com o uso das atividades sensoriais e lúdicas: uma proposta metodológica para o ensino médio. **Revista Querubim**, Niterói, v. 04, n. 49, p. 25 - 32, fev. 2023. Disponível em: https://periodicos.uff.br/querubim/issue/view/2779/832. Acesso em: 26 jul. 2023.

TEIXEIRA, R. L. **Diagnóstico da arborização urbana na região do setor** Noroeste, Araguaína -TO. 2021. 50f, Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2021.

TOCANTINS. **Resolução** nº 24, de 14 de março de 2019. Aprova o Documento Curricular da educação infantil e do ensino fundamental, para o Território do Tocantins. Palmas, TO, 2019. Disponível em: <a href="https://normativasconselhos.mec.gov.br/normativa/pdf/cee-to-cee-to-n-n-024\_60479392ee2f7.pdf">https://normativasconselhos.mec.gov.br/normativa/pdf/cee-to-cee-to-n-n-024\_60479392ee2f7.pdf</a>. Acesso em: 21 mai. 2023.

TOCANTINS. **Matriz recomposição da área de Ciências da Natureza e suas tecnologias**. Recomeçar: programa de recomposição das habilidades. Secretaria de Educação do Tocantins. Palmas, TO, 2023. Disponível em: <a href="https://central.to.gov.br/download/326600">https://central.to.gov.br/download/326600</a>>. Acesso em 20 mai. 2023

UNO, G. E. Botanical literacy: what and how should students learn about plants? **American Journal of Botany**, v. 96, n.10, p.1753 - 1759, out. 2009. Disponível em: <a href="https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.0900025">https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.0900025</a>. Acesso em: 10 ago. 2023.

URSI, S.; BARBOSA, P. P.; SANO, P. T.; BERCHEZ, F. A. S. Ensino de Botânica: conhecimento e encantamento na educação científica **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 32 n. 94, p. 1 - 17, set./dez. 2018. Disponível em: <a href="https://www.scielo.br/j/ea/a/fchzvBKgNvHRqZJbvK7CCHc/?format=pdf&lanq=pt">https://www.scielo.br/j/ea/a/fchzvBKgNvHRqZJbvK7CCHc/?format=pdf&lanq=pt</a>>. Acesso em: 15 jun. 2021

WANDERSEE, J. H.; SCHUSSLER, E. E.Toward a theory of plant blindness. **Plant Science Bulletin**, Missouri, v. 47, n. 1, p.2 - 9, mar. 2001. Disponível em: <a href="https://cms.botany.org/userdata/lssueArchive/issues/originalfile/PSB\_2001\_47\_1.pdf">https://cms.botany.org/userdata/lssueArchive/issues/originalfile/PSB\_2001\_47\_1.pdf</a> Acesso em: 30 jul. 2023.

## **CAPÍTULO 8**

# O ENSINO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA COM ENFOQUE NA BOTÂNICA, ANOS FINAIS, POR MEIO DE TRILHAS INTERPRETATIVAS

Data de aceite: 01/09/2023

### **Denilson Elias Lima Silva**

Doutorando em Ensino de Ciências e Matemática, PPGECM-UPF-RS

## Aline Locatelli

Doutora em Química UFSM-RS

### Jurandy das Chagas Lima

Doutorando em Ensino de Ciências e Matemática, PPGECM-UPF-RS

RESUMO: A principal finalidade a ser investigada neste estudo é a reflexão sobre o uso da floresta e suas trilhas como meio para o ensino da botânica nas disciplinas de Ciências Naturais e Ciências Biológicas. Onde o objetivo desta pesquisa é discutir a temática do uso de trilhas interpretativas e sua importância para o ensino de Ciências e Biologia em espaços não formais de educação sendo realizados em diferentes estados brasileiros. Realizou-se pesquisa bibliográfica considerando as contribuições de autores entre outros, procurando destacar a importância das trilhas interpretativas, que são realizadas em espaços não formais de educação, onde ocorrera um excelente aprendizado da botânica fora de sala de aula, como também em prol de um bom relacionamento entre educador e educando, já que esta atividade envolve um cunho lúdico e descontraído, ou seja, ficando bem longe de ser um ensino positivista onde o aluno se sente totalmente sem vez, sem voz e completamente desmotivado.

**PALAVRAS-CHAVE:** Trilha interpretativa. Botânica. Espaços não formais de educação. Educação ambiental.

## **INTRODUÇÃO**

O trabalho elaborado apresenta a seguinte temática: O ensino da botânica por meio de trilhas interpretativas, onde o educador por meio de várias atividades fora da escola ira proporcionar aos seus educandos um aprendizado mais significativo, dinâmico e descontraído levando assim uma total harmonia entre ambos para que juntos possam construir um aprendizado mais expressivo, valoroso e significativo.

As perguntas de pesquisa que nortearam a presente investigação foram:

Quais são as percepções sobre botânica que os educandos apresentam?

• O que são e como organizar aulas em espaços não formais de educação?

A biodiversidade no território brasileiro é considerada mundialmente como uma das mais ricas do mundo, onde a educação ambiental é fortemente utilizada como uma das ferramentas mais eficientes e eficazes para a conservação da mesma em todo o globo terrestre. Dessa forma os espaços não formais de educação como os Jardins Botânicos, trilhas interpretativas e outros apresentam grande importância neste processo, pois nos mostram diversos ambientes de aprendizagem que certamente servirão como recursos didáticos.

Conforme retrata o artigo 1º da Lei 9.795, que apresenta a Política Nacional de Educação Ambiental (BRASIL, 1999),

[...] entende-se por educação ambiental os processos por meio dos quais o indivíduo e a coletividade constroem valores sociais, conhecimentos, habilidades, atitudes e competências voltadas para a conservação do meio ambiente, bem de uso comum do povo, essencial à sadia qualidade de vida e sua sustentabilidade.

Trabalhar com os chamados espaços não formais de educação gera uma nova perspectiva para o ensino dos conteúdos curriculares na busca de uma aprendizagem significativa nas disciplinas de Ciências Naturais e Ciências biológicas. Entre as escolhas estratégicas educativas que podem ser empregadas temos o uso de trilhas interpretativas, onde as mesmas possuem um papel primordial, visto que são elas que levam os visitantes aos mais diversos ambientes proporcionando uma experiência única de interação com a biodiversidade amazônica.

A expressão "Espaço Não Formal de Educação" tem sido muito utilizada para caracterizar lugares, onde é possível desenvolver atividades pedagógicas, mas que não pertencem ao espaço físico da escola. Esses locais apresentam planejamento próprio, não seguem normas propostas por um currículo específico, baseado em Diretrizes reconhecidas oficialmente e vinculadas ao Ministério da Educação. Como exemplo desses espaços, podemos citar os Parques Ecológicos, os Museus, as Praças, os Zoológicos, os Planetários, as trilhas interpretativas, dentre outros institucionalizados ou não. (Gohn, 2006, p.25)

Este artigo retrata a experiência prática de campo realizada em um Espaços Não Formais: Funbosque – Fundação Escola Bosque, localizada na Ilha de Outeiro, distrito de Belém - Pa.

O principal objetivo foi avaliar quais as possíveis contribuições do uso de trilhas interpretativas para o Ensino de Ciências Naturais e Ciências biológicas, onde para se alcançar tal objetivo utilizou-se como recurso metodológico a pesquisa bibliográfica que foi realizada a partir da análise de materiais já publicados na literatura e artigos científicos divulgados em variados meios eletrônicos.

#### **DESENVOLVIMENTO**

Um dos países megabiodiversos reconhecido mundialmente é o Brasil por expor cerca de 20% da riqueza de espécies biológicas de todo o planeta. A diversificada riqueza de espécies biológicas está associada a ecossistemas peculiares como os biomas do Cerrado e de Mata Atlântica, que formam dois dos 25 hotspots de biodiversidade e conservação mundial, e totalmente específicos ao território brasileiro. Lewinsohn e Prado. (2004).

Com o passar dos anos os diversos impactos negativos ocasionados pela ação antrópica sobre o uso, manejo e conservação dos recursos naturais, especialmente no que se refere à manutenção e conservação dos ecossistemas e habitats originais, tem refletido em procedimentos extintivos, levando a diminuição ou extinção da diversidade biológica e o comprometimento dos serviços ecológicos prestados pelas mesmas. Mittermeier e Scarano (2013). De acordo com Silva (2008), como estratégia de conservação de vegetais, a educação ambiental é visualizada como uma possibilidade para uma possível sensibilização da sociedade perante a importância dos recursos naturais nas mais distintas faces, a começar de sua importância ecológica até a sua aplicabilidade nos procedimentos produtivos de grande escala.

Após a sensibilização e com uma total clareza com relação à importância da biodiversidade, as pessoas envolvidas nesse construto passarão a atuar como agentes multiplicadores do novo conhecimento adquirido, gerando dessa forma uma rede em prol da conscientização e proteção dos recursos naturais.

Na investigação das referencias bibliográficas buscou-se verificar a eficiência e eficácia da realização de diversas trilhas interpretativas no ensino da botânica, onde no decorrer desse processo pode constatar diversas metodologias interessantes onde em uma delas foi aplicado um questionário pré e pós-trilha para estudantes de uma escola pública de Caxias do Sul. Rio Grande do Sul.

A utilização da trilha interpretativa se deu em um espaços da Fundação Escola Bosque dessa localidade. Observou-se que no total de 28 alunos, 55% desses educandos relataram que aumentaram seu conhecimento sobre as plantas após a realização das atividades. Nas analises dos questionários que foram realizados antes e depois da trilha, os alunos disseram que não é possível existir vida na Terra sem a existência das plantas. Após a realização da trilha interpretativa, houve um aumento nas citações de todas as funções ecológicas apresentadas aos estudantes, bem como dos usos das plantas pelo homem.

Com relação à identificação de algumas plantas que podem causar impactos negativos aos ecossistemas naturais, houve um acréscimo muito significativo onde 90% dos alunos tiveram êxito nessa identificação após a realização da trilha.

As trilhas interpretativas representam meios de inclusão e contato do ser humano com a natureza. Belart (1978) afirma que a caminhada e as excursões, distante do tumulto e barulho das cidades, configuram uma das recreações favoritas para a maior parte das

pessoas. Assim a trajetória em um ambiente natural é realizada por meio de estradas dentro da floresta ou trilhas delimitadas e implantadas de acordo com o propósito e particularidade de cada local.

No livro Manual de Trilhas: Um Manual para Gestores as trilhas podem ser classificadas da seguinte maneira:

Trilha guiada: é aquela realizada com o acompanhamento de um guia/ condutor, tecnicamente capacitado para estabelecer um bom canal de comunicação entre o ambiente e o visitante, oferecendo segurança a todos na caminhada. (...) Trilha autoguiada: permite o contato do visitante com meio ambiente sem a presença de um guia. Recursos visuais, gráficos e outros orientam a caminhada, com informações de direção, distância, elementos a serem destacados (árvores nativas, plantas medicinais, ocorrência de comunidades de animais, etc.) e os temas desenvolvidos (mata ciliar, recursos hídricos, raridade geológica, indicações arqueológicas, etc.) (ANDRADE e ROCHA, 2008, p. 6-7).

Para fortalecer ainda mais a investigação, foi analisado umartigo de um estudo realizado em uma floresta em Manaus Amazonas e suas trilhas como meio para o ensino de ciências com enfoque em botânica.Os espaços não formais de educação que foram visitados serviram de estudo para o ensino da botânica por meio de trilhas, pois se destacam pela infraestrutura que facilita o planejamento estratégico do professor.

A trilha é uma maneira eficaz para se trabalhar com os alunos fora da sala de aula, podendo ser utilizada por diversas ciências. Contudo, ela deve ser planejada e considerada como parte de um processo mais amplo e, não apenas como um evento educativo pontual. [...] a possibilidade de construir o próprio conhecimento e buscar respostas para as suas indagações. (Guimarães e Menezes 2006, p.10).

Ancorado nessa pesquisa bibliográfica conseguiu-se constatar o quão é importante o uso desses espaços não formais pelos professores para um aprendizado significativo e prazeroso de seus alunos, partindo do princípio de que todos estamos sempre aprendendo.

Os espaços não formais de educação como o Jardim Botânico Adolpho Ducke, Parque Municipal do Mindu, Jardim Zoológico do CIGS e o Museu do Seringal Vila Paraíso que estão localizados em Manaus, estão bem planejados para propiciar ao aluno, um contato direto com a biodiversidade viva, pois o local é ideal para a complementação da aprendizagem fora de sala de aula justamente pelo processo cognitivo que será vivenciado no mundo concreto dos alunos.

Nesse contexto o professor devera criar um planejamento totalmente adequado e voltado para a exploração do conteúdo curricular, pois as localidades escolhidas irão remeter os educandos as trilha mais apropriadas (trilhas guiadas e trilhas autoguiadas), sendo de suma importância para um bom resultado tanto para o educador quanto para o educando.

A utilização das trilhas interpretativas para um fortalecimento do ensino de ciências

em espaços não formais em prol de um melhor entendimento sobre o ensino de botânica é de estrema importância, visto que nesse percurso ocorrerá um direcionamento do aluno por meio da mediação do professor, pela busca dos conhecimentos desconhecidos e até mesmo evitados, onde através do contato com a natureza e demais espaços disponíveis em cada ambiente encontrado, causará sensações e emoções nos educandos, que dificilmente aconteceriam no decorrer das aulas ministradas em escolas positivistas.

Segundo Guimarães e Menezes (2006), o uso de trilhas que são adaptadas conforme as necessidades e com os conhecimentos prévios dos educandos, pode vir a ser um excepcional instrumento de ensino, pois ela é apropriada para que os alunos conheçam e aprendam sobre ambientes específicos, como também é uma forma de dividir experiências que levam os alunos a contemplar, interpretar e cooperar com a preservação e conservação da natureza.

Como fechamento da investigação bibliográfica optei-se em analisar um artigo onde foi percebido que o objetivo principal era sensibilizar alunos de uma escola de ensino fundamental do município de Palmeira das Missões-RS com relação à preservação da natureza, com um direcionamento maior para as vegetações, ocorrendo por meio de uma trilha interpretativa como instrumento de educação ambiental.

A execução da trilha ocorreu em uma área de mata nativa que pertence a Universidade Federal de Santa Maria, Campus Palmeira das Missões. Em uma determinada parada na trilha os alunos ficaram com os olhos vendados e sentiram diferentes emoções e sensações onde jamais haviam vivenciado esse tipo de experiência dentro de sala de aula, pois a partir desse momento o mundo concreto proporcionado pela vivencia na trilha lhes oferece um ensino mais prazeroso e significativo.

Adentrando um pouco mais na trilha o professor explora ainda mais os sentidos dos educandos onde o tato foi o sentido de maior relevância, mostrando que o ensino da botânica por meio da trilha interpretativa desperta no aluno um grau de satisfação e sensibilização maior que o esperado.

As trilhas interpretativas são cada vez mais utilizadas em programas de Educação Ambiental, uma vez que, através do processo de sensibilização, fomenta a aquisição de conhecimentos cognitivos relativos ao meio ambiente, fundamentais para a formação de valores e mudanças de comportamento, na busca medidas e soluções preventivas no que diz respeito a impactos ao meio ambiente (VASCONCELOS, 1998, p.139).

Por meio da execução da trilha interpretativa e de um documentário denominado como A Última Hora que teve como finalidade causar um impacto de realidade nos alunos e mostrar o quanto nós somos responsáveis pelos transtornos que causamos ao meio ambiente, foi possível perceber uma aprendizagem mais significativa dos discentes e uma empolgação referente à experiência vivida, onde pude constatar que as trilhas interpretativas se mostram como uma ferramenta ideal para a promoção da educação ambiental em prol

de uma sensibilização mais eficaz.

Frigo et al (2013), afirmam que para a aprendizagem dos alunos se tornar muito mais relevante se faz necessário a utilização da diversificação das práticas de metodologias de ensino, pois estas possibilitarão aos discentes uma aprendizagem mais significativa. Assim a trilha se enquadra muito bem em uma dessas metodologias, pois possibilita aos educandos uma apoderação das informações e sentimentos por meio de sua participação.

Como fechamento da minha investigação bibliográfica optei em analisar um artigo onde percebi que o objetivo principal era sensibilizar alunos de uma escola de ensino fundamental do município de Palmeira das Missões-RS com relação à preservação da natureza, com um direcionamento maior para as vegetações, ocorrendo por meio de uma trilha interpretativa como instrumento de educação ambiental.

De acordo com Marcuzzo et al (2015) as trilhas interpretativas representam muito mais que um passeio pois são consideradas como uma oportunidade de evolução do ser humano, onde possibilitam uma incrível estimulação da capacidade investigadora, fazendo assim com que os mesmos se sintam parte desse meio ambiente, ocorrendo dessa forma a reformulação de seus pensamentos em prol do seu modo de ver e sentir o planeta como um todo.

## **CONCLUSÃO**

Portanto o ensino da botânica por meio das trilhas interpretativas é sem duvida uma oportunidade de evolução e de desenvolvimento humano do educando, pois estimulam a sua capacidade investigadora, levando o mesmo a uma reflexão sobre seu modo de enxergar e sentir o planeta como um todo, a partir da interpretação e percepção da realidade ambiental. Dessa maneira podemos concluir que a utilização de espaços não formais como a natureza que se destaca como uma extraordinária ferramenta facilitadora do aprendizado do aluno é de suma importância para que ocorra a sensibilização dos mesmos em prol da proteção dos recursos naturais.

A relação com a natureza por meio das trilhas apresentam características interdisciplinares que são abordadas no ecossistema de modo geral. Dessa forma as trilhas devem ser realizadas para o ensino da botânica com os alunos constantemente, pois desse modo eles passarão a valorizar os conhecimentos constituídos pela educação ambiental e também se sensibilizarão verdadeiramente sobre a importância de se preservar o meio ambiente ao qual ele está inserido.

### **REFERÊNCIAS**

ANDRADE, W. J.; ROCHA, R. F. **Manejo de trilhas: um manual para gestores**. São Paulo, SP. Instituto Floresta Série Registros, n.35, 1-74p., mai. 2008.

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 9.795, de 27 de abril de 1999. **Política Nacional de Educação Ambiental**. Disponível em: <a href="http://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/Leis/L9795.htm">http://www.planalto.gov.br/ccivil\_03/Leis/L9795.htm</a>. Acesso em: 24 jul. 2019

BELART, J. L. Trilhas para o Brasil. Bol. FBCN, v.13, n.1, p.49-51, 1978.

FRIGO, J. PRADO, G; P. PASSOS, M; G; LOPES, F; L. **Aprendizagem Significativa: Uso da Trilha Sensitiva no Processo de Ensino.**. Revista UNINGÁ Review, v.15, n.1, 2013.

GOHN, M. G. Educação não-formal, participação da sociedade civil e estruturas colegiadas nas escolas. Rio de Janeiro: Revista Ensaio-Avaliação e Políticas Públicas em Educação, v.14, n. 50, p.11-25, 2006.

GUIMARÃES, Vanize de F.; MENEZES, Sebastião de O. Uso de trilha interpretativa na educação ambiental: uma proposta para o município de Rosário da Limeira (MG). Il Fórum Ambiental da Alta Paulista. São Paulo, 2006.

MARCUZZO, B. S.; SILVEIRA, V.; LOPES, E.; MINUZZ, T.Ç **Trilhas Interpretativas, uma ferramenta eficiente para a Educação Ambiental.** Revista Educação Ambiental em Ação. Número 51, ano XIII. 2015. Disponível em: http://www.revistaea.org/artigo.php?idartigo=2015 Acesso em: 28 abril 2015.

MENGHINI, F. B. As trilhas interpretativas como recurso pedagógico: caminhos traçados para a Educação Ambiental. 103 p. Dissertação de Mestrado (Educação)- UNIVALI, 2005.

## **CAPÍTULO 9**

# PERCEPÇÃO E POSSIBILIDADES PARA O USO DE RECURSOS DIDÁTICOS POR DISCENTES DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS NO ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO

Data de submissão: 05/06/2023

Data de aceite: 01/09/2023

#### Cibele Oliveira Carvalho

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Campos Sales, CE http://lattes.cnpq.br/6241956965473290

## Maria Edilania da Silva Serafim Pereira

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/9257971862199234

### Aline Cardoso Rodrigues Bezerra

Autarquia Educacional de Serra Talhada, Serra Talhada, PE https://lattes.cnpg.br/1632437611598600

#### Marcos Aurélio Figueiredo dos Santos

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Campos Sales, CE http://lattes.cnpq.br/8643818710205791

### Dieferson Leandro de Souza

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/1219143074518873

### Jeovane Henrique de Souza

Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato – CE http://lattes.cnpg.br/2731579996944249

#### José Thyálisson da Costa Silva

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Missão Velha, CE http://lattes.cnpq.br/7171446303333616

### **Ademar Maia Filho**

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpg.br/9570480278376163

#### **Amanda Maria Tavares Moreira**

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/2371233987733428

#### Maria Aparecida Barbosa Ferreira Gonçalo

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE

#### José Weverton Almeida-Bezerra

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Crato, CE http://lattes.cnpq.br/5570296179611652

#### Rafael Pereira da Cruz

Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Biológicas, Campos Sales, CE http://lattes.cnpq.br/3675589918865790 RESUMO: O presente trabalho discutirá sobre o ensino aprendizagem e desafios na educação enfrentados pelos educandos e para inovação de suas metodologias utilizando recursos didáticos para além do livro didático. Dessa forma tem-se como objetivo conhecer e promover acões que auxiliam na inovação dessas metodologias do ensino/aprendizado de Ciências e Biologia nas escolas, conhecendo a percepção dos alunos sobre a utilização desses recursos nas metodologias de ensino, como também, realizei a produção de recursos didáticos (maquetes), a partir de matérias recicláveis, como papelão, garrafa pet, copos descartável, arames, manqueiras, etc., e disponibilizamos aos discentes do curso de licenciatura em Ciências Biológicas da Unidade Descentralizada De Campos Sales, durante o período de estágio supervisionado do V e XV semestre. O estudo é de campo, de abordagem descritiva e natureza explicativa, com coleta de dados a partir de formulário virtual (via Google Formulários). Através dos resultados obtidos, é possível observar que os estudantes mesmo ainda na graduação, estão cientes da importância do professor está sempre inovando suas metodologias de ensino, inclusive têm o conhecimento sobre a corroboração dos recursos didáticos nesse processo de aulas mais atrativas, interativas e dinâmicas. Conclui-se então que o a utilização dos recursos didáticos no processo de ensino e aprendizagem é altamente importante, pois os mesmos irão auxiliar, acrescenta, transforma e inovar as temáticas pedagógicas de ensino e contribuir significativamente no desenvolvimento cognitivo, social e cultural dos educandos. Sendo assim, esperamos que os recursos didáticos ofertados contribuam tanto para os sujeitos participantes como para os futuros discentes estagiários, para práticas metodologias interativas e inovadoras de ensino dos educandos, proporcionando uma aprendizagem significativa.

**PALAVRAS-CHAVE:** Recursos didáticos, Ensino/aprendizagem, Metodologias ativas, aprendizagem significativa.

# PERCEPTION AND POSSIBILITIES FOR THE USE OF DIDACTIC RESOURCES BY STUDENTS OF THE BIOLOGICAL SCIENCES COURSE IN THE SUPERVISED CURRICULAR INTERNSHIP

ABSTRACT: The present work will discuss about teaching learning and challenges in education faced by students and for innovation of their methodologies using didactic resources beyond the textbook. In this way, the objective is to know and promote actions that help in the innovation of these methodologies of teaching/learning of Science and Biology in schools, knowing the students' perception about the use of these resources in teaching methodologies, as well as, I carried out the production of didactic resources (models), from recyclable materials, such as cardboard, PET bottles, disposable cups, wires, hoses, etc. supervised internship of the V and XV semester. The study is a field study, with a descriptive approach and explanatory nature, with data collection from a virtual form (via Google Forms). Through the results obtained, it is possible to observe that the students, even still in graduation, are aware of the importance of the teacher is always innovating their teaching methodologies, they even have the knowledge about the corroboration of the didactic resources in this process of more attractive, interactive and dynamic classes. It is then concluded that the use of didactic resources in the teaching and learning process is highly important, as they will help, add, transform and innovate the pedagogical teaching themes and contribute significantly to the cognitive, social and cultural development of students. Therefore, we hope that the didactic resources offered will contribute

both to the participating subjects and to the future trainee students, to practical interactive and innovative methodologies for teaching students, providing meaningful learning.

**KEYWORDS:** Didactic resources, Teaching/learning, Active methodologies, Meaningful learning.

#### 1 I INTRODUÇÃO

Todo educador precisa se preparar constantemente, buscando maneiras de facilitar o acesso ao conhecimento, instigando a criatividade e o pensamento crítico dos alunos, planejando e inovando suas metodologias de ensino, optando sempre pela aprendizagem significativa e saindo do método tradicional. Considerando que o método tradicional é aquele conhecido como o professor detentor do conhecimento e o aluno apenas o ouvinte, baseado também na utilização de recursos limitados, como, livro didático, quadro branco e pincel, e o aluno na sua função de decorar conteúdos (SANTANA, 2019).

A educação brasileira vem passando por mudanças significativas e uma das finalidades é romper com essas barreiras do tradicionalismo, ainda implícito nos processos de ensino e aprendizagem. Apesar da notável evolução nos campos educacionais, e mesmo estando em uma nova era onde as tecnologias são predominantes, ainda se observa na atualidade resquícios das metodologias tradicionalistas no processo de ensino/ aprendizado, pois muitos professores ainda se limitam a essa forma de propagação do conhecimento (BACICH; MORAN, 2018).

Desse modo, é inaceitável que com as mudanças ocorridas na educação e o avanço tecnológico na sociedade o professor ainda resista a inovações nas suas metodologias de ensino. Pois a utilização de recursos didáticos, para além do livro didático, quadro branco e pincel, é de suma importância (SILVA et al., 2016). Em vista disso, os professores de Ciências e Biologia devem fazer uma transposição didática aderindo a várias estratégias de ensino, incorporando diferentes recursos, com intuito de mudar a monotonia das aulas teóricas. Dessa forma, o uso de modelos didáticos, jogos, oficinas, saídas a campo, aulas práticas laboratoriais, demonstrativas, filmes, documentários, dentre outros, irão instigar ao aluno, seu raciocínio e sua curiosidade, despertando a sua atenção no sentindo de construir conhecimento associado a essas áreas (SILVA et al., 2017).

Os recursos didáticos são ferramentas pedagógicas diversificáveis e indispensáveis em todas as disciplinas nas escolas, referindo em particular ao ensino de Ciências e Biologia, devem ser utilizados principais em conteúdos que são considerados mais complexos por envolver processos, conceitos moleculares e celulares, como: Genética, fisiologia, botânica, citologia, Biologia celular e molecular, síntese proteica, fotossíntese, respiração celular, divisão celular, entre outros (LAZZARONI, TEIXEIRA, 2017, BEZERRA et al., 2019).

Os recursos didáticos proporcionam a apresentação do conteúdo de forma mais

lúdica e interativa, fazendo com que o aluno consiga compreender melhor e de maneira mais dinâmica determinados conteúdos, tais estratégias motivam a participação do estudante, estimulam e facilitam o aprendizado, além da construção da relação professor/aluno. Porém, não podemos deixar de observar que ainda é desafiador promover essas mudanças metodológicas, pois muitas escolas não disponibilizam recursos aos educadores, sendo responsabilidade do professor produzir os seus materiais, dificultando e fazendo com os docentes optem por métodos tradicionais (CAMARGO; DAROS, 2018; NICOLA; PANIZ, 2016).

Diante desta problemática é importante que os educandos do curso de licenciatura em Ciências Biológicas na sua formação inicial estejam cientes da realidade e preparados para enfrentar tais desafios nos momentos da graduação que lhe são ofertados a prática de ensino, tais como os estágios supervisionados, onde irão exercer pela primeira vez a regência. A regência é um momento desafiador para os discentes, pincipalmente quando eles visam inovar suas metodologias através de materiais didáticos, necessitando então de bom planejamento, de forma que a experiência seja significativa e também ao cumprimento do seu papel em relação ao ensino/aprendizado de qualidade (SOUSA et al., 2020).

Sendo assim, o principal objetivo dessa pesquisa foi conhecer a percepção dos discentes do curso de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri (Unidade Descentralizada de Campos Sales) com relação ao uso de modelos didáticos no estágio supervisionado e analisar as contribuições futuras desses recursos no processo de ensino/aprendizagem.

#### 21 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Delineamento do Estudo

Apresente pesquisa foi de campo, pois o estudo foi realizado em campo educacional, e de abordagem descritiva e explicativa, e natureza quantitativa. A pesquisa descritiva envolve o uso de métodos estabelecidos como a coleta de dados a partir de questionário, visando a observação, análise e organização dos resultados. Além de explicativa, que permite a identificação de fatores determinantes que possam auxiliar durante o desenvolvimento da mesma, explicando a razão e o porquê dos fatos ocorridos (LAKATOS; MARCONI, 2003; KAUARK, 2010). Apresentasse-se ainda natureza quantitativa, desenvolvida através de questionários eletrônicos, por fim possibilitando o entendimento, a objetividade e a quantificação dos fatos levantados em questão (FONSECA, 2002).

#### 2.2 Local e Período de Coleta de Dados

O presente trabalho foi realizado na Universidade Regional do Cariri – URCA, Unidade Descentralizada de Campos Sales, que oferta os cursos de licenciatura em Ciências Biológicas, Matemática e Letras. Campos Sales, o município em que se localiza a

Unidade, possui uma área de 1.082.769,00 km², microrregião da chapada do Araripe, clima tropical, quente semiárido e com população estimada de 27.123 habitantes (CAMPOS SALES-CE, 2021).

#### 2.3 Universo da Pesquisa

A pesquisa foi feita com os discentes do curso de licenciatura em Ciências Biológicas, do V e IX semestre, respectivamente no período em que ocorre o estágio supervisionado. O critério para a participação na pesquisa foi estar devidamente matriculados e realizando o estágio supervisionado.

#### 2.4 Instrumentos e Procedimentos de Coleta de Dados

Na presente pesquisa foi aplicado questionário eletrônico via Google Forms, com perguntas direcionadas ao uso de materiais didáticos diante das práticas docentes, identificando sua contribuição, mudanças e inovações perante o ensino/aprendizagem de Ciências e Biologia. A coleta dos dados ocorreu no período de julho a agosto do ano de 2022.

#### 2.5 Aspectos Éticos e Legais da Pesquisa

Em um primeiro momento os discentes foram convidados a responder o formulário eletrônico via aplicativo Whatssapp, onde foi apresentado os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa. Posteriormente foi disponibilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), para aqueles que concordaram em participar voluntariamente deste estudo. Atendendo aos requisitos éticos e científicos versado nas resoluções de N°466/12 e N° 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde.

#### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente pesquisa foi realizada com alunos estagiários do V e IX do curso de Ciências Biológicas, a coleta de dados ocorreu a partir de questionário aplicado através do Google Forms de forma online. No geral, obtiveram-se as respostas de 14 discentes, com uma participação comumente equilibrada, sendo 50% do V semestre e 50% do IX semestre. Foi verificado que os alunos residem em diferentes localidades, como o município de Araripe- CE (35,7%), Campos Sales- CE (35,7%), Fronteiras- PI (28,57%), e Salitre- CE (7,14%).

Dos participantes da pesquisa, a maioria é do sexo feminino com cerca de 71,4%, e apenas 28,57% do sexo masculino, com idades variando entre 23 e 28 anos. Com relação ao estado civil 85,7% dos participantes são solteiros e 14,2% são casados, possuem uma renda familiar entre meio a um salário-mínimo. As escolas em que os estagiários realizaram a prática pedagógica pode ser observada no gráfico 1, apresentado a seguir.

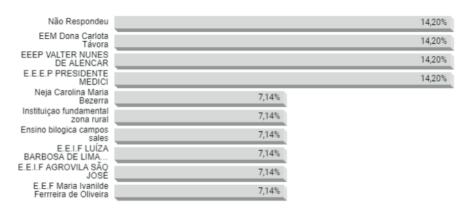


Gráfico 1 - Escolas escolhidas para realização do estágio dos participantes da pesquisa.

Fonte: Autora (2022)

Sobre a realização do Estágio Supervisionado tanto os discentes do V semestre quanto os do IX semestre, cumpriram essa prática em escolas da rede pública do ensino (100%). Vale ressaltar que as escolas públicas do Brasil, obtém uma maior carência com relação à estrutura física, devido à alta demanda de alunos ingressados, falta de espaço nas salas de aula, disponibilidade de matérias e recursos, diferentes das escolas privadas (MARTINS; MOURA, et al, 2018). Porém os esforços, dedicação e melhoramento na qualidade de ensino são vistos, sendo que á apensar um grau de dificuldade maior com relação à aplicação de metodologias que possam melhorar significativamente a aprendizagem

Em relação à estrutura física da escola, cerca de 42,8% dos participantes responderam que as escolas escolhidas para realização do estágio têm estrutura muito boa, 35,7% boa e 21,4% razoável. Diante dos fatos é nítida a importância de se ter um espaço educativo com estrutura física adequada, pois irá proporcionar conforto aos educandos, docentes e toda a gestão escolar.

De acordo com Monteiro e Silva (2015) a estrutura física e material nas escolas é fato preocupante, principalmente nas escolas públicas brasileiras, a superlotação em salas de aula, a falta de materiais metodológicos, tecnologias, o acesso à internet, organização, indisponibilidade ou inexistência de espaços, como laboratórios de informática, de ciências, física, química, bibliotecas, o acesso a livros didáticos, materiais de leitura, é algo que afeta diretamente e indiretamente a qualidade da educação. Pois a grande questão de se ter um espaço físico bem estruturado e acesso a estes insumos é incrementar e acrescentar algo diferenciado as aulas, dando ênfase a metodologias inovadoras ao professor e no processo de ensino e aprendizagem.

Ao questionarmos sobre a disponibilidade de recursos didáticos e a participação na prática docente interativa e dinâmica, 50% das escolas estão inteiramente integradas à

educação de forma interativa e dinâmica e 50% responderam que não. Tal fator nos leva a crer ser um percentual equilibrado, porém não se pode deixar de citar o quão importante é o apoio físico estrutural e material por parte das instituições no processo de ensino e aprendizagem significativa.

Silva (2015) reforça que os recursos didáticos são instrumentos atenuantes na prática pedagogia dos professores, os mesmos podem ser utilizados para ajudar no processo de conceituar e assimilar conteúdos, além, de tornar as aulas de forma mais interativas, e dinâmicas. Tais modelos podem ser usados como referência a uma imagem em que irá permitir o aluno concretizar uma ideia ou conceitos, sendo diretamente assimiláveis, fazendo que haja uma experimentação, levando aos estudantes relacionarem teoria e prática. Dessa maneira, além de compreender os conteúdos, os mesmos irão desenvolver habilidades, competências, atitudes e reflexões, a partir do conhecimento, trabalho em equipe, socialização e interação, diante da inovação metodológica em que se utilizam modelos didáticos.

Para tanto, quando as escolas se limitam na transformação e participação no processo de ensino/aprendizagem é consideravelmente preocupante, visto que o ensino se torna limitado e direcionado apenas ao livro didático. Contudo levando as raízes do ensino tradicional, em que não se tem a interação do aluno, apenas o professor fala sendo o único detentor do conhecimento, sendo algo programático baseado na memorização.

De acordo com os estudos de Nicolas e Paniz (2016) a partir da utilização dos recursos didáticos é possível contemplar os espaços deixados pelo ensino tradicional, pois além de expor os conteúdos de forma dinâmica, interativa e diferenciada, faz com que os alunos participem ativamente do processo de ensino e aprendizagem, favorecendo o desenvolvimento cognitivo, proporcionando meios de motivá-los e envolvê-los, assim tendo uma melhor compreensão e interpretação destes que estão sendo trabalhados.

Ao perguntarmos aos participantes em que nível de ensino eles consideram importante trabalhar com materiais metodológicos, 92,8% disseram ser importante trabalhar em todos os níveis de ensino e apenas 7,2% responderam apenas no Ensino Médio.

Avista disso, Araújo e Lima (2015) enfatizam que o processo de ensino e aprendizagem se inicia desde os anos iniciais, é na educação infantil que começa a formação da criança enquanto cidadão autônomo e crítico. Quando se destina a aprendizagem através do brincar, é possível dispor de desafios e questões com intuito de serem solucionadas, obtendo assim, incentivo para formulação de hipóteses diante dos problemas apresentados. Trabalhar atividades lúdicas em que possibilite a melhor assimilação dos conteúdos é de grande relevância. Todavia ainda de acordo com Araújo e Lima (2015) essa estimulação precisa ser constante e em todos os processos e níveis de ensino, com a finalidade de obter resultados de uma aprendizagem significativa.

Quando questionados sobre o que entendem de recursos e modelos didáticos no ensino de Ciências e Biologia e quais eles conhecem, destacam-se as seguintes respostas

"Os recursos são uma forma no qual se é possível aplicar outras formas de ensino além do recurso tradicional para fim de conseguir um melhor aproveitamento e rendimento no processo de aprendizagem dos alunos. Maquetes, jogos, aula de campo, vídeos e atividades práticas." Aluno A

"Os recursos Didáticos são de grande importância para a dinamização da aula para que não se torne monótona. Todos os recursos tecnológicos disponíveis são de grande valia, mas os experimentos, filmes, modelos didáticos confeccionados são os mais conhecidos e presentes." Aluno B

Quadro 1- Percepção dos participantes da pesquisa sobre o que entendem de recursos didáticos

Fonte: Autora (2022)

Observa-se que os participantes contribuíram de maneira semelhante ao destacar o quanto o uso desses instrumentos pode significar no processo de ensino/aprendizagem, além de demonstrarem conhecimento de fato dessas ferramentas. Pois, os recursos didáticos são maneiras de representatividade de conteúdos, ideias e conceitos, de forma mais palpável e visual, em que facilitam a compreensão no que se refere ao ensino de Ciências e Biologia, sendo notável que são disciplinas onde apresentam mais dificuldade na compreensão dos seus conteúdos abstratos, ou seja, a utilização desses modelos tridimensionais facilita o entendimento do aluno, permitindo a visualização de vários ângulos, a abstração de cores e a manipulação direta desses materiais, além da conciliação entre a teoria e prática, pressuposto as temáticas ensinadas. Têm-se como exemplo, jogos, maquetes, dinâmicas, oficinas, aulas de campo em que o aluno observa, relacionam, e obtém conhecimento, as aulas em laboratórios, aulas demonstrativas através das tecnologias avançadas, e muitas outras são as formas de se conseguir uma aprendizagem simplificada, interativa e participativa do educando, através dos recursos metodológicos (SILVA, 2021).

Também se tornou pertinente questionar a opinião dos participantes sobre achar importante ou não a utilização de materiais metodológicos para o melhoramento da qualidade de ensino, 92,8% disseram ser importante e apenas 7,2% disseram que não. Como justificativa da seguinte pergunta, destacam-se as seguintes respostas, apresentadas a seguir (quadro 2).

"O uso desses recursos possibilita uma aprendizagem mais dinâmica e significativa para o aluno. O mesmo passa a se sentir e tornar mais envolvido durante o processo de aprendizagem." Aluno C

"Os recursos auxiliam para que a aprendizagem ocorra de forma satisfatória. Os alunos passam a se envolver ainda mais nas atividades e isso gera uma interação maior." Aluno D

"Quando a teoria faz aliança com a pratica o ensino de torna mais enriquecedor, e os materiais didáticos são fortes aliados na construcão dessa alianca." Aluno E

**Quadro 2-** Percepção dos participantes da pesquisa sobre a importância dos recursos didáticos como alternativa para melhorar a qualidade de ensino.

Fonte: Autora (2022)

De fato, os participantes não cometeram equívocos em suas justificativas, pois são recursos que possibilitam a interação do aluno, o entendimento, à associação e a participação nas praticas de ensino, contribuindo significativamente a obtenção e apropriação dos conhecimentos.

A aprendizagem significativa na concepção de Grasselli e Gardelli (2014) é tida quando uma nova ideia, informação ou conceito, adquire significados para os estudantes a partir de conhecimentos preexistentes, estes apresentam características como clareza, estabilidade e diferenciação. Portanto a aquisição dos conhecimentos prévios dos alunos se faz extremamente importante para internalização e desenvolvimento cognitivo. Quando a relação entre teoria e prática, em que o mesmo pode vivenciar interagir, interpretar, participar, relacionar, argumentar, o entendimento consiste de maneira significante.

Conforme Borges e Alencar (2014) quando o professor passa incrementar na sua prática docente, modelos didáticos, recursos, experimentação, fazendo da sua metodologia monótona uma metodologia ativa, consequentemente irá favorecer na aprendizagem do aluno, pois é a partir desses estímulos que irão atuar como despertar da curiosidade, estimulação a tomadas de decisões tanto individuais como coletivas, instigar na busca do saber, fazer com que reflitam, posicionem-se de maneira crítica e pensante tanto no ambiente escolar como na própria sociedade.

Dessa forma, a realização de estratégias inovadoras através do uso de modelos tridimensionais permite uma relação e dialogo entre aluno/professor mais clara, em que facilita a compreensão de dúvidas, a troca de experiências, a participação e interação dos mesmos, tendo em vista, que constituem e influenciam diretamente na qualidade e melhoramento da aprendizagem (MORAES, 2016).

Ao indagarmos se durante o estágio de regência foi possível observar se a utilização de métodos de ensino diferentes do habitual em sala de aula são vistos de forma positiva ou negativa, 100% dos participantes observaram positividade nas aulas cuja utilização de métodos diferenciados na aplicabilidade de conteúdos. Sendo assim, o uso de instrumentos que facilitam a compreensão perante a temática aplicada é essencial, principalmente tratando-se do ensino de Ciências e Biologia, para demonstrar tal fato destaca-se logo abaixo a experiência dos estagiários participantes do presente estudo:

**Quadro 3-** Justificativa dos participantes quando indagados se os materiais didáticos foram vistos de forma positiva ou negativa em sala de aula.

Fonte: Autora (2022)

<sup>&</sup>quot;A proposta foi bem recebida pelos discentes e por ser algo fora do habitual, os mesmo ficaram maravilhados com toda a ornamentação. A utilização desses recursos mostra uma nova de ensinar e aprender aos alunos" Aluno F

<sup>&</sup>quot;Uma atividade nova sempre instiga os alunos a participarem das aulas e auxiliam para que os mesmo compreendam melhor os conteúdos e tenham uma aprendizagem mais significativa" Aluno G

É notório que o estudo dessas disciplinas se torna mais complexo, devido a tratase principalmente de conceitos abstratos e memorização de nomenclaturas difíceis, com isso há necessidade de atenção e reflexão maior perante os conteúdos, além disso, por ser caracterizada a conceitos, pode acarretar desinteresse dos alunos. Sabemos que os recursos didáticos apresentam caráter motivador, por fazer os alunos participarem de forma ativa no processo de ensino/aprendizagem, o material a ser usado, precisa promover e incentivar ao aluno a pesquisar e a buscar novos conhecimentos, tendo em vista, a instigar uma posição investigativa. A criação e produção de materiais metodológicos que desempenham a capacidade manual e cognitiva dos discentes estimularam a criatividade e habilidades educativas (ALMEIDA et al., 2020).

A utilização de recursos didáticos para além do livro didático como, jogos, maquetes, vídeos, filmes, slides, documentários, aulas de campo, aulas experimentais, dinâmicas, oficinas, entre outros, possibilitam aulas mais interativas, dinâmicas e participativas, assim, facilitando o melhor entendimento dos conteúdos e corroborando para uma aprendizagem significativa (ROCHA; RODRIGUES, 2018).

Avaliando as respostas dos estagiários do curso de Ciências Biológicas, com base na pergunta "se considerarem relevante tentar usar ou não os recursos didáticos em sala de aula novamente caso seus objetivos não tenham sido atingidos em sua primeira tentativa"? A maioria considera importante tentar novamente (92,8%) e a minoria prefere não tentar novamente (7,14%).

O processo na busca do conhecimento é contínuo, as informações se modificam com o tempo, é essencial que os licenciados saibam lidar com situações prazerosas de ensino, no sentido de se ter resultados positivos, como também, com as experiências negativas. Com isso, a formação inicial durante a prática pedagógica do estágio supervisionado é altamente relevante, pois é a partir desse momento que se obtém o contato direto com a escola, as experiências de uma sala de aula e o aprimoramento das suas metodologias de ensino, ou seja, os preparando para os desafios constantes da carreira docente (SCALABRIN, MOLINARI, 2013).

Souza et al. (2019) indicam que quando se trata do uso de recursos didáticos nas metodologias de ensino o docente precisa ter em mente, quanto a importância do planejamento, com relação ao estudo e análise de suas implicações, maneiras, formas e tempo de uso, organização, execução e observação sobre a interação dos alunos e aquisição dos conhecimentos. Os educadores tendem a verem, juntamente com seus estudantes que a utilização desses recursos possa vir melhorar aplicação dos conteúdos, considerando a interação dos mesmos com a temática e em sala de aula, contudo, deve servir como auxílio para que eles aprimorem, ampliem e construam seu próprio conhecimento. Dessa forma, o professor enquanto mediador deve estudar estratégias e a melhor forma possível de fazer uso desses insumos, em vista, da aprendizagem de forma mais interativa e dinâmica.

Sendo assim, o educando ao demostrar essa persistência na conclusão dos seus

objetivos é de suma importância, verifica-se que os mesmos estão cientes dos problemas que podem vir a ser enfrentados na sua carreira docente, e preparados para não desistir dos objetivos, caso haja, falha em algum momento.

Por último, questionamos aos alunos "quais dos instrumentos didáticos utilizados pelos professores considera mais importante para o ensino de Ciências e Biologia"? Verifica-se no gráfico 5 que diante das opções propostas 50% dos alunos indicam a experimentação como forma mais eficaz no processo de ensino/aprendizagem de Ciências e Biologia, seguida por aulas de campo com 37% as aulas de campo e jogos e dinâmicas com 7,14%.

Além disso pedimos para que os participantes justificassem as suas respostas, onde algumas estão destacadas no quadro 4 a seguir.

"A experimentação é de estrema importância para o ensino de biologia, pois os alunos passam a fazer uso dos conceitos vistos em sala." Aluno H

"Eu escolheria mais de um, mais a aula fora do ambiente escolar tem muito a se aprender w associar com a teria em sala. e assim relacionam com a prática e aprendem com a ação na prática." Aluno I

"O contato direto com o objeto estudado facilita a absorção da teoria. É importante aprender inseridos no meio que vivemos, não somente em 4 paredes sem contato com o real."Aluno J

**Quadro 4**-Percepção dos participantes sobre qual instrumento didático acha mais importante para o ensino de ciências e biologia

Fonte: Autora (2022)

Ressaltamos que todos os recursos podem ser utilizados no ensino de Ciências e Biologia, estes visam auxiliar e mediar as atividades em sala de aula a cerca do conhecimento científico. Faz-se necessário conhecer, selecionar cada material a ser usado, adequando-os aos conteúdos, ao público participante e os objetivos que desejam ser almejados para cada aula. Os recursos como modelos tridimensionais, microscópios, materiais de laboratório, coleções de plantas e animais, são de grande relevância para o ensino de ciências, pois eventualmente o professor faz a associação desses materiais aos conteúdos a serem trabalhados, como, demonstrações ou alguma atividade investigativa. Os insumos audiovisuais, imagens, vídeos, filmes, documentários, slides, apresentação 3D, possibilitam a especificidade da linguagem a ser combinada, a experimentação na prática, que propicia a visualização e o manuseio dos materiais, corrobora ao entendimento, associação e compressão dos conteúdos, que por sua vez apresentam uma maior complexidade (BUENO, FRANZOLIN, 2017).

Em meio às metodologias e estratégias de ensino apresentadas, destacam-se também os jogos didáticos, dinâmicas, oficinas, que contribuem na participação dos alunos de forma interativa tanto professor/aluno, como a interação social a partir do trabalho em equipe, despertam a criatividade, desenvolve o raciocínio lógico, fomenta a valores sociais, devidos às regras aplicadas, desperta a curiosidade para o conteúdo, entre outras. Ou seja, o aluno consegue aprender através do brincar, associando, construindo e interagindo,

perante a estes métodos de ensino, que consequentemente irão auxiliar de maneira positiva na aprendizagem significativa (ALENCAR et al., 2019).

A partir do momento que o docente utiliza os instrumentos didáticos como auxilio das suas metodologias de ensino, ele transfere os conhecimentos expostos no livro para realidade do aluno. Além de usá-los para aprimorar e aperfeiçoar suas aulas, o educador torna o ensino significante, acessível e ainda evita que suas aulas se tornem monótonas e rotineiras (SANTOS; BELMINO, 2013). Para tanto, é evidente que todos os recursos didáticos são importantes, cada um de certa forma contribui de maneiras diferentes no processo de ensino aprendizagem e o docente ao adotar essa prática metodológica preocupa-se inteiramente com melhoramento na qualidade do ensino, e na busca do conhecimento.

#### **41 CONCLUSÕES**

Verificou-se que os instrumentos didáticos podem contribuem de diversas maneiras na aprendizagem, a tornando significativa. Porém diversos problemas afetam diretamente na utilização de tais recursos didáticos, como: o comodismo do tradicionalismo, a falta de uma educação continuada para os professores, infraestruturas precárias, salas superlotadas, falta de insumos e espaços adequados, dentre outros. Apesar das dificuldades, concluímos ressaltando que a utilização dos recursos didáticos no processo de ensino/ aprendizagem é altamente relevante, pois através dessas ferramentas o professor pode inovar sua pratica pedagógica contribuindo significativamente no desenvolvimento cognitivo, social e cultural dos educandos.

#### **REFERÊNCIAS**

ALENCAR, G. M. et al. Utilização de jogos didáticos no processo de ensino-aprendizagem em biologia. Revista Areté Revista Amazônica de Ensino de Ciências, v. 12, n. 25, p. 216-226, jul. 2019.

ALMEIDA, J. S. et al. Utilização de recursos didáticos no ensino e aprendizagem de ciências biológicas: um aliado ao ensino. CONEDU- VII Congresso Nacional de Educação. Maceió-AL. 2020.

ARAÚJO, E. S.; LIMA, B. J. S. Utilização de jogos como recurso didático para o ensino de biologia. In: II CONGRESSO NACIONAL DE EDUCAÇÃO, Campina Grande, 2015.

BACICH, L.; MORAN, J. Metodologias ativas para uma educação inovadora: uma abordagem téorico-prática. E-PUB. Editora Penso: Porto Alegre, 2018.

BEZERRA, M. L. M. B. et al. Modelos didáticos tridimensionais e possibilidades para o ensino de Ciências e Biologia. Processo e Metodologias no Ensino de Ciências. Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.

BORGES, T. S.; ALENCAR, G. Metodologias ativas na promoção da formação crítica do estudante: o uso das metodologias ativas como recurso didático na formação crítica do estudante do ensino superior. Cairu em revista, v. 3, n. 4, p. 119-143, Jul/Ago, 2014.

BUENO, K. C.; FRANZOLIN, F. A utilização de recursos didáticos nas aulas de Ciências Naturais nos Anos Iniciais do Ensino Fundamental. XI Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências – XI ENPEC. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2017.

CAMARGO, F. F. A.; DAROS, T. A sala de aula digital: estratégias pedagógicas para fomentar o aprendizado ativo. Porto Alegre: Penso. 1. Ed. 2018. 184p.

FONSECA, J. J. S. Metodologia da pesquisa científica. Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Apostila para a disciplina de Metodologia da pesquisa científica. 2002.

GRASSELLI, E. C.; GARDELLI, D. O ensino da física pela experimentação no ensino médio: da teoria à prática. Cadernos PDE, v. 1, p. 1-21. Curitiba. 2014.

KAUARK, F. D. S. et al. Metodologia da Pesquisa: Um Guia Prático. Editora via litterarum, Itabuna / Bahia, 2010.

LAZZARONI, A. A.; TEIXEIRA, G. A. P. B. Construção e aplicação de um modelo tridimensional como recurso didático para o ensino de síntese proteica. Revista de Ensino de Bioquímica, v. 15, n. 2, 2017.

MARTINS, E. D. et al. O processo de construção do conhecimento e os desafios do ensinoaprendizagem. Revista on line de Política e Gestão Educacional. Araraquara, v.22, n.1, p. 410-423, 2018.

MARCONI, M. A.; LAKATOS, E. M. Fundamentos de metodologia científica. 7. ed. São Paulo: Atlas, 2003.

MORAES, T. S. Estratégias inovadoras no uso de recursos didáticos para o ensino de Ciências e Biologia. Dissertação (Mestrado em Gestão e Tecnologias Aplicadas à Educação) – Universidade do Estado da Bahia. Salvador, 2016.

MONTEIRO, J. S.; SILVA, D. P. A influência da estrutura escolar no processo de ensino-aprendizagem: uma análise baseada nas experiências do estágio supervisionado em Geografia. Geografia Ensino & Pesquisa, v. 19, n. 3, p. 19–28, 2015.

NICOLA, J. A.; PANIZ, C. M. A importância da utilização de diferentes recursos didáticos no ensino de biologia. Infor, Inov. Form. Rev. Nead-unesp, v. 2, n. 1, p.355-381, 2016.

PREFEITURA MUNICIPAL DE CAMPOS SALES- CE. Prefeitura de Campos Sales. O MUNICÍPIO. Dados do município. Disponível em: <a href="https://www.campossales.ce.gov.br/">https://www.campossales.ce.gov.br/</a>. Acesso em: 28 mar. 2022.

ROCHA, D. F.; RODRIGUES, M. S. Jogo didático como facilitador para o ensino de biologia no ensino médio. REVISTA CIPPUS – UNILASALLE, v. 8, n. 2, 2018.

SANTANA, T. P. Prática pedagógica tradicional e inovadora. Revista Espaço Acadêmico, v. 19, n. 216, p. 55-62, 2019.

SANTOS, O. K. C.; BELMINO, J. F. B. Recursos didáticos: uma melhoria na qualidade da Aprendizagem. Docplayer, 2013. Disponível em: <a href="https://docplayer.com.br/6373506-Recursos-didaticos-uma-melhoria-na-qualidade-da-aprendizagem.html">https://docplayer.com.br/6373506-Recursos-didaticos-uma-melhoria-na-qualidade-da-aprendizagem.html</a>. Acesso em: 01 jun. 2022.

SILVA, I. C. S. et al. As Novas Tecnologias e aprendizagem: desafios enfrentados pelo professor na sala de aula. Revista Em Debate, v. 16, p. 107-123, 2016.

SILVA, A. C. M. et al. A importância dos recursos didáticos para o processo ensino-aprendizagem. Arquivos do Mudi, v. 21, n. 2, p. 20-31, 2017.

SILVA, G. G. M. A importância dos modelos didáticos em ciências biológicas: uma breve revisão bibliográfica. XIII Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências – XIII ENPEC EM REDES. 2021.

SOUZA, S. S. et al. A utilização de maquetes enquanto recurso didático nas aulas de geografia no 6° ano. VII- ENID- Encontro De Iniciação a Docência da UEPB/CAPUS. Guarabira/PB. 2019.

SOUZA, K. A. O. et al. "DOMINÓ GEOMÉTRICO": uma ferramenta lúdica para o ensino de química sobre geometria dos pares de elétrons e geometria molecular. Scientia Naturalis, v. 2, n. 1, p. 293-311, 2020.

SCALABRIN, I. C.; MOLINARI, A. M. C. A importância da prática do estágio supervisionado nas licenciaturas. Revista Unar, v. 7, n. 1, p. 1-12. Araras, 2013.

UCHOA, P. do N. A importância do estágio supervisionado para a formação docente: um relato de experiência. Revista Didática Sistêmica, [S. I.], v. 17, n. 2, p. 43–57, 2016. Disponível em: https://periodicos.furg.br/redsis/article/view/5562. Acesso em: 09 jun. 2022.

#### **CAPÍTULO 10**

## RELATO DE EXPERIÊNCIA: O USO DE GLOSSÁRIO NA DISCIPLINA DE PALEONTOLOGIA

TIC's.

Data de aceite: 01/09/2023

Ana Carolina Pereira de Jesus
Camila Cristina Sousa Gomes
Francisco Gustavo Ibiapina de Morais
Jessica da Silva Teixeira
Kerolayne Lopes da Costa
Rafaela Pamella de Meneses Santos
Ruth Raquel Soares de Farias

RESUMO: O glossário é uma ferramenta valiosa ensino nο processo de aprendizagem, pois desempenha um papel fundamental na compreensão e retenção de informações. Sendo assim, o glossário desempenha um papel essencial na disciplina de Paleontologia, fornecendo uma metodologia de ensino eficaz que facilita a compreensão dos termos e conceitos fundamentais desta área científica. Com base nisso, o presente trabalho tem como objetivo relatar a experiência de seis alunos que fizeram a construção de um glossário durante a disciplina de Paleontologia, do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Piauí - Campus

Heróis do Jenipapo, localizado no município de Campo Maior-PI. As TIC's foram o principal recurso usado pela maioria, e, ao longo do percurso da leitura, será possível observar como se procedeu o desenvolvimento e as dificuldades que cada um teve na construção de seus materiais.

PALAVRAS-CHAVE: Educação. Biologia.

## EXPERIENCE REPORT: THE USE OF GLOSSARY IN PALEONTOLOGY SUBJECT

ABSTRACT: The glossary is a valuable tool in the teaching and learning process, as it plays a key role in understanding and retaining information. Therefore, the glossary plays an essential role in the discipline of Paleontology, providing an effective teaching methodology that facilitates the understanding of the fundamental terms and concepts of this scientific area. Based on this, the present work aims to report the experience of six students who built a glossary during the course of Paleontology. of the Biological Sciences course at the State University of Piauí - Campus Heróis do Jenipapo, located in the municipality of Campo Major-PI. ICT's were the main resource used by the majority, and, throughout the course of the reading, it will be possible to observe how the development proceeded and the difficulties that each one had in the construction of their materials.

KEYWORDS: Education. Biology. ICT's.

## RELATO DE EXPERIENCIA: EL USO DEL GLOSARIO EN LA ASIGNATURA DE PAI FONTOLOGÍA

**RESUMEM:** El glosario es una herramienta valiosa en el proceso de enseñanza y aprendizaje, ya que juega un papel clave en la comprensión y retención de la información. Por tanto, el glosario juega un papel fundamental en la disciplina de la Paleontología, proporcionando una metodología didáctica eficaz que facilita la comprensión de los términos y conceptos fundamentales de esta área científica. Con base en eso, el presente trabajo tiene como objetivo relatar la experiencia de seis estudiantes que construyeron un glosario durante el curso de Paleontología, de la carrera de Ciencias Biológicas de la Universidad Estadual de Piauí - Campus Heróis do Jenipapo, ubicado en el municipio de Campo Major- PI. Las TIC's fueron el principal recurso utilizado por la mayoría, ya lo largo de la lectura se podrá observar cómo fue el desarrollo y las dificultades que cada uno tuvo en la construcción de sus materiales.

PALAVRAS-CHAVE: Educación. Biología. TIC.

#### 1 I INTRODUÇÃO

O glossário é uma ferramenta valiosa no processo de ensino e aprendizagem, pois desempenha um papel fundamental na compreensão e retenção de informações. Composto por um conjunto de definições e explicações de termos específicos, além disso, oferece aos estudantes uma referência rápida e acessível durante seus estudos (LAI; HSU, 2018).

Ainda de acordo com Lai e Hsu (2018), geralmente, as disciplinas educacionais contêm uma terminologia específica que pode ser desconhecida pelos alunos. Ao fornecer definições claras e concisas dos termos utilizados, o instrumento auxilia na superação dessa barreira, permitindo que os estudantes compreendam plenamente os conceitos abordados.

Sendo assim, o glossário desempenha um papel essencial na disciplina de Paleontologia, fornecendo uma metodologia de ensino eficaz que facilita a compreensão dos termos e conceitos fundamentais desta área científica, já que se trata de uma ciência interdisciplinar que envolve o estudo dos fósseis e da história da vida na Terra. Os estudantes nessa disciplina são frequentemente confrontados com terminologia técnica e específica que pode ser desafiadora. O uso dessa metodologia contribui para superar essa dificuldade, fornecendo definições claras e concisas dos termos utilizados (DALTON; SRIMORAGOT, 2017).

A Paleontologia envolve uma variedade de campos, como taxonomia, evolução, estratigrafia e paleoecologia, cada um desses possui sua própria terminologia, que pode ser confusa para os alunos iniciantes. Ao utilizar um glossário, os estudantes têm acesso a

definições precisas e compreensíveis, permitindo que eles compreendam completamente os termos e desenvolvam uma visão mais completa das diferentes áreas desta área em questão (WHITE; MCNEILL, 2012).

Portanto, essa ferramenta educacional contribui para uma comunicação clara e efetiva entre alunos e professores. Ao estabelecer uma base comum de terminologia, o glossário evita mal-entendidos e promove uma comunicação mais precisa e coerente. Os professores podem fazer referência ao glossário durante as aulas, garantindo que os alunos estejam familiarizados com os termos relevantes e criando um ambiente de aprendizagem mais produtivo (FREITAS; SANTOS, 2016).

O objetivo deste trabalho é demonstrar como o glossário pode facilitar a compreensão dos conceitos e termos específicos da Paleontologia, contribuindo para o desenvolvimento do conhecimento dos alunos, a consolidação do vocabulário técnico-científico e o estímulo à pesquisa independente.

O trabalho busca apresentar resultados concretos e experiências práticas que demonstram a importância do uso do glossário como recurso pedagógico na disciplina de Paleontologia, além de investigar e apresentar os benefícios e impactos do uso de um glossário como metodologia de ensino nessa disciplina.

#### 21 MÉTODO

Este trabalho tem como fundamento o relato das experiências de seis alunos graduandos do curso de Ciências Biológicas na Universidade Estadual do Piauí-UESPI. Durante a disciplina de Paleontologia, fomos estimulados pela professora a criar um glossário com termos e conceitos com os quais nunca tínhamos tido contato ao longo das aulas.

A metodologia adotada para a elaboração deste projeto consistiu na aplicação de um questionário, com o objetivo de coletar informações sobre a experiência dos seis alunos durante o processo de desenvolvimento do glossário. O questionário aplicado consiste em quatro perguntas relacionadas aos aspectos positivos e negativos da produção do glossário, detalhando o processo de desenvolvimento, identificando as principais dificuldades enfrentadas e analisando como a construção do glossário contribuiu para o aprendizado na disciplina de Paleontologia.

Para garantir uma melhor organização do projeto e seguir os princípios éticos, decidimos identificar os participantes por meio de nomes de animais. Dessa forma, escolhemos os seguintes nomes: Morcego, Canário, Borboleta, Beija-flor, Libélula e Joaninha.

De acordo com Sousa (2020), sustenta-se a perspectiva de que as tecnologias digitais desempenham um papel fundamental nas mudanças sociais, apresentando um potencial significativo para impulsionar e integrar uma proposta educacional robusta.

Reconhece-se a capacidade dessas tecnologias em aprimorar os processos pedagógicos e despertar o interesse das novas gerações em formação, devido ao fascínio exercido pelo mundo digital sobre elas.

Dessa forma, dois dos seis estudantes, chamados de Morcego e Canário, decidiram utilizar a plataforma digital *Canva* para criar o glossário. Eles ressaltaram que o *Canva* é uma ferramenta online muito acessível e, por esse motivo, é bastante popular no ambiente escolar. Ao utilizar a plataforma, os usuários têm acesso a uma ampla variedade de designs prontos e criativos, que podem ser facilmente adaptados para atender às suas necessidades específicas.

Ao criar o glossário utilizando a ferramenta digital *Canva*, o participante Morcego preferiu utilizar o design pré-existente disponível na plataforma, mas fez algumas modificações para adequá-lo à disciplina de paleontologia. Durante o processo de elaboração, foram aproveitados recursos já disponíveis, como elementos, caixas de texto e uma paleta de cores. Ao fazer uso dessa ferramenta no desenvolvimento do projeto, Morcego teve a oportunidade de criar um design único, alinhado com sua visão imaginada, e realizar várias modificações ao longo do processo.

O modelo escolhido para a construção do glossário foi um formato de livreto. O processo teve início com a produção da capa, que particularmente foi a parte mais demorada do projeto. Após finalizar a capa, deu-se início à produção da página central do glossário, que servirá para inserir o conteúdo correspondente às letras do alfabeto, abrangendo todas as letras de A a Z. Essa página central foi duplicada várias vezes antes de adicionar as palavras do glossário, visando economizar tempo e facilitar o progresso do projeto.

Para uma maior organização das palavras, foi criado um modelo de desenvolvimento específico na construção desta atividade. Antes de incluir as palavras correspondentes às letras, foram adicionadas duas páginas para destacar diferentes espécies de dinossauros. A cada duas palavras, uma espécie de dinossauro foi mencionada. Por exemplo, em uma página, havia uma imagem do dinossauro *Tyrannosaurus Rex* com as letras A e B acima. Na página seguinte, uma breve descrição sobre o *Tyrannosaurus Rex* era apresentada, e na outra página seguinte estava o glossário com os conceitos relacionados às letras A e B. Esse modelo de desenvolvimento foi seguido até o final do glossário.

Após concluir essa etapa, foram adicionados os termos já pesquisados e retirados dos documentos impressos fornecidos pela professora ao longo das aulas de paleontologia, assim como pesquisas no *Google*, foram adicionados ao glossário. Como mencionado anteriormente, esse projeto foi iniciado a pedido da professora, que solicitou aos alunos a construção de um glossário com palavras relacionadas ao contexto da Paleontologia, palavras com as quais os alunos não tinham conhecimento prévio, ou seja, não estavam familiarizados. Além disso, uma pequena página de apresentação foi criada para explicar o propósito do desenvolvimento desse glossário. O trabalho foi bem desenvolvido e estruturado de forma muito satisfatória, seguindo as orientações propostas pela professora

da disciplina.

Por outro lado, a participante Canário não apenas utilizou recursos pré-existentes disponíveis na ferramenta, mas também optou por adicionar um diferencial ao utilizar uma imagem encontrada no aplicativo *Pinterest* como plano de fundo, escolhendo uma imagem relacionada à Paleontologia.



Fonte: Pinterest

Após a escolha do formato, ela deu início à criação da capa e, em seguida, elaborou uma página para a apresentação inicial do glossário. Posteriormente, várias outras páginas foram duplicadas, mantendo o mesmo plano de fundo, e em cada uma delas foi inserida uma letra do alfabeto de A a Z. Além disso, cada página foi numerada sequencialmente.

Logo após essa etapa, deu-se início à inserção dos conceitos correspondentes a cada letra. É importante destacar que foi adotado o mesmo processo utilizado pelo participante Morcego para coletar as informações do glossário. Embora tenha havido dificuldade na busca por nomenclaturas relacionadas a cada uma das letras, ao final, obteve-se um resultado satisfatório para o material, como pode ser observado nas imagens abaixo.







Fonte: Própria

As estudantes identificadas como Borboleta e Beija-flor, escolheram o aplicativo *Word* para a produção do glossário. É importante destacar que o aplicativo criado pela Microsoft apresenta várias ferramentas e de fácil manuseio, possibilitando ser utilizado por vários públicos. O *word* apresenta uma vasta possibilidade de criar e formatar os seus documentos com temas, revisar o trabalho com controlar alterações; refinar as suas palavras com revisores de texto como o editor (MICROSOFT, 2023).

As discentes escolheram as palavras através de materiais utilizados pela professora da disciplina de paleontologia e o critério utilizado para a seleção das palavras foi realizado através do desconhecimento das mesmas. Com base nas palavras escolhidas foi realizada a organização em ordem alfabética abrangendo todas as letras de A a Z e em seguida iniciamos a pesquisa bibliográfica em diversas fontes.

Posteriormente, foi realizada a seleção e a busca das fotografias com base no significado das palavras. Com a obtenção das definições e suas respectivas fotografias, o conteúdo foi organizado no formato de *e-book*, contendo capa e sumário e organizado por quadros com suas respectivas letras. O sumário foi organizado por letras alfabéticas. O glossário em forma de *e-book* será disponibilizado gratuitamente na internet.

O estudante de Libélula escolheu divulgar seu instrumento através de um site em formato de *blog,* para tanto, foi utilizado o site do *Blogger* em *www.blogger.com,* onde é necessário realizar um login com a conta do *Google.* Após fazer login, o usuário é redirecionado para o painel do *Blogger,* onde há a opção do botão "Criar novo *blog*" para iniciar o processo de criação do *blog.* 

Na página de criação do *blog*, é solicitado o título do *blog* e um endereço virtual. O *Blogger* oferece uma variedade de modelos de design, neste caso, a estudante Libélula escolheu imagens e temas relacionados à paleontologia, realizou postagens relacionados ao tema, e incluiu o glossário de paleontologia, previamente feito através dos textos disponibilizados pela professora ministrante durante a disciplina.

Esta metodologia foi escolhida pois os *blogs* são facilmente acessíveis pela internet, permitindo que os alunos encontrem informações atualizadas de forma rápida e conveniente. De acordo com Techio *et al*, (2021), os blogs além de possuírem maior e fácil acesso do que os livros físicos, permitem que os alunos encontrem informações atualizadas de forma rápida e conveniente.

Por fim, a última estudante identificada por Joaninha escolheu desenvolver seu glossário utilizando a ferramenta digital *padlet*.

O padlet é uma espécie de mural interativo, que permite com que as pessoas possam postar textos, imagens, e vídeos que vão de alguma forma contribuir e facilitar no processo de entendimento relacionado a determinado assunto, na maioria dos casos o padlet é bastante usado na educação, pois torna a aprendizagem dos alunos mais interessante, dinâmica e irá despertar a curiosidade deles e estimulá-los. (MOTA; MACHADO; CRISPIM, 2017).

O desenvolvimento do glossário foi feito da seguinte forma: Primeiramente para começar a desenvolver o glossário nessa ferramenta é preciso entrar no site https://pt-br.padlet.com/auth/signup?referrer=https%3A%2F%2Fpt-br.padlet.com%2Fdashboard que é o site oficial do *padlet*, e criar uma conta na plataforma.

Para o glossário foi escolhido o formato de mural na plataforma. No mural é possível colocar todas as letras do alfabeto uma ao lado da outra e embaixo de cada letra as palavras e os significados correspondente para aquela palavra. E caso queira ainda é possível colocar imagens, vídeos ou gifs que com certeza possibilita um melhor entendimento dos conceitos.

Após escolher o formato, chegou a hora de começar a desenvolver o glossário. Primeiro todas as letras do alfabeto foram colocadas no mural, logo depois foi escolhido uma imagem que representasse a paleontologia, essa imagem serviria como plano de fundo e também foi feito uma breve apresentação do glossário.

Por fim, é o momento de distribuir as palavras e seus conceitos em cada letra do alfabeto, é importante ressaltar que a maioria dessas palavras e conceitos que foram utilizadas no glossário foram tiradas de documentos impressos que os participantes receberam da professora ao decorrer da disciplina. E assim, chegamos ao resultado final do glossário produzido no *padle*t, a imagem abaixo nos mostra uma visão geral de como ficou a organização do glossário e como podemos ver a estudante foi capaz de encontrar diversas palavras, juntamente com os seus significados e utilizou de imagens para melhorar o entendimento de algumas. Logo abaixo, será possível ver o resultado final do glossário.



Imagem: Resultado final do glossário desenvolvido pela estudante Joaninha.

Fonte: Própria

O padlet é uma ferramenta bem dedutiva, e de fácil utilização quem decide utilizá-la seja em sala de aula ou de outras formas não terá tanta dificuldade. E com certeza será uma ferramenta bastante útil.

Após a construção dos glossários, os estudantes responderam perguntas relacionadas a essa ferramenta, que em seguida foram catalogadas e discutidas com a literatura científica atual.

#### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para promover uma maior clareza na organização dos resultados, foi adotado um quadro síntese que engloba questões relacionadas à elaboração do glossário. Neste quadro, os alunos contribuíram compartilhando suas respostas, enriquecendo o debate com seus pontos de vista e experiências individuais. A seguir, apresentamos uma síntese das perguntas feitas aos alunos e suas respectivas respostas, todas elas relacionadas à vivência durante o desenvolvimento do glossário (Quadros 1, 2, 3 e 4).

### 1. Que métodos você utilizou para a construção do glossário?

Morcego - Foram utilizados materiais impressos fornecidos pela professora em sala de aula, nos quais pude extrair as palavras necessárias para a produção do glossário. Esses materiais foram uma fonte valiosa de informações que me auxiliaram no processo de criação do glossário por meio da ferramenta digital *Canva*.

Canário - Para a construção do glossário, utilizei dos materiais impressos entregues pela professora em sala de aula para a gente fazer leituras, onde de cada um desses materiais, eu conseguia retirar palavras, como também utilizei de pesquisas de alguns termos através do *Google*.

Borboleta-Para a construção do glossário, utilizei os materiais impressos entregues pela professora em sala de aula. Utilizei o aplicativo *Word* e ilustrações retiradas da internet para demonstrar o que a palavra significava.

Beija-flor- Bom, foi trabalhoso e um pouco complexo, pois tinha que pesquisar os significados dos nomes, como também legal em aprender muitas palavras e o que significa.

Libélula- Para desenvolver o glossário, utilizei as referências e textos disponibilizados pela professora e grifei os termos que não conhecia, que foram muitos! Depois procurei o significado e montei o instrumento. Já para a divulgação, pensei que os estudantes atualmente não procuram livros em biblioteca, eles procuram sites e blog, então, fiz um blog com a temática, coloquei postagens interessantes com relação ao tema e o glossário de paleontologia.

Joaninha- Para que fosse possível desenvolver o glossário, foram utilizados alguns materiais impressos tais materiais foram todos disponibilizados pela professora da disciplina e foi por meio da leitura deles que foi possível encontrar palavras e conceitos relacionados à paleontologia. E para a construção do glossário fiz a utilização da ferramenta digital padlet, nela desenvolvi um glossário estilo mural.

Quadro 1 - Síntese da primeira pergunta: Método utilizado na construção do glossário pelos alunos.

Quando os alunos foram questionados sobre "Que métodos você utilizou para a construção do glossário?" (Quadro 1). Foi possível perceber que foram utilizados aplicativos tecnológicos para a construção do glossário, sendo eles: *canva*, *padlet* e também o aplicativo *word*. Segundo Maquiné; Coelho; Figueiredo (2020), a introdução das ferramentas digitais estão cada vez mais sendo usadas, considerando que devido a pandemia, viemos de um período em que a imersão das tecnologias nas atividades cotidianas estão cada vez mais frequentes.

Os avanços que transcorreram na última década no campo das tecnologias e as apropriações dessas mudanças nos meios de comunicação promoveram transformações na sociedade em escala global (SOUZA *et al.*, 2021).

É notório que a internet, juntamente com as ferramentas de autoria digital, permite cada vez mais a criação e a construção de materiais que visem suprir as necessidades de propagação de conteúdo. Desse modo, cabe aqui ressaltar que na grande maioria das vezes não é necessário dominar a linguagem de programação para a construção de ferramentas que possam ajudar no desenvolvimento de um conteúdo digital (SLODKOWSKI et al., 2019).

A propagação do conhecimento deve acompanhar a tecnologia, pois a cada período o ensino vem atrelado com a tecnologia. O *Blog* e o *Padlet* são exemplos de aplicativos que ao serem compartilhados tornam-se a propagação de conteúdo com maior eficácia. O *Canva* é o *Word* como um aplicativo de criação de conteúdo que não fica de fora, visto que, ao criar o conteúdo pode está sendo compartilhado nas redes sociais por e-book e em meios de comunicação.

Quais pontos positivos e negativos da produção de glossário?	Morcego - Como ponto positivo, destaca-se o fato de que o glossário contribuiu para a ampliação do conhecimento do participante em relação à paleontologia, abordando aspectos que ele nunca havia visto antes. Através do desenvolvimento desse documento, ele foi capaz de compreender a abrangência dessa disciplina. No entanto, como ponto negativo, enfrentou dificuldades na coleta, pesquisa e redação das definições de maneira clara e precisa, o que demandou um trabalho árduo e um tempo significativo de dedicação.
	Canário - Os pontos positivos foram os conhecimentos adquiridos a respeito de outras palavras relacionadas a Paleontologia que não eram tão conhecidas, bem como a construção de um material que pode, futuramente, servir como um recurso de pesquisa para outros estudantes e até mesmo para professores. Um ponto negativo mesmo é somente pelo fato de não encontrar com tanta facilidade palavras de A a Z.

	Borboleta- Os pontos positivos: incentivo a leitura e a escrita; obter conhecimento do significado de diversas palavras; desenvolvimento da linguagem; enriquecimento do vocabulário.  Sem pontos negativos, pois o glossário só contribui para o desenvolvimento pessoal e intelectual.
	Beija-flor- Pontos positivos são os significados interessantes que podemos encontrar como também aprender mais sobre o assunto. Ponto negativo são a dificuldade em encontrar alguns significados e algumas palavras que não são encontradas com a letra que precisava.
	Libélula - O ponto positivo foi que o glossário atualmente está disponível facilmente por todos na internet, já o negativo é que para a sua criação é necessário um certo domínio de programação de internet, o que dificulta.
	Joaninha- Os pontos positivos com certeza foram com relação a compreender mais a respeito de alguns termos da paleontologia, termos que às vezes eram complicados. Os negativos podemos citar com relação a encontrar palavras para todas as letras do alfabeto.

**Quadro 2 -** Síntese da segunda pergunta: Pontos positivos e negativos mencionados pelos alunos na produção do glossário.

Ao analisar o segundo questionamento a respeito dos pontos positivos e negativos com a seguinte pergunta norteadora "Quais pontos positivos e negativos da produção de glossário?" (Quadro 2) Observou-se que a maioria dos participantes responderam afirmando que esse tipo de material traz a cada um uma ampla visão de conhecimentos a respeito da Paleontologia por meio da busca e pesquisa de novas palavras e seus respectivos significados.

Quanto aos pontos negativos, pode-se perceber que ocorreu devido à coleta de pesquisa, a dificuldade para encontrar alguns termos, bem como ao manuseio de algumas das ferramentas digitais já citadas, como no caso da construção do blog.

Segundo Moura *et al.* (2018), o papel do professor antigamente era somente de ser um repassador de informações, na qual os estudantes estavam apenas acostumados a ter tudo pronto e dessa forma, serem disciplinados sem ter consciência crítica. Porém, na atualidade, o papel do professor se reverte, uma vez que o foco dele tem de ser fazer com que seus alunos desenvolvam a criatividade e tenham a possibilidade de se tornarem autônomos do próprio saber.

Sabemos que com o avanço da tecnologia os estudantes estão cada vez mais desenvolvidos a realizar pesquisas, bem como fazer o manuseio desses novos meios tecnológicos que auxiliam no processo de ensino-aprendizagem (MOURA *et al.*, 2018).

### 3. Qual foi sua maior dificuldade ao desenvolver esse glossário?

Morcego - Uma das dificuldades encontradas foi no momento inicial de criar o design no aplicativo, buscando uma abordagem que estivesse diretamente relacionada à disciplina em questão, bem como encontrar as palavras adequadas para incluir no glossário.

Canário - Encontrar palavras que correspondem a maioria das letras do alfabeto.

Borboleta-Conseguir encontrar imagens que mostram o significado das palavras.

Beija-flor- Completar cada letra com o maior número de palavras possíveis acerca o assunto

Libélula- Foi o domínio de programação de internet.

Joaninha- A maior dificuldade foi encontrar palavras para todas as letras do alfabeto.

**Quadro 3 -** Síntese da terceira pergunta: Maior dificuldade relatada pelos alunos na produção do glossário.

Nota-se que todos os alunos utilizaram as Tecnologias da Informação e Comunicação (TIC) (Quadro 3), que atualmente desempenham um papel cada vez mais importante na educação, trazendo inúmeras vantagens e oportunidades para alunos, professores e instituições de ensino, e por ser um campo relativamente novo, encontraram dificuldades no manuseio destas ferramentas.

Segundo Ladeira (2022), as TIC oferecem acesso a um vasto leque de informações e recursos educacionais. Através da internet, por exemplo, alunos e professores podem ter acesso a conteúdo de qualidade, livros digitais, vídeos educativos, artigos científicos e uma infinidade de materiais que enriquecem o ensino. Foi observado pelos estudantes que essas tecnologias ampliam as possibilidades de aprendizagem, os permitindo explorar diferentes perspectivas e abordagens, além de desenvolverem habilidades de pesquisa e autonomia.

Além disso, essas ferramentas facilitam a comunicação e a colaboração entre alunos, professores e instituições de ensino. Plataformas de aprendizagem online, fóruns de discussão, videoconferências e redes sociais educacionais permitem a troca de ideias, o compartilhamento de conhecimentos e o trabalho em equipe, independentemente da distância física entre os participantes. Isso promove a interação e a cooperação, estimulando o engajamento dos alunos e criando um ambiente de aprendizagem mais dinâmico e participativo (BAXTO; CARNEIRO, 2023).

Evidencia-se, através desta experiência, que as TIC oferecem oportunidades de personalização e adaptação do ensino às necessidades individuais dos alunos, observado neste relato através das diferentes abordagens utilizadas nas construções dos glossários.

As tecnologias também têm o potencial de reduzir as barreiras educacionais,

tornando o ensino mais inclusivo e acessível a todos, auxiliando no atendimento de alunos com necessidades educacionais especiais, oferecer recursos de acessibilidade, como legendas em vídeos e leitores de tela, e possibilitar o ensino a distância, o que é especialmente relevante em contextos de pandemia ou em regiões geograficamente remotas. Dessa forma, as TIC contribuem para a democratização do acesso à educação, promovendo a igualdade de oportunidades (BATISTA, 2020).

Apesar das TIC's serem de suma importância para auxiliar na educação, Martines *et al.* (2018) mencionam que a maioria dos cursos de licenciatura não oferece uma formação que possa ajudar o professor a ter conhecimento sobre as tecnologias digitais. No entanto, a informática é um recurso bastante importante, pois por meio dela o educador consegue ter um avanço na qualidade de ensino, e ser um diferencial no âmbito escolar.

## 4. Como a construção do glossário contribuiu para a aprendizagem da disciplina de paleontologia?

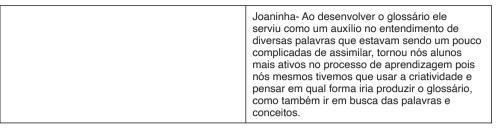
Morcego - Essa atividade desempenhou um papel significativo no meu processo de aprendizado. Ao realizar a coleta e pesquisa das definições das palavras de forma clara, fui capaz de compreender o verdadeiro significado das palavras e o contexto em que são utilizadas no campo da paleontologia. Isso resultou em uma maior assimilação dos conceitos e na consolidação do meu conhecimento na área. Dessa forma, a elaboração do glossário contribuiu diretamente para o meu desenvolvimento acadêmico e para uma compreensão mais profunda do tema.

Canário - A construção desse material acarretou numa aprendizagem significativa de conhecimentos a respeito de várias novas palavras descobertas relacionadas à paleontologia, de forma a ter um material próprio sempre disponível para futuras pesquisas e também conhecer os significados delas.

Borboleta- A construção do glossário contribuiu de forma significativa para a aprendizagem de várias palavras pertencentes a disciplina de paleontologia e as ilustrações colocadas no glossário facilitaram o entendimento dos significados das palavras.

Beija-flor- Com o significado das palavras fica de melhor compreensão alguns assuntos na paleontologia.

Libélula -A disciplina de paleontologia possui um vocabulário único e específico, com muitos termos técnicos e científicos distantes, o glossário me ajudou a entender e me familiarizar com esses termos, facilitando a comunicação e a compreensão dos conceitos fundamentais da paleontologia.



**Quadro 4 -** Síntese da quarta pergunta: Contribuições que a construção do glossário proporcionou para a aprendizagem dos alunos na disciplina de Paleontologia.

Com relação à última pergunta, os alunos quando questionados sobre " Como a construção do glossário contribuiu para a aprendizagem da disciplina de paleontologia?" (Quadro 4). Foi possível perceber que todos os quatro alunos falaram a respeito de como compreender e assimilar as palavras e seus conceitos os ajudaram na construção do conhecimento.

Sabemos que a disciplina de paleontologia é uma disciplina que engloba muitas palavras que às vezes se tornam complicadas de entender e que na maioria das vezes são científicas, e isso está de acordo com o que Mertins *et al.* (2017) explicam que quando o aluno vai aprender ciências ou outra disciplina isso requer o aprendizado de novas palavras e isso vai ajudar a construir uma linguagem científica e por isso é interessante que os alunos estejam sempre envolvidos em atividade que coloquem a leitura e a escrita como focos pois isso os ajudará a compreender e assimilar determinadas palavras.

E isso também está totalmente ligado com o que Oliveira *et al.* (2016) esclarecem que é muito importante ter um bom entendimento do que se está lendo para que assim seja possível compreender de forma clara e assim construir o seu conhecimento com relação ao que está sendo estudado.

#### 41 CONSIDERAÇÕES

Ao concluirmos essa atividade, podemos refletir sobre a importância de os alunos assumirem o papel principal em seu próprio desenvolvimento educacional. Muitas vezes, os estudantes estão acostumados a receber tudo pronto, sem uma participação significativa na construção de sua própria forma de aprendizado. No entanto, ao criar esse glossário para a disciplina de paleontologia, foi possível promover o crescimento da autonomia dos alunos, incentivando a criatividade e o pensamento crítico em sua busca pelo conhecimento.

As perguntas fornecidas como diretrizes foram de grande relevância para verificar como cada aluno abordou o trabalho e quais dificuldades enfrentaram ao longo do processo. Essa abordagem, orientada pela professora da disciplina, foi inovadora e diferente, e, inicialmente, pode ter causado algum receio devido aos desafios que surgiram. No entanto, essa metodologia abriu oportunidades para que os alunos pudessem demonstrar suas

habilidades práticas e criativas, além de enriquecer seu aprendizado ao explorarem o uso de ferramentas digitais.

Essa experiência revelou-se uma grande descoberta, não apenas pela aprendizagem das novas palavras e seus respectivos significados, mas também pelo desenvolvimento de competências essenciais para a vida, como a capacidade de pesquisar, analisar informações e expressar ideias de forma clara e concisa. Ao permitir que os alunos se tornassem protagonistas de seu próprio aprendizado, a atividade proporcionou uma oportunidade valiosa para o crescimento pessoal e acadêmico.

Nesse sentido, é imprescindível valorizar o incentivo à autonomia dos alunos em sua jornada educacional. Ao se tornarem autores principais de seu desenvolvimento, eles aprendem a lidar com desafios, a desenvolver sua criatividade e a buscar maneiras eficazes de aprender. Essa abordagem, combinada com o uso de recursos digitais, torna-se uma ferramenta poderosa para promover um aprendizado significativo e duradouro.

Portanto, podemos concluir que essa proposta de trabalho, embora inicialmente desafiadora, revelou-se extremamente benéfica para os alunos. Ao promover a participação ativa dos estudantes, incentivando a criatividade e o pensamento crítico, e ao possibilitar o uso das ferramentas digitais como meio de aprendizado, essa atividade enriqueceu o processo educacional e contribuiu para o crescimento dos alunos como indivíduos autônomos e preparados para os desafios do mundo atual.

#### **REFERÊNCIAS**

BATISTA, F. E. A. O uso das TIC na educação básica, técnica e tecnológica em relação aos alunos com necessidades educativas especiais. **Caderno Intersaberes**, Belo Horizonte, v. 9, n. 18, 2020. Disponível em: https://www.cadernosuninter.com/index.php/intersaberes/article/view/1363. Acesso em: 01 jul 2023.

BAXTO, W.; CARNEIRO, V. L. Q. Uso das TIC na educação superior a distância. **Educação**, Santa Catarina, v. 42, n. 1, p. 35-43, 2019. Disponível em: http://educa.fcc.org.br/scielo.php?pid=S1981-25822019000100035&script=sci\_arttext. Acesso em: 01 jul. 2023.

DALTON, A.; SRIMORAGOT, C. The Role of Electronic Glossaries in Promoting L2 Reading Comprehension. **CALL-EJ**, Boulder, v. 17, n. 1, 2017. Disponível em: https://www.tell.is.ritsumei.ac.jp/callejonline/journal/17-1/dalton srimoragot.html. Acesso em: Acesso em: 15 maio 2023.

FREITAS, M. I. M.; SANTOS, V. M. N. Paleontologia e ensino de Ciências Naturais: uma proposta para uma educação contextualizada. **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, Belo Horizonte, v. 16, n. 2, p. 403-426, 2016. Disponível em: 10.1590/1983-21172016160217. Acesso em: 15 maio 2023

LADEIRA, F. F. Reflexões sobre a incorporação das Tecnologias da Informação e Comunicação (TICs) na educação básica para além de visões instrumentais. **Revista de Educação da Universidade Federal do Vale do São Francisco**, Recife, v. 12, n. 27, p. 232-256, 2022. Disponível em: https://periodicos.univasf.edu.br/index.php/revasf/article/view/1639/1160. Acesso em: 01 jul. 2023.

LAI, C.; HSU, H. The Effect of an Online Glossary on EFL Learners' Reading Comprehension and Vocabulary Learning. **Journal of Educational Technology & Society**, Boulder, v. 21, n. 4, p. 197-209, 2018. Disponível em: 10.2307/jeductechsoci.21.4.197. Acesso em: 15 maio 2023.

MARTINES, R. *et al.* O uso das tics como recurso pedagógico em sala de aula. **CIET:EnPED**, São Carlos, v. 31, n. 3, p. 180-182, 2018. Disponível em: https://cietenped.ufscar.br/submissao/index. php/2018/article/view/337. Acesso em: 02 jul. 2023.

MOURA, A. A.; MARTINS, E. D.; BERNARDO, A. A. O processo de construção do conhecimento e os desafios do ensino-aprendizagem. **Revista on line de Política e Gestão Educacional,** Araraquara, v. 22, n. 1, p. 410-423, 2018. Acesso em: 30 de jun. de 2023. Disponível em: https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://periodicos.fclar.unesp.br/rpge/article/download/10731/7347/0&ved=2ahUKEwinn\_uqt-z\_AhWUHbkGHdjnDS0QFnoECB4QAQ&usg=AOvVaw2iLUGDrlNrvCQ5jdW1nabP

**O que é o Word?** Disponível em: https://support.microsoft.com/pt-br/office/o-que-%C3%A9-o-word-aee9c7ff-f9c5-415f-80dc-103ad5e344d7. Acesso em: 27 jun 2023.

OLIVEIRA, K. L; LUCIO, P. A; MIGUEL, F. K. Considerações sobre a habilidade de compreensão em leitura e formas de sua avaliação. **Revista on-line de Política e Gestão Educacional**, Araraquara, v. 20, n.1, p.1-10, 2016. Disponível em: https://cietenped.ufscar.br/ex.php/2018/article/view/337. Acesso em: 02 jul. 2023.

SLODKOWSKI, B. K. *et al.* Autoria digital de cybersêniors: um estudo de caso sobre a construção de vídeos. **Informática na educação: teoria & prática [recurso eletrônico].** Porto Alegre: UFRGS, Centro Interdisciplinar de Novas Tecnologia na Educação, Programa de Pós-Graduação em Informática na Educação, v. 22, n. 3, p. 9-11, 2019. Disponível: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/22508. Acesso em: 02 jun 2023.

SOUSA, I. D. L. O desenvolvimento de metodologias para o ensino de Biologia com inclusão de tecnologias digitais no ensino público. **Revista Ibero-Americana de Humanidades**, Ciências e Educação, São Paulo, v. 6, n. 12, dez. 2020. Disponível em: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiq0cTwiNP\_AhWDIJUCHY9bDZEQFnoECA0QAQ&url=https%3A%2F%2Fperiodicorease. pro.br%2Frease%2Farticle%2F download%2F380%2F228%2F791&usg=AOvVaw1taqtVfUILADulxA8dmUw5&opi=89978449 Acesso em: 20 de jun. de 2023.

TECHIO, L. R. *et al.* O uso do blog como ferramenta no processo ensino-aprendizagem. **Brazilian Journal of Development**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 126-140, 2021. Disponível: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/22508. Acesso em: 03 jun. 2023.

WHITE, L. P.; MCNEILL, D. H. Fossils in the Classroom: A Case Study in Paleontological Education. **Journal of Geoscience Education**, Boulder, v. 60, n. 2, p. 106-114, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Judith-Pardo-Perez/publication/319326580\_lchthyosaur\_paleopathology\_ Diagnosing\_injury\_and\_disease\_in\_Early\_Jurassic\_'Fish-lizards'/links/59a4bb3b45851570311733df/ lchthyosaur-paleopathology-Diagnosing-injury-and-disease-in-Early-Jurassic-Fish-lizards.pdf. Acesso em: 15 maio 2023.

#### **CAPÍTULO 11**

## ANÁLISE DE EPÍTOPOS DAS PROTEÍNAS NS1 E E DOS VÍRUS ZIKA, FEBRE AMARELA E DENGUE PARA PROPOSIÇÃO DE TESTE DE DIAGNÓSTICO

Data de aceite: 01/09/2023

#### Stefanny Paula Silva Souza

Universidade Federal de Jataí – UFJ, Instituto de Ciências da Saúde – ICS Jataí-Goiás

#### Marcos Lazaro Moreli

Universidade Federal de Jataí – UFJ, Instituto de Ciências da Saúde – ICS Jataí-Goiás

**RESUMO:** Identificar e selecionar epítopos adequados é um esforco demorado e caro que requer uma triagem experimental cuidadosa. Uma opção é usar a previsão computacional. Usou-se o software BV-BRC 3.26.4. Nele é possível selecionar genomas parciais e completos, ver estruturas, funções de vários vírus e bactérias que foram anotados. As sequências epítopos de DENV, FEBRE AMARELA e ZIKA das proteínas E e NS1 estavam em sincronização com o software IEDB. Posteriormente analisamos esses epítopos no NetMHCpan - 4. Usou-se a seguência em forma de fasta. Foram escolhidos 12 alelos pois são mais representativos para a população em geral. Após a obtenção das sequências e sua interação com MHC que tiveram ligação forte, realizou-se um modelo 3D através do software SWISS-MODEL.

Não foi encontrado nenhum peptídeo capaz de se ligar fortemente a algum alelo selecionado para os epítopos NS1 dos vírus Denv (1,2,3,4), Febre Amarela e Zika. Já na proteína E dos vírus pode-se observar uma ligação forte para Febre Amarela e uma ligação forte para Zika. Os resultados obtidos são promissores mesmo que não se obteve uma sequência reconhecida para Denv, pois pode-se usar esses achados para um teste como forma de exclusão de outros flavivírus do estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Software*, Reatividade cruzada, Epítopos.

ABSTRACT: Identifying and selecting suitable epitopes is a time-consuming and expensive effort that requires careful experimental screening. One option is to use computer prediction. used the BV-BRC software 3.26.4. It is possible to select partial and complete genomes, see structures, functions of various viruses and bacteria that have been annotated. The epitope sequences of DENV, YELLOW FEVER and ZIKA of the E and NS1 proteins were in sync with the IEDB software. Later we analyzed these epitopes in NetMHCpan - 4. We used the fasta-shaped sequence. 12 alleles were chosen because they are more

representative for the general population. After obtaining the sequences and their interaction with MHC that had strong connection, a 3D model was created using the SWISS-MODEL software. Was not found no peptide capable of binding strongly to any selected allele for NS1 epitopes of Denv(1,2,3,4), Yellow Fever and Zika viruses. In the E protein of viruses, one can observe a strong link to Yellow Fever and a strong link to Zika. The results obtained are promising even if we did not obtain a recognized sequence for Denv, because we can use these findings for testing as a means of excluding other flaviviruses from the study.

#### 1 I INTRODUÇÃO

Os flavivírus da família Flaviviridae consistem em mais de 70 vírus, incluindo muitos que se espalham por transmissão de artrópodes. São vírus de RNA simples de 11 kb (FALCONAR *et al.*, 2013) [1], em sentido positivo com um genoma de RNA organizado em três proteínas estruturais e sete não estruturais (NS). Entre eles, a NS1 que fornece um método alternativo para distinguir Flavivírus infecciosos pois é uma proteína conservada entre os flavivírus que desempenha um papel importante na replicação viral e na indução de respostas imunes do hospedeiro.

Uma vez que a NS1 secretada (sNS1) induz uma resposta imune, ela pode ser usada como um potencial marcador diagnóstico para infecções causadas por Flavivírus (PARK *et al.*, 2020) [2], pois contém substâncias altamente patogênicas que podem causar encefalite ou febre hemorrágica, caracterizando em humanos doenças altamente agressivas. Uma combinação de alta densidade populacional, infraestrutura de saúde pública fraca, redes de viagens em expansão e mudanças nos padrões climáticos se combinaram para aumentar o contato vetor-humano, resultando em surtos mais frequentes e generalizados (MERBAH *et al.*, 2020) [3].

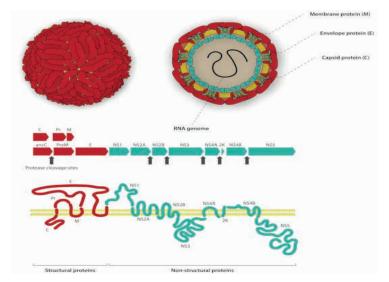


Figura 1- Exemplificação das proteínas estruturais e não estruturais dos Flavivirus.

O frequente crescimento e a disseminação geográfica dos surtos de Flavivírus resultaram em morbidade e mortalidade generalizadas (MERBAH *et al*, 2020) [3]. O vírus da dengue (DENV) é o vírus humano transmitido por vetores mais importante do mundo, infectando cerca de 5 a 100 milhões de pessoas em 100 países e causando uma doença febril autolimitada chamada dengue (DF), às vezes associada a sangramentos. Cerca de 500.000 casos resultam na forma mais grave e com risco de vida, conhecida como dengue grave (SDD) ou síndrome da febre hemorrágica da dengue/choque da dengue (FHD), devido ao extravasamento de plasma, sangramento grave, choque e falência de órgãos (DSS). Até 12.500 pessoas (2,5% de todos os casos de DF) morrem a cada ano de SDD (DHF/DSS). Quatro sorotipos de DENV (DENV-1 a DENV4) foram identificados, cada um causando SDD (DHF/DSS) (FALCONAR *et al.*, 2013) [1].

O vírus Zika foi originalmente isolado de macacos *rhesus* na floresta Zika de Uganda. O ZIKV não foi inicialmente investigado em detalhes, e aproximadamente 80% das infecções são assintomáticas, e aqueles que desenvolvem sintomas são frequentemente diagnosticados com doenças febris semelhantes, como o vírus da dengue (DENV). A rápida e disseminada infecção pelo ZIKV no Brasil foi determinada por um aumento de mais de 28 vezes no número de bebês nascidos com microcefalia na região. A epidemia levou a uma investigação mais aprofundada dos perigos da infecção pelo ZIKV, como danos neurológicos graves em bebês nascidos de mães infectadas e síndrome de Guillain-Barré e outras complicações de saúde em adultos infectados (PAWLEY *et al.*, 2019) [4].

A infecção de febre amarela em humanos pode resultar em infecção inaparente até doença grave de alta letalidade (20 - 50%), provocando grande preocupação de saúde pública durante séculos. Devido à expansão da circulação do vírus da febre amarela na América Latina e na África, vários países incluíram a vacina contra a febre amarela (YFV) em seus programas regulares de imunização ou realizaram campanhas de vacinação (FERNANDES-MONTEIRO *et al.*, 2015) [5].

Embora amplamente utilizado, o sorodiagnóstico pode ser problemático, devido a resultados falsos positivos com reatividade cruzada, enquanto outros Flavivírus se espalham juntos (HENRIQUE *et al.*, 2020) [6]. Desse modo, é necessário desenvolver outras possibilidades para resolver esses problemas de reatividade cruzada (PARK *et al.*, 2020) [2]. A interpretação de análises em larga escala depende de métodos comparativos e preditivos nos quais os bancos de dados biológicos desempenham um papel fundamental. As ferramentas de bioinformática tornaram-se ferramentas indispensáveis para o processamento e análise de dados ômicos populares de hoje.

Dados brutos relacionados a artigos publicados são frequentemente submetidos a repositórios, enquanto bancos de dados especializados são desenvolvidos para moldar o conhecimento tácito revelado nos dados. Com base nessa interoperabilidade, extensos procedimentos automatizados são implementados para coletar e reunir informações do banco de dados e apoiar a formulação de hipóteses novas e testáveis (MERCIER et al.,

2019) [7]. Identificar e selecionar epítopos adequados é um esforço demorado e caro que requer uma triagem experimental cuidadosa. Portanto, uma estratégia mais rápida e barata precisa ser desenvolvida para resolver esse obstáculo. Uma opção é usar a previsão computacional, e existem muitas ferramentas de bioinformática disponíveis (CHEN *et al.*, 2011) [8]. Concluindo, ciência, tecnologia e tecnologia da informação são, sem dúvida, ferramentas importantes para o progresso científico (BOTTASSO *et al.*, 2021) [9].

Os flavivírus foram originalmente classificados como *Togavírus* com base em avaliações sorológicas iniciais, mas foram separados de *Togavírus* para família *Flaviviridae* em 1984 com base em diferenças na estrutura, sequência gênica e estratégia de replicação. Desde então, descrições do genoma viral, estrutura viral e biologia viral identificaram diferenças significativas entre os Flavivírus e suas contrapartes históricas na família *Togaviridae*. Além disso, alguns vírus foram identificados como flavivírus "não vetoriais", e vários flavivírus específicos de insetos (ISFs) também foram identificados (HOLBROOK, M. R., 2017) [10].

As infecções por dengue ocorrem em mais de 100 países na Ásia-Pacífico, nas Américas e no Oriente Médio. Na África, as infecções globais continuam a aumentar. No entanto, as mudanças epidemiológicas nas Américas são mais marcantes. Durante a maior parte das décadas de 1950, 1960 e 1970, a dengue era rara nas Américas porque o mosquito vetor, *Aedes aegypti*, foi erradicado de grande parte da América Central e do Sul. Os programas de erradicação cessaram no início da década de 1970 e a espécie começou a reinvadir os países de onde foi erradicada. Na década de 1990, o *Aedes aegypti* já havia quase recuperado sua distribuição geográfica antes do início da erradicação. Novas cepas e sorotipos do vírus da dengue foram introduzidos (DEN-1 em 1977, nova cepa DEN-2 em 1981, DEN-4 em 1981 e nova cepa DEN-3 em 1994) Além disso, muitos países da região passaram de não endêmicos ou de baixa endemia para altamente endêmicos (DICK O.B., 2012) [11].

DICK (2012) [11] afirma que com a distribuição global do vírus da dengue e *Aedes aegypti* nos trópicos em 1997; mais de 2,5 bilhões de pessoas vivem agora em áreas endêmicas de dengue. Atualmente, a dengue causa mais doenças e mortes em humanos do que em qualquer outro arbovírus. Existem aproximadamente 100 milhões de casos de dengue e centenas de milhares de casos de dengue hemorrágica a cada ano, dependendo da atividade epidêmica. A era moderna da pesquisa da dengue começou em 1943-44, quando o vírus da dengue foi isolado pela primeira vez e os testes laboratoriais de diagnóstico subsequentes se tornaram disponíveis. Embora a sorotipagem por teste retrospectivo de anticorpos seja possível, a maioria das descrições epidemiológicas desse período são baseadas em características clínicas e epidemiológicas (aproximadamente 1 milhão na década de 1980 para 4,7 milhões em 2000-7).

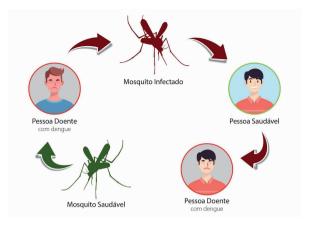


Figura 2 - Esquema representativo do ciclo de transmissão do vírus da dengue.

Os tráfegos simultâneos e/ou sequências de DENV 1-4 devem considerar a genética viral e do hospedeiro como fatores de risco populacionais potencialmente importantes para dengue grave, pois a infecção secundária com DENV xenogênico pode aumentar a probabilidade de doença grave (MESSINA et al, 2014) [12]. O tratamento é puramente sintomático e requer um alto nível de atenção ao paciente; quando indicado, O tratamento é puramente sintomático e requer um alto nível de cuidado ao paciente. Se necessário, os pacientes podem ser hospitalizados para facilitar a reposição de líquidos e as transfusões de sangue.

Há esforços crescentes para encontrar vacinas e medicamentos antivirais que possam prevenir e controlar essa infecção. Os maiores problemas são a sensibilidade e o custo dos exames diagnósticos, que dificultam o tratamento imediato dos sintomas, bem como o alto custo da assistência à saúde dos pacientes com dengue e da vigilância epidemiológica da doença (SALLES *et al.*, 2018) [13].

O Ministério da Saúde brasileiro recomenda os seguintes protocolos. Todos os pacientes com suspeita de DF devem ser informados e uma amostra de sangue coletada para diagnóstico. Até oito dias (de preferência cinco dias) após o início dos sintomas, as amostras dos pacientes são testadas para dengue por ELISA para NS1 e por qRT-PCR para detecção e sorotipagem do genoma do DENV. As amostras são testadas para IgM por ELISA 8 a 15 dias após o aparecimento dos sintomas. Após 15 dias, o soro foi verificado para IgG por ELISA. Amostras negativas para o antígeno NS1 não descartam infecção por dengue e devem ser confirmadas por teste de IgM/IgG. Amostras negativas para dengue serão triadas por RT-PCR para patógenos como Chikungunya e Zika para diagnóstico diferencial. No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a sorotipagem de todas as amostras suspeitas de dengue com o protocolo de PCR Lanciotti et al., que é considerado o protocolo padrão ouro para identificação de sorotipos pelos métodos PCR e qPCR (SALLES *et al*, 2018) [13].

No gênero Flavivirus, o ZIKV é um vírus transmitido por mosquitos que está

relativamente intimamente relacionado a outros flavivírus transmitidos por mosquitos de importância médica e de saúde pública global. A doença humana causada pela infecção pelo ZIKV foi relatada pela primeira vez durante um surto de icterícia na Nigéria em 1954, onde a infecção foi confirmada em três pacientes por isolamento do vírus ou níveis elevados de anticorpos séricos, e a relação entre o desenvolvimento de anticorpos neutralizantes do ZIKV e icterícia foi observada (SONG *et al*, 2017) [14].

Desde então, até o início dos anos 2000, dezenas de casos de doença humana leve associada ao ZIKV foram documentados em países africanos e asiáticos. No entanto, em 2007, o vírus Zika causou o primeiro grande surto fora da África e da Ásia na ilha de Yap, uma doença relativamente leve caracterizada por febre, erupção cutânea, dor nas articulações e conjuntivite (SONG *et al*, 2017) [14]. Durante este surto, estima-se que ~73% dos 6.892 residentes de Yap com idade ≥ 3 anos foram infectados com ZIKV, e ~18% das pessoas infectadas tiveram uma doença clínica que provavelmente foi atribuída à infecção por ZIKV.

No início de 2015, foi detectada a primeira transmissão autóctone do ZIKV na região nordeste do Brasil em associação com um surto de doença exantemática aguda. No final de 2015, a atividade do ZIKV expandiu-se para pelo menos 14 estados brasileiros com estimativa de 440.000 a 1.300.000 casos suspeitos. Notou-se no Brasil que o número de recém-nascidos com microcefalia aumentou nas áreas afetadas pelo ZIKV até setembro de 2015. Desde o seu surgimento no Brasil, o ZIKV se espalhou a um ritmo alarmante em grande parte da América Central e do Sul e no Caribe, e a possibilidade de que a microcefalia esteja ligada ao ZIKV aumentou, levando a Organização Mundial da Saúde a declarar uma "emergência de saúde pública de caráter internacional" de Fevereiro a Novembro de 2016 (SONG *et al.*, 2017) [14].

O ZIKV é transmitido principalmente aos seres humanos pela picada de um mosquito infectado, mas também pode ser transmitido de mãe para filho durante a gravidez, por contato sexual, amamentação ou transfusões de sangue. Vários modos de transmissão do ZIKV dificulta o desenvolvimento de estratégias de controle para um patógeno com dois ciclos de transmissão distintos: circulação silvestre associada à manutenção do ZIKV entre primatas e mosquitos da floresta; e circulação urbana associada à transmissão do ZIKV entre humanos e mosquitos urbanos nas cidades (SONG *et al*, 2017) [14].

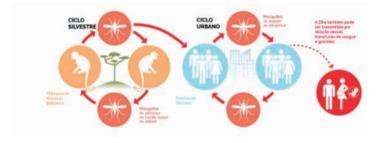


Figura 3 - Ciclo ilustrativo da transmissão do vírus da Zika.

O vírus da Febre Amarela e seu mosquito vetor urbano originaram-se na África, onde vários primatas são infectados. É possível que já no século 16, o vírus e seu mosquito vetor tenham sido transportados da África Ocidental para o Caribe em navios. Mais tarde, tanto pelo vetor quanto pela cabotagem de pessoas infectadas, o vírus da febre amarela foi transportado e destruiu grande parte das regiões orientais das Américas. Por meio de outras conexões humanas, o mosquito vetor do vírus da febre amarela urbana se estabeleceu nas regiões subtropicais e tropicais mais orientais do mundo, incluindo Índia, Indonésia e Pacífico Sul. (CLEMENTS, A., N., HARBACH, R., E., 2017) [15].

Em 1897, a Comissão da Febre Amarela foi criada em Cuba para investigar a origem da febre amarela. Trabalhos anteriores de JC Nott e Carlos Finlay mostraram que os mosquitos podem espalhar a febre amarela entre humanos. A Comissão da Febre Amarela concluiu que os mosquitos são de fato portadores da doença. Membros da comissão e outros "voluntários" militares participaram de vários estudos de infecção humana para mostrar que os mosquitos transmitiam a doença de pacientes infectados para participantes saudáveis do estudo, em alguns casos ao custo de suas vidas. Esses estudos ajudaram a provar o papel dos mosquitos na disseminação da febre amarela e confirmaram as hipóteses de Nott e Finlay muitos anos antes (HOLBROOK, 2017) [10].



Figura 4 - Ciclo ilustrativo da transmissão do vírus da Febre Amarela

A doença causada pelo YFV pode ser subclínica, leve e inespecífica, ou grave com icterícia, hemorragia e morte. O primeiro estágio da doença, que se inicia 3 a 6 dias após a picada de um mosquito infeccioso, é inespecífico e pode incluir febre, mal-estar, tontura, náuseas e vômitos, cefaleia, dor lombos sacral e mialgia. A fase de remissão continua com a recuperação ou pode ser seguida por um período de intoxicação caracterizado por dor de cabeça, vômitos, icterícia, aumento do fígado e sangramento. Mais de 90% dos casos ocorrem na África Subsaariana. (HUANG *et al*, 2014) [16].

A reatividade cruzada de soros criados contra um flavivírus reconhecendo outro flavivírus foi bem documentada. Estudos de anticorpos monoclonais identificaram sítios de

reação cruzada nas glicoproteínas do envelope de diferentes espécies de flavivírus, mas as relações dentro e entre os soro complexos são inconsistentes. A reatividade cruzada do flavivírus resulta em resultados falso-positivos, mas a reatividade cruzada pode levar à proteção cruzada. (MANSFIELD et al. 2011) [17]. As respostas de anticorpos de reação cruzada aos epítopos da proteína capsídeo (C), envelope (E) e proteína precursora de membrana (prM) (HENRIQUES et al., 2020) [6] compartilhada por todos os Flavivírus podem representar grandes problemas no diagnóstico sorológico em áreas onde vários Flavivírus estão circulando. Esses epítopos compartilhados induzem reatividade cruzada e podem levar a um aumento dramático na gravidade de infecções secundárias por meio de aprimoramento dependente de anticorpos, especialmente no caso de sorotipos de DENV. Por isso a importância da continuidade de se obter epítopos para diagnóstico e entendimento da patogênese desses Flavivírus (FERNANDES-MONTEIRO et al., 2015) [5]. Esse trabalho teve como objetivo recuperar sequências de proteínas em bancos de dados e realizar análise através de software para prever a probabilidade de um possível teste sorológico que possa distinguir entre os três tipos de Flavivírus Dengue, Zika e Febre Amarela.

#### 2 I MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Obtenção das sequências dos epítopos

Usou-se o *software BV-BRC* 3.26.4 (disponível em https://www.bv-brc.org/) que é um site de Documentação de Ajuda do Centro de Recursos de Bioinformática Bacteriana e Viral. O *BV-BRC* fornece um sistema de informação baseado na web projetado para apoiar o trabalho da comunidade de pesquisa biomédica em doenças infecciosas bacterianas e virais por meio da integração de informações vitais de patógenos com dados ricos e ferramentas de análise. *BV-BRC* combina os dados, a tecnologia e as extensas comunidades de usuários de dois centros de longa data: *PATRIC*, o sistema bacteriano e *IRD/ViPR*, os sistemas virais.

Nele é possível selecionar genomas parciais e completos, ver estruturas, funções de vários vírus e bactérias que foram anotados juntamente com metadados curados. As sequências dos epítopos de DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4, FEBRE AMARELA e ZIKA das proteínas E e NS1 estavam em sincronização com o *software* IEDB (disponível em: https://www.iedb.org/home\_v3.php) que cataloga dados experimentais sobre epítopos de anticorpos e células T estudados em humanos, primatas não humanos e outras espécies animais no contexto de doenças infecciosas, alergia, autoimunidade e transplante. O *IEDB* também hospeda ferramentas para auxiliar na previsão e análise de epítopos, e de lá foram então retirados os dados, e posteriormente no *BV-BRC* buscou-se a sequência completa a fim de avaliar a estrutura em 3D.

Os critérios para selecionar os epítopos eram primeiramente ter sido positiva em

ensaios clínicos para células B, T e HLA testado em humanos, e com publicações, porém, a sequência de epítopos NS1 do DENV-4 apesar de não ter ensaios clínicos recentes, foi selecionado para ver se poderia ser usado para fim exemplificativo. O vírus Zika NS1 não foi encontrado proteínas dentro dos critérios propostos, sendo a única exceção. Verificouse as regiões em que esses epítopos se encontravam na sequência, pois na modelagem seria possível verificar se esses epítopos estariam expostos para serem reconhecidos pelos anticorpos.

## 2.2 Análise de interação das proteínas com moléculas de MHC in silico

Posteriormente analisamos esses epítopos no *NetMHCpan* - 4.1 (disponível em: https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCpan-4.1), que prevê a ligação de peptídeos a qualquer molécula de MHC de sequência conhecida usando redes neurais artificiais (ANNs). Usou-se a sequência em forma de fasta nesse programa e selecionou-se o comprimento de 10 dos peptídeos. Foram escolhidos 12 alelos pois são mais representativos para a população em geral e estima-se que esses supertipos de classe I forneçam cobertura de mais de 90% da população geral (WEISKOPF *et al.*, 2014) [18]. São eles: HLA-A01:01, HLA-A02:01, HLA-A24:02, HLA-A03:01, HLA-A26:01, HLA-B07:02, HLA-B27:05, HLA-B08:01, HLA-B39:01, HLA-B40:01, HLA-B58:01e HLA-B15:01. O *score* para essa interação foi de < 0,5 para ligação forte (*SB*); até 2 para ligação fraca (*WB*) e maior que esse valor não foi considerado epítopo. Os alelos que não se obteve nenhum peptídeo estão somente traçados. Moléculas expressas por MHC têm papéis importantes nas respostas imunes e estão envolvidas na seleção de células T, respostas inflamatórias, indução de tolerância, produção de anticorpos e imunidade mediada por células T (FELÍCIO, 2013) [19].

## 2.3 Modelagem 3d das proteínas com score < 0,5

Após a obtenção das sequências e sua interação com MHC daquelas que tiveram ligação forte, realizou-se um modelo 3D para verificar se essa sequência era funcional. Esses dados foram extraídos através do *software SWISS-MODEL* (disponível em: https://swissmodel.expasy.org/), que é um servidor de modelagem de homologia de estrutura de proteínas totalmente automatizado. Para realizar uma modelagem é necessário inserir toda a sequência da proteína, pois nesse programa precisa-se de no mínimo 30 resíduos de aminoácidos.

## **3 | RESULTADOS**

Ao selecionar-se as regiões específicas de cada vírus obteve-se as sequências listadas na tabela abaixo, e ao entrar no ID dessas sequências era possível ver as regiões em que esses epítopos estavam. Nos epítopos dos 4 tipos de Denv a literatura divergiu quanto a região dessas proteínas, o que pode ser explicado pelo fato de que compartilham

67 a 75% de homologia de sequência entre si, podendo a mesma sequência estar em mais de um subtipo do vírus (WEISKOPF *et al.*, 2014) [18].

VÍRUS	EPÍTOPOS NS1	EPÍTOPOS E	ID NS1	ID E	REGIÃO NS1	REGIÃO E
DENV-1	GEDGCWYGM	AKFKCVTKLEGKIVQ	19225	125145	1100/1108 1098/1106	112/126 117/131
DENV-2	KLTIMTGDIKGIMQA	LQMENKAWLV	195576	150399	860/874	479/488 231/240
DENV-3	AKIVTAETQNSSFII	ELKGMSYAM	190705	13119	121/135 894/ 908	155/163
DENV-4	CLWPKTHTL	FLDLPL	164465	156552	223/231	186/191
F. AMARELA	GTHPFSRIR	GGFFTSVGKGIHTVF	22688	238848	878/886	709/723
ZIKA	YSLECDPAVIGTAVK	FEATVRGAKRMAVLGDTAWD	863273	741402	969/983	411/430

Tabela 1. Sequência dos epítopos extraídos e a região de localização.

Apesar do *BV-BRC* dar a sequência associada a NS1 de DENV-1, nas literaturas de referência a sequência estava presente no DENV-3 como no 2, sendo em uma literatura o ensaio de liberação Elispot IFN*g* foi positiva para Denv 2 1100/1108 alelo HLA-B\*40:01 e negativa para Denv 3 na região 1098/1116 alelo HLA-B\*40:01.

Na proteína E do Denv 1 a região 112/126 o ensaio de liberação Elispot IFNg foi negativo ausente de alelos e na região 117/131 positiva para o alelo HLA-DRB1\*11:01. Na região E de Denv 2 ocorreu a mesma situação, do 479/488 o ensaio de liberação Elispot IFNg foi negativo para HLA-A\*02:01 e para 231/240 positivo para HLA-B\*08:01. O INFg contribui para respostas inflamatórias agudas, especialmente crônicas, atraindo macrófagos e aumentando o número de fagócitos nos locais de inflamação (SILVEIRA et al. 2009) [20].

Nas tabelas 2 e 3 observa-se os resultados obtidos após carregar as informações. Não foi encontrado nenhum peptídeo capaz de se ligar fortemente a algum alelo selecionado para os epítopos NS1 dos irus Denv (1,2,3,4), Febre Amarela e Zika; se obteve apenas em alguns alelos ligações fracas. Os anticorpos podem estar associados a antígenos com diferentes afinidades, pode se ligar a um antígeno diferente do seu melhor antígeno complementar por ligação mais fraca a regiões semelhantes, mas não idênticas.

Já na proteína E dos vírus pode-se observar uma ligação forte para Febre Amarela e uma ligação forte para Zika. Algumas ligações fracas foram observadas nos demais alelos selecionados para prever essa interação, e nos alelos que não foram gerados nenhum peptídeo estão apenas traçados.

VÍRUS	DENV 1 NS1	DENGUE 2 NS1	DENGUE 3 NS1	DENGUE 4 NS1	F. AMARELA NS1	ZIKA NS1
ALELO HLA-B*40:01	Ligante Fraco	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-A*03:01	Nenhum Ligante	Ligante Fraco	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-A*01:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Ligante Fraco			
ALELO HLA-A02:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-A24:02	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-A26:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B07:02	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B27:05	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B08:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B39:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B58:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			
ALELO HLA-B15:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			

Tabela 2. Alelos da proteína NS1 dos vírus e possíveis ligantes.

VÍRUS	DENV 1 E	DENGUE 2 E	DENGUE 3 E	DENGUE 4 E	F. AMARELA E	ZIKA E
ALELO HLA-B*40:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-A*03:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-A*01:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-A02:01	Nenhum Ligante	Ligante Fraco			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-A24:02	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Ligante Fraco	Não Ligante
ALELO HLA-A26:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Ligante Fraco	Nenhum Ligante
ALELO HLA-B07:02	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-B27:05	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-B08:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante			Nenhum Ligante	Nenhum Ligante

ALELO HLA-B39:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	 	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante
ALELO HLA-B58:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	 	Ligante Fraco	Ligante Forte
ALELO HLA-B15:01	Nenhum Ligante	Nenhum Ligante	 	Ligante Forte	Nenhum Ligante

Tabela 3. Alelos da proteína E dos vírus e possíveis ligantes.

Ao fazer essa predição entre alelos e epítopos o resultado é exibido da seguinte forma apresentada na imagem abaixo:

Submissão	Instruções	Formato	de saida	Visi	Jaliza	ador	de i	motive	s Abstrato	Conjuntos de dados de avalia	ação Histórico de versões
DET HEW-W S		LKFKUEUUUW			1	1	U	o		gr_underined_bv 0.0010200	
322 HLA-A*2		RFKGEDGCWY				1		0		gi_undefined_DV 0.0008286	
323 HLA-A*2		FKGEDGCWYG				1	0	0		gi_undefined_DV 0.0000020	
324 HLA-A*2		KGEDGCWYGM				1		0		gi_undefined_DV 0.0000756	
325 HLA-A*2		GEDGCWYGME			0	0	0	0		gi_undefined_DV 0.0000026	
326 HLA-A*2		EDGCWYGMEI				1	0	0		gi_undefined_DV 0.0000086	
327 HLA-A*2		DGCWYGMEIR				1		Θ		gi_undefined_DV 0.0000046	
328 HLA-A*2		GCWYGMEIRP			1		0	0		gi_undefined_DV 0.0000490	
329 HLA-A*2		CWYGMEIRPV				1	0	0		gi_undefined_DV 0.0004296	
30 HLA-A*2		WYGMEIRPVK	WYMEIRPVK			1	0	0		gi_undefined_DV 0.0007246	
31 HLA-A*2		YGMEIRPVKE				1	0	0		gi_undefined_DV 0.0000136	
332 HLA-A*2	1:02	GMEIRPVKEK	GMIRPVKEK	0	2	1	0	0		gi_undefined_DV 0.0000156	
333 HLA-A*2	1:02	MEIRPVKEKE	MEIPVKEKE			1		0	MEIRPVKEKE	gi_undefined_DV 0.0000050	65.000
334 HLA-A*2	1:02	EIRPVKEKEE	EIRPVKEEE	0		1	0	0	EIRPVKEKEE	gi_undefined_DV 0.0000020	80.000
335 HLA-A*2	1:02	IRPVKEKEEN	IRVKEKEEN		2		0	0	IRPVKEKEEN	gi_undefined_DV 0.0000026	80.000
36 HLA-A*2	1:02	RPVKEKEENL	RVKEKEENL	0			0	0		gi_undefined_DV 0.0003066	
37 HLA-A*2	1:02	PVKEKEENLV	PVKEKENLV	Θ	5	1	0	0	PVKEKEENLV	gi_undefined_DV 0.0000086	56.667
38 HLA-A*2	1:02	VKEKEENLVK	VEKEENLVK	0	1	1	0	0	VKEKEENLVK	gi_undefined_DV 0.0000050	65.000
39 HLA-A*2	1:02	KEKEENLVKS	KEKENLVKS	0	3	1	0	0	KEKEENLVKS	gi_undefined_DV 0.0000060	60.000
340 HLA-A*2	1:02	EKEENLVKSM	EKEENLVKM	0	8	1	0	0	<b>EKEENLVKSM</b>	gi_undefined_DV 0.0000470	34.000
341 HLA-A*2	1:02	KEENLVKSMV	KENLVKSMV	0	1	1	0	0	KEENLVKSMV	gi_undefined_DV 0.0000246	42.000
342 HLA-A*2	1:02	EENLVKSMVS	EENLKSMVS	0	4	1	0	0	<b>EENLVKSMVS</b>	gi_undefined_DV 0.0000010	90.000
343 HLA-A*2	1:02	ENLVKSMVSA	ELVKSMVSA	0	1	1	0	0	ENLVKSMVSA	gi_undefined_DV 0.0000036	70.000

Figura 5. Resultado da busca se uma sequência no software.

Submissi	ão	Instruções	Formato	de saída	Visu	aliza	dor	de r	notivos	Abstrato	0	Conjuntos de da	dos de avaliação	н	listórico de versões	Transferências
230 HLA				TLWSNGLES		6		Θ				_undefined_DV		27.74		
231 HLA			WSNGVLESE	LSNGVLESE	Θ	1		0				_undefined_DV		50.16		
232 HLA				WSNGVESEM		5		0				_undefined_DV		7.80		
233 HLA				SNVLESEMI		2		0				_undefined_DV		49.14		
234 HLA				NVLESEMII		1		0				_undefined_DV		43.54		
235 HLA				GVESEMIIP		2		0				_undefined_DV		60.71		
236 HLA				VLESEMIIK		8		0				_undefined_DV		15.77		
237 HLA				LSEMIIPKI		1		0				_undefined_DV		21.79		
238 HLA				ESEMIIPKY		8		0				_undefined_DV			9 <= SB	
239 HLA				SEMIIPKIY		Θ						_undefined_DV		18.94		
240 HLA				EIIPKIYGG		1						_undefined_DV		78.18		
241 HLA				MIIPKIYGP		7		0				_undefined_DV		69.66		
242 HLA				IIPKIYGGI		8						_undefined_DV		70.38		
243 HLA				IPKYGGPIS		3						_undefined_DV		77.72		
244 HLA				PIYGGPISQ		1						_undefined_DV		58.20		
245 HLA				KIYGGPIQH		7		0				_undefined_DV		8.61		
246 HLA				IGGPISQHN		1		0				_undefined_DV		65.00	0 3 <= WB	
247 HLA 248 HLA				YGGPSQHNY		4						_undefined_DV		23.88		
248 HLA 249 HLA						6						_undefined_DV		58.40		
249 HLA 250 HLA				GPISQHYRP				0				_undefined_DV _undefined_DV		94.28		
250 HLA 251 HLA				PISQHNYRG ISOHNYPGY		8		0				_underined_DV _undefined_DV			0 <= WB	
251 HLA				SONYRPGYF		2						_undefined_DV		11.01		
252 HLA 253 HLA				ONYRPGYFT								_undefined_DV _undefined_DV		50.96		
253 HLA 254 HLA				HNYPGYFTQ		3		0				_undefined_DV		39.84		
254 HLA 255 HLA				NYRPGFTQT		5		0				_undefined_DV		62.14		
255 HLA				YRPGYFTOA		8		0				_undefined_DV		40.07		

Figura 6. Resultado de busca mostrando ligantes forte e fraco.

Ao se buscar um modelo 3D alguns parâmetros são importantes para escolher o ideal. A cobertura e a semelhança de sequência quanto mais próximo de 1 melhor a modelagem. Para a proteína E do Zika a cobertura foi de 0,99 e a semelhança foi de 0,62.

As regiões em azul são as melhores sequenciadas e em vermelho as que ficaram fora dos padrões definidos pelo programa.

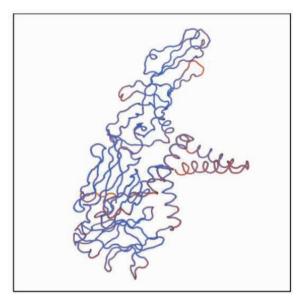


Figura 7. Imagem 3D da sequência de epítopos da proteína E do Zika.

Para a proteína E da Febre Amarela a cobertura foi de 0,81 e a semelhança de sequência de 0,61. As regiões em azul são as melhores sequenciadas e em vermelho as que ficaram fora dos padrões definidos pelo programa

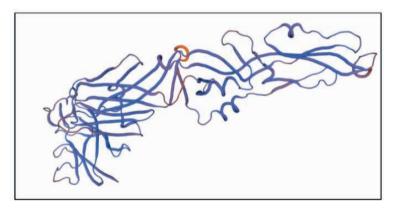


Figura 8. Imagem 3D da sequência de epítopos da proteína E da Febre Amarela.

Percebe- se que os epítopos para proteína E de Zika e Febre Amarela obtiveram valores menores que o *score* selecionado, e pode-se dizer que esse resultado é extremamente promissor pelas reações cruzadas entre esses Flavivírus em testes já existentes no mercado. A glicoproteína do envelope do flavivírus é o principal antígeno responsável por induzir respostas de anticorpos neutralizantes (MANSFIELD *et al.*, 2011)

[17]. Está envolvida na ligação de partículas virais aos receptores da célula hospedeira, além disso, a proteína também está envolvida na fusão da membrana (SILVEIRA *et al.*, 2019) [20]. Em buscas feitas nesses softwares não foi identificado nenhum epítopo promissor para os subtipos da Dengue, porém pode-se considerar essas sequências de Zika e Febre Amarela para desenvolver um teste como forma de exclusão desses vírus.

Vale ressaltar que indivíduos com resposta imunológica para Febre amarela adquirida pela vacinação podem ter diagnóstico falso-positivos para outros flavivírus devido a semelhança entre essas regiões que ativam uma resposta imune no organismo. Por isso a importância de se obter alternativas para minimizar essa problemática.

## 41 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos são promissores mesmo que não se obteve uma sequência reconhecida para Denv – 1,2,3 e 4 pois pode-se usar esses achados para um teste como forma de exclusão de outros flavivírus do estudo. Para que o teste fique mais completo e dentro do que foi proposto dinâmicas moleculares precisam de mais tempo para serem desenvolvidas para confirmar se essas estruturas estão na forma solúvel das estruturas do hexâmero e se elas estão expostas para serem reconhecidas pelos anticorpos.

## **FINANCIAMENTO**

Esta pesquisa fez parte do trabalho de conclusão de curso e teve o financiamento do CNPq processo 311347/2019 - Bolsa produtividade.

## **REFERÊNCIAS**

- 1. FALCONAR, A. K. L.; ROMERO-VIVAS, C. M. E. **Um** ensaio dot-blot simples, barato, robusto e sensível para detecção igual da glicoproteína não estrutural-1 de todos os sorotipos da dengue. Virology journal. Biomed Central, 10:126, 2013.
- 2. PARK, C.; BOKKIM, W.; CHO, S. Y.; OH, E. J.; LEE, H.; KANG, K.; LEE, Y.; LEE, D. G. **Um método simples para o projeto e desenvolvimento de proteínas recombinantes de Flavivirus NS1 usando uma abordagem In Silico.** BioMed Research International, Hindawi. 2020.
- 3. MERBAH, M.; WOLLEN-ROBERTS, S.; SHUBIN, Z.; LI, Y.; BAI, H.; DUSSUPT, V.; MENDEZ-RIVERA, L.; SLIKE, B.; KREBS, S. J.; MODJARRAD, K.; MICHAEL, N. L.; ROLLAND, M. **Um** ensaio multiplex de alto rendimento para caracterizar imunoglobulinas específicas de flavivírus. Elsevier, BV 487. 2020.
- 4. PAWLEY, D. C.; RICCIARDI, M. J.; DIKICI, M.; DEO, S. K.; DAUNERT, S. **Detecção direta** altamente sensível e seletiva de partículas do zika vírus em fluidos corporais humanos para o diagnóstico precoce preciso da infecção. ACS Omega 4, 6808 6818, 2019.

- 5. FERNANDES-MONTEIRO, A. G.; TRINDADE, G. F.; YAMAMURA, A. M.; MOREIRA, O. C.; PAULA, V. S.; DUARTE, A. C. M.; BRITTO, C. U.; SHEILA, E.; LIMA, M. B. Novas abordagens para a padronização e validação de um ensaio qPCR em tempo real usando sondas TaqMan para quantificação do vírus da febre amarela em amostras clínicas com parâmetros de alta qualidade. Human Vaccines & Immunotherapeutics. 11: 7. 1865—187. Julho. 2015.
- 6. HENRIQUES, D. F.; NUNES, J. A.; ANJOS M. V.; MELO, J. M.; ROSÁRIO, W. O.; AZEVEDO, S. S. R.; CHIANG, J. O.; MARTINS, L. C.; SÁ ´NTOS, F. B.; CASSEB, M. N. L.; Vasconcelos, P. F. C.; RODRIGUES, S. G. Avaliação de ensaios de imunoabsorção enzimática de captura específica de imunoglobulina M e testes comerciais para diagnóstico de flavivírus por um laboratório de referência nacional. Journal of Virological Methods. 286. 2020.
- 7. MERCIER, P. L.; MARIETHOZ, J.; BONNARDEL, F.; IMBERTY, A.; LISACEK, F. **Uma visão de bioinformática das interações glicano-vírus.** Vírus. 11, 374. 2019.
- 8. CHEN, P.; RAYNER, S.; HU, K. Avanços das Ferramentas de Bioinformática Aplicadas em Vírus Previsão de epítopos. Virologica Sinica, Instituto Wuhan de Virologia. Fevereiro, 2011.
- 9. BOTTASSO, O.; PEREZ, D. M. R.; MORETTI, E.; **CARTA AO COMITÊ DE REDAÇÃO.** Medicina. Volume 81 N° 6, 1091-1092. Buenos Aires: 2021.
- 10. HOLBROOK, M. R. Perspectivas Históricas da Pesquisa de Flavivírus. Vírus. 9, 97. 2017.
- 11. DICK, O. B.; SAN MARTÍN, J. L.; MONTOYA, R. H.; DIEGO, J. D.; ZAMBRANO, B.; DAYAN, G. **Revisão: A história dos surtos de dengue nas Américas.** Sou. J. Trop. Med. v. 87, n. 4, 584–593, 2012.
- 12. MESSINA, A. P.; BRADY, O. J.; SCOTT, T. W.; ZOU, C.; PIGOTT, D. P.; DUDA, K. A.; BHATT, S.; KATZELNICK, L.; HOWES, R. E.; BATALHA, K. E.; SIMMONS, C. P.; HAY, S. I. **Disseminação global dos tipos de vírus da dengue: mapeando a história de 70 anos.** Tendências em Microbiologia, v. 22, n. 3. Mar. 2014.
- 13. SALLES, T. S.; SÁ-GUIMARÃES, T. E.; ALVARENGA1, E. S. L; GUIMARÃES-RIBEIRO, V.; MENESES, D. F.; SALLES, P. F. C.; SANTOS, C. R.; MELO, A. C. A.; SOARES, M. R.; FERREIRA, D. F.; MOREIRA, M. F. **História**, epidemiologia e diagnóstico da dengue nos contextos americano e brasileiro: uma revisão. Vendaset ai. Parasitas e Vetores, v. 264, n. 11. 2018.
- 14. SONG, B. H.; YUN, S. I.; WOOLLEY, M.; LEE, Y. M. **Zika** vírus: história, epidemiologia, transmissão e apresentação clínica. Revista de Neuroimunologia, v. 308, p. 50–64. 2017.
- 15. CLEMENTS, A. N.; HARBACH, R. E. **História da descoberta do modo de transmissão do vírus da febre amarela.** Jornal de Ecologia Vetorial, v. 2, p. 208-222, Dez. 2017.
- 16. HUANG, Y. J. S.; STEPHEN HIGGS, S.; HORNE, K. M.; VANLANDINGHAM, D. L. Interações Flavivírus-Mosquito. Vírus, v. 6, p. 4703-4730. 2014.
- 17. MANSFIELD, K. L.; HORTON, D. L.; JOHNSON, N., LI, L.; BARRETT, A.; SMITH, D. J.; GALBRAITH, S. E.; SOLOMON, T.; FOOKS, A. R. **Reatividade cruzada de anticorpos induzida por flavivírus.** Revista de Virologia Geral, n. 92, p. 2821–2829. 2011.

- 18. WEISKOPF, D.; ANGELO, M. A.; SIDNEY, J.; PETERS, B.; SHRESTA, S.; SETTE, A. Alterações da imunodominância em função do sorotipo do vírus da dengue e da infecção primária versus secundária. Sociedade Americana de Microbiologia, Revista de Virologia, v. 88, n. 19, p. 11383-11394, 1 Out. 2014.
- 19. FELÍCIO, L. P. **Variabilidade e história evolutiva do gene HLA-E.** Dissertação (Mestrado) Instituto de Ciências Biológicas Universidade Federal de Goiás. f. 77. 2013
- 20. SILVEIRA, D. M.; FRANCO, C. M.; NASCIMENTO, I. L. O.; SALOMÃO, M. F. L.; ARAUJO, T. M. Pesquisa de interferon gama em tecido periodontal de ratos submetidos à movimentação dentária induzida. v. 14, n. 2, p. 39-44, Maringá, mar./abr. 2009.
- 21. TRIVIÑO, N. H.; MONTAÑA, D.; CASTELLANOS, J. E. **Reatividade cruzada dos soros da dengue e febre-amarela; desafios para o diagnóstico**. Revista de Salud Pública· Volume 10 (2). Maio, 2008.

## **CAPÍTULO 12**

# DOUBLE MINUTE CHROMOSOMES IN Anastrepha fraterculus (Wiedemann) (DIPTERA: Tephritidae): A MODEL FOR CANCER STUDIES

Data de aceite: 01/09/2023

#### Alicia L. Basso

University of Buenos Aires, Agronomy Faculty, Department of Genetics.

## Cecilia E. Schenone

University of Buenos Aires, Agronomy Faculty, Department of Genetics.

**ABSTRACT** fraterculus Anastrepha (Wied.), is known as the South American Fruit Fly. In order to develop efficient control strategies, we need deep knowledge on its biology along with periodical studies on population dynamics. Citogenetic studies on natural populations of this pest fly made it possible to reveal the presence of double minute chromosomes (DMs) in several natural populations of this insect. Cytogenetic studies performed in our insect laboratory, allowed the genetic analysis through genealogical methodology. The establishment of families made it possible the genetic studies allowing the identification. characterization rigorous and confirmation of new chromosomal variants, frequently misinterpreted when the materials analyzed only come from nature. Double minute chromosomes -considered a type of chromosomal rearrangement-

are extra chromosomal gene copies. This study sought to answer: What role do these DMs chromosome play in laboratory populations of the pest derived from natural populations? How are they transmitted from one generation to another? To answer our questions, we analyzed, for 25 generations. two laboratory populations derived from Tucuman (T) and Buenos Aires (BA -tester) guava, Data were recovered from cytological analysis of ganglia preparations revealed with H33258. The natural population from BA didn't carry DMs. Results showed DMs in flies of both laboratory populations. DMs were transmitted from parents to progenies through 25 generations, their transmission was randomized in number. DMs are the cytological expression of resistance mechanisms used by the pest as a response to environmental stress. DMs in BA strain marked the change to the laboratory environment. A. fraterculus is a model insect for the study of cancer.

**KEYWORDS:** cytological markers, environmental stress, Breakage-Fusion-Bridge, gene amplification, insect pests

Anastrepha fraterculus (Wiedemann), known as the South American Fruit fly, is considered a guarantine pest which produces significant loses to fruticulture in our country. In 1992, it was declared a National Priority Pest. To develop efficient control strategies, deep biological knowledge of the species and periodic studies of population dynamics are required. Cytogenetic studies on natural populations of the fruitfly revealed form the first time the presence of doublé minute chromosomes (DMs). Since 2003 our works developed in the insect cytogenetics laboratory allowed the genetic analysis of the materials through a genealogical management. Genetic studies of families, allow rigurous identification, confirmation and characterization of new variants, frequently misinterpreted when the analyzed materials only come from nature. DMs chromosomes, considered a type of chromosomal rearrangement, are extrachromosomal gene copies. Our working hypothesis is that DMs are the cytological expression of resistance mechanisms used by the pest in response to stress situations. The present work aims to analyze the presence and role of tiny double chromosomes in A. fraterculus and their transmission under controlled conditions. To this end, two laboratory populations of guava trees from Buenos Aires and Tucumán were analyzed. The natural population of Buenos Aires did not present DMs. Our results show for the first time the presence of DMs in the flies of both laboratory populations, confirming the proposed hypothesis. DMs were passed from parent to offspring through 25 generations and were random in number.

## INTRODUCTION

All living organisms need the cell cycle to increase in size and/or replace dead cells. The cell cycle consists of three distinct phases: interphase, mitosis, and cytokinesis (Figure 5). Before a eukaryotic cell can begin mitosis and divide, it must replicate its DNA, synthesize histones and other proteins associated with the DNA of the chromosomes, produce an adequate supply of organelles for the two daughter cells, and assemble the structures necessary for them to intersect. carry out mitosis and cytokinesis. These preparatory processes occur during the interphase of the cell cycle, in which, in turn, three stages are distinguished: the GI, S and G2 phases (Curtis et. al., 2008).

The breeding of *A. fraterculus* under laboratory conditions allows genetic studies to be carried out by families, rigorously identify genetic variants (chromosomal, biochemical, molecular), confirm and characterize new mutants, frequently misinterpreted when studies are only carried out on materials that come from nature. Thus it is possible to understand the meaning of variability

The most common karyotype is composed of 5 pairs of telocentric autosomes, an acrocentric X chromosome, and a small submetacentric Y chromosome, such that 2n = 2x = 10 + XX/XY (Lisfchitz et. al., 1999) (Figure 4). The heteromorphic pair is generally associated with the pair of XX or XY sex chromosomes which remain separate during

mitotic metaphase.

During the S phase (of synthesis) the chromosomal material is duplicated. Between cell division and the S phase there are two G phases (from the English gap, interval). The first of these (G1) is a period of general growth and duplication of cytoplasmic organelles. During the second (G2), chromosome condensation begins and the assembly of structures directly associated with mitosis and cytokinesis begins. After the G2 phase, mitosis occurs, where the duplicated chromosomes are distributed between the two daughter nuclei.

- a) Prophase. The centrioles begin to move towards opposite poles of the cell, the condensed chromosomes (consisting of two sister chromatids) are already visible, the nuclear envelope breaks and the formation of the mitotic spindle begins.
- b) Early metaphase. Spindle polar and kinetochore fibers pull each pair of chromatids back and forth.
- c) Late metaphase. Chromatid pairs line up at the equator of the cell.
- d) Anaphase. The chromatids separate. The two sets of newly formed chromosomes are pushed toward opposite poles of the cell.
- e) Telophase. The nuclear envelope forms around each chromosome set and the chromosomes decondense and again take on a diffuse appearance. The nucleoli reappear. The mitotic spindle becomes disorganized and the plasma membrane invaginates in a process that causes the two daughter cells to separate.

Finally, in cytokinesis, the cytoplasm divides, separating the mother cell into two identical daughter cells. When no more cells are required, they enter a state called G0, in which they leave the cell cycle and enter a period of latency (Curtis et. al., 2008).

Cells continually monitor their external environment as well as their internal physiological state and functions. In the absence of necessary nutrients or growth factors, animal cells can exit the cell cycle and enter a resting state called G0. Following growth stimulation, cells re-enter the cell cycle (Hartl & Jones, 2006).

Cells have mechanisms that respond to stress symptoms, including DNA damage, oxygen depletion, inadequate amounts of nucleoside triphosphates, and (in the case of animals) loss of intercellular adhesion. Within the cell, several key events in the cell cycle are monitored. When defects are identified, cell cycle progression stops at a checkpoint allowing time for correction and repair. The checkpoint serves to maintain the correct order of the phases of the cell cycle (Hartl & Jones, 2006).

There are three key checkpoints in the cell cycle (Figure 6):

- DNA damage checkpoint
- Checkpoint at centrosome duplication
- Checkpoint in the mitotic spindle

Failure at any checkpoint in the cell cycle results in genetic instability leading to different types of chromosomal mutations

The malfunction of the mitotic spindle can lead to aneuploidy, while an error in centrosome duplication can lead to polyploidy. Failures at the DNA damage checkpoints (Figure 8) can result in chromosomal aberrations of various types, including translocations, deletions, and amplifications of genes or chromosome regions. Amplified genes can be found as tandem repeats within a chromosome or extrachromosomal circles that lack a centromere and telomeres (Hartl & Jones, 2006).

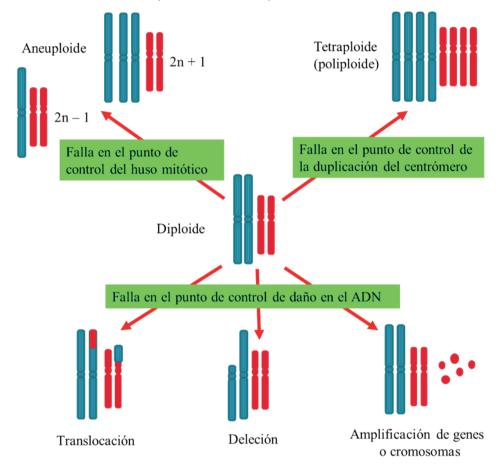


Figure 8. Contribution of failures in control points to genomic instability (Adapted from Hartl & Jones, 2006)

## c. gene amplification ACTUALIZAR

DNA amplification is defined as a molecular process that results in an increase in the number of copies of a discrete chromosomal region of DNA (Mondello et. al., 2010; Mukherjee & Storici, 2012). In increase in the number of copies of a gene. There may also be an increase in the RNA and protein made from that gene. Gene amplification is common in cancer cells, and some amplified genes may cause cancer cells to grow or become

resistant to anticancer drugs. Genes may also be amplified in the laboratory for research purposes.

These types of mutations have been observed in a large number of human tumors including breast, lung, ovarian, colon cancer, leukemias, and neuroblastoma (Baskin et. al., 1981; Hahn, 1993; Foureman et. al., 1998; Schoenlein et.al., 2003, Albertson et.al., 2003, Albertson, 2006, Teicher, 2006, Sanborn et.al., 2013, Yu et.al., 2013, L'Abbate et.al., 2014, Poddighe et al., 2014).

Clinically, the amplification has prognostic and diagnostic utility and is a mechanism of acquired drug resistance (Baskin et. al., 1981; Schimke, 1984; Albertson et. al., 2003; Albertson, 2006; Teicher, 2006; Starczynski et al., 2012).

## d- tiny double chromosomes (DMs)

DMs chromosomes were observed and described for the first time in *A. fraterculus* by Basso (2003) in natural populations of Argentina.

DMs and homogeneously stained regions (HRS) are two cytogenetic manifestations of gene amplification (duplication) (Cowell, 1982). They can be located as extrachromosomal elements (DMs) or within the chromosomal arm, giving rise to homogeneously stained regions (HSR) (Mondello et. al., 2010).

DMs are acentric circular fragments, without telomere, that replicate autonomously. Having no centromere, DMs segregate randomly at mitosis and may be lost during cell division unless they confer a proliferative advantage to cells, such as when they carry amplified drug resistance genes (Hahn, 1993; Mondello et. al., 2010).

The presence of DMs in cells of cancer patients is an indicator that the administered drug has ceased to be effective and should be replaced by another (Teicher, 2006).

This work aims to answer the following questions:

What role do DM chromosomes play in laboratory populations derived from natural populations? How are they transmitted from one generation to another?

## **Materials and Methods**

## REFERENCES

```
Albertson et. al., 2003;

Albertson, 2006

Baskin et. al., 1981;

Basso 1992, 1993, 1994, 1995, 1996, 1997, 1998 (2003)

Cowell, 1982

Curtis et al, 2008
```

Foureman et. al., 1998 Manso 1999 Mondello et. al., 2010; Hahn, 1993 Hartl & Jones, 2006 L'Abbate et.al., 2014 Lisfchitz et. al., 1999 Mukherjee & Storici, 2012 Poddighe et al., 2014 Sanborn et.al., 2013 Schimke, 1984; Schoenlein et.al., 2003 Starczynski et al., 2012

Teicher, 2006

Yu et.al., 2013,

## **CAPÍTULO 13**

## PADRÃO DE HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA GC-RICA EM ACESSOS FEIJÃO-FAVA (*Phaseolus lunatus* L.) DO BRASIL E DO MÉXICO

Data de aceite: 01/09/2023

## Yago de Oliveira Martins

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil https://lattes.cnpq.br/6400476274227463

## **Amanda Ellen Torres Silva**

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/5797854747057247

## Andreza Francisca dos Anjos Sousa

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil https://lattes.cnpq.br/7569631309447240

## Luhara Maria Souza Chaves Silva

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/2929936678352045

#### Thales da Silva

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpg.br/5022701379455428

## **Antonio Carlito Bezerra dos Santos**

Programa de Pós-graduação em Biodiversidade – PPGBio Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE Recife, Pernambuco, Brasil http://lattes.cnpq.br/7518540852200560

## **Thaysson Rodrigues Lopes**

Mestrado em Biotecnologia, Universidade Federal do Delta do Parnaíba Parnaíba, Piauí, Brasil http://lattes.cnpg.br/7040059719778493

## Gardene Maria de Sousa

Laboratório de Morfologia e Taxonomia Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/8500244683205739

## **Ana Paula Peron**

Departamento Acadêmico de Biodiversidade e Conservação da Natureza. Programa de Pós-Graduação em Inovação Tecnológica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. http://lattes.cnpq.br/3605560420792065

## Regina Lúcia Ferreira Gomes

Departamento de Fitotecnica, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/6938362260541348

## Ângela Celis de Almeida Lopes

Departamento de Fitotecnica, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/2718756494613870

#### Lidiane de Lima Feitoza

Laboratório de Citogenética e Citogenômica Vegetal Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí, Brasil http://lattes.cnpq.br/5456816132715008

RESUMO: O feijão-fava (Phaseolus lunatus L.) é a segunda espécie economicamente mais importante do gênero Phaseolus e constitui uma ótima fonte de proteína vegetal para diversos países da América, África, além de algumas regiões da Europa e Ásia. No Brasil, o cultivo da fava se configura ainda como uma alternativa de renda para pequenos produtores, especialmente na região Nordeste, que lidera o ranking de produção do país e possui uma diversidade genética tão alta quanto o México, apontado como um dos centros de domesticação da espécie. Os bancos de germoplasma constituem uma eficiente estratégia de conservação de recursos genéticos, pois além de preservar a variabilidade, também disponibilizam o material armazenado para futuras pesquisas botânicas, morfológicas, moleculares, citogenéticas e outras. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar citologicamente 13 acessos de P. lunatus do Brasil e do México pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí por meio da técnica de bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI, e assim, analisar o padrão de heterocromatina constitutiva GC-rica. Todos os acessos apresentaram cariótipos simétricos, constituídos por 22 cromossomos de tamanho pequeno, variando de 0,84 µm a 3,41µm, morfologia metacêntrica e submetacêntrica. As fórmulas cariotípicas encontradas foram 11M, 10M + 1SM e 9M + 2SM. O padrão de distribuição da heterocromatina foi do tipo pericentromérico, rico em GC, com blocos de diferentes tamanhos e intensidade, para todos os cromossomos dos cariótipos analisados. Também foi observado um par de bandas terminais CMA+ em todos os acessos, correspondendo à região organizadora de nucléolo (RON). Não foram identificadas bandas ricas em AT. O padrão de marcação com CMA gerou quatro fórmulas citológicas quanto ao número e composição por GC das bandas: 22CMA++/DAPI (MEX PL 2, MEX PL 3, MEX PL 5 e UFPI 925), 22CMA+/DAPI- (UFPI 902 e UFPI 1022), 2CMA++/DAPI-/20CMA+/DAPI- (UFPI 999, UFPI 1113 e UFPI 1247) e 2CMA+/DAPI-/20CMA/DAPI- (UFPI 929, UFPI 1218 e UFPI 1250). Os acessos apresentaram guantidades de heterocromatina que variaram de 17,33% a 38,82%, cujo valor médio encontrado foi de 25,38%. A dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI em associação com a quantificação da HC, permitiram uma boa análise a respeito do padrão de heterocromatina encontrado nos acessos de feijão-fava e da fração que este tipo de cromatina representa no cariótipo da espécie. Os dados gerados a partir deste trabalho enfatizaram a estabilidade cariotípica do gênero *Phaseolus* e contribuíram para uma melhor caracterização do germoplasma de *P. lunatus* disponível no BAG-UFPI.

PALAVRAS-CHAVE: feijão-fava, heterocromatina constitutiva, bandeamento com fluorocromos.

## PATTERN OF CONSTITUTIVE HETEROCHROMATIN GC\_RICH IN FAVA BEAN ACCESSIONS (*Phaseolus lunatus* L.) FROM BRAZIL AND MEXICO

ABSTRACT: Lima bean (Phaseolus lunatus L) is the second most economically important species of the genus and a great source of plant protein for several countries in America, Africa, as well as some regions in Europe and Asia. In Brazil, the cultivation of lima beans is still an alternative income for small producers, especially in the Northeast, which leads the country's production ranking and has a genetic diversity as high as Mexico, pointed as a center of domestication of species. In this context, germplasm banks are an efficient conservation strategy because, in addition to preserving variability, they also make stored germplasm available for future scientific research. Thus, the present work aimed to cytogenetically characterize 13 P. lunatus accessions from the Germplasm Active Bank of the Federal University of Piauí by means of the CMA and DAPI fluorochrome banding technique. and thus to analyze the constitutive heterochromatin pattern. All accessions presented symmetrical karyotypes, consisting of 22 small chromosomes, ranging from 0.84  $\mu$ m to 3.41  $\mu$ m, metacentric and subcentric morphology. The karyotypic formulas found were 11M, 10M + 1SM and 9M + 2SM. The distribution pattern of heterochromatin was GC-rich pericentromeric with blocks of different sizes and intensity for all karyotype chromosomes analyzed. A pair of CMA+ terminal bands were also observed in all accessions, corresponding to the nucleus organizer region (RON). No AT-rich bands identified. The CMA labeling pattern generated four cytological formulas for the number and GC composition of the bands: 22CMA++/DAPI (MEX PL 2, MEX PL 3, MEX PL 5 and UFPI 925), 22CMA+/ DAPI-(UFPI 902 and UFPI 1022). 2CMA++/ DAPI-/ 20CMA+/ DAPI- (UFPI 999, UFPI 1113 and UFPI 1247) and 2CMA+/ DAPI-/ 20CMA/DAPI (UFPI 929, UFPI 1218 and UFPI 1250). The accessions presented amounts of heterochromatin ranging from 17.33% to 38.82%, whose average value was 25.38%. The double coloration with fluorochromes CMA and DAPI in association with the quantification of HC, allowed a good analysis regarding the heterochromatin pattern found in lima bean accessions and the fraction that this type of chromatin represents in the karyotype of the species. The data generated from this work reinforced the karyotype stability of the genus Phaseolus and contributed to a better characterization of P. lunatus germplasm available in BAG-UFPI.

**KEYWORDS**: fava beans, constitutive heterochromatin, fluorochrome banding.

## 1 I INTRODUÇÃO

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.), também conhecido como fava, feijão-de-lima ou fava-de-lima, é uma das quatro espécies do gênero explorada comercialmente, que ocupa o segundo lugar em consumo entre as espécies cultivadas do gênero, depois do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). É uma espécie de origem neotropical, considerada como cultura de subsistência nos trópicos úmidos da América (MAYOR et al., 2009), constituindo uma importante fonte de proteína para as populações rurais do Sul da América e África (LIOI et al., 1998). Essa leguminosa fornece em média 1,3% de gordura, 4% de cinza, 22% de proteínas, apresentando bom valor biológico, alto conteúdo de lisina e alta digestibilidade (GRANITO et al., 2007).

Aspectos como maior tolerância à seca e ao calor dão uma importância econômica e social mais significativa ao feijão-fava e permite uma maior exploração por parte da agricultura familiar, que se utiliza de técnicas rudimentares para o cultivo (FRANÇA et al., 2018). No Brasil, a região Nordeste destaca-se como a maior produtora de fava do país e foi responsável por aproximadamente 92,5% de toda a produção no ano de 2017. No México, na Península de Yucatán, o feijão-fava é a quarta principal cultura, sendo plantado no sistema agrícola tradicional mesoamericano conhecido como "milpa" (MARTINEZ-CASTILLO et al., 2008).

Estudos demonstram que o feijão-fava, assim como o feijão-comum (*P. vulgaris* L.) apresenta bastante diversidade e que passou por pelo menos dois eventos de domesticações independentes: um na Mesoamérica e outro nos Andes (BITOCCHI et al., 2018). A princípio, os estudos consideravam apenas dois *pools* gênicos para *P. lunatus*, denominados Mesoamericano e Andino, ambos contendo representantes selvagens e domesticados (GUTIÉRREZ et al., 1995; MOTTA-ALDANA et al., 2010). Entretanto, trabalhos posteriores relatam a ocorrência de outros subgrupos dentro de cada *pool* gênico, principalmente do mesoamericano, que inclui o México, apontado como um centro de diversidade, assim como o Brasil (ANDUEZA-NOH et al., 2013; MARTÍNEZ-CASTILLHO et al., 2014).

Várias tentativas a nível mundial e nacional foram despendidas no sentido de reunir, avaliar e manter coleções de fava, visando assegurar a conservação da sua variabilidade genética. Órgãos como CIAT, IITA, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí (UFPI) entre outros, mantêm vastas coleções. Contudo, segundo Baudoin (1988), a situação da coleção de feijão-fava é crítica, pois há muito germoplasma a ser coletado. Esse autor alertou também para o risco de perda de germoplasma principalmente no centro primário de diversidade, que está situado na América Latina.

Os bancos de germoplasma constituem uma estratégia de conservação importante, uma vez que preservam a variabilidade genética existente nas espécies sob condições controladas e as disponibilizam para futuros estudos. Entretanto, para que os recursos

ali conservados possam ser efetivamente utilizados, é preciso que haja um conhecimento a respeito dos seus potenciais. Para isso, é necessário análises morfológica, botânica, citogenética, molecular, bioquímica ou morfoagronômica.

A citogenética é considerada uma ferramenta fundamental na caracterização dos recursos genéticos vegetais (MARTINS et al., 2021; ALMEIDA et al., 2022) e tem grande importância nos estudos onde se avalia as relações evolutivas entre as espécies (PAULA et al., 2020; IBIAPINO et al., 2022a; 2022b; COSTA et al., 2023). As abordagens citogenéticas envolvendo o número, morfologia, tamanho dos cromossomos, bem como presenca de constrição secundária e quantidade de heterocromatina no cariótipo são dados importantes para a compreensão do processo de evolução nas plantas (RITO et al., 2021; GUERRA, 2000; MATA-SUCRE et al., 2020; CORDEIRO et al., 2022). Os primeiros relatos sobre contagem cromossômica no gênero Phaseolus remontam a 1925, quando Karpetschenko obteve o cariótipo 2n = 22 para as espécies P. acutifolius A. Gray, P. coccineus L., P. vulgaris L. e P. lunatus L. A partir de então, diversos trabalhos citogenéticos foram realizados com ênfase na determinação dos números cromossômicos e estabeleceram n=11 como sendo o número básico, com exceção de três espécies que apresentaram um cariótipo n=10, sugerindo a ocorrência de aneuploidias, além de inversões e translocações que alteraram a posição do centrômero nas espécies analisadas (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2000).

Dessa forma, devido ao valor socioeconômico que o feijão-fava apresenta para o Brasil e México, que são grandes centros de diversidade da espécie, o presente trabalho teve como objetivo analisar citogeneticamente 13 acessos de *P. lunatus* provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí, oriundos da região Nordeste do Brasil e do México. A análise foi realizada por meio da técnica de bandeamento com os fluorocromos cromomicina A<sub>3</sub> (CMA) e 4'-6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), com o objetivo de caracterizar o padrão de heterocromatina constitutiva nos cariótipos e identificar possíveis variações citológicas entre eles importantes para o melhoramento genético da espécie.

## 21 MATERIAIS E MÉTODOS

## 2.1 Seleção dos acessos

Para a realização deste trabalho, foram caracterizados por meio da técnica de bandeamento com fluorocromos CMA/DAPI, 13 acessos *P. lunatus* L. oriundos do nordeste do Brasil e da Península de Yucatán – México, armazenados e disponibilizados pelo Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal do Piauí, conforme estão representados na Tabela 1. Ambos os locais são relatados na literatura como tendo um alto índice de diversidade genética.

Identificação do acesso	Nome vulgar	Procedência
MEX PL 2	_	Península de Yucatán - México
MEX PL 3	_	Península de Yucatán - México
MEX PL 5	_	Península de Yucatán - México
UFPI 902	Fava-feijão	Areia – PB
UFPI 930	_	Maceió – AL
UFPI 925	_	Maceió – AL
UFPI 929	_	Surumbi – PE
UFPI 999	=	Passira – PE
UFPI 1022	Fava-roxinha	Areia – PB
UFPI 1113	Fava-branca	Bom Jesus das Selvas - MA
UFPI 1218	Fava-branca	Colinas – MA
UFPI 1247	Chumbinho	Miguel Alves – PI
UFPI 1250	Fava-branca	São Benedito - CE

Tabela 1 – Identificação dos 13 acessos de P. lunatus L. utilizados.

## 2.2 Preparo das raízes e bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI

Após atingirem o tamanho ideal, as raízes foram coletadas e pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (0,002M) por 18 horas à 10°C. Em seguida, foram fixadas em solução Carnoy (etanol absoluto e ácido acético glacial na proporção 3:1) durante 24 horas à temperatura ambiente.

As lâminas foram feitas de acordo com o protocolo de Carvalho & Saraiva (1993), com algumas modificações. As raízes, antes estocadas no fixador, foram submetidas a duas lavagens com água destilada. Em seguida, a região meristemática foi destacada do restante da raiz e tratada com 10  $\mu$ L de solução enzimática celulase 2% (Onozuka) pectinase 20% (Sigma) durante uma hora e meia em uma estufa a 37°C.

A coloração com fluorocromos seguiu o protocolo usado em Almeida et al., 2022. A pré-seleção foi feita utilizando 10  $\mu$ L de DAPI (0,2mg/mL), e as melhores lâminas foram descoradas e deixadas à temperatura ambiente por 3 dias. Para a coloração definitiva, as lâminas foram coradas com 10  $\mu$ L de CMA (0,1mg/mL) e mantidas em uma caixa escura por uma hora. Em seguida, foram retiradas as lamínulas com água destilada e as lâminas foram secas com uma bomba de ar. Posteriormente, foram adicionados 10  $\mu$ L de DAPI (0,2mg/mL) durante meia hora e, em seguida, as lâminas foram, lavadas, secas e montadas com tampão McIlvaine- glicerol (1:1 v/v).

## 2.3 Fotodocumentação e Morfometria

Os resultados obtidos foram fotografados por uma câmera digital Leica DF7000GT acoplada ao microscópio de epifluorescênciaLeica DM4B, no Departamento de Biologia da UFPI. As imagens obtidas foram editadas apenas quanto ao brilho e contraste com o apoio

do programa Adobe Photoshop CC 2018.

Para a morfometria, foram mensuradas cinco metáfases de cada acesso utilizando o programa *Micromeasure* 3.5. O tamanho dos blocos de heterocromatina constitutiva também foi calculado usando o programa *Micromeasure*3.5. Para identificar a porcentagem presente em cada acesso, foi comparado o tamanho total dos blocos heterocromáticos ao tamanho total do conjunto cromossômico. Os idiogramas evidenciando a distribuição dos blocos de HC foram feitos por meio do programa *Corel DRAW* 2017.

## **3 I RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A técnica de bandeamento usando os fluorocromos CMA e DAPI possibilitou uma análise detalhada a respeito do padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva nos 13 acessos de *Phaseolus lunatus* L. utilizados neste trabalho. Foi possível também inferir a respeito dos dados cariotípicos básicos, como número, morfologia e tamanho dos cromossomos (Tabela 2; Figuras 1 e 2).

Todos os acessos analisados apresentaram cariótipos compostos por 22 cromossomos, predominantemente metacêntricos (M), sendo observada a presenca de. no máximo, dois pares submetacêntricos (SM) em alguns acessos. Dessa forma, as três fórmulas cariotípicas encontradas foram: 11M (MEX PL 3, MEX PL 5, UFPI 902, UFPI 925, UFPI 929, UFPI 930, UFPI 1218, UFPI 1247 e UFPI 1250), 10M + 1SM (MEX PL 2, UFPI 999 e UFPI 1022) e 9M + 2SM (UFPI 1113). Diversos trabalhos realizados com espécies do gênero Phaseolus, incluindo P. lunatus L., confirmam o número cromossômico básico (x=11) e a morfologia simétrica com predominância de metacêntricos e submetacêntricos (DELGADO-SALINAS 1998, 2000, 2009; MOSCONE et al., 1999; BONIFÁCIO et al., 2012). Análise citológica realizada por Sarbhoy (1980) em quatro espécies cultivadas já constatava um número de até cinco pares de cromossomos submetacêtricos para P. lunatus L., mostrando que as fórmulas 10M + 1M e 9M + 2SM se encontram dentro dos padrões já descritos. Moscone et al. (1999) também analisou o cariótipo dessas mesmas quatro espécies e descreveu, para P. lunatus L., um cariótipo composto apenas de cromossomos metacêntricos, o que dá suporte às informações cariotípicas dos 10 acessos que apresentaram fórmula 11M.

As mensurações cromossômicas mostraram um intervalo de tamanho variando de 0,84 $\mu$ m (UFPI 902) a 3,41 $\mu$ m (MEX PL 3). Entretanto, o intervalo mais significativo, considerando os acessos individualmente, foi observado no acesso MEX PL 5, com uma diferença de tamanho de 2,09  $\mu$ m entre o maior e o menor cromossomo. O tamanho pequeno dos cromossomos das espécies do gênero *Phaseolus* tem sido relatado desde os primeiros estudos utilizando coloração convencional. Para *P. lunatus* L., Sarboy (1977) chegou a relatar um comprimento de 2,40 $\mu$ m para o maior cromossomo da espécie, e um tamanho de até 3,00  $\mu$ m para uma determinada variedade de *P. vulgaris* L.. Mercado-Ruaro

e Delgado-Salinas (2009) realizaram uma análise cariotípica em seis espécies do gênero e encontraram uma variação de tamanho dos cromossomos de 0,70 a 2,36  $\mu$ m entre as espécies.

Análises morfométricas e numéricas de cromossomos são uma maneira de indicar possíveis alterações cariotípicas que ocorreram ao longo do percurso evolutivo, bem como os processos que levaram à diversificação de espécies (GAO et al., 2012). O gênero *Phaseolus* é conhecido por apresentar uma alta estabilidade cariotípica representada por cariótipos 2*n*=22, com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos de tamanho pequeno para todas as espécies (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2000; 2009; ALMEIDA; PEDROSA-HARAND, 2013).

A dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI permitiu uma boa análise da localização cromossômica da heterocromatina constitutiva encontrada nos acessos utilizados nesta pesquisa. Para todos os cariótipos, o padrão de distribuição da HC (heterocromatina) foi pericentromérico, rico em GC, com bandas de diferentes tamanhos e intensidade. Também foram observadas bandas localizadas na região terminal de pelo menos um par de cromossomos, ligeiramente distendidas e com coloração quase sempre mais forte que as bandas pericentroméricas, indicando uma composição altamente rica em GC. Não foram encontradas bandas de heterocromatina ricas em AT (Figuras 1 e 2).

A marcação com o fluorocromo CMA<sub>3</sub> não foi uniforme em brilho e intensidade em todos os acessos. Dessa maneira, foram geradas diferentes categorias citológicas, de acordo com a intensidade do sinal emitido pelas bandas: CMA<sup>++</sup>/DAPI<sup>-</sup>, para bandas altamente ricas em GC; CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup>, para bandas de HC moderadamente ricas em GC e CMA/DAPI<sup>-</sup> para bandas que apresentaram pouca GC, ambas reduzidas para AT. Em todos os acessos estudados, as bandas terminais apresentaram marcação CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> ou CMA<sup>++</sup>/DAPI<sup>-</sup>, mostrando a alta quantidade de GC em sua composição, e paralelamente, uma quantidade de AT reduzida. Baseado nas categorias citadas acima, foram geradas as seguintes fórmulas referentes ao número e composição das bandas: 22CMA<sup>++</sup>/DAPI<sup>-</sup> (MEX PL 2, MEX PL 3, MEX PL5 e UFPI 925), 2CMA<sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup> e 20CMA/DAPI<sup>-</sup> (UFPI 999, UFPI 1113 e UFPI 1247), 22CMA<sup>+</sup>DAPI<sup>-</sup> (UFPI 902 e UFPI 1022) e 2CMA<sup>+</sup>DAPI<sup>-</sup> e 20CMA/DAPI<sup>-</sup> (UFPI 929, UFPI 930, UFPI 1218 e UFPI 1250).

Acesso	2n	ITC (μm)	r ( <i>µ</i> m)	FC	CTC (µm)	CMC (µm)	CTLH (µm)
MEX PL 2	22	1,25 – 2,50	1,21	10M + 1SM	38,87	1,76	19,44
MEX PL 3	22	1,33 – 3,41	1,22	11SM	44,35	2,01	22,18
MEX PL 5	22	1,12 – 3,21	1,27	11M	45,06	2,04	22,53
UFPI 902	22	0,84 - 2,28	1,28	11M	31,10	1,41	15,55
UFPI 925	22	1,18 – 2,26	1,27	11M	34,64	1,53	16,90
UFPI 929	22	1,25 – 2,62	1,22	11M	38,00	1,72	19,00
UFPI 930	22	1,14 – 2,29	1,26	11M	34,74	1,55	17,05
UFPI 999	22	0,95 - 2,95	1,35	10M +1SM	36,29	1,67	18,46
UFPI 1022	22	1,24 – 2,23	1,26	10M + 1SM	35,18	1,59	17,54
UFPI 1113	22	1,30 – 2,90	1,27	9M + 2SM	41,01	1,94	21,38
UFPI 1218	22	1,19 – 2,31	1,17	11M	37,72	1,71	18,86
UFPI 1247	22	1,42 – 2,46	1,22	11M	40,47	1,83	20,24
UFPI 1250	22	1,20 – 2,11	1,24	11M	36,20	1,63	18,01

Tabela 2. Número cromossômico diploide (2n), intervalo do tamanho cromossômico (ITC), média da razão entre os braços (r), fórmula cariotípica (FM), comprimento total cromossômico (CTC), comprimento médio cromossômico (CMC), comprimento total do lote haploide (CTLH).

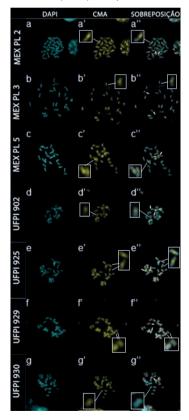


Figura 1. Bandeamento cromossômico com fluorocromos CMA/DAPI em acessos de *Phaseolus lunatus* L. do Banco Ativo de Germoplasma de *Phaseolus* da UFPI. Insertos evidenciam bandas pericentroméricas ricas em GC. Setas indicam par de bandas terminas que equivalem as RONs.

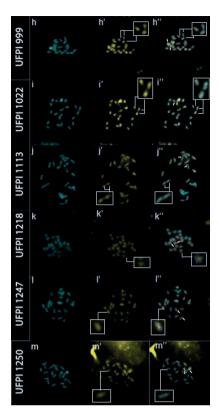
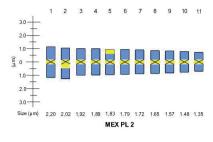
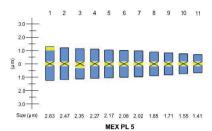
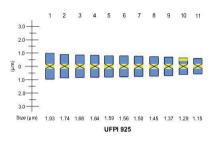


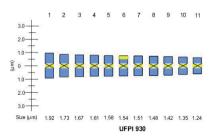
Figura 2. Bandeamento cromossômico com fluorocromos CMA/DAPI em acessos de *Phaseoluslunatus*L. do Banco Ativo de Germoplasma de Phaeseolus da UFPI. Insertos evidenciam bandas pericentroméricas ricas em GC. Setas indicam par de bandas terminas equivalentes às RONs.

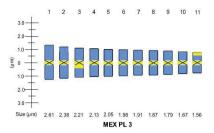
Para uma maior clareza quanto à morfologia e tamanho dos cromossomos, bem como da distribuição das bandas de HC, encontra-se representado na forma de idiogramas o conjunto haploide dos acessos analisados (Figura 3).

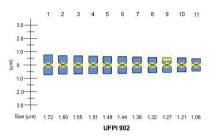


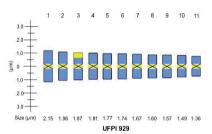


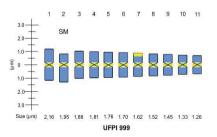












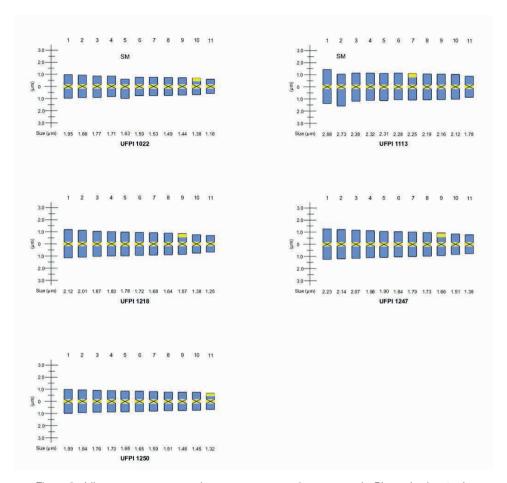


Figura 3 - Idiogramas representando os cromossomos dos acessos de *Phaseolus lunatus* L. analisados em número, tamanho, morfologia e padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva. Em amarelo, bandas heterocromática pericentroméricas e terminais (RONs), ricas em GC. SM= cromossomo submetacêntrico.

Figura 3... cont. Idiogramas representando os cromossomos dos acessos de Phaseoluslunatus L. analisados em número, tamanho, morfologia e padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva. Em amarelo, bandas heterocromáticapericentroméricas e terminais (RONs), ricas em GC. SM= cromossomo submetacêntrico.

Foi realizada também a quantificação da heterocromatina constitutiva como uma maneira de complementar os dados até aqui apresentados, permitindo uma melhor compreensão da fração que este tipo de cromatina ocupa no genoma de *P. lunatus* (Tabela 3).

Acesso	Número de bandas CMA/DAPI	Heterocromatina (%)
MEX PL 2	22CMA++/DAPI-	38,82
MEX PL 3	22CMA++/DAPI	21,57
MEX PL 5	22CMA++/DAPI-	28,57
UFPI 902	22CMA+/DAPI-	29,04
UFPI 925	22CMA++/DAPI	33,16
UFPI 929	2CMA+/DAPI- e 20CMA/DAPI-	19,26
UFPI 930	2CMA+/DAPI- e 20CMA/DAPI-	21,67
UFPI 999	2CMA++/DAPI e 20CMA+/DAPI	26,07
UFPI 1022	22CMA+/DAPI-	17,33
UFPI 1113	2CMA++/DAPI e 20CMA+/DAPI	24,89
UFPI 1218	2CMA+/DAPI- e 20CMA/DAPI-	22,56
UFPI 1247	2CMA++/DAPI e 20CMA+/DAPI	24,26
UFPI 1250	2CMA+/DAPI- e 20CMA/DAPI-	22,56

Tabela 3 - Número de bandas CMA/DAPI e percentual de heterocromatina observada nos acessos de Phaseolus lunatus L. do BAG de Feijão-fava da UFPI.

Medeiros (2017) analisou citologicamente 21 acessos de feijão-fava do BAG de Phaseolus da UFPI, provenientes da região Nordeste, por meio da dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI. Além de confirmar o padrão de distribuição já citado, todas as fórmulas relacionadas a quantidade de bandas CMA/DAPI observadas neste trabalho também foram relatadas em sua análise, sendo verificada a presença de mais uma banda (22CMA/DAPI) que não foi encontrado nos acessos aqui utilizados. Além disso, todas as regiões terminais observadas apresentaram pelo menos uma marcação positiva para CMA (CMA+). Tais informações são semelhantes às encontradas neste trabalho, inclusive na variação das categorias citológicas geradas.

Em relação à porcentagem de heterocromatina observada, o maior valor foi encontrado corresponde a 38,82% (MEX PL 2), enquanto o menor equivale a 17,33% (UFPI 1022). A média encontrada entre os acessos foi equivalente a 25,38%. Dessa forma, cinco acessos (MEX PL 2, MEX PL 5, UFPI 902, UFPI 925 e UFPI 999) mostraram um valor ligeiramente acima da média calculada neste trabalho, enquanto os oito demais acessos mantiveram a quantidade de HC abaixo da média. Ao relacionar a porcentagem de heterocromatina encontrada com as fórmulas citológicas descritas, é possível observar que, dos 5 acessos que apresentaram um maior percentual de HC, 3 deles (MEX PL 2, MEX PL 5 e UFPI 925) se enquadram na categoria 22CMA\*\*/DAPI\* indicando além de uma grande quantidade de heterocromatina, uma composição altamente rica em GC.

Andrade (2018) também quantificou a heterocromatina constitutiva em 24 acessos nordestinos de fava do BAG da UFPI e observou uma média de 28,81%, similar à relatada neste trabalho. Valores acima de 30% foram relatados em 8 acessos, sendo observado até 38,77% de heterocromatina em um dos acessos, quantidade semelhante à encontrada no

acesso MEX PL 2 (38,82%) nesta análise.

Espécies do gênero *Phaseolus* apresentam um conteúdo de DNA relativamente baixo comparado à proporção de HC observada (BENNETT; LEITCH, 2012; FEITOZA et al., 2017). A quantidade de heterocromatina constitutiva encontrada nos acessos foi maior do que a relatada por trabalhos como o de Moscone et al. (1999), cujo conteúdo heterocromático foi de 10% para *Phaseolus lunatus* L. Zheng et al. (1991) relataram um valor de até 30,9% de HC para *P. coccineus* e 36,9% para uma espécie do gênero *Vigna*.

Fonsêca et al (2010) construíram um mapa citogenético para *P. vulgaris* e também quantificaram a heterocromatina pela mesma metodologia utilizada neste trabalho. Os autores relataram que quase metade do seu genoma (48%) equivale à heterocromatina, sendo 34% referente às bandas pericentroméricas, podendo justificar o maior valor relatado neste trabalho (38,82%), uma vez que o mesmo método de quantificação foi usado e que as espécies são proximamente relacionadas.

Segundo Guerra (2000), não há um único padrão característico de HC para todas as angiospermas e seu significado funcional pode ser diferente entre as espécies. Tanto a heterocromatina quanto a eucromatina podem sofrer alterações em períodos relativamente curtos. Até mesmo dentro de uma espécie, é possível a ocorrência de polimorfismos relacionados ao número e comprimento das bandas e, assim, variar a quantidade de heterocromatina (SUMNER, 1990).

## **REFERÊNCIAS**

ALMEIDA, B.M. et al. **Karyotype polymorphism of GC- rich constitutive heterochromatin in** *Capsicum* **L. pepper accessions**. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 22, n. 1, e38642113, 2022.

ALMEIDA, C.; PEDROSA-HARAND, A. High macro-collinearity between lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.) as revealed by comparative cytogenetic mapping. Theoretical and Applied Genetics, v. 126, p. 1909–1916, 2013.

ANDRADE, T. E. G. Caracterização citogenética e predição de cruzamentos intraespecíficos em acessos superiores de *Phaseolus lunatus* L. 74p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2018.

ANDUEZA-NOH, R. H et al. Multiple domestications of the Mesoamerican gene pool of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.): evidence from chloroplast DNA sequences. Genetic Resources and Crop Evolution, v.60, p.1069–1086, 2013.

BENNETT, MD; LEITCH IJ; **Banco de dados de valores C de DNA vegetal.** http://data.kew.org/cvalues. 2012.

BITOCCHI, E. et al. **Beans** (*Phaseolus* ssp.) as a model for understanding crop evolution. Frontiers in Plant Science, v.8, p.1-21, 2018.

BONIFÁCIO, E. M.; FONSÊCA, A.; ALMEIDA, C.; DOS SANTOS, K.G.B.; PEDROSA-HARAND, A. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.). Theoretical and Applied Genetics, v.124, p.1513–1520, 2012.

CARVALHO, C.R.; SARAIVA, L.S. **An air drying technique for maize chromosomes without enzymatic maceration.** Biotechnic & Histochemistry, Los Angeles, n. 68, p.142-145, 1993.

CORDEIRO, J.M.P et al. Chromosome number, heterochromatin, and genome size support recent polyploid origin of the *Epidendrum nocturnum* group and reveal a new species (Laeliinae, Orchidaceae). Botany, v. 1, p. 409-421, 2022.

COSTA, L; MARQUES, A; BUDDENHAGEN, C.E.; PEDROSA-HARAND, A; SOUZA, G. Investigating the diversification of holocentromeric satDNA in (Cyperaceae). Annals of Botany, v. 01, p. 01-10, 2023.

FONSÊCA, A. et al. **Cytogenetic map of common bean (***Phaseolus vulgaris* **L. L.).** Chromosome Research, v. 18, p. 487–502, 2010.

FRANÇA, S.M; SILVA, P.R.R; GOMES-NETO, A.V; GOMES, R.L.F; MELO, J. W.S. Resistance of Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) to the red spider mite tetranycusneo caledonicus (Acari: Tetranychidae). Frontiers in Plant Science, v. 9, p.1-8, 2018.

GRANITO, M.; BRITO, Y.; TORRES, A. Chemical composition, antioxidant capacity and functionality of raw and processed *Phaseolus lunatus*. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.87, p.2801-2809, 2007.

GUERRA, M. Patterns of heterochromatin in plant chromosomes. Genetics and Molecular Biology, v.23, n.4, p.1029-1041, 2000.

GUTIÉRREZ-SALGADO A, GEPTS P and DEBOUCK DG. Evidence for two gene pools of the lima bean, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. Genet. Resour. Crop Ev., v.42, p.15-28, 1995.

IBIAPINO, A. et al. Karyotype asymmetry in *Cuscuta* L. subgenus pachystigma reflects its repeat **DNA composition**. Chromosome Research v.1. p.1. 2022.

IBIAPINO, A. et al. The evolution of cytogenetic traits in *Cuscuta* (Convolvulaceae), the genus with the most diverse chromosomes in Angiosperms. Frontiers in Plant Science, v.13, p. 842260, 2022.

LIOI, L., LOTTI, C., GALASSO, I. Isozyme diversity, RFLP of the rDNA and phylogenetic affinities among cultivated Lima beans, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae). Plant Systematics and Evolution, v.213, p.153–164, 1998.

MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; CAMACHO-PÉREZ, L.; VILLANUEVA-VIRAMONTES, S.; ANDUEZA-NOH, R. H.; CHACON-SÁNCHEZ, M. I. Genetic structure with in the Mesoamerican gene pool of wild *Phaseolus Iunatus* (Fabaceae) from Mexico as revealed by microsatellite markers: implications for conservation and the domestication of the species. American journal of Botany, v.101, p.851-864, 2014.

MAYOR, Z. F.; FERNÁNDEZ, L.; LEÓN, N. Contribution of the traditional methods of conservation and management of in situ maize (*Zeamays* L.) and beans (Phaseolus sp.) variability to food security of farmers families in Cuba. FAO: Food and Agriculture Organization of the UN. Bary, Italy, 2009. Disponível em: ftp://ftp.fao.org/ag/agp/planttreaty/gb4/bari/Zoila\_Fundora.pdf.

MARTINS, L.V et al. **BAC- and oligo-FISH mapping reveals chromosome evolution among** *Vigna angularis, V. unguiculata,* and *Phaseolus vulgaris.* Chromosoma, v130(2-3), p.133-147, 2021.

MATA-SUCRE, Y; COSTA, L; GAGNON, E; LEWIS, GWILYM P.; LEITCH, ILIA J.; SOUZA, G. Revisiting the cytomolecular evolution of the *Caesalpinia* group (Leguminosae): a broad sampling reveals new correlations between cytogenetic and environmental variables. Plant systematics and evolution, v. 1, p. 1, 2020.

MEDEIROS, E. C. N. Caracterização citogenética e morfológica de acessos de feijão-fava (Phaseoluslunatus L.) do Banco de Germoplasma da UFPI. 64p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Cytogenetics studies in *Phaseolus vulgaris L.* (Fabaceae). Genetics and Molecular Biology, v. 23, p. 985-987, 2000.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic analysis in six species of *Phaseolus* L. (Fabaceae). Caryologia, v. 62, n. 3, p. 167-170, 2009.

MOSCONE, E. A.; KLEIN, F.; LAMBROU, M.; FUCHS, J.; SCHWEIZER, D. Quantitative karyotyping and dual-color FISH mapping of 5S and 18S-25S rDNA probes in the cultivated *Phaseolus species* (Leguminosae). Genome, v. 42, n. 6, p. 1224-1233, 1999.

MOTTA-ALDANA, J. R.; SERRANO-SERRANO, M. L.; HERNÁNDEZ-TORRES, J.; CASTILLO-VILLAMIZAR, G.; DEBOUCK, D.G. Multiple origins of lima bean landraces in the Americas: evidence from chloroplast and nuclear DNA polymorphisms. Crop Science, v. 50, p. 1773–1787, 2010.

PAULA, A.P.O et al. Karyotypic variability in *Calliandra sect. androcallis* (leguminosae - caesalpinioideae). Plant Biosystems, v. 1, p. 1-12, 2020.

RITO, K. F.; ARROYO-RODRÍGUEZ, V; CAVENDE; S; SOUZA, G; LEAL, I. R.; TBABRELLI, M. Unravelingthe drivers of plant taxonomic and phylogenetic β-diversity in a human-modified tropical dryforest. Biodiversity and Conservation, v. 1, p. 1-17, 2021.

SUMNER, A.T. **Nucleolar organizers (NORs).** In: Cromosome Banding, A.T. Sumner (ed.), Un win Hyman Ltd., London. 1990.

ZHENG, J.; NAKATA, M.; UCHIYAMA, H.; MORIKAWA, H.; TANAKA, R. Giemsa C banding patterns in several species of *Phaseolus* L. and *Vigna Savi*, Fabaceae. Cytologia, v. 56, n. 3, p. 459-466, 1991.

## **CAPÍTULO 14**

## IMPORTÂNCIA FITOQUÍMICA DOS ALIMENTOS NA SINALIZAÇÃO CELULAR E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA

Data de submissão: 25/07/2023

Data de aceite: 01/09/2023

#### Graziela Moreira Loiola

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/8634171450767489

#### Yasmin Moreto Guaitolini

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpg.br/8081444745164015

#### **Matheus Correia Casotti**

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/6184046265391814

## Aléxia Stefani Siqueira Zetum

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/7142761407152092

## **Luana Santos Louro**

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/1484188459522368

#### **Thomas Erik Santos Louro**

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/2070527883585613

## Gabriel Mendonça Santana

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/9404524990230209

#### Lorena Souza de Castro Altoé

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/6498910309638817

#### Flávia de Paula

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória - Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/7913201450663683

#### Geralda Gillian Silva Sena

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/4500097888842757

## Elizeu Fagundes de Carvalho

Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ/Rio de Janeiro – Rio de Janeiro http://lattes.cnpq.br/2742420738858309

## **lúri Drumond Louro**

Universidade Federal do Espírito Santo Vitória – Espírito Santo http://lattes.cnpq.br/3817361438227180

#### Débora Dummer Meira

Universidade Federal do Espírito Santo – Departamento de Ciências Biológicas Vitória - Espírito Santo http://lattes.cnpg.br/7199119599752978 RESUMO: A epigenética é o campo científico que estuda as transformações da regulação da expressão gênica, mecanismo que atua na ativação ou inibição de determinado gene. Na nutricão humana, existem evidências que os componentes presentes em alguns alimentos, os chamados fitoquímicos, têm a capacidade de influenciar diretamente o processo saúde-doenca por meio de mecanismos moleculares epigenéticos, reduzindo o risco de desenvolvimento de algumas doenças. Esses fitoquímicos são substâncias naturais encontradas em alimentos de origem vegetal que têm sido amplamente estudadas. Estudos mostram que certos fitoquímicos podem modular a expressão de genes específicos, afetando a atividade de enzimas e fatores de transcrição que controlam processos celulares importantes, como a proliferação celular, a apoptose, resposta imunológica, além de capacidade de modular genes envolvidos em processos inflamatórios. Este estudo trata-se de uma revisão narrativa da literatura em que foram utilizados um total de 13 artigos (considerados aptos após serem avaliados os critérios de inclusão). Conclui-se que, muito além de atuação em processos inflamatórios, antioxidantes e vias de sinalização, os compostos fitoquímicos têm capacidade de influenciar no núcleo celular por meio da alteração na cromatina, pois esses compostos podem modificar as histonas, que por sua vez influenciam na estrutura das cromátides. Outrossim, possuem, também, a capacidade de favorecer os tratamentos de doenças como o câncer, pois podem possuir ação sinérgica com os fármacos utilizados, potencializando a ação desses.

PALAVRAS-CHAVE: Epigenética, Compostos Bioativos, Fitoquímicos.

## PHYTOCHEMICAL IMPORTANCE OF FOODS IN CELL SIGNALING AND EPIGENETIC MODULATION

ABSTRACT: Epigenetics is the scientific field that studies the transformations in the regulation of gene expression, a mechanism that acts in the activation or inhibition of a given gene. In human nutrition, there is evidence that the components present in some foods, the so-called phytochemicals, have the ability to directly influence the health-disease process through epigenetic molecular mechanisms, reducing the risk of developing some diseases. These phytochemicals are natural substances found in plant foods that have been extensively studied. Studies show that certain phytochemicals can modulate the expression of specific genes, affecting the activity of enzymes and transcription factors that control important cellular processes, such as cell proliferation, apoptosis, immune response, in addition to the ability to modulate genes involved in inflammatory processes. This study is a narrative review of the literature in which a total of 13 articles were used (considered suitable after evaluating the inclusion criteria). It is concluded that, far beyond acting in inflammatory processes, antioxidants and signaling pathways, phytochemical compounds have the ability to influence the cell nucleus by altering chromatin, as these compounds can modify histones, which in turn influence the structure of chromatids. Furthermore, they also have the ability to favor the treatment of diseases such as cancer, as they may have a synergistic action with the drugs used, enhancing their action.

**KEYWORDS:** Epigenetics, Bioactive Compounds, Phytochemicals.

## 1 I INTRODUÇÃO

O Projeto Genoma Humano representa uma das principais conquistas científicas do século XXI. Entretanto, em relação à prevenção de doenças crônico-degenerativas (DCD), conhecer apenas a sequência do DNA não é suficiente quando considerada isoladamente, pois as DCDs decorrem da interação entre o genoma e fatores ambientais. Dessa forma, o foco se voltou para o entendimento da função dos genes, bem como da sua regulação por fatores como estresse, atividade física, exposição a poluentes e a própria alimentação (SILVA, 2010).

A epigenética é o campo científico que estuda as transformações da regulação da expressão gênica (DE SOUZA ALVES et al., 2022). A metilação do DNA; a modificação de histonas; e RNAs não codificantes são modificações epigenéticas mais importantes, onde a metilação do DNA é a modificação mais comum. Padrões anormais de hipermetilação ou hipometilação promovem instabilidade no DNA e podem influenciar em câncer, doenças crônico-degenerativas e outras condições de saúde. Do mesmo modo, atuando na regulação epigenética destacam-se os RNAs não codificantes que agem nas vias de tradução e nas vias de transcrição, e os microRNAs que se ligam aos RNAs mensageiros para regular a expressão gênica ativando ou inativando determinado gene. As modificações de histonas são relevantes no processo de proteção e condensação do DNA, ocorrendo a acetilação de histonas, inibindo ou favorecendo a expressão de determinado gene (DANTAS JÚNIOR et al., 2022).

Atentando o foco para a nutrição humana, existem evidências que os componentes presentes em alguns alimentos têm a capacidade de influenciar diretamente o processo saúde-doença por meio de mecanismos moleculares epigenéticos, reduzindo o risco de desenvolvimento de algumas doenças (FERNANDES et al., 2020). O consumo de Compostos Bioativos (CBAs) como polifenóis, isotiocianatos, compostos contendo enxofre e terpenóides, encontrados em frutas e vegetais, está associado à prevenção de doenças crônicas. Esses compostos alimentares bioativos provocam seus efeitos protetores por meio de mecanismos complexos nos níveis celular e molecular, incluindo níveis epigenéticos (RIBEIRO SILVA, 2019).

Os denominados fitoquímicos são substâncias naturais encontradas em alimentos de origem vegetal que têm sido amplamente estudadas por possuírem potenciais benefícios para a saúde. Essas substâncias são sintetizadas pelas plantas apresentam funções diversas, incluindo a proteção contra pragas, doenças e danos causados por estresses ambientais. Destacam-se diversos grupos de fitoquímicos, como flavonóides, carotenóides, glucosinolatos e compostos fenólicos, cada um com estruturas químicas e propriedades específicas. Estes, são conhecidos por sua capacidade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticancerígena, dentre outras propriedades benéficas para a saúde humana (PANDEY, RIZVI, 2009).

Uma das áreas de pesquisa mais interessantes relacionadas aos fitoquímicos é a sua influência na expressão gênica. Certos fitoquímicos podem modular a expressão de genes específicos, afetando a atividade de enzimas e fatores de transcrição que controlam processos celulares importantes, como a proliferação celular, a apoptose (morte celular programada) e a resposta imunológica. Alguns fitoquímicos têm sido investigados quanto à sua capacidade de modular genes envolvidos em processos inflamatórios e modificações epigenéticas no sentido de modulação de genes, que inclusive podem vir a ser permanentes (AGGARWAL et al., 2008). As alterações em questão denominadas modificações epigenéticas possuem um papel fundamental no desenvolvimento ou não de várias doencas, como por exemplo o câncer (BOLAÑOS-JIMENEZ et al., 2018).

Com base nesses conteúdos, neste trabalho foram desenvolvidas as questões relativas aos compostos bioativos, isto é, como eles podem influenciar na sinalização celular, modulando a epigenética do indivíduo e minimizando o risco do desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas, bem como favorecendo o tratamento dessas doenças caso elas já tenham se desenvolvido no indivíduo.

Sabe-se que as doenças crônico-degenerativas, como câncer, obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, doença celíaca, entre outras, são doenças multifatoriais, isto é, sua etiologia está associada aos fatores ambientais e genéticos (VALENTE et al., 2014). Determinadas substâncias dos alimentos podem influenciar a expressão gênica no sentido de modular a epigenética, minimizando o risco do aparecimento de doenças. As consequências dessas doenças para o indivíduo e o impacto negativo que causam na sociedade motiva o desenvolvimento de estudos na área da genética, que tem evoluído grandemente em pesquisas com substâncias bioativas e suas respostas no âmbito da sinalização celular e da epigenética.

Dessa forma, o estudo desse tema se justifica por ser um tema recente, tendo muito a ser elucidado. As evidências dos estudos com fitoquímicos eram em sua maioria sobre a ação anti-inflamatória dos mesmos, entretanto a questão da modulação epigenética tem sido alvo de estudos na área da nutrigenômica. A relevância social é percebida pelos possíveis benefícios dessa modulação epigenética na prevenção da ativação gênica para doenças crônico-degenerativas.

Com base nessas premissas, neste trabalho foram desenvolvidas importantes questões relativas aos compostos bioativos, isto é, como eles podem influenciar na sinalização celular, modulando a epigenética do indivíduo.

## 2 I REFERENCIAL TEÓRICO

Nutrientes e compostos bioativos dos alimentos modulam o funcionamento do genoma e, da mesma forma, características do genoma influenciam na resposta à alimentação, necessidade de nutrientes e risco para doenças crônico-degenerativas.

A maior compreensão dessa interação entre genoma e alimentação contribuirá para a promoção da saúde (VALENTE et al., 2014).

O notável impacto das mudanças epigenéticas na indução ou supressão da sinalização inflamatória está sendo cada vez mais reconhecido. Estudos recentes destacaram a interação da modificação de histonas, metilação do DNA e modificações póstranscricionais mediadas por miRNA em doenças inflamatórias e tumorigênese mediada por inflamação. O direcionamento dessas alterações epigenéticas oferece a oportunidade de atenuar diferentes desregulações inflamatórias. A respeito disso, muitos estudos identificaram as propriedades anti-inflamatórias significativas de diferentes fitoquímicos e revelaram sua capacidade reguladora (SALEH et al., 2021).

Os compostos bioativos podem influenciar a expressão genética de várias maneiras, seja alterando a atividade dos genes, a síntese de proteínas ou a regulação de processos celulares (PARK et al., 2022). A modulação da expressão gênica de proteínas, as rotas metabólicas e a ação dos metabólitos resultantes dos compostos bioativos dos alimentos são aspectos importantes que podem afetar as doenças crônico-degenerativas, pois estão envolvidas nas vias de sinalização celular que é um importante mecanismo (BASTOS et al., 2009).

Dados emergentes sugerem que os polifenóis vegetais podem interagir e modular vias de sinalização celular. Durante a evolução, os filos animais podem ter perdido a capacidade de sintetizar compostos polifenólicos da mesma forma que os humanos perderam a capacidade de sintetizar ácido ascórbico ou certos aminoácidos. No entanto, as células animais ainda possuem alvos proteicos que respondem a compostos polifenólicos. Além disso, foi demonstrado que numerosos polifenóis podem interagir e modificar a atividade de várias enzimas animais e proteínas transmembrana *in vivo* (MAITRA et al., 2021).

No caso do câncer, dentre os metabólitos com atividade antitumoral descritas, estão os fitoesteróis e os flavonoides, moléculas cujos alvos variam e apresentam importantes mecanismos de ação que se assemelham aos de fármacos utilizados na terapêutica de diversos cânceres, como a vimblastina e o paclitaxel (ROMEIRO et al., 2022). Entre as vantagens desses fitoquímicos estão a atividade imunomoduladora, toxicidade seletiva, administração oral e efeitos sinérgicos em combinação com outras drogas. Pesquisas mostraram que os fitoquímicos da dieta podem intervir em várias vias epigenéticas e metabólicas para potencialmente prevenir e tratar vários tipos de câncer (SHANNAR et al., 2022).

A atividade biológica dos compostos isolados nem sempre coincide com a atividade do alimento completo. Muitas vezes, essa discrepância pode ser atribuída à complexidade dos alimentos, onde vários compostos exercem efeitos sinérgicos e/ou antagônicos. Se ambos os extratos e compostos individuais forem testados em ensaios *in vitro*, a diferença pode decorrer do fato de que compostos diferentes do isolado podem interagir com o alvo

(ou seja, uma enzima). No caso de ensaios fenotípicos, múltiplos compostos podem interagir com inúmeras proteínas reguladoras, resultando em atividade biológica diferente daquela observada para moléculas purificadas. Outra questão importante relacionada à avaliação da atividade biológica de compostos naturais é a pureza dos compostos isolados. Muitas vezes, os efeitos biológicos observados são decorrentes de outros compostos presentes na amostra isolada (MAITRA et al., 2021).

Embora seja reconhecido que CBAs presentes na dieta atuem na manutenção da saúde, faz-se necessário reconhecer que o efeito protetor às doenças crônico-degenerativas parece não se reproduzir pela sua ingestão isolada, como na forma de suplementos. Estudos clínicos nos quais a dieta foi suplementada com β-caroteno, vitamina C ou vitamina E, mostraram que essas substâncias, quando isoladas da matriz alimento, não foram eficazes na diminuição de risco às doenças crônico-degenerativas, indicando que fatores como a biodisponibilidade, ação sinérgica, e outros, atuam nesse processo (BASTOS et al., 2009).

Atualmente, o maior desafio desses estudos é a validação e tradução dos resultados encontrados, de maneira a subsidiar as abordagens de saúde personalizada bem-sucedida para a prevenção das doenças metabólicas (VALENTE et al., 2014). Ainda assim, existem evidências crescentes conectando os benefícios para a saúde de comer vegetais e frutas na prevenção ou tratamento de várias doenças não cancerígenas, incluindo as doenças cardiovasculares, metabólicas, neurodegenerativas e outras patologias crônicas. Ensaios clínicos e estudos epidemiológicos mostraram que esses benefícios à saúde estão intimamente relacionados aos fitoquímicos bioativos (LI et al., 2020).

## 3 | METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão narrativa da literatura, que foi construída por meio de pesquisa bibliográfica e publicação de artigos científicos dos últimos cinco anos (2019 a 2023). A busca foi realizada através através das bases de dados de pesquisas científicas: *Scientific Electronic Library* (SciELO), Google Acadêmico e PubMed usando os descritores epigenética, compostos bioativos, fitoquímicos e seus correlatos em língua estrangeira (inglês e espanhol) utilizando o operador booleano "AND".

Os critérios de inclusão dos artigos analisados foram estudos que analisaram a influência de compostos bioativos nutricionais e sua influência epigenética. Para a seleção dos artigos foi realizada a análise dos títulos e em seguida a leitura dos resumos, que proporcionaram a exclusão de artigos que não se relacionavam com o tema. Por fim, foi realizada a leitura completa dos artigos e os que não se aplicavam à proposta do estudo foram eliminados. Ao final da seleção, um total de 13 artigos foram considerados aptos a serem utilizados para análise de acordo com a proposta dessa revisão, conforme demonstrado na figura 1.



Figura 1. Fluxograma de seleção dos artigos.

# **4 I RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os dados coletados dos referentes artigos demonstram que a ação dos compostos bioativos como flavonóides, catequinas, curcumina, resveratrol, sulforafano, quercetina, vitamina C e vitamina E, além dos ácidos graxos ômega 3 e palmitato vão muito além de uma ação meramente anti-inflamatória, sendo que também podem atuar na expressão gênica de modo a favorecer o organismo no combate à doença, atenuando sua gravidade ou auxiliando na recuperação de quadros das doenças crônico-degenerativas (SALEH et al., 2021).

Modificações epigenéticas que perpassam a metilação do DNA, a modificação de histonas até as modificações mediadas por microRNAs contribuem para mudanças na regulação e expressão dos genes. A desregulação dos processos epigenéticos é frequentemente considerada um fator determinante no câncer (LI et al., 2020). Um dos mecanismos significativos de interceptação e tratamento do câncer por fitoquímicos é a reprogramação das principais vias metabólicas e a remodelação da epigenética do câncer. Evidências crescentes mostram que os fitoquímicos dietéticos são potentes agentes quimiopreventivos/interceptadores do câncer devido às suas propriedades antioxidantes, modulação metabólica e regulação epigenética (SHANNAR et al., 2022).

Os estudos analisados são unânimes ao relatarem a ação epigenética em vias de sinalização anti-inflamatórias e antioxidantes de grande parte dos compostos bioativos investigados nos estudos. A curcumina, o resveratrol e a quercetina aparecem em alguns estudos e foram apontadas como atuantes em vias de sinalização de diversos processos celulares para várias doenças (FERNANDES et al., 2020; SALEH et al., 2021; TEIXEIRA et al., 2021; THIRUVENGADAM, et al., 2021; KUMAR et al., 2022; MAITRA et al., 2022). Os

polifenóis se mostraram atuantes também nos processos de metilação do DNA (aumentando ou diminuindo sua ocorrência), modificação das histonas e ativação ou inibição de RNAs não codificantes (miRNAs), processos esses que tem ação de interferir na expressão gênica e auxiliar na prevenção e recuperação da saúde nas doenças crônico-degenerativas (ARORA et al., 2019).

A curcumina, composto bioativo da *Curcuma longa*, foi amplamente estudada e demonstrou fortes atividades anticancerígenas, antioxidativas e anti-inflamatórias, regulando vias de sinalização como Nrf2, NF-κB e vias epigenéticas e epigenômicas de modificações de histonas e metilação do DNA (WU et al., 2019). Vários estudos reafirmam essas propriedades ao composto curcumina.

Os ácidos graxos também foram estudados e identificou-se que estes atuam em genes específicos ligados a citocinas pró- inflamatórias (SAAD et al., 2021), além de regiões que controlam fatores de crescimento tumoral (FERNANDES et al., 2020) e regiões que regulam ações antioxidante e promotoras de energia (ATP) (PARK et al., 2022). Muitos desses compostos atuam em miRNAs com influência na expressão gênica.

Múltiplas combinações de fitoquímicos podem resultar em atividade sinérgica, o que aumenta sua biodisponibilidade e ação em múltiplos alvos moleculares, oferecendo assim vantagens sobre tratamentos com produtos químicos isolados (KUMAR et al., 2022). Além disso, podem atuar como coadjuvantes no tratamento com fármacos específicos, potencializando sua ação.

De forma a organizar todas estas importantes informações (de maneira prática e objetiva) foi criado o quadro 1, em que se descreveu os principais autores, título dos artigos, nomes dos compostos bioativos e sua atividade, assim como os genes ou microRNAs envolvidos nos processos celulares, genéticos e epigenéticos, com ênfase nestes últimos.

AUTOR	TÍTULO	CBAs	ATIVIDADE	GENES/ miRNAS
ARORA et al. (2019)	Combinatorial Epigenetics Impact of Polyphenols and Phytochemicals in Cancer Prevention and Therapy	Compostos polifenóis: (EGCG, Curcumina, Resveratrol dentre outros)	Metilação do DNA, modificação nas histonas, RNAs não codificantes (miRNAs).	miR-15a miR-16-1 miR- 17-92 família miR-34 miR-9-1 miR-148a p16INK4a BRCA1 TTF-3 MUC4
				Genes envolvidos no desenvolvimento do câncer.
WU et al. (2019)	Epigenetics/ epigenomics and prevention by curcumin of early stages of inflammatory-driven colon cancer	Curcumina	A curcumina exibe forte atividade anticancerígena, anti-oxidativa e anti-inflamatória, regulando vias de sinalização como Nrf2, NF-κB e vias epigenêmicas de modificações de histonas e metilação do DNA.	Genes supressores de tumor  miR-133a miR-143 miR-145 miR92 e miR173p miR-17-92 miR135  miRNAs desregulados pela hipermetilação do DNA em tumores.
FERNANDES et al. (2020)	Nutrientes y compuestos bioactivos en modulación epigenética asociados a la prevención y al cáncer de combate	Vit. C: (frutas cítricas); RES: (uvas vermelhas e no vinho); Curcumina; β-caroteno: (vegetais alaranjados); EGCG: (chá verde); Sulforafano: (vegetais cruciferos).	Inibição de genes relacionados à proliferação celular excessiva e estimulação genes associados à apoptose celular, além de estimulação de vias antioxidantes endógenas importantes.	miR-200c miR- 194  Regulam fatores de crescimento tumoral.

	T	T	T	
LI et al. (2020)	Epigenetics/ epigenomics of triterpenoids in cancer prevention and in health	Triterpenóides	Indução de hipometilação global, aumentam a hipermetilação/ hipometila-ção do promotor de oncogenes e genes supressores de tumor e modificação do miRNA, modificação de histonas.	Sp1, Nrf2 Envolvidos em vias de sinalização no câncer.
SAAD et al. (2021)	Metabolic and Epigenetics Action Mechanisms of Antiobesity Medicinal Plants and Phytochemicals	Ômega-3 (óleo de peixe) Palmitato	Alteração no perfil de metilação. Modificações de metilação do DNA (aumento ou diminuição).	CD36(sítio CpG)  Envolvido em complicações relacionadas à obesidade, diabetes tipo 2 e intolerância à glicose.  GLIS3 HNF1B TCF7L2 SLC30A8  Genes envolvidos no diabetes tipo 2.
SALEH et al. (2021)	The Anti-Inflammatory Properties of Phytochemicals and Their Effects on Epigenetic Mechanisms Involved in TLR4/ NF-κΒ-Mediated Inflammation	RES; Curcumina; Flavonóide; Isoflavonóide; EGCG; SFN	Redução significativa da produção de citocinas pró- inflamatórias; inibição do estresse oxidativo.	miR-155 miR-21 miR-146a SOCS1 p53 Inibição de fatores inflamatórios.
TEIXEIRA et al. (2021)	Relationship Of Intestinal Microbiotes And Bioactive Compounds In Modulation Of Obesity- Related Genes	Curcumina; (EGCG); Polifenóis; Resveratrol; Sulforafanos	Atuação anti obesogênica, tanto através da metilação do DNA quanto por meio da acetilação de histonas e nos mecanismos epigenéticos do controle de peso pela acetilação de histonas.	miR-29a CEBPa

1	1		
Bioactive Compounds in Oxidative Stress- Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation	Curcumina; Quercetina; Resveratrol; EGCG; Apigenina; Sulforafano; Ácido ursólico	Bloqueando os mediadores inflamatórios inibidores do estresse oxidativo por meio de modificações Epigenéticas, incluindo modificações de histonas, alterações de miRNA, metilação do DNA.	NRF2 Keap1  Via de sinalização de processos inflamatórios presente em várias doenças metabólicas e cânceres.
Epigenetic diet in the prevention of malignant neoplasms: a perspective on breast cancer.	Isoflavona; Sulforafano; Resveratrol	Atuação como supressor tumoral, capaz de silenciar genes. Promoção de apoptose, atuando na metilação do DNA e influência em marcadores de histonas.	p21 p16  Ativação de genes supressores de tumor  BMI1 c-MYC p53  Inibição de genes promotores de tumor
Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches	Flavonóides: (quercetina, curcumina, catequina, resveratrol); Alcalóides; Fenóis; Fitoesterol; Terpenóide	Aumentando o gasto energético, termogênese, a lipólise e o metabolismo lipídico, modulando o tecido adiposo, atuando como supressores do apetite, regulando a adipogênese, inibindo a atividade da enzima lipase pancreática, atuando como antioxidantes, e prevenir danos oxidativos em sistemas vivos.	ADRB3 Lep  Várias vias de sinalização distintas ligadas a obesidade, hipermetilação e hipometilação do DNA.
Identification of structural features of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of Parkinson's disease	Flavonóides	Neuroproteção por propriedades antioxidantes e por regulação das respostas neuro inflamatórias.	cncC gstD1 Via de respostas antioxidante.
	in Oxidative Stress-Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation  Epigenetic diet in the prevention of malignant neoplasms: a perspective on breast cancer.  Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches  Identification of structural featurnes of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of	in Oxidative Stress-Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation  Epigenetic diet in the prevention of malignant neoplasms: a perspective on breast cancer.  Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches  Identification of structural features of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of	in Oxidative Stress Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation  Epigenetic diet in the prevention of malignant neoplasms: a perspective on breast cancer.  Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches  Identification of structural features of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of  Quercetina; Resveratrol; EGCG; Apigenina; Sulforafano; Apigenina; Sulforafano; Resveratrol  Biogenic Phytochemicals (quercetina, curcumina, catequina, resveratrol); Terpenóide  Preventive and Therapeutic Approaches  Identification of structural features of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of

PARK et al. (2022)	Alpha-tocotrienol enhances arborization of primary hippocampal neurons via upregulation of Bcl-xL	Vit. E: (Alfa- tocotrienol (α-TCT);	Eficiência aumentada da produção de ATP. Proteção dos axônios e dendritos contra a degeneração induzida por peróxido de hidrogênio em células granulares cerebelares.	Bcl-xL  Regula o metabolismo da energia neuronal.
SHANNAR et al. (2022)	A New Frontier in Studying Dietary Phytochemicals in Cancer and in Health: Metabolic and Epigenetic Reprogramming	Curcumina; Quercetina; Resveratrol; EGCG; Apigenina; Sulforafano; Ácido Ursólico	Capacidade dos fitoquímicos de modular a préprogramação metabólica em células cancerígenas.	Várias vias de sinalização metabólicas ligadas ao câncer.

Compostos Bioativos (CBAs); Epigalocatequina-3-galato (EGCG); Resveratrol (RES); Sulforafano (SFN).

**Quadro 1 -** Estudos selecionados, segundo a revisão narrativa, de acordo com a atividade dos compostos bioativos e suas modificações epigenéticas, 2023.

Finalmente, conforme demonstrado no quadro 1, verifica-se que, muito além de uma resposta anti-inflamatória e antioxidante, os compostos bioativos têm ação na expressão gênica. Esta ocorre através da capacidade de influência no núcleo celular por meio da alteração na cromatina, pois esses compostos podem modificar as histonas, que por sua vez influenciam na estrutura das cromátides. Neste cenário de alteração epigenética, a remodelação da cromatina desempenha um papel crucial na regulação de processos dependentes do DNA. Esse mecanismo essencial envolve a atuação de complexos multiproteicos modificadores de cromatina, incluindo os dependentes de ATP, responsáveis pela remodelação de nucleossomos, e enzimas cromatina-modificadoras, como a histona acetiltransferase e a histona deacetilase. Juntamente com a metilação do DNA, uma série de evidências sugere que a remodelação da cromatina desempenha um papel fundamental nos estágios iniciais da carcinogênese, entre outros processos. Embora essas observações precisem ser mais amplamente estudadas, os dados obtidos até o momento sugerem que a remodelação epigenética da cromatina representa um passo crítico na transição para a doença invasiva (DE SOUZA ALVES et al., 2022; KUMAR et al., 2022; TEIXEIRA et al., 2021). A figura 2 demonstra uma síntese dos principais mecanismos moleculares, genéticos e epigenéticos que podem ser induzidos pelos compostos fitoquímicos dos alimentos.



Figura 2: Síntese dos mecanismos moleculares que podem ser induzidos pelos compostos fitoquímicos dos alimentos.

#### 51 CONCLUSÃO

A literatura tem comprovado os efeitos benéficos de uma alimentação rica em alimentos de origem vegetal, por estes possuírem muitos compostos bioativos que possuem ação benéfica de resposta na regulação de expressão gênica, o que pode influenciar positivamente a saúde do indivíduo. Observou-se que os fitoquímicos modulam a capacidade epigenética e metabólica das células, porém mais trabalhos são necessários para descrever as características cinéticas e termodinâmicas de enzimas relacionadas à epigenética e sua dinâmica específica de contexto em resposta à perturbação metabólica.

Recentes propostas e abordagens foram analisadas no sentido de confirmar a importância dos alimentos como aliados no tratamento e prevenção de algumas doenças, esclarecendo o que é comprovado na literatura científica e salientando sobre os efeitos dos fitoquímicos na modulação epigenética. Muito mais do que um efeito agudo, uma alteração na forma de expressão gênica é observada. Contudo, quando esses compostos se encontram isolados ou na forma de suplementos, a resposta epigenética não é a mesma. Entretanto, quando utilizados de forma combinada com outros fitoquímicos ou até mesmo com fármacos, auxilia e potencializa a ação desses fármacos, promovendo uma resposta mais eficaz ao tratamento.

Diante disso, o papel do nutricionista torna-se ainda mais importante, pois este pode atuar de maneira multidisciplinar, em conjunto com vários profissionais da saúde. Dessa forma, o tratamento será focado no indivíduo de maneira integral e individualizada, e não apenas na doença, sendo mais efetivo no que se refere à qualidade de vida.

#### **REFERÊNCIAS**

AGGARWAL BB, HARIKUMAR KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. Int J Biochem Cell Biol. 2009 Jan;41(1):40-59. doi: 10.1016/j.biocel.2008.06.010. Epub 2008 Jul 9. PMID: 18662800; PMCID: PMC2637808.

ARORA I, SHARMA M, TOLLEFSBOL TO. Combinatorial Epigenetics Impact of Polyphenols and Phytochemicals in Cancer Prevention and Therapy. Int J Mol Sci. 2019 Sep 14;20(18):4567. doi: 10.3390/ijms20184567. PMID: 31540128; PMCID: PMC6769666.

BASTOS DH, ROGERO MM, ARÊAS JA. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade [Effects of dietary bioactive compounds on obesity induced inflammation]. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2009 Jul;53(5):646-56. Portuguese. doi: 10.1590/s0004-27302009000500017. PMID: 19768255.

DANTAS JÚNIOR, FW de L.; GONÇALVES, MR; MANDELLI, BF; SILVA, CP da; LACERDA, RA; BESERRA, GR.; ALMEIDA, A. de S.; ALEXANDRIA JÚNIOR, PC de.; SANTOS, A.O.; ABRANTES-COUTINHO, VE A influência da epigenética na prevenção do câncer. Investigação, Sociedade e Desenvolvimento [S. I.], v. 11, n. 15, pág. e439111537346, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i15.37346. Disponível em: https://rsdiournal.org/index.php/rsd/article/view/37346. Acesso em: 27 jun. 2023.

DE SOUZA ALVES, G. M. V.; PIMENTA, L. F.; DE ARAÚJO, F. M. G. Dieta epigenética na prevenção de neoplasias malignas: uma perspectiva sobre câncer de mama epigenetic diet in the prevention of malignant neoplasms: a perspective on breast cancer. ficha catalográfica elaborada pelos editoreschefes da recima21, p. 22.

FERNANDES, D. P. et.al. Nutrientes e compostos bioativos na modulação epigenética associada à prevenção e combate ao câncer. 2020. Research, Society and Development, v. 9, n. 4, e114942914, 2020 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i4.2914 1

HEBER D. Vegetais, frutas e fitoestrógenos na prevenção de doenças. J Postgrad Med. 2004;50(2):145-149.

KUMAR V, SINGH DD, LAKHAWAT SS, YASMEEN N, PANDEY A, SINGLA RK. Biogenic Phytochemicals Modulating Obesity: From Molecular Mechanism to Preventive and Therapeutic Approaches. Evid Based Complement Alternat Med. 2022 Mar 27; 2022:6852276. doi: 10.1155/2022/6852276. PMID: 35388304; PMCID: PMC8977300.

LI S, KUO HD, YIN R, WU R, LIU X, WANG L, HUDLIKAR R, PETER RM, KONG AN. Epigenetics/ epigenomics of triterpenoids in cancer prevention and in health. Biochem Pharmacol. 2020 May; 175:113890. doi: 10.1016/j.bcp.2020.113890. Epub 2020 Feb 29. PMID: 32119837; PMCID: PMC7174132.

MAITRA, U. et.al. Identification of structural features of selected flavonoids responsible for neuroprotection using a Drosophila model of Parkinson's diseas. bioRxiv preprint doi: https://doi.org/10.1101/2022.06.03.494711; this version posted June 4, 2022.

MAITRA, U. STEPHEN, C. CIESLA, L. M. Drug discovery from natural products – Old problems and novel solutions for the treatment of neurodegenerative diseases, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Volume 210, 2022. 114553, ISSN 0731-7085. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114553. (https://WWW.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708521006646)

OLIVEIRA BC, SANTOS PP, FIGUEIREDO AM, RAFACHO BPM, ISHIKAWA L, ZANATI SG, FERNANDES AAH, AZEVEDO PS, POLEGATO BF, ZORNOFF LAM, MINICUCCI MF, PAIVA SAR. Influence of Consumption of Orange Juice (Citrus Sinensis) on Cardiac Remodeling of Rats Submitted to Myocardial Infarction. Arq Bras Cardiol. 2021 Jun;116(6):1127-1136. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20190397. PMID: 34133599; PMCID: PMC8288524.

PANSARASA O.; PISTONO C., DAVIN A., BORDONI M., MIMMI M.C., GUAITA A., CEREDA C. Sistema imunológico alterado na fragilidade: Genética e dieta podem influenciar a inflamação. Revisões de Pesquisa sobre Envelhecimento Volume 54, setembro de 2019, 10093. https://doi.org/10.1016/j. arr.2019.100935

PANDEY KB, RIZVI SI. Polifenóis vegetais como antioxidantes dietéticos na saúde e na doença humana. Oxid Med Cell Longey. 2009:2(5):270-278.

PARK A, H, KRISTI, M., CROWE-WHITE, A, CIESLA L., SCOTT, M, BANNERMANA, S., DAVIS, A. U. ADHIKARI, B., BURNETT, G. BROMANA, K., FERDOUS, K. A., LACKEY, K. H., LICZNERSKI, P. JONAS, E. A. Alpha-tocotrienol enhances arborization of primary hippocampal neurons via upregulation of Bcl-xL. Nutrition Research 101 (2022) 31–42. https://doi.org/10.1016/j.nutres.2022.02.007 0271-5317/© 2022 Elsevier Inc. All rights reserved.

RIBEIRO SILVA, L.B.A, CASTRO N. P., NOVAES, G. M., PASCOAL, G. F. L. Ong, T. P. Bioactive food compounds, epigenetics and chronic disease prevention: Focus on early-life interventions with polyphenols, Food Research International, Volume 125, 2019, 108646, ISSN 0963-9969, https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108646. (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919305320)

ROMEIRO, C. F. R; PANTOJA, L. V. P. da S. ANDRADE, M. A. de A. Compostos bioativos identificados em Ayapana triplinervis: Uma revisão sobre mecanismos antitumorais. Research, Society and Development, v. 11, n. 6, e0811628478, 2022. (CC BY 4.0) I ISSN 2525-3409 I DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i6.28478

SAAD B, GHAREEB B, KMAIL A. Metabolic and Epigenetics Action Mechanisms of Antiobesity Medicinal Plants and Phytochemicals. Evid Based Complement Alternat Med. 2021 Jun 9; 2021:9995903. doi: 10.1155/2021/9995903. PMID: 34211580; PMCID: PMC8208872.

SALEH HA, YOUSEF MH, ABDELNASER A. The Anti-Inflammatory Properties of Phytochemicals and Their Effects on Epigenetic Mechanisms Involved in TLR4/NF-κB-Mediated Inflammation. Front Immunol. 2021 Mar 26; 12:606069. doi: 10.3389/fimmu.2021.606069. PMID: 33868227; PMCID: PMC8044831.

SHANNAR A, SARWAR MS, KONG AT. A New Frontier in Studying Dietary Phytochemicals in Cancer and in Health: Metabolic and Epigenetic Reprogramming. Prev Nutr Food Sci. 2022 Dec 31;27(4):335-346. doi: 10.3746/pnf.2022.27.4.335. PMID: 36721757; PMCID: PMC9843711.

SILVA, S.M. C. S.da; MURA J.D.P.. Tratado de alimentação, nutrição e dietoterapia. 2a. Edição. São Paulo: Roça, 2010

TEIXEIRA, C. M.; DE MELO, M. M. Relação da microbiota intestinal e compostos bioativos na modulação de genes relacionados à obesidade. Acta Portuguesa de Nutrição, n. 25, p. 54-57, 2021.

THIRUVENGADAM M, VENKIDASAMY B, SUBRAMANIAN U, SAMYNATHAN R, ALI SHARIATI M, REBEZOV M, GIRISH S, THANGAVEL S, DHANAPAL AR, FEDOSEEVA N, LEE J, CHUNG IM. Bioactive Compounds in Oxidative Stress-Mediated Diseases: Targeting the NRF2/ARE Signaling Pathway and Epigenetic Regulation. Antioxidants (Basel). 2021 Nov 23;10(12):1859. doi: 10.3390/antiox10121859. PMID: 34942962: PMCID: PMC8698417.

WU R, WANG L, YIN R, HUDLIKAR R, LI S, KUO HD, PETER R, SARGSYAN D, GUO Y, LIU X, KONG AN. Epigenetics/epigenomics and prevention by curcumin of early stages of inflammatory-driven colon cancer. Mol Carcinog. 2020 Feb;59(2):227-236. doi: 10.1002/mc.23146. Epub 2019 Dec 9. PMID: 31820492; PMCID: PMC6946865.

VALENTE. M. A. S; BARBOSA, M.C.de A; RODRIGUES, C.V; VIEIRA, P. A. F; BARBOSA, M. O. Nutrigenômica/nutrigenética na elucidação das doenças crônicas. HU Revista, Juiz de Fora, v. 40, n. 3 e 4, p. 239-248, jul./dez. 2014

# **CAPÍTULO 15**

# EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO E EXPOSIÇÃO AO CALOR SOBRE A FUNÇÃO CARDÍACA

Data de aceite: 01/09/2023

#### Ronaldo André Castelo dos Santos de Almeida

Physiology and Human Performance
Laboratory, Physical Education and
Sports Department, Institute of Education,
Federal Rural University of Rio de Janeiro,
Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil
Cardiovascular Physiology and
Pharmacology Laboratory, Physiological
Sciences Department, Biological and
Health Sciences Institute, Federal Rural
University of Rio de Janeiro, Seropédica,
Rio de Janeiro, Brazil

#### Gabriel Souza de Jesus

Precision Medicine Research Center, Biofisic Institute Carlos Chagas Filho, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

#### Clarice Chagas de Páucar

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### Luana Basílio Ferreira

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### Marilene da Mata Gomes Patrício

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### Gabrielle de Lima Monzato

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### Ana Késsia do Nascimento Gomes

Physiology and Human Performance Laboratory, Physical Education and Sports Department, Institute of Education, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### César Francisco Maricato da Rosa

Physiology and Human Performance Laboratory, Physical Education and Sports Department, Institute of Education, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### **Emerson Lopes Olivares**

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

#### Anderson Luiz Bezerra da Silveira

Physiology and Human Performance Laboratory, Physical Education and Sports Department, Institute of Education, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

Cardiovascular Physiology and Pharmacology Laboratory, Physiological Sciences Department, Biological and Health Sciences Institute, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

RESUMO: Introdução: O treinamento aeróbio em ambientes quentes é responsável por uma demanda metabólica que impacta no funcionamento cardíaco, especialmente em atletas. Estudos sobre o tema ainda carecem de informações sobre avaliação direta do desempenho cardíaco nesta condição. Objetivo: Analisar e avaliar eventuais modificações na função cardíaca de ratos wistar após 4 semanas de treinamento e exposição ao calor, e buscar a translação dos resultados para a espécie humana. Metodologia: O protocolo experimental deste estudo foi aprovado sob registro CEUA/ICBS nº 22/2022. A amostra foi composta por 12 ratos wistar, machos (319,08 ± 7,53g) e adultos (60 dias), divididos aleatoriamente para compor os grupos: controle (CTRL), exposição exclusiva ao calor (CAL) e exposição ao calor e treinamento aeróbio (CATR). A função cardíaca foi analisada através do método de coração isolado de Langendorff. A atividade elétrica foi avaliada através do eletrocardiograma (ECG) e, a partir deste, foi analisada a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). O protocolo de treinamento consistiu na realização de treinamento aeróbio em esteira rolante com câmara de aquecimento integrada, desenvolvida neste laboratório, 3 vezes por semana, por 4 semanas. A avaliação da temperatura corporal foi aferida por termômetro retal e as medidas tomadas imediatamente após o teste de esteira. A exposição ao calor ocorreu por meio da permanência na câmara de aquecimento com temperatura de 32°C (+ 0.5). Resultados: Observou-se que a exposição passiva por 4 semanas promoveu redução na frequência cardíaca (FC) em CAL (Pré vs. Pós; p<0,05) e CATR (Pré vs. Pós; p<0,05). A PDVE d o grupo CAL apresentou valores significativamente maiores comparado a CTRL e CATR (p<0.05). Já CATR apresentou valores mais baixos na PDVE quando comparado a CTRL e CAL (p<0,05). Ao avaliar a temperatura colônica (Tcol) e o tempo de permanência na esteira rolante, todos os grupos apresentaram valores maiores comparados ao momento prévio à aplicação dos protocolos (Pré vs. Pós; p<0,05). No ECG o intervalo RR foi maior em ambos os grupos guando comparados ao CTRL (Pré vs. Pós; p<0,05), assim como o componente de muito baixa frequência (VLF) da análise de VFC (Pré vs. Pós; p<0,05). Discussão A hipótese de que a exposição passiva sem associação com o treinamento aeróbio pode contribuir para aclimatação foi demonstrada com a redução da FC ao final do período experimental, apesar de ainda demonstrar maior PDVE, o que sugere algum grau de estresse pelo calor após 4 semanas. A análise da VFC demonstrou maior ação parassimpática, através do aumento de RR, e consequente menor simpática sobre o coração, além de aumento no VLF que está associado a retirada de ação simpática e ajustes termorregulatórios. A PDVE menor em CATR sugere que a associação do calor com o exercício traz benefícios ao desempenho que podem estar relacionados com alterações na cinética dos canais iônicos responsáveis pela fase 4 do potencial de ação nas células P do nodo sinoatrial. **Conclusão:** Baseado nos resultados desse estudo, compreende-se que a exposição passiva ao calor associada ao treinamento aeróbio confere adaptações, propõe segurança e vantagens fisiológicas para o desempenho atlético.

PALAVRAS-CHAVE: Estresse térmico, termorregulação, função cardíaca, treinamento aeróbio.

# **INTRODUÇÃO**

O corpo humano possui grande capacidade de adaptação ao calor. Diversos fatores influenciam na capacidade de adaptação e tolerância a ambientes desfavoráveis com altas temperaturas. O aumento do aquecimento global tem colocado pessoas ao redor do mundo sob condições nunca antes vividas. O estresse térmico provocado pelo calor aumenta na morbimortalidade se comparado a condições normotérmicas (WHO, 2015; CRANDALL; WILSON, 2015).

Os efeitos deletérios do calor podem ser minimizados pela adaptação, seja ela planejada ou espontânea. A aclimatação favorece a tolerância a altas temperaturas em uma exposição subsequente quando observado em homens, sejam jovens ou idosos (ARMSTRONG; KENNEY, 1985). As alterações fisiológicas promovidas pela exposição ao calor são manifestadas através do aumento das temperaturas central, pele e cerebral, acrescidas de maior tensão cardiovascular, maior dependência do metabolismo dos carboidratos, e resulta em redução no desempenho aeróbio, como descrito por Périard *et al.* (2015) citando estudos anteriores (ROWELL, 1974; FEBBRAIO *et al.*, 1994; GALLOWAY; MAUGHAN, 1997; PÉRIARD *et al.*, 2011; NYBO *et al.*, 2014).

Durante a prática de exercícios intensos e/ou exposição a ambientes com temperaturas elevadas a TC pode facilmente chegar a valores acima de 39°C. Com o organismo funcionando nesta faixa de temperatura o desempenho esportivo é diretamente afetado pela redução de parâmetros metabólicos que se refletem em redução funcional. Para que o sistema termorregulador possa desempenhar seu papel, além dos sistemas orgânicos, é preciso que as condições externas sejam adequadas, portanto este funcionamento depende essencialmente da temperatura ambiente, radiação solar, velocidade do vento e humidade relativa do ar.

# Adaptações Fisiológicas Promovidas pelo Estresse Térmico por Calor

A exposição passiva ao calor (EPC) promove aumento da temperatura central e periférica e isso aumenta a sudorese. O fluxo sanguíneo periférico, se comparado a uma situação normotérmica (0,3L/min), pode atingir 7 a 8L/min durante a EPC (GRAVEL *et al. apud* ROWELL, 1974 and MINSON *et al.*, 1998). A EPC não parece alterar a massa corporal

ou a frequência cardíaca de indivíduos submetidos a exposição, mas já foi constatado que induz redução no hematócrito, aumento no volume sanguíneo e plasma (MATHEW *et al.*, 2019).

Périard *et al.* (2015) cita estudos da década de 1940 que já relacionavam a adaptação ao calor a uma maior taxa de sudorese e menor concentração de eletrólitos no suor. Uma menor frequência cardíaca durante a exposição ao calor é uma adaptação clássica da aclimatação ao calor (TRACHSEL *et al.*, 2020), assim como maior vasodilatação periférica e consequente elevação da sudorese para redução das temperaturas central e periférica, melhor balanço de fluidos e estabilidade cardiovascular (KENNY *et al.*, 2018). A magnitude das adaptações biológicas induzidas pela aclimatação ao calor depende muito da intensidade, duração, frequência e número exposições (SAWKA; PÉRIARD, 2015 *apud* PÉRIARD *et al.*, 2015).

As temperaturas elevadas dos tecidos e do sangue também contribuem para aumentar o fluxo sanguíneo muscular ativo por meio de estímulos metabólicos e térmicos que induzem a liberação de trifosfato de adenosina (ATP) derivado dos eritrócitos, um potente vasodilatador (PÉRIARD *et al.*, 2021 *apud* CHIESA *et al.*, 2015 e PEARSON *et al.*, 2011).

# Impacto do Estresse Térmico por Calor sobre o Sistema Cardiovascular

Muitas são as alterações decorrentes da exposição ao calor e dependentes do tempo, intensidade, frequência de exposição e tipo da fonte de calor (CRANDALL; WILSON, 2015). Périard *et al.* (2016) citando estudos mais recentes (PEARSON *et al.*, 2011, CHIESA *et al.*, 2015, GONZALEZ-ALONSO *et al.*, 2015) demonstraram que a maior temperatura dos tecidos demanda maior fluxo sanguíneo em repouso e em exercício sob estresse térmico provocado pelo calor.

O desenvolvimento de tensão térmica durante o exercício sob estresse térmico oferece um desafio robusto para o sistema cardiovascular, com fadiga ligada a ajustes no fluxo sanguíneo para a pele, músculos ativos e cérebro (PÉRIARD *et al.*, 2021). A elevação da Frequência Cardíaca (FC) provocada pela perda de fluidos através da transpiração que caracteriza a chamada flutuação cardiovascular (do inglês: *Cardiovascular Drift*), pode não ser suficiente para manutenção do débito cardíaco necessário, e essa observação está de acordo com Trachsel *et al.* (2020) que demonstrou menor tempo de enchimento ventricular decorrente da elevação da FC. Estruturalmente a EPC induz um aumento significativo no volume atrial esquerdo e no volume diastólico final do ventrículo esquerdo (MATHEW *et al.*, 2019). A EPC também induz um aumento na frequência cardíaca.

# Influência do Ambiente Quente no Desempenho Esportivo

Nos esportes, as modalidades que demandam o maior desafio na termorregulação corporal são as atividades aeróbias, pois são eventos em que os praticantes permanecem em atividade por um período mais prolongado de tempo. Quando o resultado é como

objetivo principal, a ocorrência de quadros preocupantes se repete ano após ano. A insolação por esforço é uma emergência médica, de natureza esporádica e diretamente relacionada à atividade física extenuante (EPSTEIN; YANOVICH, 2019). O exercício em ambientes quentes pode aumentar o risco de desenvolver doença de calor por esforço, pois a produção de calor geralmente excede a capacidade de dissipação de calor.

#### Protocolos de Aclimatação

A adaptação ao calor implica diretamente no desempenho orgânico, seja em repouso ou na prática esportiva. Desta forma diferentes protocolos de adaptação foram desenvolvidos, testados e descritos pela literatura (TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2021). Trachsel *et al.* (2020) descreveram adaptações limitadas no funcionamento cardíaco durante uma adaptação passiva ao calor com aplicação de protocolo experimental de 7 dias consecutivos de exposição.

Em pesquisas experimentais com modelo animal, diferentes protocolos de treinamento intervalado de alta intensidade promoveram melhora na resposta termorregulatória em ratos submetidos a estes protocolos quando comparados com o grupo controle, mas não observaram diferença entre os protocolos de alta intensidade (BITTENCOURT, 2020).

Estratégias de reposição de fluidos são bastante importantes ao longo dos protocolos de aclimatação. Um organismo hipohidratado terá prejuízo nos compartimentos intra e extracelular, logo irá afetar diretamente as funções cardiovasculares e diretamente a função muscular esquelética.

Independentemente do tipo de protocolo, haverá adaptação ao estresse térmico, mas o que parece determinar o nível de adaptação é a permanência no ambiente desfavorável e a intensidade de calor e que o indivíduo é submetido, pois como verificado por Teixeira-Coelho (2021) as adaptações que levaram a respostas mais eficientes obtidas em um determinado ambiente não foram observadas em outro ambiente mais quente. Neste sentido o objetivo deste estudo foi avaliar mudanças no funcionamento cardíaco de ratos *wistar* após 4 semanas de treinamento aeróbio concomitante à exposição ao calor.

#### **METODOLOGIA**

#### **Ethical approval**

O protocolo experimental foi submetido à comissão de uso de animais do ICBS-UFRRJ e autorizado sob registro CEUA 10/2022.

#### **Animals**

Os animais foram obtidos do Núcleo de Criação de Animais de Laboratório da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (NCAL-UFRJ) e foram mantidos em ambiente controlado com temperatura entre 23°C (± 1°C), conforme preconizado por estudos anteriores (TEIXEIRA-COELHO *et al.*, 2021 *apud* LIMA *et al.*, 2013; MALHEIROS-LIMA

et al., 2018; WANNER et al., 2015, 2015) em gaiolas coletivas em ciclo claro-escuro de 12h (claro de 06:00h – 17:59h, escuro de 18:00h – 05:59h). Os animais tiveram acesso à ração granulada e água ad libtum. Os animais foram divididos em 3 grupos (n=4). CTRL (controle), CAL (exposição passiva ao calor) e CATR (grupo treinado e aclimatado).

# Massa corporal

A massa corporal foi mensurada por balança semi-analítica (modelo SF400, fabricante YDTECH, Brasil) com precisão de 0,1g aos 60 dias de vida em todos os grupos e 1 dia após o fim do protocolo de treinamento e/ou exposição ao calor.

# Familiarização com a esteira rolante

Aos 54 dias de idade o protocolo de 5 dias de adaptação foi iniciado em uma esteira (Caloi, Brazil) com 6 baias de 30 x 10 cm com tampas de acrílico confeccionadas para adaptação na esteira. Quando os animais se recusavam a progredir o exercício foram lançadas esferas ocas com gizo no seu interior que provocavam estímulo sonoro e aversão por parte dos animais, o que os mantinha em atividade por mais tempo. Cada baia possuía sensor através da tampa conectado a um termo-higrômetro, para verificação da homogeneidade da temperatura em cada cabine. Durante a adaptação as cabines permaneciam em 26°C. A esteira possibilitou regulagem a cada de 1,6m/min. Acoplado à esteira foi adaptado um aquecedor de ar que, nas sessões de treinamento, transmitia o ar aquecido para as baias por meio de tubos. A familiarização ao aparato seguiu a rotina de acordo com o quadro 1.

Dia de adaptação	Protocolo
1	5min na esteira parada
2	5min na esteira parada + 5min a 5m/min
3	5min com velocidade 5m/min + 5min a 10m/min
4	1min com velocidade 5m/min + 9min a 10m/min
5	1min com velocidade 5m/min + 4min a10m/min + 5min a 15m/min

# Teste de potência aeróbia

O teste foi realizado sem inclinação, a uma velocidade de 10m/min, com um aumento de 1,6m/min 4:48 minutos até a exaustão (adaptado de Teixeira e Coelho, 2021). O Momento de exaustão onde os animais não conseguiam se manter em exercício foi padronizado ao observar que mesmo após 5 estímulos mecânicos ou grande irritabilidade por parte do animal o mesmo se recusou a correr.

#### Protocolo de treinamento

A partir dos 60 dias de vida os animais do CATR realizaram o treinamento 3 x semana por 4 semanas. O treinamento foi aplicado segundo o quadro 2.

Treinamento + SEMANA 1 – 10min c/ vel. 0,6 + 10min c/ vel. 0,9 – Temp selmatação SEMANA 2 – 10min c/ vel. 0,6 + 15min c/ vel. 0,9 – Temp SEMANA 3 – 10min c/ vel. 0,6 + 20min c/ vel. 0,9 – Temp SEMANA 4 – 10min c/ vel. 0,6 + 25min c/ vel. 0,9 – Temp	o. 32°C o. 32°C

#### Exposição ao calor

A exposição ao calor ocorreu no aparato de esteira rolante. Os animais do grupo CAL permaneceram na esteira pelo período de acordo com o quadro 3.

Week	Exposure
1	20min
2	25min
3	30min
4	35min

# Temperatura colônica

A temperatura colônica foi mensurada imediatamente após os testes de esteira. Foi utilizado um termômetro (Modelo 2018, fabricante Lumiscope, Estados Unidos da América) com precisão de 0,01 °C e com display para leitura da temperatura em °C ou °F. A escala utilizada foi Celsius. O sensor foi inserido 4cm no ânus do animal e alguns segundos após a inserção era realizada a leitura a partir de um sinal sonoro emitido pelo equipamento.

#### **ECG e HRV**

A análise da atividade elétrica dos corações e análise de variabilidade da frequeência cardíaca (HRV) foi realizada antes e depois do protocolo experimental. 5 dias antes do início do protocolo os anismais foram familiarizados ao aparato de EC Durante a fase de adaptação dos animais à esteira rolante, os animais eram colocados primeiramente no aparato de ECG. Os animais permaneceram por 10min com os eletrodos para que se adaptassem ao equipamento e desta forma os ruídos durante o ECG no início e ao final do experimento seriam diminuídos. Para captação dos dados foi utilizada a interface analógico-digital (PowerLab 400, ADinstruments, Estados Unidos da América) e armazenados em um computador para análise off-line com o software Lab Chart 8 Pro (ADinstruments, Estados Unidos da América). Para análise do ECG e da VFC foram utilizados os módulos ECG Analysis (AD Instruments, Estados Unidos da América) e Heart Rate Variability 2.0 (HRV 2.0, AD Instruments, Estados Unidos da América), ambos módulos complementares ao LabChart 8 Pro

# Coração Isolado (Langendorff)

A análise morfofuncional foi realizada após a eutanásia por decapitação seguida de remoção imediata dos corações. Os corações foram colocados em uma placa de Petri

com perfusato suficiente para cobrir o coração e a uma temperatura entre 0 e 3°C, logo em seguida foram canulados pela aorta ao aparato de Langendorff (modelo Panlab, fabricante ADinstruments, Estados Unidos da América) e submetidos à limpeza, retirando as maiores estruturas circunvizinhas que permanecem junto à amostra. A cânula foi inserida e fixada até próximo aos óstios coronários. O fluxo de perfusão do momento da canulação aórtica até o primeiro minuto foi de 5ml/min e foi aumentado até 10ml/min durante o segundo minuto. A solução de perfusão artificial utilizada foi a de *Krebs-Henseleit* (KHB) modificada, contendo (em mM): 118 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 MgSO4, 1,2 KH2PO4, 25 NaHCO3, 10 glicose, 1,8 CaCl2, saturada com mistura carbogênica com 95% O2 e 5% CO2. A solução foi preparada sem CaCl2 e este foi adicionado de forma fracionada com a solução mãe já gaseificada. A solução foi ajustada para o pH 7,4 e mantida aquecida em 37 °C, sendo bombeada pelo circuito através da bomba de perfusão.

O passo seguinte foi inserir, através de uma incisão no átrio esquerdo, um balão de látex no VE conectado a uma cânula e essa a um transdutor de pressão. O balão foi previamente preenchido com água destilada e ajustado para manter a pressão diastólica final (PDF) em 10 mmHg. O transdutor de pressão foi conectado a um amplificador ML110(ADinstruments, Estados Unidos da América), para registro da pressão intraventricular desenvolvida pelo ventrículo esquerdo. Os registros de pressão foram digitalizados por uma interface analógico-digital (PowerLab 400, ADinstruments, Estados Unidos da América) e armazenados em um computador para análise off-line com o software Lab Chart 8 Pro (ADinstruments, Estados Unidos da América).

#### Morfometria cardíaca

Logo após o protocolo de Langendorff os corações foram pesados em balança analítica.

#### **Estatística**

Os dados coletados passaram por teste estatístico para verificação de normalidade. Quando constatada a normalidade das amostras, os dados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média. Os dados referentes a coleta pré e pós experimental em cada grupo (massa corporal, peso do coração, teste físico em esteira e temperatura colônica) foram analisados utilizando o teste Two-Way ANOVA para comparação entre grupos, com pós – teste de *Turkey*. O pós-teste de *Bonferroni* foi utilizando quando os dados não apresentavam normalidade. Para análise estatística foi utilizado o software GraphPad Prism (versão 8.0.0, San Diego, CA, USA).

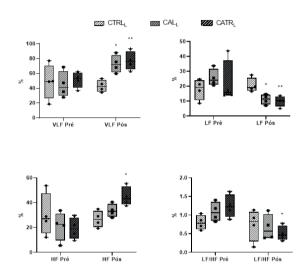
#### RESULTADOS

#### **ECG** analysis

Nos grupos de LE, foram observadas diferenças no componente VLF (A) nos

momentos pré e pós no CAL $_{\rm c}$  (Pré: 44,72 ± 4,44 vs. Pós: 72,74 ± 2,99; p=0,0437) e CATR $_{\rm c}$  (Pré: 51,7 ± 2,72 vs. Pós: 76,9 ± 3,2; p=0,0437), assim como no componente LF (**B**) nos momentos pré e pós no CAL $_{\rm c}$  (Pré: 25,62 ± 1,44 vs. Pós: 11,16 ± 0,85; p=0,0368) e CATR $_{\rm c}$  (Pré: 22,43 ± 3,61 vs. Pós: 11,54 ± 1,29; p=0,0368). O componente HF (**C**), apenas CATR $_{\rm c}$  apresentou diferença nos momentos pré e pós (Pré: 19,32 ± 2,17 vs. Pós: 44,92 ± 1,96; p=0,0268). O componente LF/HF houve diferença em CATR $_{\rm c}$  (Pré 1,24 ± 0,08 vs. Pós: 0,51 ± 0,05; p=0,0038).

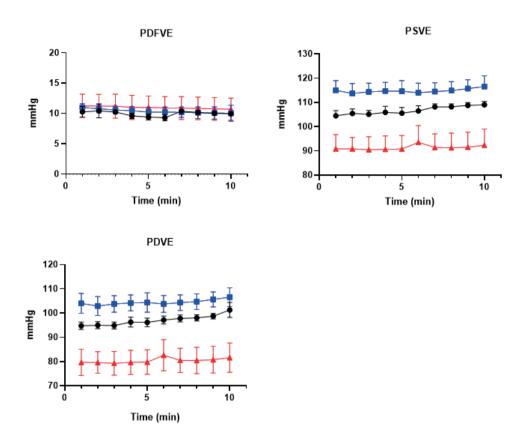
# **HRV** analysis



**Figura 1.** Componentes VLF, LF, HF e LF/HF da VFC no domínio da frequência nos grupos de LE. CTRL<sub>L</sub> (controle de 4 semanas); CAL<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido 3 x semana, por 4 semanas); CATR<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido e treinamento 3 x semana, por 4 semanas); **A (VLF):** F (2, 9) = 2,510; P = 0,1361; **B (LF):** F (2, 9) = 2,674; P=0,1226; **C (HF):** F (2, 9) = 3,568; P=0,0723; **D (LF/HF):** F (2, 9) = 3,356; P=0,0815. \*Comparação intragrupo (Pré vs. Pós; p<0,05); \*Comparação intergrupos após exposição ao calor ou ao treinamento e calor (Pós: CTRL<sub>c</sub> vs. CTRL<sub>l</sub>, CAL<sub>c</sub> vs. CATR<sub>c</sub> vs. CATR<sub>L</sub>; p<0,05); \*Comparação intragrupo com seu respectivo controle (grupos CE vs CTRLc, Grupos LE vs CTRL, ; P<0,05).

#### 6.7 - Função Ventricular Esquerda

Houve diferença na PDVE entre CTRL $_{\rm L}$  e CAL $_{\rm L}$  (CTRL $_{\rm L}$ : 97,0  $\pm$  0,67 mmHg vs. CAL $_{\rm L}$ : 104,42  $\pm$  1,16 mmHg, p < 0,0001) , entre CTRL $_{\rm L}$  e CATR $_{\rm L}$  (CTRL $_{\rm L}$ : 97,0  $\pm$  0,67 mmHg vs. CATR $_{\rm L}$ : 80,39  $\pm$  1,72 mmHg, p < 0,0001) e entre CATR $_{\rm L}$  e CALL (CATR $_{\rm L}$ : 80,39  $\pm$  1,72 mmHg vs. CAL $_{\rm L}$ : 104,42  $\pm$  1,16 mmHg, p < 0,0001), assim como na PSVE entre CTRL $_{\rm L}$  e CAL $_{\rm L}$  (CTRL $_{\rm L}$ : 106,71  $\pm$  0,65 mmHg vs. CAL $_{\rm L}$ : 114,79  $\pm$  1,26 mmHg, p < 0,0001) , entre CTRL $_{\rm L}$  e CATR $_{\rm L}$  (CTRL $_{\rm L}$ : 106,71  $\pm$  0,65 mmHg vs. CATR $_{\rm L}$ : 91,37  $\pm$  1,89 mmHg, p < 0,0001) e entre CATR $_{\rm L}$  e CALL (CATR $_{\rm L}$ : 91,37  $\pm$  1,89 mmHg vs. CAL $_{\rm L}$ : 114,79  $\pm$  1,26 mmHg, p < 0,0001).



**Figura 2.** Pressão desenvolvida do ventrículo esquerdo (PDVE). CTRL<sub>L</sub> (controle de 4 semanas); CAL<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido 3 x semana, por 4 semanas); CATR<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido e treinamento 3 x semana, por 4 semanas). F (2, 9) = 10,78; p = 0,0041). \*CTR<sub>L</sub> vs. CAL<sub>L</sub>, p < 0,05. \*\*CTR<sub>L</sub> vs. CATR<sub>L</sub>, p < 0,05. \*\*\*CATR<sub>L</sub> vs. CAL<sub>L</sub>, p < 0,05. Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE). CTRL<sub>L</sub> (controle de 4 semanas); CAL<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido 3 x semana, por 4 semanas); CATR<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido e treinamento 3 x semana, por 4 semanas). CTR<sub>L</sub> vs. CAL<sub>L</sub>, p > 0,05. CTR<sub>L</sub> vs. CATR<sub>L</sub>, p > 0,05. Pressão sistólica do ventrículo esquerdo (PSVE). CTRL<sub>L</sub> (controle de 4 semanas); CAL<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido 3 x semana, por 4 semanas); CATR<sub>L</sub> (exposição ao ambiente aquecido e treinamento 3 x semana, por 4 semanas). F (2, 9) = 8,372; p = 0,0088. \*CTR<sub>L</sub> vs. CAL<sub>L</sub>, p < 0,05. \*\*\*CATR<sub>L</sub> vs. CATR<sub>L</sub>, p < 0,05.

#### Morfometria cardíaca

24h após o término do protocolo experimental em cada grupo foi realizada a pesagem dos animais, ECG e por fim a eutanásia por decapitação. Imediatamente após a eutanásia os corações foram coletados para montagem no aparato de Langendorff. Ao final do protocolo de coração isolado os corações foram coletados e, devidamente, pesados. Deste modo, foi possível calcular o peso relativo, sendo expressos em mg de órgão por peso corporal em g.

A morfometria cardíaca demonstrou diferença entre a massa cardíaca dos grupos CATR c e CATR (p<0,0001) após aplicação do protocolo experimental. Entre os grupos

de LE houve diferença na massa cardíaca entre  $CATR_L$  e  $CAL_L$  (p=0,0058). \* refere-se à comparação entre  $CATR_L$  e  $CATR_C$ . & Refere-se à comparação entre CATRL e CTRL.

	CTRL L	CAL L	CATR <sub>L</sub>	р
Massa corporal (g)	381,4 ± 57,63	399,5 <u>+</u> 62,25	376,9 ± 80,63	NS
Massa cardíaca (g)	1,765 <u>+</u> 0,877	1,495 ± 0,0696	1,970 ± 0,101	0,0058
Massa cardíaca (mg/g)	$0,004 \pm 0,0003$	$0,003 \pm 0,0002$	0,004 ± 0,0003	NS

CTRL<sub>L</sub>, controle de 4 semanas. CAL<sub>L</sub>, exposição intermitente de 4 semanas ao ambiente aquecido. CATR<sub>I</sub>, exposição intermitente de 4 semanas ao ambiente aquecido e treinamento.

Tabela 1 – Tabela de dados da morfometria cardíaca nos grupos de CE.

#### **DISCUSSÃO**

O presente estudo é um dos poucos estudos voltados a termorregulação durante o exercício físico que buscou avaliar de maneira direta modificações nas propriedades mecânicas do coração decorrentes de adaptações resultantes do treinamento aeróbio sob condições ambientais de estresse térmico pelo calor.

# **Massa Corporal**

Os grupos de CE apresentaram aumento na massa corporal após o período de 7 dias. Apesar de curto período, a fase de desenvolvimento desses animais que foi o início da fase adulta é um período de grande e rápido desenvolvimento, especialmente em machos. A diferença observada entre os grupos de CE e LE era esperada, pois o ganho de massa pelos animais no início da fase adulta e por 4 semanas é bastante evidente nesta espécie (NOVELI et al, 2007). Na análise dependente do tempo de exposição a massa corporal entre os grupos de curta e LE também apresentou aumento significativo nos grupos de LE. Apesar de todos os grupos de LE apresentarem aumento na massa corporal é importante destacar que o aumento entre CTRL<sub>L</sub> e CATR<sub>L</sub>, provavelmente, se deve por motivos diferentes, pois CATR<sub>L</sub> passou por protocolo de treinamento de 4 semanas, enquanto CTRL<sub>L</sub> aumentou de massa sem executar treinamento ou se expor ao uma condição ambiental fora da faixa de conforto, o que sugere uma possível diferença na composição corporal desses animais. A diferença observada sugere maior desenvolvimento de massa magra em CATR<sub>L</sub> em comparação a CTRL<sub>L</sub> devido ao treinamento físico realizado durante o protocolo, assim como demonstrado em estudo prévio (OZAKI et al, 2022).

#### Teste de Esteira Rolante

Os resultados do teste de esteira foram controversos uma vez que foram observados comportamentos que podem ter influenciado no ponto de interrupção do teste nos grupos de LE. Quando analisados somente os resultados brutos dos testes foi observado que o grupo de melhor desempenho foi CTRL<sub>1</sub>. Tal resultado é discordante da literatura

e do senso científico, pois do grupo que ficou em observação e sem qualquer tipo de treinamento ou adaptação esperava-se um desempenho inferior no pós-teste. Quando os resultados foram normalizados pelo peso corporal não foram observadas diferenças entre os grupos, o que também não era esperado. A explicação para estas observações pode ser o comportamento dos animais no pós-teste que aparentemente foi influenciado pela adaptação desses animais ao aparato e com isso, grande parte em função de não ter sido utilizado estímulo elétrico como estímulo aversivo, teriam aprendido a não permanecer em exercício com o passar do tempo do teste e consequentemente quando mais próximos ao ponto de fadiga. Tal aprendizado não teria sido possível pelo grupo CTRL, porque estes só foram colocados na esteira para a adaptação inicial e para os testes. Os grupos de CE e LE foram colocados na esteira para treinamento e aquecimento, tanto no caso de exposição ativa, mas também passiva (somente para aquecimento). No caso de exposição passiva, o aparato de aquecimento era de montagem fixa na esteira. Esse maior número de horas no aparato teria sido suficiente para que os animais aprendessem a se esquivar do esforco quando este chegava a zonas de maior desconforto, apesar de terem atingidos um maior tempo de permanência na esteira durante os testes, o que é, na prática, eficaz na busca por resultados. Na figura 27 podem ser observadas imagens dos animais de LE ao final do pós-teste.

# **Temperatura Colônica**

A Tcol é uma medida que fornece uma informação importante referente a condição de adaptação orgânica a ambientes mais quentes. CAL<sub>c</sub> apresentou Tcol maior após 7 dias de aclimatização, assim como CATR<sub>L</sub> que também apresentou Tcol maior ao final das 4 semanas. Independente de terem sidos expostos ao calor ou ao calor e exercício, ambos os grupos apresentaram maior Tcol e isso mostra que, apesar de não terem apresentado diferença entre os momentos pré e pós, nos testes de esteira, os animais permaneceram por mais tempo em exercício no teste de esteira e isso reflete uma melhora no desempenho. Ao comparar os grupos no momento pós, CAL<sub>L</sub> foi significativamente maior do que CAL<sub>C</sub>. CATR<sub>L</sub> apresentou Tcol menor em relação a CAL<sub>L</sub> e também em relação a CATR<sub>C</sub>. Aparentemente a exposição a ambientes quentes associada ao treinamento físico parece conferir maiores adaptações.

A aclimatação ao calor é uma adaptação orgânica que leva em consideração a individualidade biológica e multifatorial. Anteriormente já houveram estudos que demonstraram a eficácia de exposição passiva ao ambiente quente e dessa forma a aquisição de benefícios frente ao estresse térmico (ARMSTRONG *et al*, 1993; KENNEY, 1997; TRACHSEL *et al*, 2020). Foi demonstrado que a abordagem produz adaptações compatíveis com a aclimatação ao calor do exercício, como uma diminuição na frequência cardíaca e na temperatura retal e um aumento na taxa de suor durante o exercício em uma determinada taxa de trabalho no calor (BRAZAITIS; SKURVIDAS, 2010). O efeito da

exposição contínua e passiva de curto prazo demonstrada no presente estudo comprova os achados anteriores e sustenta a hipótese de que a exposição passiva pode ser benéfica no sentido de preservar sessões de treinamento em que o atleta possa se dedicar exclusivamente as valências físicas de sua modalidade, enquanto que a adaptação ao ambiente estressor pode ser aprimorada em um momento complementar e secundário. Como foi possível observar, CATR<sub>L</sub> teve a menor Tcol quando comparado com CAL<sub>L</sub> e CATR<sub>c</sub>, o que também comprova a eficácia da exposição combinada com exercícios e por um período maior, neste caso, 4 semanas.

A CE é responsável por rápidas adaptações, dentre as mais evidentes a expansão do volume plasmático e diminuição da frequência cardíaca (Shapiro *et al.*, 1998). A pesar disso, estratégias que priorizam períodos de algumas semanas se mostraram mais eficazes na aquisição de todas as adaptações possíveis associadas a ambientes de estresse térmico pelo calor (TYLER *et al.*, 2016). A fase inicial de curto prazo (1-5 dias) é caracterizada por uma diminuição da taxa de saída do órgão efetor para o sinal autonômico, em que o aumento da atividade eferente substitui a responsividade periférica prejudicada para produzir uma saída efetora adequada. Na fase de longo prazo (>21 dias), a razão entre a saída do órgão efetor e o sinal autonômico é aumentada, pois as adaptações centrais e periféricas aumentam a eficiência fisiológica e reduzem a necessidade de aumento da excitação (PÉRIARD *et al.*, 2021). Dessa forma a exposição de curto prazo promove uma demanda em que o sistema termorregulatório mantenha a temperatura central às custas do aumento das descargas autonômicas em função da capacidade de resposta do órgão efetor estar prejudicada, enquanto que a longo prazo as adaptações para controle da homeostase diminuem a descarga autonômica.

Sugere-se que a redução no fluxo sanguíneo cerebral durante o exercício extenuante no calor influencie o impulso neural central para exercitar os músculos em resposta a um comprometimento no fornecimento de oxigênio ao cérebro (NYBO; RASMUSSEM, 2007). Neste sentido a redução de desempenho associada a um prejuízo termorregulatório se justifica, pois haverá menor motivação (neural) para a demanda imposta pela atividade física. Além disso, uma hipótese a ser testada por este grupo oportunamente é a de que uma alteração na dinâmica do funcionamento cardíaco pode sofrer alteração devido a temperatura central estar acima do ponto de termoneutralidade. Um aumento na temperatura da pele tem sido sugerido para mediar a fadiga durante o exercício aeróbico submáximo sob estresse. Acredita-se que o desenvolvimento da fadiga decorre do maior fluxo sanguíneo da pele e da complacência venosa cutânea associados à pele quente e ao aumento concomitante da tensão cardiovascular, ou seja, aumento da frequência cardíaca e diminuição do volume sistólico (PÉRIARD et al., 2021). Anteriormente já foi demonstrado que ocorrem prejuízos induzidos pela temperatura na função do retículo sarcoplasmático de músculo esquelético e os danos estruturais que comprometem a capacidade reguladora do cálcio do retículo sarcoplasmático também podem influenciar a produção de força do músculo esquelético (SCHERTZER *et al.*, 2002). A partir desta constatação, seria possível considerar a hipótese de algum prejuízo no funcionamento cardíaco, não necessariamente uma patologia decorrente do exercício e exposição a ambientes quentes, mas uma redução na sua funcão e consequente queda no desempenho.

Essas informações são ainda mais úteis quando analisadas em paralelo ao tempo máximo de permanência no teste de esteira. Quando não há diferença na Tcol no pós-teste, mas este apresenta um tempo maior de permanência, isso significa que para uma mesma temperatura o animal conseguiu obter melhor desempenho. Se há uma menor temperatura no pós-teste e isso está associado também a um maior tempo de permanência no teste, isso reflete um cenário ideal de aclimatação, pois além de conseguir regular a temperatura corporal adequadamente o indivíduo ainda conseguiu um melhor desempenho. Os grupos expostos ao calor por CE e LE apresentaram maior Tcol ao final do treinamento, assim como o grupo de exposição ao calor e treinamento que também apresentou aumento na Tcol ao final do período experimental. Como todos os grupos permaneceram um período de tempo maior, apesar de após normalizados não terem apresentado diferença significativa, pode-se considerar maior adaptação ao ambiente quente durante o exercício.

# Respostas autonômicas e eletrocardiográficas

O controle do sistema cardiovascular é realizado, em parte, pelo SNA, na forma de terminações simpáticas por todo o miocárdio e parassimpáticas para o nódulo sinusal, o miocárdio atrial e o nódulo atrioventricular. A EPC induz redução no hematócrito, aumento no volume sanguíneo e plasma (MATHEW et al., 2019), logo demanda maior trabalho cardiovascular. A demanda imposta pela atividade física está diretamente relacionada com a intensidade do exercício e a regulação das respostas circulatórias através da participação simpática e parassimpática, o que coloca a resposta simpática muscular predominante durante a atividade física (JOINEY; CASEY, 2015). Ao mesmo tempo existe uma demanda de maior fluxo para a pele por necessidade de resfriamento, desta forma podemos destacar a relação entre a termorregulação e o desempenho cardíaco.

A prática regular de atividade física tem sido referida como um fator de incremento no tônus vagal devido às adaptações fisiológicas ocorridas pelo aumento do trabalho cardíaco, uma vez que há uma redução da sensibilidade dos receptores beta. Assim, a elevação da modulação parassimpática induz uma estabilidade elétrica do coração, ao passo que a atividade simpática elevada aumenta a vulnerabilidade do coração e o risco de eventos cardiovasculares. Através da análise dos componentes da VFC foi possível constatar o aumento na atividade parassimpática pelo aumento dos valores nos componentes correspondentes da ação do sistema parassimpático (VLF e HF) nos grupos de CE, e corroboram com estudos anteriores (PATTERSON *et al*, 2004) referentes a períodos curtos de aclimatação que estão relacionados principalmente com o aumento do líquido extracelular e uma redução na FC. Nos grupos de LE, também houve diminuição

significativa nos componentes correspondentes da ação do sistema simpático (LF e LF/HF), pois além de os resultados apontarem aumento nos componentes correspondentes a participação parassimpática, ainda foi constatado a redução dos componentes relacionados com o sistema simpático.

O estresse térmico diminui os efeitos parassimpáticos cardíacos que aumentam a frequência cardíaca (CRANDALL; WILSON, 2015), dessa forma ressalta-se a importância da aclimatação, principalmente quando o desempenho esportivo é desejado.

Foram analisados os componentes do ECG, assim como componentes lineares no domínio da frequência amplamente utilizados para avaliação da VFC. O intervalo QT foi analisado sem necessidade de correção pelo QTc, pois roedores acordados não têm adaptação de taxa típica de seu intervalo. Em termos práticos, não parece haver nenhuma base fisiológica para a correção do QT em estudos com roedores (MULLA *et al.*, 2018).

O intervalo PR nos grupos de CE não apresentou diferença significativa entre os momentos pré e pós, o que demonstra que em um curto período de tempo não houveram modificações estruturais ou morfológicas suficientes para alterações neste componente. Houve apenas diferenças significativa com redução no intervalo PR em CAL<sub>L</sub> no momento pós se comparado a seu momento pré. Tal alteração parece refletir ainda algum nível de estresse ainda não compensado pelo sistema, apesar de após 4 semanas já ser esperado uma adaptação, o que neste caso não garantiu redução na FC deste grupo.

A duração da onda P foi menor em  $CAL_L$  no momento pós e isso pode representar adaptação ao estresse térmico. Já quando observamos apenas o momento pós e comparamos os grupos de CE e LE,  $CA_L$  apresentou maior duração da onda P se comparado a  $CAL_C$  no momento pós assim como  $CATR_L$  comparado a  $CATR_C$ , também no momento pós. Tais observações demonstram maior tempo na ativação dos átrios o que também aponta para adaptações adquiridas com o período de LE.

Foi constatado o alargamento de QRS nos grupos de LE no momento pós, assim como quando comparados com grupos de CE. O treinamento físico é conhecidamente fator preponderante para alargamento de QRS e redução de sua amplitude (BACHAROVA et al 2005), logo essa diferença era esperada, mas o que chamou a atenção é que em CAL<sub>L</sub> também houve alargamento e isso indica que o protocolo foi suficiente para algum nível de adaptação já com 4 semanas de exposição ao calor de forma repetida, 3 x semana.

O intervalo QT foi observado maior em  $CAL_L$  e  $CATR_L$  (pré vs. Pós) e também maior em comparação a  $CAL_C$  e  $CATR_C$  no momento pós, mas não em grupos de CE (pré vs. pós). O alargamento de QT por treinamento já foi citado em estudos anteriores (SCHNELL et al, 2018) e é um fenômeno adaptativo ao exercício. Mais uma vez chama-se a atenção para o aumento do intervalo QT no grupo que foi exposto apenas ao estresse térmico de LE, mas não de CE. A exposição prolongada, mesmo que passiva, parece promover adaptações no funcionamento cardíaco.

A amplitude da onda T foi observada menor em CA, (pré vs. pós) e em CATR,

(pré vs. pós). No caso de CATR<sub>L</sub> foi observado inclusive uma sutil inversão, o que já foi observado anteriormente e não está relacionado, necessariamente, a uma patologia. Ao contrário disso, é um fenômeno muito comum observado em atletas de esportes de longa duração (D'ASCENZI *et al.* 2020).

Foi constatado maior intervalo RR nos grupos de LE, o que refletiu em menor FC nos grupos de longa exposição quando comparados seus momentos pré e pós, assim como menor FC no grupo de treinamento e exposição ao ambiente quente se comparado ao seu controle ou ao grupo de exposição passiva de LE. De acordo com os dados obtidos, o treinamento teve influência na redução da FC, mas o que chama atenção é que não houve diferença entre CATR<sub>L</sub> e CAL<sub>L</sub>, o que sugere que houve um maior efeito do calor do que do próprio treinamento, pois se isso não fosse verdade CATR<sub>L</sub> apresentaria menor FC do que CAL<sub>L</sub>.

O componente rMSSD é um componente relacionado com o tônus vagal e sensível a variações em curtos períodos (NISKANEN *et al*, 2004)., mas não apresentou diferença intra grupos ou intergrupos.

# **Propriedades Mecânicas Cardíacas**

A análise do funcionamento mecânico foi feita nos grupos de LE. Foi observado maior desenvolvimento de PSVE no grupo de exposição passiva ao calor (CAL<sub>L</sub>). No grupo CATR<sub>L</sub> foi verificada menor pressão PSVE dentre os grupos. Esses resultados são análogos a PDVE que nada mais é do que a subtração da PDFVE da PSVE. Logo, parece ter havido maior estresse térmico pelo CAL<sub>L</sub>, pois o maior desenvolvimento de pressão e maior FC quando comparado com o CATR<sub>L</sub> que passou por treinamento e exposição ao ambiente quente. A aclimatação passiva em CAL<sub>L</sub> não foi suficiente para aumentar a capacidade de relaxamento miocárdico. Além disso a possível expansão do volume sistólico, alteração característica pós adaptação ao estresse térmico pelo calor, pode ter contribuído para o maior desenvolvimento PDVE em decorrência do aumento da pré-carga.

#### Remodelamento Cardíaco

A exposição repetida ao estresse térmico, como durante a aclimatação natural ao calor ou aclimatação laboratorial ao calor, induz adaptações que permitem um melhor equilíbrio hídrico e maior estabilidade cardiovascular. Essas adaptações incluem aumento da água corporal total e volume plasmático expandido, redução da frequência cardíaca, aumento do volume sistólico e melhor débito cardíaco sustentado durante o exercício, aumento da função miocárdica, como observado em modelos animais (PÉRIARD *et al.*, 2021).

Considerando que o protocolo de treinamento e aclimatação promoveu aumento da massa cardíaca é interessante considerar a análise de cortes histológicos para verificar o exato local de hipertrofia, que parece ser no VE. O Treinamento físico sem dúvida é um potencial desenvolvedor da massa miocárdica, mas deve-se considerar também a

exposição ao calor que promoveu adaptações. É possível que em protocolos maiores que 4 semanas a tendência de desenvolvimento miocárdico seja também observada em grupos de exposição passiva.

# **CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, observou-se que a exposição passiva pode contribuir para o processo de adaptação a ambientes mais quentes, embora de forma limitada em períodos mais curtos. Ainda assim, em período mais prolongado a exposição passiva demonstrou contribuir para uma melhor adaptação orgânica. Apesar disso, o treinamento associado ao estresse térmico durante o exercício pode ser um fator limitador de desempenho se os níveis de calor forem superiores a capacidade termorregulatória. A exposição prolongada, mesmo que passiva, contribuiu para uma queda na FC basal dos animais, porém ainda apresentou um nível mais alto de estresse após período de adaptação se observada a PDVE, o que pode estar relacionado com aumento no hematócrito e/ou no volume plasmático, adaptações características já citadas anteriormente.

Desta forma pode-se então, oportunamente, considerar a principal aplicação prática visualizada neste estudo, um protocolo de treinamento com dois momentos de adaptação onde em um momento específico a adaptação é exclusivamente física, treinamento físico propriamente dito. Em outro momento exposições passivas a ambientes aquecidos podem promover aclimatação. Desta maneira o desempenho no dia a dia de trabalho dos atletas não será afetado por altas temperaturas e ainda poderão se submeter a sessões de aclimatação entre os intervalos de treinamento.

# **DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE**

Os autores declararam não haver potenciais conflitos de interesse com relação à pesquisa, autoria e/ou publicação deste artigo.

#### **FINANCIAMENTO**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPQ.

#### REFERÊNCIAS

- 1. ARMSTRONG, C. G. AND W. L. KENNEY (1993). "Effects of age and acclimation on responses to passive heat exposure." **J Appl Physiol** (1985) 75(5): 2162-2167.
- 2. BACHAROVA, L., K. MICHALAK, J. KYSELOVIC AND J. KLIMAS (2005). "Relation between QRS amplitude and left ventricular mass in the initial stage of exercise-induced left ventricular hypertrophy in rats." Clin Exp Hypertens 27(6): 533-541.

- 3. BAIN, A. R., L. NYBO AND P. N. AINSLIE (2015). "Cerebral Vascular Control and Metabolism in Heat Stress." Compr Physiol 5(3): 1345-1380.
- 4. BERNARD, P., G. CHEVANCE, C. KINGSBURY, A. BAILLOT, A. J. ROMAIN, V. MOLINIER, T. GADAIS AND K. N. DANCAUSE (2021). "Climate Change, Physical Activity and Sport: A Systematic Review." **Sports Med** 51(5): 1041-1059.
- 5. BITTENCOURT, M. A., S. P. WANNER, A. C. KUNSTETTER, N. H. S. BARBOSA, P. C. L. WALKER, P. V. R. ANDRADE, T. TURNES AND L. G. A. Guglielmo (2020). "Comparative effects of two heat acclimation protocols consisting of high-intensity interval training in the heat on aerobic performance and thermoregulatory responses in exercising rats." **PLoS One** 15(2): e0229335.
- 6. BOTELHO, A. F. M., JOVIANO-SANTOS, J. V., MIRANDA, A. S., MENEZES-FILHO, J. E. R., SOTO-BLANCO, B., CRUZ, J. S., GUATIMOSIM, C. MELO, M. M. Non-invasive ECG recording and QT interval correction assessment in anesthetized rats and mice. **Pesq. Vet. Bras.** 39(6):409-415, June 2019.
- 7. BRAZAITIS, M. AND A. SKURVYDAS (2010). "Heat acclimation does not reduce the impact of hyperthermia on central fatigue." **Eur J Appl Physiol** 109(4): 771-778.
- 8. BRENNER, I., P. N. SHEK, J. ZAMECNIK AND R. J. SHEPHARD (1998). "Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise." Int J Sports Med 19(2): 130-143.
- 9. CAMPOS, H. O., L. H. LEITE, L. R. DRUMMOND, D. N. CUNHA, C. C. COIMBRA, A. J. NATALI AND T. N. PRÍMOLA-GOMES (2014). "Temperature Control of Hypertensive Rats during Moderate Exercise in Warm Environment." **J Sports Sci Med** 13(3): 695-701.
- 10. CARRILLO, A. E., A. D. FLOURIS, C. L. HERRY, M. P. POIRIER, P. BOULAY, S. DERVIS, B. J. FRIESEN, J. MALCOLM, R. J. SIGAL, A. J. E. SEELY AND G. P. KENNY (2016). "Heart rate variability during high heat stress: a comparison between young and older adults with and without Type 2 diabetes." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 311(4): R669-r675.
- 11. CHEUNG, S. S. AND T. M. MCLELLAN (1998). "Heat acclimation, aerobic fitness, and hydration effects on tolerance during uncompensable heat stress." **J Appl Physiol** (1985) 84(5): 1731-1739.
- 12. CRANDALL, C. G.; WILSON, T. E. "Human Cardiovascular Responses to Passive Heat Stress." **Comprehensive Physiology**, Dallas, v. 5, n. 1. 2015.
- 13. CRAMER, M. N., D. GAGNON, O. LAITANO AND C. G. CRANDALL (2022). "Human temperature regulation under heat stress in health, disease, and injury." **Physiol Rev** 102(4): 1907-1989.
- 14. D'ASCENZI, F., F. ANSELMI, P. E. ADAMI AND A. PELLICCIA (2020). "Interpretation of T-wave inversion in physiological and pathological conditions: Current state and future perspectives." **Clin Cardiol** 43(8): 827-833.
- 15. DONALDSON, G. C., W. R. KEATINGE AND R. D. SAUNDERS (2003). "Cardiovascular responses to heat stress and their adverse consequences in healthy and vulnerable human populations." **Int J Hyperthermia** 19(3): 225-235.
- 16. DURKOT, M. J. AND L. DE GARAVILLA (2000). "Exercise in the heat: effects of an adenosine antagonist." Int J Sports Med 21(4): 270-274.

- 17. EPSTEIN, Y. AND R. YANOVICH (2019). "Heatstroke." N Engl J Med 380(25): 2449-2459.
- 18. FALK, B. AND R. DOTAN (2011). "Temperature regulation and elite young athletes." **Med Sport Sci** 56: 126-149.
- 19. FEHRENBACH, E., A. M. NIESS, R. VEITH, H. H. DICKHUTH AND H. NORTHOFF (2001). "Changes of HSP72-expression in leukocytes are associated with adaptation to exercise under conditions of high environmental temperature." **J Leukoc Biol** 69(5): 747-754.
- 20. GIBSON, O. R., C. A. JAMES, J. A. MEE, A. G. B. WILLMOTT, G. TURNER, M. HAYES AND N. S. MAXWELL (2020). "Heat alleviation strategies for athletic performance: A review and practitioner quidelines." **Temperature** (Austin) 7(1): 3-36.
- 21. GRAVEL, H., G. K. CHASELING, H. BARRY, A. DEBRAY AND D. GAGNON (2021). "Cardiovascular control during heat stress in older adults: time for an update." **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 320(1): H411-h416.
- 22. GREENFIELD, A. M., F. G. PEREIRA, W. R. BOYER, M. R. APKARIAN, M. R. KUENNEN AND T. L. GILLUM (2021). "Short-term hot water immersion results in substantial thermal strain and partial heat acclimation; comparisons with heat-exercise exposures." J Therm Biol 97: 102898.
- 23. HAILES, W. S., J. S. CUDDY, K. COCHRANE AND B. C. RUBY (2016). "Thermoregulation During Extended Exercise in the Heat: Comparisons of Fluid Volume and Temperature." **Wilderness Environ Med** 27(3): 386-392.
- 24. HOROWITZ, M. (2002). "From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat." **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol** 131(3): 475-483.
- 25. HOROWITZ, M. AND E. KODESH (2010). "Molecular signals that shape the integrative responses of the heat-acclimated phenotype." **Med Sci Sports Exerc** 42(12): 2164-2172.
- 26. JAY, O., L. M. GARIÉPY, F. D. REARDON, P. WEBB, M. B. DUCHARME, T. RAMSAY AND G. P. KENNY (2007). "A three-compartment thermometry model for the improved estimation of changes in body heat content." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 292(1): R167-175.
- 27. JOYNER, M. J. AND D. P. CASEY (2015). "Regulation of increased blood flow (hyperemia) to muscles during exercise: a hierarchy of competing physiological needs." **Physiol Rev** 95(2): 549-601.
- 28. JOHNSON, J. M., C. T. MINSON AND D. L. KELLOGG, JR. (2014). "Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation." **Compr Physiol** 4(1): 33-89.
- 29. KAMIYA, A., D. MICHIKAMI, J. HAYANO AND K. SUNAGAWA (2003). "Heat stress modifies human baroreflex function independently of heat-induced hypovolemia." **Jpn J Physiol** 53(3): 215-222.
- 30. KELLOGG, D. L., JR., S. R. MORRIS, S. B. RODRIGUEZ, Y. LIU, M. GROSSMANN, G. STAGNI AND A. M. SHEPHERD (1998). "Thermoregulatory reflexes and cutaneous active vasodilation during heat stress in hypertensive humans." **J Appl Physiol** (1985) 85(1): 175-180.
- 31. KENNEY, W. L. (1997). "Thermoregulation at rest and during exercise in healthy older adults." **Exerc Sport Sci Rev** 25: 41-76.

- 32. KENNEY, W. L. (2008). "Human cardiovascular responses to passive heat stress." **J Physiol** 586(1): 3.
- 33. KODESH, E., N. NESHER, A. SIMAAN, B. HOCHNER, R. BEERI, D. GILON, M. D. STERN, G. GERSTENBLITH AND M. HOROWITZ (2011). "Heat acclimation and exercise training interact when combined in an overriding and trade-off manner: physiologic-genomic linkage." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 301(6): R1786-1797.
- 34. LENHARDT, R., A. KURZ AND D. I. SESSLER (1996). "Thermoregulation and hyperthermia." Acta Anaesthesiol Scand Suppl 109: 34-38.
- 35. LIM, C. L., K. K. CHUNG AND L. L. HOCK (1997). "The effects of prolonged passive heat exposure and basic military training on thermoregulatory and cardiovascular responses in recruits from a tropical country." **Mil Med** 162(9): 623-627.
- 36. LORENZO, S., J. R. HALLIWILL, M. N. SAWKA AND C. T. MINSON (2010). "Heat acclimation improves exercise performance." **J Appl Physiol** (1985) 109(4): 1140-1147.
- 37. MADDEN, C. J. AND S. F. MORRISON (2019). "Central nervous system circuits that control body temperature." **Neurosci** Lett 696: 225-232.
- 38. MALOYAN, A., A. PALMON AND M. HOROWITZ (1999). "Heat acclimation increases the basal HSP72 level and alters its production dynamics during heat stress." **Am J Physiol** 276(5): R1506-1515.
- 39. MCARDLE, W. D., F. I. KATCH, V. L. KATCH. Fisiologia do exercício I Nutrição, energia e desempenho humano. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- 40. MEE, J. A. , J. DOUST AND N. S. MAXWELL (2015). "Repeatability of a running heat tolerance test." **J Therm Biol** 49-50: 91-97.
- 41. MORAN, D., Y. SHAPIRO, U. MEIRI, A. LAOR AND M. HOROWITZ (1996). "Heat acclimation: cardiovascular response to hot/dry and hot/wet heat loads in rats." **J Basic Clin Physiol Pharmacol** 7(4): 375-387.
- 42. MORAN, D. S., L. ELI-BERCHOER, Y. HELED, L. MENDEL, M. SCHOCINA AND M. HOROWITZ (2006). "Heat intolerance: does gene transcription contribute?" **J Appl Physiol** (1985) 100(4): 1370-1376.
- 43. MORA-RODRIGUEZ, R. , J. DEL COSO AND E. ESTEVEZ (2008). "Thermoregulatory responses to constant versus variable-intensity exercise in the heat." **Med Sci Sports Exerc** 40(11): 1945-1952.
- 44. MORRISON, S. F. AND K. NAKAMURA (2011). "Central neural pathways for thermoregulation." Front Biosci (Landmark Ed) 16(1): 74-104.
- 45. MORRISON, S. F. AND K. NAKAMURA (2019). "Central Mechanisms for Thermoregulation." **Annu Rev Physiol** 81: 285-308.
- 46. MULLA, W., R. GILLIS, M. MURNINKAS, H. KLAPPER-GOLDSTEIN, H. GABAY, M. MOR, S. ELYAGON, N. LIEL-COHEN, O. BERNUS AND Y. ETZION (2018). "Unanesthetized Rodents Demonstrate Insensitivity of QT Interval and Ventricular Refractory Period to Pacing Cycle Length." Front Physiol 9: 897.

- 47. NAKAMURA, K. (2011). "Central circuitries for body temperature regulation and fever." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 301(5): R1207-1228.
- 48. NAKAMURA, K. AND S. F. MORRISON (2008). "A thermosensory pathway that controls body temperature." **Nat Neurosci** 11(1): 62-71.
- 49. NISKANEN, J. P., M. P. TARVAINEN, P. O. RANTA-AHO AND P. A. KARJALAINEN (2004). "Software for advanced HRV analysis." **Comput Methods Programs Biomed** 76(1): 73-81.
- 50. NOVELLI, E. L., Y. S. DINIZ, C. M. GALHARDI, G. M. EBAID, H. G. RODRIGUES, F. MANI, A. A. FERNANDES, A. C. CICOGNA AND J. L. NOVELLI FILHO (2007). "Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats." **Lab Anim** 41(1): 111-119.
- 51. NYBO, L. AND P. RASMUSSEN (2007). "Inadequate cerebral oxygen delivery and central fatigue during strenuous exercise." **Exerc Sport Sci Rev** 35(3): 110-118.
- 52. OLESEN, B. W. (1982) Thermal confort. Bruel and Kjaer Techanical Review 2: 3-41.
- 53. OTANI, H., T. GOTO, H. GOTO, Y. HOSOKAWA AND M. SHIRATO (2019). "Solar Radiation Exposure Has Diurnal Effects on Thermoregulatory Responses During High-Intensity Exercise in the Heat Outdoors." J Strength Cond Res 33(10): 2608-2615.
- 54. OTANI, H., M. KAYA, A. TAMAKI, P. WATSON AND R. J. MAUGHAN (2018). "Air velocity influences thermoregulation and endurance exercise capacity in the heat." **Appl Physiol Nutr Metab** 43(2): 131-138.
- 55. OZAKI, G. A. T., J. C. S. CAMARGO, T. A. GARCIA, R. C. CASTOLDI AND W. D. BELANGERO (2022). "Eeffect of aerobic and anaerobic training on different ergometers in rat muscle and heart tissues." **Acta Ortop Bras** 30(spe2): e248048.
- 56. PANDOLF, K. B., R. W. GANGE, W. A. LATZKA, I. H. BLANK, K. K. KRANING, 2ND AND R. R. GONZALEZ (1992). "Human thermoregulatory responses during heat exposure after artificially induced sunburn." **Am J Physiol** 262(4 Pt 2): R610-616.
- 57. PATTERSON, M. J., J. M. STOCKS AND N. A. TAYLOR (2004). "Sustained and generalized extracellular fluid expansion following heat acclimation." **J Physiol** 559(Pt 1): 327-334.
- 58. PEARSON, J., D. A. LOW, E. STÖHR, K. KALSI, L. ALI, H. BARKER AND J. GONZÁLEZ-ALONSO (2011). "Hemodynamic responses to heat stress in the resting and exercising human leg: insight into the effect of temperature on skeletal muscle blood flow." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 300(3): R663-673.
- 59. PÉRIARD, J. D., M. N. CRAMER, P. G. CHAPMAN, C. CAILLAUD AND M. W. THOMPSON (2011). "Cardiovascular strain impairs prolonged self-paced exercise in the heat." **Exp Physiol** 96(2): 134-144.
- 60. PÉRIARD, J. D., T. M. H. EIJSVOGELS AND H. A. M. DAANEN (2021). "Exercise under heat stress: thermoregulation, hydration, performance implications, and mitigation strategies." **Physiol Rev** 101(4): 1873-1979.
- 61. PÉRIARD, J. D., S. RACINAIS AND M. N. SAWKA (2015). "Adaptations and mechanisms of human heat acclimation: Applications for competitive athletes and sports." **Scand J Med Sci Sports** 25 Suppl 1: 20-38.

- 62. PÉRIARD, J. D., M. W. THOMPSON, C. CAILLAUD AND V. QUARESIMA (2013). "Influence of heat stress and exercise intensity on vastus lateralis muscle and prefrontal cortex oxygenation." **Eur J Appl Physiol** 113(1): 211-222.
- 63. PÉRIARD, J. D., G. J. S. TRAVERS, S. RACINAIS AND M. N. SAWKA (2016). "Cardiovascular adaptations supporting human exercise-heat acclimation." **Auton Neurosci** 196: 52-62.
- 64. PRÍMOLA-GOMES, T. N., L. A. CAMPOS, S. LAUTON-SANTOS, C. H. BALTHAZAR, S. GUATIMOSIM, L. S. CAPETTINI, V. S. LEMOS, C. C. COIMBRA, D. D. SOARES, M. A. CARNEIRO-JÚNIOR, J. F. QUINTÃO-JÚNIOR, M. O. SOUZA, J. S. CRUZ AND A. J. NATALI (2009). "Exercise capacity is related to calcium transients in ventricular cardiomyocytes." **J Appl Physiol** (1985) 107(2): 593-598.
- 65. PRYOR, J. L., R. R. PRYOR, L. W. VANDERMARK, E. L. ADAMS, R. M. VANSCOY, D. J. CASA, L. E. ARMSTRONG, E. C. LEE, L. J. DISTEFANO, J. M. ANDERSON AND C. M. MARESH (2019). "Intermittent exercise-heat exposures and intense physical activity sustain heat acclimation adaptations." **J Sci Med Sport** 22(1): 117-122.
- 66. PRYOR, R. R., J. L. PRYOR, L. W. VANDERMARK, E. L. ADAMS, R. M. BRODEUR, L. E. ARMSTRONG, E. C. LEE, C. M. MARESH AND D. J. CASA (2021). "Short term heat acclimation reduces heat strain during a first, but not second, consecutive exercise-heat exposure." **J Sci Med Sport** 24(8): 768-773.
- 67. QUINN, C. M., R. M. DURAN, G. N. AUDET, N. CHARKOUDIAN AND L. R. LEON (2014). "Cardiovascular and thermoregulatory biomarkers of heat stroke severity in a conscious rat model." J Appl Physiol (1985) 117(9): 971-978.
- 68. RACINAIS, S., ALONSO, J. M., COUTTS, A. J., FLOURIS, A. D., GIRARD, O., GONZÁLEZ-ALONSO, J., HAUSSWIRTH, C., JAY, O., LEE, J. K., MITCHELL, N., NASSIS, G. P., NYBO, PLUIM, B. M., ROELANDS, B., SAWKA, M. N., WINGO J. AND PÉRIARD, J. D. (2015). "Consensus recommendations on training and competing in the heat." **Br J Sports Med** 49(18): 1164-1173.
- 69. RAVANELLI, N., D. GAGNON, P. IMBEAULT AND O. JAY (2021). "A retrospective analysis to determine if exercise training-induced thermoregulatory adaptations are mediated by increased fitness or heat acclimation." **Exp Physiol** 106(1): 282-289.
- 70. RODRIGUES JÚNIOR, J. F. C., Z. MCKENNA, F. T. AMORIM, A. F. DA COSTA SENA, T. T. MENDES, C. E. VENEROSO, C. E. TORRES CABIDO AND M. N. SEVILIO DE OLIVEIRA JÚNIOR (2020). "Thermoregulatory and metabolic responses to a half-marathon run in hot, humid conditions." J Therm Biol 93: 102734.
- 71. ROMANOVSKY, A. A. (2007). "Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 292(1): R37-46.
- 72. SAGUI, E., S. BEIGHAU, A. JOUVION, J. TRICHEREAU, D. CORNET, R. C. BERTHELOT, F. CANINI AND L. GRÉLOT (2017). "Thermoregulatory Response to Exercise After Exertional Heat Stroke." Mil Med 182(7): e1842-e1850.
- 73. SAMMUT, I. A., J. JAYAKUMAR, N. LATIF, S. ROTHERY, N. J. SEVERS, R. T. SMOLENSKI, T. E. BATES AND M. H. YACOUB (2001). "Heat stress contributes to the enhancement of cardiac mitochondrial complex activity." **Am J Pathol** 158(5): 1821-1831.

- 74. SAWKA, M. N., A. J. YOUNG, B. S. CADARETTE, L. LEVINE AND K. B. PANDOLF (1985). "Influence of heat stress and acclimation on maximal aerobic power." **Eur J Appl Physiol Occup Physiol** 53(4): 294-298.
- 75. SCHERTZER, J. D., H. J. GREEN AND A. R. TUPLING (2002). "Thermal instability of rat muscle sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase function." **Am J Physiol Endocrinol Metab** 283(4): E722-728.
- 76. SCHNELL, F., N. BEHAR AND F. CARRÉ (2018). "Long-QT Syndrome and Competitive Sports." **Arrhythm Electrophysiol** Rev 7(3): 187-192.
- 77. SHAPIRO, Y., D. MORAN AND Y. EPSTEIN (1998). "Acclimatization strategies--preparing for exercise in the heat." Int J Sports Med 19 Suppl 2: S161-163.
- 78. SHMEEDA, H., P. KASPLER, J. SHLEYER, R. HONEN, M. HOROWITZ AND Y. BARENHOLZ (2002). "Heat acclimation in rats: modulation via lipid polyunsaturation." **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol** 283(2): R389-399.
- 79. TAN, C. L. AND Z. A. KNIGHT (2018). "Regulation of Body Temperature by the Nervous System." Neuron 98(1): 31-48.
- 80. TANSEY, E. A. AND C. D. JOHNSON (2015). "Recent advances in thermoregulation." **Adv Physiol Educ** 39(3): 139-148.
- 81. TANSEY, E. A., S. M. ROE AND C. J. JOHNSON (2014). "The sympathetic release test: a test used to assess thermoregulation and autonomic control of blood flow." **Adv Physiol Educ** 38(1): 87-92.
- 82. TEIXEIRA-COELHO, F., C. G. FONSECA, F. F. VAZ, N. H. S. BARBOSA, D. D. SOARES, W. PIRES AND S. P. WANNER (2021). "Physical exercise-induced thermoregulatory responses in trained rats: Effects of manipulating the duration and intensity of aerobic training sessions." **J Therm Biol** 97: 102878.
- 83. TRACHSEL, L. D., H. BARRY, H. GRAVEL, P. BEHZADI, C. HENRI AND D. GAGNON (2020). "Cardiac function during heat stress: impact of short-term passive heat acclimation." **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 319(4): H753-h764.
- 84. TRANGMAR, S. J. AND J. GONZÁLEZ-ALONSO (2019). "Heat, Hydration and the Human Brain, Heart and Skeletal Muscles." **Sports Med** 49(Suppl 1): 69-85.
- 85. TYLER, C. J., T. REEVE, G. J. HODGES AND S. S. CHEUNG (2016). "The Effects of Heat Adaptation on Physiology, Perception and Exercise Performance in the Heat: A Meta-Analysis." **Sports Med** 46(11): 1699-1724.
- 86. VANDERLEI, L. C. M., PASTRE, C. M., HOSHI, R. A., CARVALHO, T. D., GODOY, M. F. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica. **Rev Bras Cir Cardiovasc** 2009; 24(2): 205-217.
- 87. WHYTE, D. G. AND A. K. JOHNSON (2005). "Thermoregulatory role of periventricular tissue surrounding the anteroventral third ventricle (AV3V) during acute heat stress in the rat." **Clin Exp Pharmacol Physiol** 32(5-6): 457-461.

- 88. WILSON, M. G., J. D. PÉRIARD, C. ADAMUZ, A. FAROOQ, V. WATT AND S. RACINAIS (2020). "Does passive heat acclimation impact the athlete's heart continuum?" **Eur J Prev Cardiol** 27(5): 553-555.
- 89. WILSON, T. E., R. M. BROTHERS, C. TOLLUND, E. A. DAWSON, P. NISSEN, C. C. YOSHIGA, C. JONS, N. H. SECHER AND C. G. CRANDALL (2009). "Effect of thermal stress on Frank-Starling relations in humans." **J Physiol 587**(Pt 13): 3383-3392.
- 90. YAMAZAKI, F. AND K. HAMASAKI (2003). "Heat acclimation increases skin vasodilation and sweating but not cardiac baroreflex responses in heat-stressed humans." **J Appl Physiol** (1985) 95(4): 1567-1574.
- 91. YOKOTA, M., L. G. BERGLUND, W. R. SANTEE, M. J. BULLER, A. J. KARIS, W. S. ROBERTS, J. S. CUDDY, B. C. RUBY AND R. W. HOYT (2012). "Applications of real-time thermoregulatory models to occupational heat stress: validation with military and civilian field studies." **J Strength Cond Res** 26 Suppl 2: S37-44.
- 92. ZHOU, W. T., M. FUJITA, T. ITO AND S. YAMAMOTO (1997). "Effects of early heat exposure on thermoregulatory responses and blood viscosity of broilers prior to marketing." **Br Poult Sci** 38(3): 301-306.

CLÉCIO DANILO DIAS DA SILVA - Doutor em Sistemática e Evolução pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre em Ensino de Ciências Naturais e Matemática pela UFRN. Especialista em Ensino de Ciências Naturais e Matemática pelo Instituto Federal do Rio Grande do Norte (IFRN). Especialista em Educação Ambiental e Geografia do Semiárido pelo IFRN. Especialista em Gestão Ambiental pelo IFRN. Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Facex (UNIFACEX). Licenciado em Pedagogia pelo Centro Universitário Internacional (UNINTER). Docente dos componentes curriculares Ciências e Biologia pela Secretaria de Estado da Educação, da Cultura, do Esporte e do Lazer (SEEC-RN). Atualmente está vinculado Laboratório de Collembola (LABCOLL) do Departamento de Botânica e Zoologia do Centro de Biociências (DBEZ-CB) da UFRN. Tem experiência em Zoologia de Invertebrados, Ecologia aplicada; Educação em Ciências e Educação Ambiental. Áreas de interesse: Fauna Edáfica; Taxonomia e Ecologia de Collembola; Ensino de Ciências; Ensino de Biodiversidade e Educação para Sustentabilidade.

DANIELE BEZERRA DOS SANTOS - Doutora em Psicobiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Mestre em Bioecologia Aquática pela UFRN. Graduada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Facex (UNFACEX). No âmbito profissional e de gestão acadêmica e administrativa, coordenou a Pesquisa e Extensão do UNIFACEX. Coordenou os cursos de Pós-Graduação Especialização em Meio Ambiente e Gestão de Recursos Naturais (UNIFACEX) e da Especialização em Microbiologia e Parasitologia (UNIFACEX). Também coordenou o curso de graduação Licenciatura em Ciências Biológicas do UNIFACEX. Na esfera pública federal, coordenou o curso de Especialização em Ensino de Ciências Naturais e Matemática do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN). Atualmente, é professora do Curso de Pós-Graduação Especialização em Ensino de Ciências Naturais e Matemática do IFRN e atual como Coordenadora da Pesquisa e Inovação do Campus Pau dos Ferros (COPEIN-PF/IFRN). Áreas de interesse: Ensino; Meio Ambiente: Comportamento Animal.

#### Α

Amazônia 11, 12, 13, 15, 31, 32, 67, 68, 69, 73, 74, 85, 86

Aprendizagem significativa 89, 94, 96, 97, 101, 103, 104, 106, 120

Arborização urbana 75, 77, 87

Artrópodes 23, 124

#### В

Biodiversidade 50, 51, 64, 66, 89, 90, 91, 146, 202

Biologia 18, 24, 27, 73, 85, 86, 87, 88, 96, 97, 99, 101, 102, 103, 105, 106, 107, 109, 123, 126, 146, 147, 151, 202

Biologia molecular 18, 24

Botânica 64, 66, 73, 75, 76, 77, 78, 84, 85, 86, 87, 88, 90, 91, 92, 93, 97, 150, 202

#### C

Caracterização morfométrica 67, 69, 71, 72, 73

Cegueira botânica 75, 76, 77, 78, 84, 86

Cianobactérias 55, 63, 64, 65, 66

Cidade 65, 75, 77, 78, 84

Cistocentese 1, 2

Compostos bioativos 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 173, 174, 175, 176

Controle biológico 35, 36, 37, 38, 42, 49

#### D

Dengue 124, 125, 126, 127, 128, 130, 133, 134, 137, 138, 139

#### Ε

Educação 3, 14, 64, 77, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 100, 101, 106, 107, 108, 109, 114, 119, 120, 122, 123, 202

Educação ambiental 64, 77, 85, 88, 89, 90, 92, 93, 94, 202

Ensino de Botânica 75, 76, 85, 86, 87, 92

Ensino de Ciências 63, 75, 86, 88, 89, 91, 105, 106, 202

Epigenética 162, 163, 164, 165, 167, 168, 170, 173, 174, 175

Epítopos 124, 126, 130, 131, 132, 133, 134, 136, 138

Estágio 25, 70, 95, 96, 98, 99, 100, 103, 104, 107, 108, 130

Estresse térmico 180, 181, 182, 188, 189, 190, 192, 193, 194

Expressão gênica 163, 164, 165, 166, 168, 169, 173, 174

#### F

Febre amarela 124, 125, 126, 129, 130, 131, 133, 136, 137, 138

Fitoplâncton 53, 55, 56, 62, 63, 65

Fitoquímicos 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 173, 174

Flebotomíneos 3, 6, 7, 8, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33

Flor 68, 69, 71, 73, 111, 113, 116, 118, 119, 120

Frutos 20, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 78

#### G

Germoplasma 67, 69, 71, 73, 147, 148, 149, 150, 154, 155, 161

I

Inflorescência 68

Insetos 6, 10, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 26, 37, 49, 50, 126

#### L

Lagos artificiais 54

Leishmanioses 3, 4, 5, 6, 10, 12, 13, 16, 18, 21, 23, 24, 26, 27

Leishmaniose tegumentar 3, 4, 5, 9, 13, 14, 15, 16, 28, 29

Leishmaniose visceral 3, 4, 5, 7, 13, 14, 15, 26, 28, 29, 31, 33

#### M

Microalgas 52, 53, 55, 59, 62, 63, 64

Modelagem de nicho 36, 38

Modelos didáticos 97, 98, 101, 102, 103, 106, 108

#### P

Parasitas 3, 5, 6, 18, 26, 138

Parasitismo 7

Pesqueiro 53, 54, 60, 64, 65

Praga quarentenária 35, 36, 51

Protozoários 5, 19, 24

Psychodidae 6, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34

R

Reatividade cruzada 23, 124, 126, 130, 138, 139

Recursos didáticos 89, 95, 96, 97, 100, 101, 102, 104, 106, 107, 108

Recursos genéticos 69, 147, 149, 150

S

Saúde pública 3, 10, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 28, 63, 64, 65, 66, 124, 125, 128

Т

Termorregulação 180, 181, 188, 191

Treinamento aeróbio 178, 179, 180, 182, 188

U

Ultrassonografia 1, 2

Urina 1, 2

٧

Várzeas 67

Vetores 3, 6, 7, 10, 11, 12, 18, 21, 22, 24, 26, 33, 125, 138

Vírus 3, 7, 19, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 137, 138, 139

Z

Zoneamento territorial 38, 44, 45, 51

# As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade

- mww.atenaeditora.com.br
- @atenaeditora
- f www.facebook.com/atenaeditora.com.br



# As ciências biológicas e os progressos que beneficiam a sociedade

- mww.atenaeditora.com.br
- ② @atenaeditora
- f www.facebook.com/atenaeditora.com.br

