



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Fundamentos da vida e
biodiversidade

 **Atena**
Editora
Ano 2024



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

fundamentos da vida e
biodiversidade

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2024 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2024 Os autores

Copyright da edição © 2024 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



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

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

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

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

Conselho Editorial

Ciências Biológicas e da Saúde

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª 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

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

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

Prof. Dr. Bruno Edson Chaves – Universidade Estadual do Ceará
 Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina
 Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
 Prof. Dr. Cláudio José de Souza – Universidade Federal Fluminense
 Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
 Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
 Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
 Profª Drª. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
 Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
 Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
 Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
 Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
 Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
 Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
 Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
 Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
 Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
 Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
 Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
 Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do 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
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª 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 Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá
 Profª Drª Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
 Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

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

Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

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

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

Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

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

Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Renato Faria da Gama – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

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

Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria

Profª Drª Thais Fernanda Tortorelli Zarili – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade Federal de Itajubá

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

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

Diagramação: Thamires Camili Gayde
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizador: Atena Editora

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
C569	Ciências biológicas: fundamentos da vida e biodiversidade / Organização de Atena Editora. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-2981-4 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.81411240210 1. Ciências biológicas. 2. Pesquisa. I. Atena Editora (Organização). II. Título. CDD 570
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
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. **Esta obra adota a política de publicação em fluxo contínuo**, o que implica que novos artigos poderão ser incluídos à medida que forem aprovados. Assim, o conteúdo do sumário, a quantidade de artigos e o número total de páginas poderão ser ajustados conforme novos textos forem adicionados. 2. 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; 3. 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; 4. Todos os e-book são open access, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de ecommerce, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 5. 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; 6. 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.

CAPÍTULO 1 1**PROSPECÇÃO CIENTÍFICA DA AQUICULTURA MULTITRÓFICA INTEGRADA (IMTA): ESTRATÉGIA DE MODELO PARA A INTEGRALIZAÇÃO DA CARCINICULTURA E OSTREICULTURA NO ESTADO DO MARANHÃO**

Fabiana Frazão Frazão

Isadora Fontenelle Carneiro de Castro

Ricardo Henrique Nascimento Frazão

Flávia Abreu Everton

Izabel Cristina da Silva Almeida Funo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402101>**CAPÍTULO 2 17****ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE COX2 DA LEVEDURA DEKKERA BRUXELLENSIS**

Felipe Moraes Alecrim

Edvânia Maria Soares da Silva

Maria Isabel Pereira Marques

Paulo Sérgio Rocha Lima

Marlon Alves Cordeiro

Karla Roberta Alves de Carvalho

Maria Júlia Florentino dos Santos


Valdilene Apolônia da Silva Domingos

Gerlaine Cardoso dos santos

Sidnei Soares e Silva


Luiz Pinheiro Filho

Jailson da Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402102>**CAPÍTULO 349****CONTRIBUIÇÕES DO ESTÁGIO CURRICULAR NO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DO IFPI: PERCEPÇÃO DISCENTE**

Joseane Inácio da Silva Moraes

Hortência Kardec da Silva

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402103>**CAPÍTULO 459****PANORAMA ATUAL DA FEBRE Q NO BRASIL**

Adriano Silvio Neto

Danielly Dias Moreira


Betania Barreiros dos Santos

João Victor Mesquita Mota

Vanessa Lopes de Souza


Víctor Gerardo Petro Hernández

Elizabeth Dutra Vasconcelos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402104>


CAPÍTULO 565**A PESQUISA EXPERIMENTAL E SUA ADEÇÃO AOS MÉTODOS ALTERNATIVOS COM O USO DE BRONQUIÓLOS SUÍNOS PROVENIENTES DE ABATEDOURO: RELATO DE EXPERIÊNCIA**

Luís Pereira-de-Morais
 Andressa de Alencar Silva
 Renata Evaristo Rodrigues Duarte
 Lindaiane Bezerra Rodrigues Dantas
 Marília Cavalcante Araújo
 Romário Pinheiro Lustosa
 Jane Lane de Oliveira Sandes
 Bianca de Sousa Barbosa Ferreira
 Raimundo Luiz Silva Pereira
 Edvanildo De Sousa Silva
 Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins
 Isaac Moura Araújo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402105>


CAPÍTULO 6 71**MANCHAS DE SANGUE *CAST-OFF* EM CENA DE CRIME**

Leonardo de Paula Miranda
 Thatiane Lopes Oliveira
 Leila Conceição de Paula Miranda

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402106>

CAPÍTULO 778**AVANÇOS E ABORDAGENS NO TRATAMENTO DO TRAUMA FACIAL: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Aliandro Willy Duarte Magalhães
 Diana Barth Amaral de Andrade
 Jaqueline Ferraz Rego
 Lucas Souza Presutto
 Eduarda Costa Guidon
 João Victor Raposo de Faria Rachide
 Letícia Beatriz Freire Quintino
 Vinícius Louza Garcia
 Álvaro Antônio Martins Silva
 Victória Elizabeth Baptista da Luz
 Arthur Vieira Cupolillo
 Benedicto Maw Baptista da Luz Neto
 Enzo Salles Fatuch
 Mariana Magro Reinato
 Ana Beatriz Poletto Ainbinder
 Mauricio Lopes da Silva Netto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402107>

CAPÍTULO 888**HISTÓRIA DO ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO NOS TRANSPLANTES DE ENXERTO**

Luan Nascimento Mesquita

Brenda Pinto de Moraes

Emanoelle Das Neves Martins

Maria Eduarda Rodrigues Figueiredo

Jade Geovana Galvão Sousa

Lays Costa Teixeira

Ana Cecília Bonfim de Carvalho


Patricia Jeanne de Souza Mendonça Mattos

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402108>**CAPÍTULO 9 107****MANCHAS DE SANGUE IMPACTADAS EM LOCAIS DE CRIME**


Leonardo de Paula Miranda

Thatiane Lopes Oliveira

Leila Conceição de Paula Miranda

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402109>**CAPÍTULO 10.....114****SERVIÇOS ECOSSISTÊMICOS: BENEFÍCIOS DA BIODIVERSIDADE PARA A HUMANIDADE**


Igor Araújo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.8141124021010>**CAPÍTULO 11121****MUDANÇAS CLIMÁTICAS E BIODIVERSIDADE: DESAFIOS E IMPACTOS NOS BIOMAS BRASILEIROS**

Igor Araújo

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.8141124021011>

PROSPECÇÃO CIENTÍFICA DA AQUICULTURA MULTITRÓFICA INTEGRADA (IMTA): ESTRATÉGIA DE MODELO PARA A INTEGRALIZAÇÃO DA CARCINICULTURA E OSTREICULTURA NO ESTADO DO MARANHÃO

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402101>

Data de aceite: 02/10/2024

Fabiana Frazão Frazão

Núcleo de Maricultura-NUMAR, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, São Luís, Maranhão, Brasil
<https://orcid.org/0000-0002-9804-4540>

Isadora Fontenelle Carneiro de Castro

Graduada em Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão-UEMA, Cidade Universitária Paulo VI, São Luís, Maranhão, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-2369-7587>

Ricardo Henrique Nascimento Frazão

Doutorando em Química, Núcleo de Catálise e Ambiental -NCCA, Universidade Federal do Maranhão-UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil
<https://orcid.org/0009-0009-3421-6532>

Flávia Abreu Everton

Doutoranda em Aquicultura, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil
<https://orcid.org/0000-0001-7006-3267>

Izabel Cristina da Silva Almeida Funo

Núcleo de Maricultura-NUMAR, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão – IFMA, São Luís, Maranhão, Brasil
<https://orcid.org/0000-0003-2301-2146>

RESUMO: Objetivou-se neste trabalho é realizar a prospecção científica da Aquicultura Multitrófica Integrada (IMTA) e propor um modelo para o desenvolvimento da integralização da carcinicultura e ostreicultura no Estado do Maranhão. Foi realizada uma revisão da literatura sistemática sobre IMTA, na base *Web of Science*. A revisão foi realizada no mês de dezembro de 2023 a janeiro de 2024. Na análise dos dados, a China é o país que mais publicou sobre IMTA. Ostra como *Crassostrea gigas* são candidatas promissoras para utilização como espécies extrativas em sistemas IMTA em diversos países, porém no Brasil há registros de ostras nativas sendo utilizadas neste sistema multitrófico. Os valores médios de temperatura (28,56°C), o oxigênio dissolvido (5,86 g/L), a salinidade (21,31 g/L), pH (8,15) e Amônia-Nitrogênio (0,19 mg/L) foram registrados. Logo, o modelo IMTA proposto é um projeto para sustentabilidade ambiental, para ser desenvolvido no município de Humberto de Campos-MA, e implica integrar o cultivo de camarão e ostra. O sistema IMTA estará fundamentado como sistema de cultivo de ostra em travesseiros flutuantes. Conclui-se neste estudo, que *Crassostrea gasar* e *Penaeus*

vannamei são as espécies mais adequadas para propor um modelo para o desenvolvimento da integralização da carcinicultura e ostreicultura no Estado do Maranhão.

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo multitrófico, *Crassostrea gasar* e *Penaeus vannamei*.

SCIENTIFIC PROSPECTING OF INTEGRATED MULTITROPHIC AQUACULTURE (IMTA): A MODEL STRATEGY FOR OF INTEGRATED SHRIMP AND OYSTER FARMING IN THE STATE OF MARANHÃO

ABSTRACT: The aim of this study was to carry out scientific research into Integrated Multitrophic Aquaculture (IMTA) and to propose a model for the development of integrated shrimp and oyster farming in the state of Maranhão. A systematic literature review on IMTA was carried out on the *Web of Science* database. The review was carried out from December 2023 to January 2024. In the data analysis, China is the country that has published the most on IMTA. Oysters such as *Crassostrea gigas* are promising candidates for use as extractive species in IMTA systems in several countries, but in Brazil there are records of native oysters being used in this multi-trophic system. Average values for temperature (28.56°C), dissolved oxygen (5.86 g/L), salinity (21.31 g/L), pH (8.15) and ammonia-nitrogen (0.19 mg/L) were recorded. Therefore, the proposed IMTA model is a project for environmental sustainability, to be developed in the municipality of Humberto de Campos-MA, and involves integrating the cultivation of shrimp and oysters. The IMTA system will be based on an oyster cultivation system on floating pillows. This study concludes that *Crassostrea gasar* and *Penaeus vannamei* are the most suitable species to propose a model for the development of integrated shrimp and oyster farming in the state of Maranhão.

KEYWORDS: Multitrophic culture, *Crassostrea gasar* and *Penaeus vannamei*.

INTRODUÇÃO

Em 2020, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO, através do relatório do Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (Edição-2022), a pesca e a produção aquícola atingiram recorde histórico de 214 milhões de toneladas, incluindo os 36 milhões de toneladas de algas marinhas. No entanto, aquicultura cresceu mais rápido do que a captura extrativa de pescado nos últimos dois anos (FAO, 2022).

O Brasil está entre os países mais produtores de pescado do mundo. De acordo com a FAO (2022), o Brasil está na 12^a no ranking quanto a pesca de captura continental e na 13^a na produção aquícola mundial.

A aquicultura é uma atividade do agronegócio que envolve a criação de animais e plantas aquáticas destinadas a alimentação humana (Siqueira, 2017). Devido a expansão considerável da aquicultura no Brasil e no mundo, novas tecnologias e processos produtivos têm sido desenvolvidos a fim de solucionar os problemas nas produções aquícolas. E, apesar dos benefícios sociais (geração de emprego) e econômicos, deve-se considerar que todas as atividades produtivas são impactantes ao meio ambiente, inclusive a aquicultura. A eutrofização dos recursos hídricos talvez seja um dos maiores impactos causados pela aquicultura tradicional (Naspirán-Jojoa et al., 2022).

As soluções compreendem uma série de estratégias técnicas com a integração de diferentes sistemas produtivos e variadas espécies, as quais utilizam diferentes níveis tróficos dentro do próprio sistema de cultivo, sistema este conhecido como Aquicultura Multitrófica Integrada (AMTI) ou o termo em inglês *Integrated Multitrophic Aquaculture* – IMTA (Scopel, 2019).

O termo aquicultura multitrófica integrada é um modelo que integra o cultivo de espécies aquáticas com diferentes níveis tróficos, na proximidade umas das outras ou em um mesmo sistema, de tal de modo a que os resíduos, subprodutos ou alimentos não consumidos de uma espécie sejam recapturados e utilizados por outra cultura (como energia, fertilizante ou alimento), aproveitando assim as suas interações sinérgicas para obter vantagens (Nissar et al. 2023). Segundo Fróis (2016), a diferença entre policultivo e IMTA está no nível trófico, visto que o IMTA refere-se à incorporação de espécies de diferentes níveis tróficos ou níveis nutricionais no mesmo sistema, esta é a grande diferença comparativamente ao sistema em policultivo, que utiliza várias espécies com o mesmo nível trófico.

Adotar o IMTA pode melhorar a sustentabilidade da aquicultura intensiva no país, reduzindo os efluentes e promovendo economia, já que produz outras espécies com valor agregado (Chopin et al. 2001; Naspíran-Jojoa et al., 2022; Nissar et al. 2023).

O IMTA foi desenvolvido com base nos três pilares do tripé da sustentabilidade, visando criar um sistema equilibrado para promover sustentabilidade ambiental, econômica e social, visto que combina espécies de aquicultura alimentadas por ração balanceada (por exemplo, camarões), espécies da aquicultura extrativa orgânica (por exemplo, ostras e outros moluscos ou peixes herbívoros) e espécies da aquicultura extrativa inorgânicas (por exemplo, algas marinhas) (Khanjani et al., 2022).

Desde 2005, a empresa Primar é uma referência na carcinicultura brasileira, visto que utiliza, além do método orgânico, o sistema IMTA, cultivando espécies de diferentes demandas alimentares para aproveitar melhor os nichos ecológicos dos viveiros. Camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (=nomenclatura atual *Penaeus vannamei*), ostra *Crassostrea gasar*, peixes Mugil curema, Mugil liza, e Chaetodipterus faber, crescem no mesmo ecossistema, reciclando de maneira sustentável a matéria orgânica, de modo a reduzir os impactos ambientais no interior e exterior da empresa (Santos, 2020).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é propor um modelo para o desenvolvimento da integralização da carcinicultura e ostreicultura no Estado do Maranhão, bem como fazer uma revisão que abrange descobertas anteriores sobre o Sistema IMTA com ênfase específica nas funcionalidades deste sistema, suas espécies adequadas, e características físico-químicas da água do ambiente de produção do sistema IMTA.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão da literatura sistemática, pautada em pesquisas e abordagens cognitivas de análises científicas que exploraram a Aquicultura Multitrófica Integrada (IMTA), condicionadas na base de dado eletrônico *Web of Science*.

A revisão foi realizada no mês de dezembro de 2023 a janeiro de 2024. Para esta revisão sistemática, os termos pesquisados foram escolhidos com base em palavras-chave que aparecem com frequência em artigos relacionados à área. Os termos pesquisados foram *IMTA*; *integrated multitrophic aquaculture*; *shrimp and oyster* combinados entre si, utilizando-se os operadores booleanos AND/OR/* para agregar todos os descritores. Na busca inicial, foram encontrados vários artigos sem limitar o período de tempo (n=1835) (Fig. 1) sobre Aquicultura Multitrófica Integrada (IMTA).

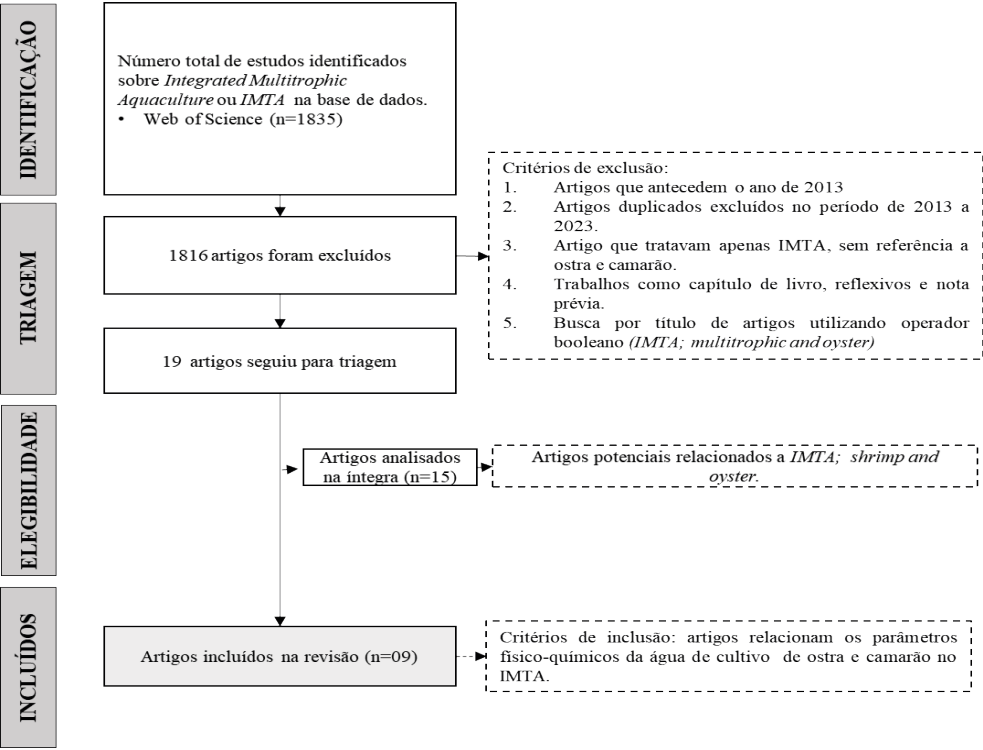


Figura 1: Fluxograma de seleção de estudos relacionados ao IMTA.

Fonte: Elaborado pelos autores (2024).

Portanto, como critérios de exclusão, estavam artigos que antecedem o ano de 2013, artigos de revisão, capítulos de livros; publicações duplicadas e artigos que não abordavam sobre a produção de ostra e camarão no sistema IMTA. Entretanto, foi definido como critério de inclusão: artigos publicados entre os anos de 2019 a 2023 que relacionaram os principais parâmetros de qualidade de água do cultivo de ostra e camarão no IMTA, com

finalidade de expor os trabalhos científicos mais recentes. Nessa etapa, de acordo com as variáveis de interesse, permaneceram 19 artigos potenciais para análise. Após a leitura dos textos na íntegra e aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, obteve-se um total de 09 artigos usados na revisão.

Os dados referentes a evolução do número de registros e características físico-químicas da água do ambiente de produção do sistema IMTA, foram tabulados em software de edição de dados, analisados e descritos a partir de estatística descritiva.

Visitas *in loco* foram realizadas no município de Humberto de Campos-MA, e foram capturados registros fotográficos do cultivo experimental de ostra e atividades de carcinicultura tradicional desenvolvido em povoados do referido município, para obtenção de informações mais detalhadas sobre os sistemas produtivos desenvolvidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Prospecção científica

O resultado da análise bibliométrica para a busca pela palavras-chaves *IMTA*; *integrated multitrophic aquaculture*; *shrimp and oyster* nos últimos 10 anos, está apresentado na Fig. 2, relacionando a evolução do número de registros de artigos referentes ao IMTA no mundo. Percebe-se que o interesse na investigação científica relacionada com este tema tem se tornado crescente no decorrer dos anos, refletindo no aumento do número de estudos publicados em revistas.

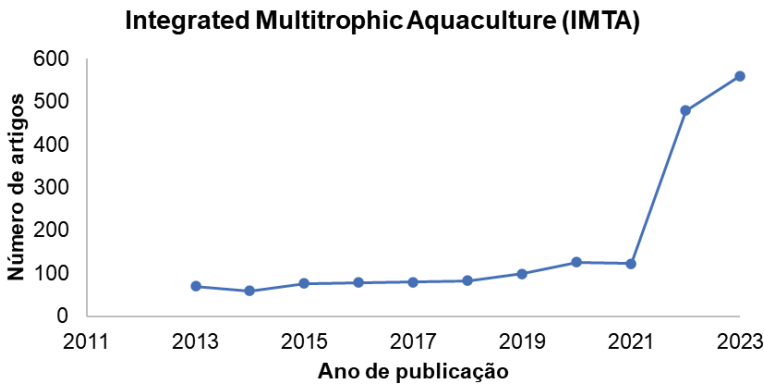


Figura 2: Evolução do número de registros de artigos publicados referente a IMTA pela busca na base *Web of Science*, no período de 2013 a 2023.

Fonte: Elaborado pelos autores (2024).

A análise dos dados da distribuição de publicações por países, apresentados na Fig. 3, possibilita evidenciar que a China é o país que mais publicou sobre IMTA. Estes dados refletem um fato histórico, sendo que há registro que a técnica foi originada na China por volta dos anos 4000 a.C. (Chopin et al., 2012).

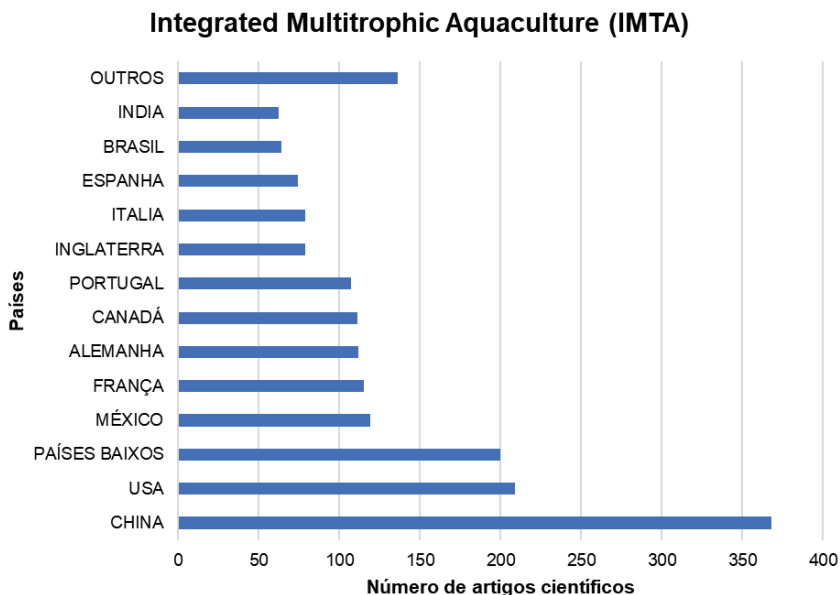


Figura 3: Países que adotam o sistema IMTA pela busca na base *Web of Science*, no período de 2013 a 2023.

Fonte: Elaborado pelos autores (2024).

A maricultura em sistema multitrófico é praticada na China, USA, Holanda, México, França, Portugal, Canadá, Chile, Itália entre outros países. No Brasil, porém, ainda são raros os cultivos que operam nesse sistema, especialmente em ambiente marinho. Diante disto, pesquisas que envolvam aquicultura multitrófica apresentam-se como uma tendência no caso do Brasil, ocupando a 12ª colocação no ranking.

No entanto, conforme Martins (2017), os países que possuem sistemas IMTA em funcionamento em escalas comerciais e que envolvem produção de ostra e camarão são: China, Estados Unidos da América, Canadá, Chile, Irlanda, Índia, Japão, Tailândia, Austrália, Portugal, Noruega e Israel.

Na literatura, foram listadas diferentes espécies que são utilizadas no sistema IMTA em diversos países, combinando molusco/camarão, peixe/algas/molusco, peixe/camarão/equidodermos e algas/camarão/moluscos/poríferos (Tabela 1). Conforme Khanjani et al. (2022), vários fatores determinam a seleção de uma espécie para ser usada no IMTA, entre eles estão selecionar espécies que vão consumir os efluentes orgânicos e inorgânicos da espécie principal; selecionar espécies adaptadas a ambiente de cultivo, que tenha um pacote tecnológico e mercado definido, espécies adaptadas a condições oceanográfica e ambientais.

Conforme a Tabela 1, os mexilhões estão entre as espécies com grandes perspectivas de utilização como consumidores dos efluentes orgânicos da espécie principal (peixes e/ou camarões), uma vez que, pois, proporcionam valor econômico e reduzem o impacto ambiental do cultivo na aquicultura. Mexilhões como *Crassostrea gigas* e espécies do gênero *Mytilus* sp. são candidatos promissores para utilização como espécies extractivas em sistemas IMTA no mundo (Hargrave et al. 2022; Khanjani et al., 2022), e promissoras também no Brasil (Lima et al., 2021; Carvalho et al., 2022).

Nos últimos 10 anos, conforme a prospecção científica, acompanhamos o avanço da IMTA como método de mitigação de nutrientes na aquicultura intensiva, especialmente em ambientes marinhos. Alguns estudos recentes nesta área são apresentados na Tabela 2 que mostra os principais parâmetros físico-químicos importantes para a integralização do cultivo de camarão e ostras, e além de outras espécies em combinação.

No Brasil, as principais espécies de camarão e ostra utilizadas no sistema IMTA foram *Litopenaeus vannamei* (=nomenclatura atual *Penaeus vannamei*) e *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*), respectivamente. Na tabela 2, a média dos parâmetros físico-químicos da água foram monitorizados no sistema IMTA que apresentavam ostra e camarão em combinação sinérgica. A temperatura média (28,56 ± 1,99 °C), o oxigênio dissolvido (5,86 ± 0,60 mg/L), a salinidade (21,31 ± 10,58 g/L), pH (8,15 ± 0,60) e Amônia-Nitrogênio (0,19 ± 1,19mg/L) foram mantidos a níveis ótimos de produção para estas espécies. Os dados corroboram com Legarda (2020), Carvalho et al., (2019), Costa et al., (2021) e Lima et al., (2021).

PEIXES	CRUSTÁCEOS	ALGAS	MOLUSCOS	EQUINODERMOS	PORÍFEROS E ANELÍDEOS/ POLIQUETAS
Atum-do-Pacífico (<i>Thunnus orientalis</i>); Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	Camarão tigre gigante (<i>Penaeus monodon</i>)	Alga parda (<i>Laminaria japônica</i>)	<i>Vieiras</i> (<i>Scapharca broughtonii</i> ; <i>Argopecten irradians</i> ; <i>Chlamys farreri</i>)	Pepino-do-mar da Califórnia (<i>Parastichopus californicus</i>)	Esponjas do mar (<i>Agelas oroides</i>)
Salmão-real (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>); Salmão do Atlântico (<i>Salmo salar</i>)	Camarão-banana (<i>P. merguiensis</i>)	Alga gigante marrom (<i>Macrocystis pyrifera</i>)	<i>Vieira japonesa</i> (<i>Patinopecten yessoensis</i>)	Pepino-do-mar teimoso (<i>Holothuria pervicax</i>)	Esponja amarela (<i>Aplysina aerophoba</i>)
Cavalo-marinho (<i>Hippocampus reidi</i>)	Camarão-branco-do-pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Alga castanha (<i>Alaria esculenta</i>)	<i>Mexilhão de lábios verdes</i> (<i>Perna canaliculus</i>); Mexilhão -do-pacífico (<i>Mytilus trossulus</i>); Mexilhão-azul (<i>Mytilus edulis</i>)	Pepino-do-mar japonês (<i>Apostichopus japonicus</i>)	Esponja (<i>Axinella cannabina</i>)
Tainha Lebranche (<i>Mugil liza</i>) e Tainha Curimã (<i>M. cephalus</i>)	Camarão-da-india (<i>Penaeus indicus</i>)	Alga vermelha (<i>Porphyra umbilicalis</i>)	Ostra-do-pacífico (<i>Crassostrea gigas</i>)	Pepino-do-mar marrom (<i>Australostichopus mollis</i>)	Esponja miolo de pão (<i>Hymeniacidon perlevis</i>)
Dourada (<i>Sparus aurata</i>)	Camarão branco chinês (<i>Fenneropenaeus chinensis</i>)	Alga marrom (<i>Saccharina latissima</i>)	Ostra cortez (<i>Crassostrea corteziensis</i>)	Pepino-do-mar -de-pés-laranja (<i>Cucumaria rondose</i>)	Poliqueta (<i>Hediste diversicolor</i>)

Charuteiro-do-Japão (<i>Seriola quinqueradiata</i>); Peixe-carvão-do-pacífico (<i>Anoplopoma fimbria</i>)	Camarão-da-praia (<i>Pandalus platyceros</i>)	Alga verde (<i>Ulva lactuca</i> ; <i>U. ohnoi</i> ; <i>U. rigida</i> ; <i>Enteromorpha</i> spp.;)	Ostra portuguesa (<i>Crassostrea angulata</i>); Ostra americana (<i>Crassostrea virginica</i>)	Ouriços do mar verde (<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>)	Poliqueta marinho (<i>Sabella spallanzanii</i>)
Robalo negro (<i>Sebastes schlegelii</i>)	Camarão-gordura ou camarão-lama (<i>Metapenaeus ensis</i>)	Alga vermelha (<i>Gracilaria chilensis</i>)	Ostra-do-mangue (<i>Crassostrea gasar</i>)	Ouriços do mar (<i>Paracentrotus lividus</i>)	Poliqueta (<i>Perinereis aibuhitensis</i>)
Bacalhau (<i>Gadus</i> sp.)	Camarão esquelito (<i>Caprella equilibra</i>)	Alga de cor roxa-avermelhada (<i>G. birdiae</i>)	Ostra magalana (<i>Crassostrea cuttackensis</i>)		
Pargo japonês (<i>Pagrus major</i>);	Camarão caprela do mar (<i>Caprella scaura</i>)	Alga verde (<i>Chaetomorpha linum</i>)	Amêijoia ou sarnambi (<i>Ruditapes decussatus</i>)		
Robalo-legítimo (<i>Dicentrarchus labrax</i>)			Bivalves (<i>Meritrix casta</i> , <i>Avicennia officinalis</i> , <i>Bruguiera gymnorhiza</i>)		

Tabela 1: Diferentes espécies utilizadas nas IMTA. (Adaptado de Kumara et al., 2023; Khanjani et al., 2022; Costa et al., 2021; Lima et al., 2021; Carvalho et al., 2022; Biswas et al. 2019; Biswas et al. 2020; Giangrande et al. 2020; Varamogianni-Mamatsi et al. 2022; Yeh et al. 2022)

TEMPERATURA (°C)	pH	SALINIDADE (g/L)	OXIGÊNIO DISSOLVIDO (mg/L)	Amônia-Nitrogênio (mg/L)	ESPÉCIES	PAÍS	REFERÊNCIAS
28,4	8,76	8,08	5,82	0,162	Crassostrea cuttackensis; Enteromorpha spp.; Penaeus monodon, Mugil cephalus and Liza parsia	Índia	Biswas et al. 2019
27,5	8,32	5,7	5,88	0,043	Crassostrea cuttackensis, Penaeus monodon, Mugil cephalus and Liza parsia	Índia	Biswas et al. 2020
24,81	8,33	32,01	6,96	0,05	Litopenaeus vannamei e Crassostrea gasar	Brasil	Costa et al. 2021
29,7	7,81	28,9	5,45	0,6	Litopenaeus vannamei e Crassostrea gasar	Brasil	Lima et al. 2022
29	8	32	7,9	0	Crassostrea brasiliiana; Litopenaeus vannamei; Hippocampus reidi	Brasil	Carvalho et al., 2019
29,83	7,89	28,19	5,35	0,35	Litopenaeus vannamei; Crassostrea sp.	Brasil	Lima et al. 2021
32,5	9,4	29,6	2,85	0	Penaeus vannamei; Crassostrea corteziensis	México	Mazón-Suástegui et al. 2022
27,5	7,37	7,81	7,8	0,18	Crassostrea cuttackensis; Penaeus vannamei	Índia	Naskar et al., 2022
27,8	7,48	19,5	4,72	0,3	Crassostrea angulata; Litopenaeus vannamei; Chanos chanos; Gracilaria verrucosa	Taiwan	Yeh et al. 2022
28,56 (±1,99)	8,15 (±0,60)	21,31 (±10,58)	5,86 (±1,49)	0,19 (±1,19)	Média (± Desvio padrão)		

Tabela 2. Características físico-químicas da água do ambiente de produção do sistema IMTA.

A eficiência da produção aquícola depende de manter os parâmetros de qualidade da água em condições adequadas para as unidades de cultivo (Legarda, 2020). Os parâmetros de qualidade de água nos ambientes de produção do sistema IMTA é interessante ser monitorado, visto que interfere na taxa de sobrevivência e crescimento das ostras (Funo, 2016; Antônio et al., 2019). Segundo Melo (2018) e Funo et al. (2015), em condições de cultivo, as maiores taxas de crescimento desse camarão e ostras foram observadas em salinidades entre 25 e 30 g/L. Funo et al. (2015) verificaram o efeito da salinidade (5 a 50 g/L) sobre a sobrevivência e crescimento de *C. gasar* e sugerem que esta espécie seja cultivada em áreas marinhas com salinidade entre 30 a 35. Os resultados sugerem que a ostra *C. gasar* é eurihalina, resistente a uma ampla faixa de salinidade, podendo ser cultivada em áreas marinhas ou ambientes estuarinos, não sendo recomendados o cultivo em áreas que apresentem salinidades iguais ou inferiores a 5 g/L. Os resultados demonstram que a salinidade influenciou significativamente na sobrevivência e crescimento da ostra (altura, comprimento e largura das conchas e peso vivo) da espécie *C. gasar*. Os ambientes costeiros dos municípios do litoral do Maranhão são influenciados pela estação chuvosa (fevereiro a julho) e uma estação seca (agosto a janeiro), resulta numa variação anual da salinidade costeira de 0,1 a 49,2 (Antônio et al., 2021).

Entretanto, Mazón-Suástegui et al. 2022 informa que o ganho de peso e reprodução das ostras da espécie *Crassostrea corteziensis* foi principalmente correlacionado com a temperatura. Os nossos resultados mostram que *C. corteziensis* é uma ótima espécie candidata para sistemas IMTA, particularmente durante a estação quente com o cultivo do camarão *Penaeus vannamei*.

Em Lima et al. (2022), o estudo mostra que o sistema multitrófico com camarão e ostra (*P. vannamei* e *Crassostrea* sp.) utilizando um sistema simbiótico pode ser desenvolvido com ambas as espécies na mesma unidade de produção sem comprometer o desempenho zootécnico de nenhuma das espécies. Além disso, a utilização de ostras em sistema multitrófico, cultivadas juntamente com camarões no mesmo tanque ou em tanque de recirculação adjacente, é uma alternativa para a manutenção dos compostos nitrogenados e, quando cultivado no mesmo ambiente, pode promover um melhor desempenho zootécnico dos camarões.

Segundo Khanjani et al. (2022), até o momento, diversas espécies foram testadas para uso no sistema IMTA como espécies de baixo nível trófico, e espécies que suportam uma ampla variação dos parâmetros físico-químico da água de cultivo. Além do cultivo do *Litopenaeus vannamei* (=nomenclatura atual *Penaeus vannamei*) associado com *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*), tem-se visto a integração entre espécies de tainha (*Mugil cephalus* e *Liza parsia*) e camarão tigre (*Penaeus monodon*) como espécie alimentadas, cultivadas ao lado de ostras estuarinas (*Crassostrea cuttackensis*), e espécies de algas (*Enteromorpha* spp.) como espécies extrativistas (Biswas et al. 2019; Biswas et al. 2020). A integração do cultivo de camarão e ostras também ocorre com cavalo-marinho

(*Hippocampus reidi*). No trabalho de Carvalho et al (2019), este estudo demonstrou a viabilidade técnica da integração das fases do cultivo do cavalo marinho em uma fazenda orgânica que executa o sistema IMTA de *C. brasiliiana* e *L. vannamei*. Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorizados todos os dias. A concentração de oxigênio dissolvido, o pH, a temperatura e salinidade para o ensaio 1 e o ensaio 2 foram 6,0 e 7,9 mg L⁻¹; 7,6 e 8,0; 24 e 29 °C; e 25 e 32 g/L, respectivamente.

Modelo para integralização da carcinicultura e ostreicultura no Estado do Maranhão

Na costa brasileira, em especial, o litoral do Estado do Maranhão, observam-se áreas estuarinas potencialmente favoráveis às atividades de carcinicultura e ostreicultura. Segundo o IBGE (2022), o Brasil produziu na carcinicultura 113.300.618 kg de camarão, porém, o Estado do Maranhão contribuiu 423.896 kg. Na ostreicultura foram mais de 8.739.136 kg (Brasil) e 24.580 kg (Maranhão).

De acordo com Funo (2019) e Marinho (2019), a ostreicultura iniciou no Brasil em 1971 e está vinculada a produção de três espécies, duas delas são endêmicas *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*), conhecidas popularmente como ostras do mangue, ostra preta ou ostra de lama, e uma exótica, a *Crassostrea gigas* conhecida como ostra japonesa. No entanto, vale ressaltar que *C. gigas* é a principal espécie cultivada no Brasil e a mais uma das espécies mais produzidas no mundo (FAO, 2022; IBGE, 2022).

Com referência a espécie mais cultivada na ostreicultura maranhense têm-se a *Crassostrea gasar*. Conforme Antônio et al. (2021), a ostra nativa (*Crassostrea gasar*) é naturalmente encontrada nos estuários do estado do Maranhão, por isto é muito utilizada na ostreicultura familiar sustentável, com finalidade de implantação de unidades demonstrativas de autogestão de cultivo de ostras com a participação direta das comunidades pesqueiras e/ou marisqueiras, com vistas a geração de renda para a comunidade e a preservação dos estoques naturais de ostras nativas. Segundo o IBGE (2022), o município de Humberto de Campos produziu 15.980 kg de ostra.

Quanto a carcinicultura, de acordo com Ferreira et al. (2023), a espécie que apresenta grande potencial de criação é camarão marinho *Penaeus vannamei*. No referido trabalho, foi realizado um diagnóstico da evolução da produção de camarão cultivado no Estado do Maranhão entre os anos de 2013 e 2019, listando os principais municípios que executam a atividade. Os dados analisados na pesquisa bibliográfica demonstraram que a produção da carcinicultura no Estado do Maranhão é praticada em alguns municípios, sendo os de maior produção em Bacabeira, Primeira Cruz, Água Doce do Maranhão e Humberto de Campos. Em 2021, a produção média de camarão cultivado em Humberto de Campos equivale a 6,8%.

Em Humberto de Campos-MA, está o povoado Carnaubeiras, localizado a 2,7km da comunidade pesqueira Ilha Grande. Neste referido povoado há uma propriedade que desenvolve a atividade de carcinicultura. A propriedade (não denominada por questões éticas) conta com mais de 82 mil m² de área total de lâmina d'água distribuídos em 7 viveiros de engorda os quais funcionam em sistema semi-intensivo, com 10 camarões/m² (Figura 6) são viveiros de terra, não sendo revestidos. A propriedade possui um canal de abastecimento de 800 m de comprimento x 10 m de largura, que realiza o bombeamento diário de água nos viveiros, seguindo o movimento da maré.



Imagens ©2024 Airbus, CNES / Airbus, Maxar Technologies, Dados do mapa ©2024 50 m

Figura 6: Imagens de satélite (Airbus, CNES) da área produtiva da atividade de carcinicultura no povoado Carnaubeiras em Humberto de Campos-MA, 2024.

Fonte: Google maps (2024).

Em Humberto de Campos-MA, portanto, tem sido registrado na literatura como áreas potenciais para o cultivo de ostras (Antônio et al., 2021) e camarão (Ferreira et al., 2023).

Logo, o modelo IMTA proposto (Figura 4) é um projeto para sustentabilidade ambiental, para ser desenvolvido no município de Humberto de Campos-MA, e implica usar culturas em proximidade, com espécies comercialmente valiosas de diferentes tróficos níveis e com funções ecossistêmicas complementares (Chopin et al., 2012; Loayza-Aguilar et al., 2023).

Para o melhor aproveitamento dos diversos nichos ecológicos, o sistema IMTA estará fundamentado como sistema de cultivo de ostra otimizado para travesseiros flutuantes (formados de cano PVC, garrafa PET e telas plásticas de diferentes malhas) dispostos em “long-lines” (Figura 4), adaptados da metodologia de Suplicy (2021).

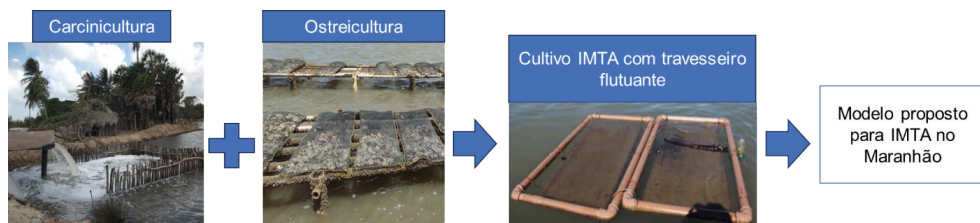


Figura 4: Etapas para implantação do IMTA em Humberto de Campos, Maranhão-Brasil.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

Nesse sentido, o sistema será integrado por: a) espécies da aquicultura que dependem de ração como os camarões; b) aquicultura extrativista de suspensão orgânica, que representa a produção de ostra; c) aquicultura extrativa de inorgânicos, à base de macroalgas marinhas; d) aquicultura extrativa de depósito, usando tainhas e outros peixes nativos que entram no sistema de cultivo através de bombeamento de água (Figura 5).

Como resultado da implementação do modelo IMTA, teríamos: a biodiversidade preservada, a aquicultura diversificada e a rentabilidade melhorada, uma vez que as espécies biotransformadoras propostas têm valor econômico atual ou potencial. Como adicional vantagem, a cultura principal será mais eficiente, reduzindo os impactos da eutrofização, visto que é comum após a despesca do camarão o lançamento das águas de cultivo para manguezal.

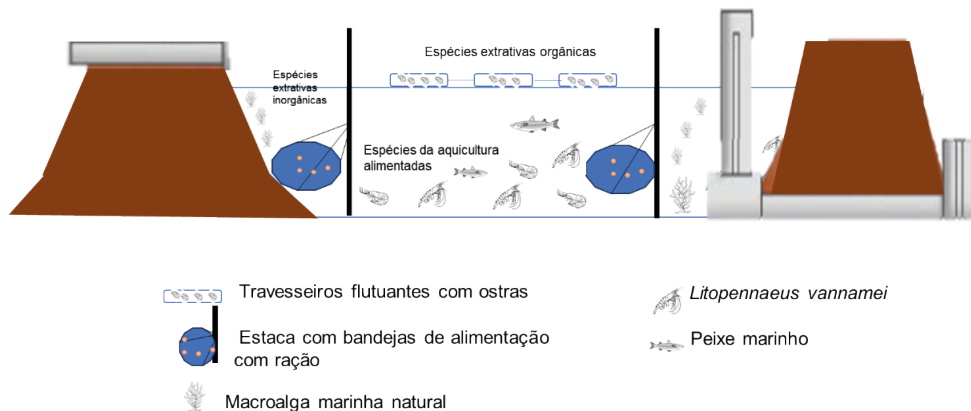


Figura 5: Esquema do modelo proposto para o ensaio experimental de implantação do IMTA em Humberto de Campos, Maranhão-Brasil.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2024.

No modelo, adotará uma densidade de produção de 10 a 20 camarões por m² com fornecimento de rações balanceadas como a principal forma de alimento. As pós-larvas serão provenientes de laboratórios de larvicultura do Estado do Ceará. As densidades de ostras serão testadas para melhor definição do modelo, em baixa, média e alta densidade por travesseiro flutuante.

Para a metodologia de povoamento das estruturas de cultivo de ostras, será adaptada de Antônio et al. (2019). O cultivo será realizado com sementes de ostras nativas obtidas de coletores na própria região de Humberto de Campos-MA. Serão utilizados coletores de garrafas plásticas do tipo PET. Posteriormente, efetua-se o povoamento com as sementes obtidas pelos coletores. As sementes serão sobrepostas nas telas que ficam dispostas sob os travesseiros flutuantes nos viveiros de produção de camarão, onde permanecem até atingirem 4mm. Após este tamanho, elas passam para a etapa dos travesseiros flutuantes, iniciando na tela de tamanho 4mm (300 ostras/trav), 9mm (200 ostras/trav), 14mm (100 ostras/trav) e 23mm (50 ostras/trav) até a despesca.

De acordo com Santos (2020), a diferença no tempo de cultivo entre a ostra e o camarão dificulta o trabalho com as duas espécies em um mesmo viveiro, ao mesmo tempo. O camarão leva entre 60-90 dias para atingir o tamanho comercial, já as ostras cultivadas em viveiros levam um mínimo de 1 ano para atingir o tamanho comercial de 8 cm. Em decorrência disto, adotará conforme o modelo IMTA o sistema de rotação de culturas, onde as ostras são transferidas de viveiro três vezes por ano, evitando assim o acúmulo de matéria orgânica no solo e promovendo a sanidade do ambiente; e a despesca do camarão será escalonada, não sendo realizada a despesca total dos sete viveiros.

CONCLUSÃO

Neste estudo indica que a ostra *Crassostrea gasar* (= *Crassostrea brasiliiana*) e o camarão marinho *Litopenaeus vannamei* (=nomenclatura atual *Penaeus vannamei*) são as espécies mais adequadas para propor um modelo para o desenvolvimento da integralização da carcinicultura e ostreicultura no Estado do Maranhão. Aquicultura multitrófica integrada (IMTA) representa o futuro da aquicultura sustentável. No Brasil, há pesquisas que testam o cultivo multitrófico com outras espécies de peixes, moluscos bivalves e algas. No Estado do Maranhão não há modelo de IMTA. No entanto, há potencial para a implantação deste sistema visto que já existe o desenvolvimento da carcinicultura marinha e ostreicultura como atividades isoladas.

REFERÊNCIAS

- Antonio, Í., Sousa, A., Lenz, T., Funo, I., Lopes, R., & Figueiredo, M. (2021). Reproductive cycle of the mangrove oyster, *crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) cultured in a macrotidal high-salinity zone on the amazon mangrove coast of brazil. *Acta Amazonica*, 51(2), 113–121. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202003582>
- Antonio, Í. G., Brito Freire, T., Gomes, H. M., Da, T., & Lima, C. (2019). Produção de Ostra Nativa em Primeira Cruz-MA. *Revista Práticas em Extensão São Luís*, 03 (01), 27-41.

Biswas, G., Kumar, P., Ghoshal, T. K., Kailasam, M., De, D., Bera, A., Mandal, B., Sukumaran, K., & Vijayan, K. K. (2020). Integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) outperforms conventional polyculture with respect to environmental remediation, productivity and economic return in brackishwater ponds. *Aquaculture*, 516. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734626>

Biswas, G., Kumar, P., Kailasam, M., Ghoshal, T. K., Bera, A., & Vijayan, K. K. (2019). Application of Integrated Multi Trophic Aquaculture (IMTA) Concept in Brackishwater Ecosystem: The First Exploratory Trial in the Sundarban, India. *Journal of Coastal Research*, 86(sp1), 49–55. <https://doi.org/10.2112/SI86-007.1>

Carvalho, T. L., Cacho, J. C. S., Souza, R. S., Morais, J. A., Wandenness, A., Carlos, M. T. L., Wainberg, A. A., Souza-Santos, L. P., & Ribeiro, F. A. S. (2019). Integrating of the seahorse *Hippocampus reidi* in multi-trophic organic farms of oysters and shrimp: Effects of density and diet. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 54(1), 43–50. <https://doi.org/10.22370/rbmo.2019.54.1.1465>

Chopin T, Buschmann AH, Halling C, Troell M, Kautsky N, Neori A, Kraemer GP, Zertuche JA, Yarish C, Neefus C. 2001. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: A key toward sustainability. *J. Phycol.* 37:975-986. Doi: 10.1046/j.1529-8817.2001.01137.x

Chopin, T., Cooper, J. A., Reid, G., Cross, S., & Moore, C. (2012). Open-water integrated multi-trophic aquaculture: Environmental biomitigation and economic diversification of fed aquaculture by extractive aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 4(4), 209–220. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01074.x>

Costa, L. C. de O., Poersch, L. H. da S., & Abreu, P. C. (2021). Biofloc removal by the oyster *Crassostrea gasar* as a candidate species to an Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA) system with the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 540. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736731>

FAO. 2022. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul*. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>

Ferreira, M. W. M., Santos Ferreira, A. N., Ferreira de Carvalho, B. L., Cavalcante Bezerra, J. H., Silva de Brito, P., Guimarães, E. C., Sousa Soares, J. A. L., Santos de Castro, C. U., De Andrade, T. P., & Santos, J. P. (2023). Carcinicultura no estado do maranhão: evolução e perspectivas futuras. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 14(1), 36–45. <https://doi.org/10.18817/repesca.v14i1.3046>

Fonseca, T., David, F. S., Ribeiro, F. A. S., Wainberg, A. A., & Valenti, W. C. (2017). Technical and economic feasibility of integrating seahorse culture in shrimp/oyster farms. *Aquaculture Research*, 48(2), 655–664. <https://doi.org/10.1111/are.12912>

Funo, I. C. da S. A., Gomes Antonio, Í., Ferreira Marinho, Y., & Olivera Gálvez, A. (2015). Influência da salinidade sobre a sobrevivência e crescimento de *Crassostrea gasar*. 41(4), 837–847.

Funo, I. C. Da S. A. (2016). AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS PRODUTIVOS E BIOLÓGICOS DA OSTRÁ NATIVA *Crassostrea gasar* (ADANSON, 1757) COMO SUBSÍDIO AO DESENVOLVIMENTO DA OSTRICULTURA EM AMBIENTES ESTUARINOS DO ESTADO DO MARANHÃO. 2016. 122f. Tese de doutorado (Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Fróis, A. M., F. (2016). *Aquacultura Multi-trófica Integrada em Tanques de Terra*. Dissertação de mestrado (Fundação para Ciência Tecnologia), Universidade de Lisboa, Portugal. 86f.

Hargrave, M. S., Nylund, G. M., Enge, S., Pavia, H. (2022). Co-cultivation with blue mussels increases yield and biomass quality of kelp. *Aquaculture* 550, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737832>

IBGE. (2022). Pecuária-aquicultura. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2024.

Ibrahim, A. N. A. F., Castilho-Noll, M. S. M., & Valenti, W. C. (2023). Zooplankton community dynamics in response to water trophic state in integrated multitrophic aquaculture. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 49. <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2023.49.e730>

Kerrigan, D., & Suckling, C. C. (2018). A meta-analysis of integrated multitrophic aquaculture: extractive species growth is most successful within close proximity to open-water fish farms. In *Reviews in Aquaculture* (Vol. 10, Issue 3, pp. 560–572). <https://doi.org/10.1111/raq.12186>

Khanjani, M. H., Zahedi, S., & Mohammadi, A. (2022). Integrated multitrophic aquaculture (IMTA) as an environmentally friendly system for sustainable aquaculture: functionality, species, and application of biofloc technology (BFT). In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 29, Issue 45, pp. 67513–67531). <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22371-8>

Kumara, R., Syamala, K., Anand, P. S. S., Chadha, N. K., Sawant, P. B., Prasad, M. S., Doddamani, P. L., & Muralidhar, A. P. (2023). Effect of Bivalves on Water Quality, Microbial Load and Growth Performance of *P. vannamei* and *M. cephalus* in Halophyte-based Integrated Multi-trophic Aquaculture Reared under Pond Conditions. *Indian Journal of Animal Research*, 57(8), 988–994. <https://doi.org/10.18805/IJAR.B-5123>

Lima, P. C. M. de, da Silva, A. E. M., da Silva, D. A., de Oliveira, C. Y. B., Severi, W., Brito, L. O., & Olivera Gálvez, A. (2022). Use of recirculation and settling chamber in synbiotic multi-trophic culture of *Crassostrea* sp. with *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 53(18), 6626–6640. <https://doi.org/10.1111/are.16132>

Lima, P. C. M., Silva, A. E. M., Silva, D. A., Silva, S. M. B. C., Brito, L. O., & Gálvez, A. O. (2021). Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery. *Aquaculture*, 530. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735913>

Loayza-Aguilar, R. E., Huamancondor-Paz, Y. P., Saldaña-Rojas, G. B., & Olivos-Ramirez, G. E. (2023). Integrated Multi-Trophic Aquaculture (IMTA): Strategic model for sustainable mariculture in Samanco Bay, Peru. In *Frontiers in Marine Science* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1151810>

Lopes, V. H. P. (2021). Policultivo integrado multitrófico do camarão-rosa *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda: Penaeidae) com a ostra-do-mangue *Crassostrea brasiliiana* (Bivalvia: Ostreidae) em sistema de bioflocos. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Paulista. 47f.

Martins, S. R. F. A. (2017). Implementation of a Laboratorial Integrated Multitrophic Aquaculture System (IMTA) for European Seabass, Sea Urchin and Seaweed Production. 111f. Dissertação de mestrado. Universidade do Porto, Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências. Porto.

Mazón-Suástegui, J. M., Arcos-Ortega, G. F., Contreras-Mendoza, C. N., Medina-Sánchez, J. R., Chávez-Villalba, J., Lodeiros, C., Cruz-Flores, R., & López-Carvallo, J. A. (2022). Enhanced growth of the pleasure oyster *Crassostrea corteziensis* cultured under integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) concept, using farm effluents of shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 53(15), 5214–5226. <https://doi.org/10.1111/are.16005>

Naskar, S., Biswas, G., Kumar, P., De, D., Sawant, P. B., Das, S., & Roy, U. (2022). Effects of estuarine oyster, *Crassostrea cuttackensis* as the extractive species at varied densities on productivity and culture environment in brackishwater integrated multi-trophic aquaculture (BIMTA) system. *Aquaculture*, 554. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738128>

Naspirán-Jojoa, D. C., Fajardo-Rosero, A. G., Ueno-Fukura, M., & Collazos-Lasso, L. F. (2022). Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrófica integrada (IMTA): Una revisión. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 69(1). <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n1.101539>

Nissar, S., Bakhtiyar, Y., Arafat, M. Y., Andrabi, S., Mir, Z. A., Khan, N. A., & Langer, S. (2023). The evolution of integrated multi-trophic aquaculture in context of its design and components paving way to valorization via optimization and diversification. In *Aquaculture* (Vol. 565). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739074>

Omont, A., Elizondo-González, R., Quiroz-Guzmán, E., Escobedo-Fregoso, C., Hernández-Herrera, R., & Peña-Rodríguez, A. (2020). Digestive microbiota of shrimp *Penaeus vannamei* and oyster *Crassostrea gigas* co-cultured in integrated multi-trophic aquaculture system. *Aquaculture*, 521. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735059>

Rosa, J., Lemos, M. F. L., Crespo, D., Nunes, M., Freitas, A., Ramos, F., Pardal, M. Â., & Leston, S. (2020). Integrated multitrophic aquaculture systems – Potential risks for food safety. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 96, pp. 79–90). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.008>

Santos, E. S. dos. (2020). Acompanhamento do cultivo orgânico do camarão *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) na empresa Primar Aquacultura Ltda. Curso de Engenharia de Pesca, pela Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Unidade Ensino Penedo.

Scopel, Bruno Ricardo O potencial biotecnológico da halófito *Batis maritima* (Bataceae) e o desenvolvimento de um bioprocesso em aquicultura multitrófica integrada / Bruno Ricardo Scopel - 2019. 64 folhas: il., fig., tab. Orientador: Ranílson de Souza Bezerra Coorientadora: Márcia Vanuza da Silva Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2019

Siqueira, T. V. De. (2017). AQUICULTURA: A NOVA FRONTEIRA PARA AUMENTAR A PRODUÇÃO MUNDIAL DE ALIMENTOS DE FORMA SUSTENTÁVEL. *Boletim Regional, Urbano e Ambiental*, 17, 1–8.

Suplicy, F. M. (2021). Cultivo de ostras em travesseiros flutuantes: uma nova técnica para maricultores de Santa Catarina. *Agropecuária Catarinense*, 34(1), 16–18.

Tullberg, R. M., Nguyen, H. P., & Wang, C. M. (2022). Review of the Status and Developments in Seaweed Farming Infrastructure. In *Journal of Marine Science and Engineering* (Vol. 10, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jmse10101447>

Yeh, S. L., Dahms, H. U., Chiu, Y. J., Chang, S. J., & Wang, Y. K. (2017). Increased production and water remediation by land-based farm-scale sequentially integrated multi-trophic aquaculture systems-An example from southern Taiwan. *Sustainability (Switzerland)*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/su9122173>

Zamora, L. N., Yuan, X., Carton, A. G., & Slater, M. J. (2018). Role of deposit-feeding sea cucumbers in integrated multitrophic aquaculture: progress, problems, potential and future challenges. In *Reviews in Aquaculture* (Vol. 10, Issue 1, pp. 57–74). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1111/raq.12147>

Zhang, J., Zhang, S., Kitazawa, D., Zhou, J., Park, S., Gao, S., & Shen, Y. (2019). Bio-mitigation based on integrated multi-trophic aquaculture in temperate coastal waters: Practice, assessment, and challenges. In *Latin American Journal of Aquatic Research* (Vol. 47, Issue 2, pp. 212–223). Escuela de Ciencias del Mar. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-1>

ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE COX2 DA LEVEDURA DEKKERA BRUXELLENSIS



<https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402102>

Data de aceite: 16/10/2024

Felipe Moraes Alecrim

Docente do curso de Farmácia da Faculdade Maurício de Nassau – Garanhuns e Docente do curso de Medicina da Faculdade de Ciências Médicas (AFYA) – Garanhuns

Edvânia Maria Soares da Silva

Maria Isabel Pereira Marques

Paulo Sérgio Rocha Lima

Marlon Alves Cordeiro

Karla Roberta Alves de Carvalho

Maria Júlia Florentino dos Santos

Valdilene Apolônia da Silva Domingos

Gerlaine Cardoso dos santos

Sidnei Soares e Silva

Luiz Pinheiro Filho

Jailson da Silva

RESUMO: A levedura *Dekkera bruxellensis*, teleomorfo de *Brettanomyces bruxellensis*, é a maior contaminante nas destilarias que utilizam caldo de cana no mundo, provocando a diminuição da produtividade de etanol e, conseqüentemente, ocasionando prejuízos à indústria. A despeito de sua importância, poucos estudos genéticos estão publicados na literatura científica. Os trabalhos recentes do nosso grupo mostram que esta levedura apresenta uma grande adaptabilidade ao processo industrial e propomos uma análise genômica ampla para identificar os fatores responsáveis por esta característica. No presente trabalho, avaliamos o polimorfismo do gene *COX2* que codifica a enzima citocromo oxidase II. Os resultados mostraram uma inesperada maior similaridade entre as seqüências do gene *COX2* de isolados industriais de *D. bruxellensis* com seu ortólogo em *D. custersii* do que com a seqüência de *COX2* da linhagem tipo de *D. bruxellensis* depositada no GenBank. Além disso, iniciamos a análise *in silico* comparada do genoma mitocondrial das leveduras ascomicota que possuem genoma mitocondrial seqüenciado e depositado GenBank. Com isso foi possível a construção de um mapa físico do genoma mitocondrial deste clado.

Seis espécies apresentando similaridade genômica nuclear com *D. bruxellensis* foram submetidos a alinhamentos múltiplos através do programa computacional Mega v. 4.0. A ordem gênica foi definida como L-rRNA COII COIII S-rRNA COI ATPase 8 ATPase 6 Cyt b ATPase 9 Var 1, baseado no genoma de *Saccharomyces cerevisiae*. Os programas CODEHOP e Codon Usage foram usados com a finalidade de refinar o desenho de primers degenerados a fim de se amplificar os genes ortólogos de *D. bruxellensis*. Os alinhamentos se mostraram representativos para construção dos primers, uma vez que foi observada uma alta variabilidade entre as seqüências gênicas sintéticas dos genes estruturais anteriormente citados. Estes dados proporcionam a base para futuras análises da genética e da evolução da população de *D. bruxellensis*, que servirá de base para o estabelecimento de correlações entre a variabilidade e genética e as capacidades fisiológicas de diferentes cepas industriais de *D. bruxellensis* em busca de melhor entendimento desse —fitness competitivoll desta levedura no ambiente industrial.

PALAVRAS-CHAVE: microbiologia, levedura, bioinformática, genética molecular.

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE COX2 GENE OF DEKKERA BRUXELLENSIS YEAST

ABSTRACT: The yeast *Dekkera bruxellensis*, the teleomorph of *Brettanomyces bruxellensis*, is the main of distilleries spoilage worldwide, provoking the reduction of the productivity of ethanol and, consequently, causing economical losses to industries that use sugar cane juice. Despite of this importance, few genetic studies of this yeast can be found in the scientific literature. The recent works of our group show that this yeast presents a great adaptability to the industrial process and we propose wild genomic analysis to identify the responsible factors for this characteristic. In the present work, we evaluated the polymorphism of the *COX2* gene that encodes the cytochrome oxidase II. The results showed an unexpected higher similarity of the *COX2* nucleotides sequences of industrial isolates of *D. bruxellensis* with its orthologous in *D. custersii* than with the *COX2* sequence of the *D. bruxellensis* type strain deposited at NCBI. The explanation for that similarity requires further investigation. We also started the *in silico* comparative analysis of the mitochondrial genome of all ascomycota yeast sequenced so far, whose sequences are deposited at the NCBI database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Thus, a putative physical map of the mitochondrial genome of this clade was possible. Six species presenting nuclear genomic similarity with *D. bruxellensis* had been submitted to the alignments through the computational program Mega v. 4.0. The gene order was defined as L-rRNA COII COIII S-rRNA COI ATPase 8 ATPase 6 Cyt b 9 ATPase 9 Var 1, based in the genome of *Saccharomyces cerevisiae*. The program CODEHOP and Codon Usage was used with the objective to refine the design of degenerated primers in order to amplify *D. bruxellensis* orthologous genes. The alignments had shown representative for construction of primers, a time that had a good conservation between the nearly genetic sequences of the structural genes previously cited. These dates provide resource to further analyses of the population genetics and evolution of *D. bruxellensis* and of the genetic bases of its physiological capabilities

KEYWORDS: molecular biology, yeasts, microbiology, bioinformatics.

INTRODUÇÃO

As leveduras ocupam uma posição de destaque no campo da biotecnologia industrial em vista de sua utilização nos processos de fermentação tradicional. Tem-se a previsão de que a produção tradicional de produtos, por indústrias cervejeiras, vinícolas, indústrias de bebidas destiladas e de combustíveis, e a produção de biomassa, pela indústria alimentícia, irão continuar a fornecer a maior quantidade de produtos fermentados do mundo.

Do ponto de vista fisiológico dois grupos de leveduras desenvolveram a habilidade de crescer mesmo na ausência de oxigênio: os clados *Saccharomyces* e *Dekkera/Brettanomyces*. Isto sugere que o ancestral dos ascomicetos modernos deve ter sido completamente dependente da presença de oxigênio para o crescimento, demonstrando uma vantagem adaptativa frente aos outros clados.

Os estudos de genômica comparativa com as várias outras espécies de hemiascomicetos com genomas já seqüenciados têm permitido situar os fungos em seus respectivos clados. Os dados produzidos pelo grupo da UFPE mostram uma alta variabilidade genética entre isolados de *S. cerevisiae* de álcool combustível, a exemplo do que se tem mostrado para isolados da indústria vinícola. O mesmo não ocorre para o grupo *Dekkera/Brettanomyces*, que tem pouquíssimas seqüências publicadas. Atualmente, o nosso grupo de pesquisa tem utilizado os dados do seqüenciamento parcial do genoma de *Dekkera bruxellensis* fornecidos pelo Prof. Jure Piskur, da Universidade de Lund, na Suécia, para identificar genes envolvidos em vários aspectos do metabolismo e resposta às condições ambientais nessa espécie. Entretanto, informações sobre os genes mitocondriais seriam muito importantes no contexto dos mecanismos de adaptabilidade desta levedura ao ambiente industrial, bem como na exploração de sua capacidade fermentativa, já demonstrada também em trabalhos recentes do grupo.

Com isso, o presente trabalho teve como objetivo a análise do gene mitocondrial *COX2* com o intuito de reconstruir sua filogenia junto aos hemiascomicetos, avaliar o padrão de evolução do genoma mitocondrial em comparação com o genoma nuclear e auxiliar em futuros trabalhos de fisiologia molecular desta levedura.

REVISÃO DA LITERATURA

Fermentação alcoólica

Histórico

As leveduras estão ligadas ao homem, participando dos processos de panificação, produção de vinho, de cerveja, da produção de álcool combustível e de outras bebidas fermentadas. Na década de 1970 o processo fermentativo se tornou mais importante, comercial e socialmente, em âmbito nacional com a implantação do Programa Pró-Álcool do governo federal. Este programa estimulou não apenas a produção do etanol como um combustível ambientalmente limpo, mas todo o parque industrial automotivo brasileiro. A partir desta perspectiva houve um crescimento na demanda de álcool combustível obtendo assim um aumento na produção de etanol. Com isso várias iniciativas de desenvolvimento científico e tecnológico foram apoiadas com recursos públicos e privados.

A levedura *S. cerevisiae* é tradicionalmente o microrganismo mais utilizado nos processos fermentativos industriais. Esta levedura apresenta características fisiológicas importantes para o processo industrial, tais como o metabolismo do tipo —Crabtree-trell positivo, produzindo etanol mesmo na ausência de oxigênio, com alta eficiência fermentativa e alta tolerância a etanol. Varias linhagens desta levedura estão presentes nos processos fermentativos industriais (Silva-Filho *et al.*, 2005a; Silva-Filho *et al.*, 2005b).

O metabolismo fermentativo

O metabolismo celular pode ser compreendido por um conjunto de reações altamente coordenadas, interligadas de forma que o produto de uma primeira reação torna-se substrato de uma segunda reação e assim sucessivamente. O metabolismo é formado por duas fases : catabolismo também denominada de fase degradativa e anabolismo, denominado de biossíntese. Nas vias catabólicas ocorre liberação de energia química na forma de ATP e NADH, os quais são utilizados na via anabólica para converter moléculas precursoras pequenas em macromoléculas celulares.

Sob o ponto de vista bioquímico, a fermentação é um processo catabólico anaeróbico que não envolve a cadeia respiratória ou citocromos. O processo da fermentação alcoólica caracteriza-se como uma via catabólica na qual há a degradação de moléculas de açúcar (glicose ou frutose), no interior da célula de *S. cerevisiae* até a formação de etanol e CO₂ havendo liberação de energia química e térmica.

O fenômeno de crescimento anaeróbico ocorre quando as enzimas da cadeia respiratória e do ciclo de Krebs têm sua síntese reprimida, um fenômeno chamado de repressão catabólica por glicose, assim quando essa é consumida ocorre depleção de açúcares no meio favorecendo as enzimas do metabolismo respiratório as quais, passam a ser sintetizadas .

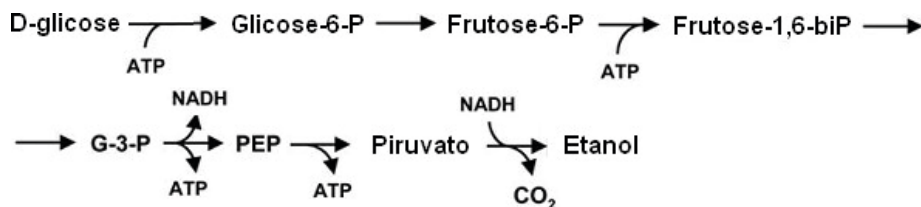


Figura 1. Esquema da fermentação alcoólica em *S. cerevisiae*. PEP = Fosfoenolpiruvato. Adaptado.

Microbiologia do processo fermentativo

Tradicionalmente as indústrias produtoras de álcool combustível utilizavam levedura de panificação para iniciar o processo fermentativo. Hoje já existem até linhagens comerciais específicas para esta fermentação, tais como as linhagens PE- 2, CAT-1 e BG-1 (Lallemand Inc., Canadá). Atualmente, mais uma linhagem foi adicionada a esse elenco, chamada JP1, que foi isolada e seqüenciada por Silva- Filho *et al.*, (2005b) e é comercializada atualmente sob a marca Fermol Distiller® (AEB Group, Brasil). Em contrapartida, o processo industrial também apresenta uma população de não *S. cerevisiae* chamadas de contaminantes pelo fato de a fermentação alcoólica industrial para produção de álcool combustível ser realizada sem esterilização prévia do meio de cultura, e da população de leveduras utilizada (*Saccharomyces cerevisiae*) ser reciclada para o processo após centrifugação. As contaminações bacterianas no processo industrial são controladas mantendo-se o pH em valores baixos (cerca de 3,5), ou, em vários casos, utilizando-se antibióticos. Estas medidas não são, entretanto, eficazes para combater contaminações do processo por leveduras não-*S. cerevisiae*.

Ocasionalmente, observam-se problemas operacionais de queda do rendimento e retardo na fermentação associados às contagens elevadas dessas leveduras contaminantes. Um amplo trabalho de monitoramento em destilarias da região Nordeste mostrou que *Dekkera bruxellensis* é a levedura contaminante mais freqüente nas destilarias que utilizam caldo de cana bruto em sistemas de fermentação, sendo também a responsável pelos episódios de contaminação mais severos (Basílio *et al.*, 2005).

Sherata (1960) identificou a presença de 14 espécies de levedura não-*S. cerevisiae* do caldo de cana que pertenciam aos gêneros *Candida*, *Endomyces*, *Hansenula*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces* e *Torulopsis*. Logo após, espécies de *Debaromyces*, *Rhodotorula* e *Cryptococcus* foram também identificadas neste substrato (de Azeredo *et al.*, 1998). Nos últimos anos, mais espécies dos gêneros *Candida*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Schizosaccharomyces* e *Pichia* têm sido identificadas no processo fermentativo industrial tanto para a produção de etanol combustível quanto para a produção de cachaça (Cabrine & Gallo 1999; Guerra *et al.*, 2001; Schwan *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2002; Olasupo *et al.*, 2003). Recentemente, Basílio *et al.*, (2008) utilizaram pela primeira vez no Brasil técnicas moleculares para tipagem e identificação e mostraram a presença de mais de 30 espécies de leveduras no processo fermentativo em várias destilarias da região Nordeste (Basílio *et al.*, 2008), dentre as quais destacam-se as espécies *Dekkera bruxellensis*, *Candida tropicalis* e *Pichia galeiformis*.

DEKKERA BRUXELLENSIS: BIOLOGIA E FISIOLOGIA DA ESPÉCIE

Ecologia

Em 1960 van der Walt e van Kerken relataram a formação de ascosporos em linhagens de leveduras previamente classificadas como leveduras *Brettanomyces*, tidas como não esporulantes, e propuseram o novo gênero *Dekkera* para acomodar esta fase teleomorfa. Barnett *et al.* (2002) reconheceu quatro espécies neste gênero: *D. bruxellensis*, *D. anomala*, *D. curstesianus* e *D. naardenensis*.

Ao microscópio as células desta levedura são esferoidais a elipsoidais, muitas vezes ogivais (Figura 1), ou podem também ser cilíndricas ou alongadas, e ainda podem exibir pseudomicélio. A reprodução vegetativa se dá por brotamento.

Na reprodução sexuada, os ascos são evanescentes e possuem um a quatro ascosporos. Os ascosporos apresentam um formato de chapéu ou esférico com uma borda tangencial. Quando liberados, os esporos tendem a se agrupar. Como características gerais, além das citadas, podem ainda ser listados seu lento crescimento, curta duração de vida em placas, aroma característico, forte produção de ácido acético a partir de glicose, estímulo da fermentação pelo oxigênio molecular e exigência de fonte externa de vitaminas.



Figura 1. Células da levedura *Dekkera bruxellensis* CBS74.

Fonte: <http://www.ncyc.co.uk/photo-ncyc-CBS74.html>

A *D. bruxellensis* é capaz de metabolizar diversas fontes de carbono, entre as quais, glicose, frutose, galactose, sacarose, maltose e etanol. As fontes de nitrogênio utilizadas por esta levedura incluem amônia, prolina, arginina e nitrato (Conterno *et al.*, 2006). Além disto, assim como *S. cerevisiae*, *D. bruxellensis* é tolerante a etanol, possui anaerobiose facultativa, é petite positiva (capaz de sobreviver sem DNA mitocondrial) e Crabtree positiva, ou seja, apresenta metabolismo fermentativo quando altas concentrações de glicose estão presentes no meio mesmo em condições aeróbicas (Woelfit *et al.*, 2007; Piskur *et al.*, 2006).

Este tipo de metabolismo produz certos componentes que apresentam odores fenólicos e o ácido acético, lembrando “couro” ou “urina de cavalo” em vinhos tintos, dentre outros (Licker *et al.*, 1998; Olsen, 2002). O aumento na produção de ácido acético e compostos fenólicos inibem o crescimento de *S. cerevisiae* e, portanto, diminui a capacidade desta levedura em produzir etanol (Lema *et al.*, 1996; Gerós *et al.*, 2000).

Apesar de *S. cerevisiae* ser o principal microrganismo fermentador, outras espécies foram identificadas nestes processos. Embora a maioria das leveduras encontradas pareça não exercer qualquer efeito, algumas podem agir como contaminantes (Basílio *et al.*, 2005). Um estudo realizado em diversas destilarias do Nordeste do Brasil mostrou que a espécie *D. bruxellensis* é a principal levedura contaminante dos sistemas de fermentação. Este mesmo trabalho mostrou que a sub-população de *D. bruxellensis* substitui a de *S. cerevisiae*, mesmo com repetidas ocasiões de troca da biomassa celular total (de Souza Liberal *et al.*, 2007). Por causa desta habilidade de substituir a *S. cerevisiae* na população de leveduras, *D. bruxellensis* representa um dos contaminantes mais significativos em destilarias que fermentam o caldo da cana em sistemas contínuos. Na produção de etanol combustível, quando as contagens de *D. bruxellensis* estão aumentadas, observa-se uma diminuição da produtividade volumétrica do etanol, acompanhada de significativo prejuízo econômico (de Souza Liberal *et al.*, 2007). Além disso, a maioria dos estudos realizados tem mostrado que *D. bruxellensis* é a espécie prevalente em eventos de contaminação de produtos de fermentação (de Souza Liberal *et al.*, 2007; Röder *et al.*, 2007; Renoult & Lonvaud-Funel, 2007; Phister & Mills, 2003; Miot-Sertier & Lonvaud-Funel, 2007).

Embora haja a percepção de que *D. bruxellensis*, principalmente na sua forma anamorfa *B. bruxellensis*, representa um contaminante industrial (o conceito de contaminação foi revisto por Loureiro & Malfeito-Ferreira, 2003), dados recentes mostram que esta levedura é capaz de produzir etanol em rendimentos muito próximos àqueles apresentados por *S. cerevisiae* (de Souza Liberal *et al.*, 2007) e existe até a proposta de utilizar esta levedura em processos fermentativos em associação com a bactéria *Lactobacillus vini* (Passoth *et al.*, 2007). Por outro lado, o problema causado pela presença desta levedura em altas contagens no meio é o maior tempo de fermentação que é necessário para converter o açúcar em etanol (de Souza Liberal *et al.*, 2007), o que provoca atraso na produção e no rendimento diário do processo. Esta baixa produtividade pode estar relacionada, por exemplo, com a menor capacidade fermentativa específica em decorrência da menor metabolização da sacarose (Basílio *et al.*, 2008).

Para se tornar predominante na população de leveduras, *D. bruxellensis* deve crescer a uma taxa mais alta do que *S. cerevisiae* nas mesmas condições. Uma hipótese sugerida é que *D. bruxellensis* provavelmente possui maior resistência ao etanol do que *S. cerevisiae*, conseguindo desta forma, superar a população desta última nas fases finais da fermentação (Renoult *et al.*, 2006). Adicionalmente, em um sistema de fermentação contínua com reciclagem de células, altas densidades celulares são atingidas e o suprimento de nutrientes para o crescimento celular torna-se limitado. Nestes ambientes, a competição é determinada principalmente pela habilidade de utilizar o fator limitante do crescimento. Se *D. bruxellensis* é capaz de metabolizar um nutriente disponível mais eficientemente, ou se for capaz de captá-lo com maior afinidade do que *S. cerevisiae*, sua taxa de crescimento pode ser bem maior nesta condição particular.

Dentre as evidentes diferenças metabólicas entre *S. cerevisiae* e *D. bruxellensis* destaca-se a capacidade desta última de usar vias metabólicas diferentes, utilizando a via do ácido tricarboxílico e os genes agregados a eles na produção de etanol.

Genética de *Dekkera*

A genética de Dekkera é pouco conhecida

O gênero *Dekkera* pertence à família Saccharomycetacea e é considerado um parente distante de *Saccharomyces*, ambos os gêneros fazendo parte do grupo dos hemiascomicetos. A validação do gênero *Dekkera* foi feita a partir das análises de restrição do DNA ribossomal que estabeleceu inequivocamente a equivalência entre os gêneros *Brettanomyces* (anamorfo) e *Dekkera* (teleomorfo) e suas espécies (Molina et al. 1993). Posteriormente, a separação das duas espécies *D. bruxellensis* e *D. anomala* foi validada a partir das análises filogenéticas do locus 18S do DNA ribossomal (Cai et al. 1996). O seqüenciamento da região variável D1/D2 do gene ribossomal 26S também mostrou que isolados industriais podem ser inequivocamente identificados com *D. bruxellensis*, sendo diferenciados da espécie *D. anomala*. Das quatro espécies reconhecidas no gênero, *D. bruxellensis* é capaz de crescer na ausência de oxigênio (Viser et al., 1990), e apresenta metabolismo do tipo *Crabtree*-positivo, ou seja, fermenta hexoses produzindo etanol mesmo na presença de oxigênio (Renouf et al., 2006). Estas características a torna muito semelhante à espécie *S. cerevisiae*.

De fato, na natureza apenas dois grupos de leveduras parecem ter desenvolvido a habilidade de se desenvolver na ausência de oxigênio: um deles pertence ao clado *Saccharomyces* e o outro ao clado *Dekkera/Brettanomyces* (Piskur e Langkjaer, 2004). Isto indica que o ancestral dos ascomicetos modernos deve ter sido completamente dependente da presença de oxigênio para o crescimento. Após os eventos de especiação, algumas linhagens de leveduras foram diminuindo progressivamente a dependência do oxigênio pelo remodelamento de vias metabólicas e pelo aparecimento de novos genes. Para o grupo *Saccharomyces*, estudos de comparação de genes mitocondriais com as várias outras espécies de hemiascomicetos com genomas já seqüenciados têm permitido situar os principais eventos desse processo. O mesmo não ocorre para o grupo *Dekkera/Brettanomyces*, que tem pouquíssimas seqüências publicadas (Woollfit et al., 2007).

Com base na descoberta feita Ephrussi (1950), Woollfit et al., em 2007 selecionou a cepa CBS 2499 para análises genômicas por esta ser: representante maior no clado *D. bruxellensis*, por seu tamanho do genoma ser estimado em 19,4 Mb, ser de fácil manipulação em laboratório e principalmente por esta produzir mutantes —petitell, permitindo o sequenciamento para construção de clones sem contaminação do DNA mitocondrial, contudo dentre os contigs gerados alguns deles apresentam similaridade com genes mitocôndriais quando comparados por BlastX. A partir desse sequenciamento foram

obtidos 14.860 quadros de leitura aleatórios desta biblioteca genômica que se encontram dentro de 5.407 contigs, totalizando aproximadamente 7,6 Mb dos dados da seqüência, dando uma estimativa do tamanho do genoma, indicando assim que apenas foi seqüenciado 40% deste com uma densidade gênica estimada na ordem de 7.430 genes codificadores de proteínas (Woolfit et al., 2007). Foram identificadas 2.606 seqüências gênicas com homologia parcial ou total com *S. cerevisiae* e 277 genes ortólogos a espécie não- *S. cerevisiae* que, contudo, pertenciam a família *Saccharomycetales* evidenciando ,assim, a alta taxa de transferência horizontal destas espécies a *D. bruxellensis* . Repetições do locus de DNA ribossomal 18S, 5.8S, 25S e 5S foram observadas e ainda ,pelo menos, 24 genes de RNAt.

Para tentar precisar a posição filogenética dentro dos hemiascomicetos, Woolfit et al (2007) construiu 366 modelos de árvores baseadas nas seqüências protéicas dos genes ortólogos a *D.bruxellensis* e nove de outras espécies de fungos. Foi feita uma análise de agrupamento, na qual destas 366 árvores foram feitas exclusões sucessivas das espécies mais afastadas de *D. bruxellensis* com o intuito de verificar a topologia mais aceita dentre estas 366 possíveis árvores. Três topologias foram criadas e aceitas como a explicação da posição de *Dekkera* dentro dos hemiascomicetos e de como esta divergiu. Estas topologias contrastavam em como esta espécie realmente se posicionava dentre as três topologias geradas. Para elucidar esta questão, foi realizado um teste estatístico de Shimodaira-Hasegawa que rejeitou a topologia 3 que posicionava *D. bruxellensis* num clado isolado das outras espécies de hemiascomicetos e a topologia 1, no qual a mais significativamente aceita foi a topologia 2 que explica que *D. bruxellensis* divergiu num dado momento do seu grupo irmão composto por *C. albicans* e *D. hansenii*.

Para precisar se realmente existia alguma relação entre *C. albicans* e *S. cerevisiae* com *D. bruxellensis* foi feita uma análise comparando as seqüências de aminoácidos desta com espécies sintênicas verificando assim a identidade entre cada uma delas com *D. bruxellensis*. Esta comparação mostrou que *D. bruxellensis* sofreu uma tricotomia das demais espécies citadas dando uma noção de que a taxa de evolução de *D. bruxellensis* era bem maior do que as demais. Esta perspectiva só foi comprovada quando se comparou o conteúdo de GC destas espécies, verificando que, expressivamente, *D. bruxellensis* continha um alto conteúdo de GC quando comparado às outras duas espécies em questão (Woolfit et al, 2007).

Ainda no intuito de verificar a taxa de rearranjos entre a tricotomia predita para confirmar se esta em *D. bruxellensis* foi gerada por um evento de duplicação cromossômica, uma comparação da ordem gênica foi feita. O resultado foi elucidado onde a taxa de genes conservados entre *S. cerevisiae* e *D. bruxellensis* é maior do que em *C. albicans* e onde a taxa de genes rearranjados é maior em *C. albicans* do que em *S.cerevisiae*. Ainda neste estudo foi observado que existiam espaços entre os genes codificantes os quais não se mostravam similares com nenhum outro gene em todo banco de dados através

de BlastX, estas regiões foram supostamente identificadas como regiões intergênicas. Foi feito uma comparação onde foi visto que estes espaços contém intons que são ortólogos a *S. cerevisiae* e outros que são específicos de *D. bruxellensis*, evidenciando parentesco e a hipótese desta estar tão perto de *S. cerevisiae*. Sendo esta espécie uma levedura de alto valor agregado, por participar de processos fermentativos, esta característica demonstra um excelente indício que *D. bruxellensis* possa ser usada como levedura fermentadora (Woolfit *et al*, 2007).

DNA mitocondrial

A biogênese da maquinaria da síntese do ATP requer contribuição dos dois genomas fisicamente separados: um no núcleo e o outro na mitocôndria. A mitocôndria supre muito dos processos energéticos da célula, produzindo ATP pela fosforilação do aparato oxidativo da membrana mitocôndrial externa. Em humanos, mais de 80 proteínas participam diretamente da fosforilação oxidativa, das quais 13 são codificadas pelo DNA mitocôndrial. A distribuição dos componentes da fosforilação oxidativa que são codificados pelos genomas nuclear e mitocondrial variam entre espécies. Contudo, em todas as espécies a contribuição essencial do genoma mitocondrial exige que este mtDNA seja herdado com fidelidade para assegurar que a função respiratória seja mantida durante o crescimento e desenvolvimento (Chen e Butow, 2005).

Desde a descoberta de que a mitocôndria apresenta um genoma próprio, independente do genoma nuclear, levantou-se a questão se eles estavam sujeitos aos mesmos mecanismos de reparo os quais ocorrem no genoma nuclear. Entretanto, por muito tempo acreditou-se que o reparo de DNA não estava presente no genoma dessa organela. Nesse sentido, o reparo não seria necessário devido à redundância da informação genética presente nas várias cópias do DNA das organelas. Essa visão era reforçada pelas observações de que o genoma dessa organela não possui nenhum gene que codifique enzimas responsáveis no reparo do DNA (Britt, 1996). O DNAm apresenta maior taxa de mutação quando comparado com o nuclear (Richter *et al.*, 1988), e a partir deste fato, algumas lesões com irradiação UV, produzindo dímeros de pirimidina, não são removidas eficientemente no mtDNA (LeDoux *et al.*, 1992).

A região controle é responsável pela regulação da replicação e da transcrição de todo o mtDNA. A replicação tem início nesta região e é realizada por deslocamento de uma fita em relação à outra, formando uma alça, denominada D- Loop. Na região controle, são verificados os polimorfismos do mtDNA (Upholt e Dawid, 1977).

Estas organelas apresentam membrana dupla e estão presentes no citoplasma, sendo responsáveis por muitos processos metabólicos cruciais como a fosforilação oxidativa. Por essa razão, as mitocôndrias são conhecidas como as usinas energéticas das células. Acredita-se que as mitocôndrias são evolutivamente derivadas de uma bactéria ancestral, a qual teria formado uma relação simbiótica intracelular com as primeiras células

eucarióticas, isto explica o fato de possuir genoma próprio (Gray, 1992). Com o passar de centenas de milhões de anos, esse ancestral perdeu a habilidade de funcionar como um organismo independente, de modo que seu genoma tornou-se muito atenuado. De fato, a maioria das proteínas funcionais da mitocôndria está codificada por genes do núcleo (Lang *et al.* 1997). O que restou na mitocôndria de *Saccharomyces* foi um genoma circular de 42.889 pares de bases (pb) que contém 43 genes, dos quais 27 codificam RNAs transportadores, dois codificam RNAs ribossomais e 19 codificam proteínas/enzimas envolvidas na cadeia transportadora de elétrons da fosforilação oxidativa e produção de ATP (Wallace 1992).

O DNA mitocondrial evolui cerca de cinco vezes mais rápido que o DNA nuclear (Cann e Wilson 1983). Essa variação se deve, em primeiro lugar, ao fato da mitocôndria ser uma grande geradora de radicais livres, proporcionando um ambiente favorável a mutações no DNA. Outra causa seria a ausência de histonas, que exercem um papel protetor no DNA nuclear (Yakes e Van Houten, 1997). Além disso, a enzima DNA polimerase mitocondrial possui baixa atividade corretora quando comparada à DNA polimerase nuclear (Kunkel e Loeb, 1981) e a reparação do DNA dependente de excisão de nucleotídeos não está presente em mitocôndrias (Croteau *et al.* 1999). Em relação à região codificante, algumas porções da região controle são altamente variáveis entre indivíduos, evoluindo cinco vezes mais rápido que o resto da molécula (Greenberg *et al.* 1983), presumidamente devido à fraca seleção exercida sobre a região não-codificante do DNA. Também se deve considerar que a típica estrutura *D-loop*, onde há a formação momentânea de fita- simples, pode influenciar o padrão de mutação pontual (Reyes *et al.* 1998), já que a taxa de depuração de DNA fita-simples é quatro vezes maior que do DNA fita- dupla (Lindahl e Nyberg, 1972). Por essas razões, os testes de identificação filogenética têm em foco a variação de seqüências dentro das regiões variáveis dos genes (Holland *et al.* 1993; Wilson *et al.* 1993; Parson *et al.* 1998).

Análises filogenéticas

Filogenética é o campo da Biologia que busca identificar e compreender as relações evolutivas entre as diferentes formas de vida na Terra. Os primeiros critérios objetivos para a reconstrução filogenética baseavam-se em dados morfológicos. Com o acesso recente à estrutura de macromoléculas (DNA, RNA e proteínas), as análises filogenéticas passaram a ter um avanço vertiginoso. Para se trabalhar com reconstrução filogenética baseada em dados moleculares é preciso conhecer algumas propriedades das seqüências a serem comparadas.

Na reconstrução de qualquer tipo de filogenia, a preocupação primordial de um sistemata deve ser a homologia (Hennig, 1966; Philips et al, 2000), isto é devemos sempre comparar caracteres homólogos nas diferentes espécies. O termo homologia foi cunhado no século XIX por Owen, um anatomista inglês que, embora contemporâneo de Darwin, não acreditava em evolução (Lewin, 1997).

Atualmente entende-se por homologia uma propriedade relativa a entidades que tenham uma origem comum. Mais simplificada, dois caracteres são homólogos se suas partes idênticas ou semelhantes possuem origem comum (Patterson, 1988; Titus e Frost, 1996; Lewin, 1997; Graur e Li, 2000). Homologia é, portanto, um termo qualitativo e não quantitativo. Ainda assim, vários autores ainda utilizam erroneamente o conceito de homologia como sinônimo de similaridade.

Há três tipos de homologia: ortologia, quando as seqüências têm um único e mesmo ancestral comum; paralogia, quando se originam de uma duplicação gênica; e xenologia, quando se originam por incursão lateral (ou horizontal). Apenas seqüências ortólogas poderão fornecer informações filogenéticas na história de organismos.

Uma vez obtidas as seqüências, estas devem ser alinhadas corretamente. Para tal, apesar de haver muitos programas computacionais que realizam essa tarefa, as seqüências devem ser alinhadas manualmente. Entretanto, alinhamentos automáticos podem ser um primeiro passo. Essa etapa é de extrema importância, pois um alinhamento errado comprometerá toda a análise. Para um alinhamento coerente, devem-se conhecer os diferentes tipos de mutações e substituições de nucleotídeos. Mutações ocorrem ao acaso em qualquer parte do genoma e podem ser transições, transversões, deleções/inserções e inversões. Substituições referem-se a regiões codificantes e podem ser sinônimas (quando não há alteração do aminoácido codificado), não sinônimas (quando há alteração) e sem sentido (quando um códon de parada é gerado).

O objetivo do alinhamento é fazer com que a posição de cada base que esteja sendo comparada entre as seqüências consideradas seja homóloga. Por causa do problema de perdas ou ganhos de trechos é necessário que se insiram intervalos nas seqüências das espécies que perderam trechos ou que não os ganharam (Phillips *et al*, 2000). Existem, hoje em dia, diversos programas de computador para alinhar seqüências de aminoácidos e nucleotídeos (ClustalX, ESEE, Macaw, Pileup, TreeAlign etc.) Tais programas são eficientes e recomendáveis.

No programa ClustalW (Thompson ET AL, 1994) e na maior parte dos programas, o alinhamento é feito em duas etapas. Na primeira todas as seqüências são comparadas par a par e uma medida de similaridade máxima entre cada duas seqüências é calculada. Para calcular essa medida de similaridade um gráfico de pontos é construído onde seus dois eixos representam as duas seqüências comparadas. Para cada identidade entre as bases, um ponto é colocado no gráfico. No caso de duas sequencias idênticas, uma fileira de pontos será encontrada em toda diagonal no gráfico, independentemente de

composição de nucleotídeos. Com base nessa matriz de pontos, o programa irá maximizar a similaridade entre as seqüências, usando o que é chamado de penalidades. Dois tipos de penalidades são usados nesse caso: a penalidade de intervalo que é o número de bases idênticas que devemos adicionar para inserir um intervalo, e a penalidade de substituições. O valor da similaridade final entre cada duas sequencias é calculado com o total de bases idênticas menos o número de substituições, menos o número de intervalos multiplicado pela penalidade de intervalos.

A partir dos dados de similaridade par a par, um dendrograma é construído e o alinhamento final é feito a partir dos nós mais internos. Ou seja, o programa de alinhamento múltiplo começa alinhando primeiro as seqüências mais semelhantes, em seguida as que se conectam a estas e, assim por diante, até que todas as sequencias estejam alinhadas. O resultado final do alinhamento é na realidade um excelente indicador de quão adequado é o seu gene para o problema filogenético específico.

Em todas as métodos de filogenética molecular, cada posição ocupada na seqüência (nucleotídeo ou aminoácido) é considerada como um caráter do tipo multi-estado (podendo ser um dos quatro nucleotídeos ou um dos vinte aminoácidos) e cada caráter é considerado independente dos demais. A variação dos estados de caracteres fornecerá informações filogenéticas. Métodos filogenéticos são essencialmente estatísticos e podem ser classificadas em dois grupos principais, de acordo com seus critérios: quantitativos (métodos de distância); 2) qualitativos (métodos de parcimônia e verossimilhança). Nos métodos de distância, as diferenças entre duas seqüências são reduzidas a uma só variável (número de diferenças) e suas relações evolutivas não são consideradas. Nesse método, primeiramente calcula-se a distância, para, a seguir, reconstruir a árvore filogenética, utilizando um algoritmo específico. Existem diferentes modelos que podem ser utilizados para a construção de uma matriz de distância (NEI *et al*, 2000; MATIOLI, 2001).

A partir dessa matriz será reconstruída a árvore com um dado algoritmo, sendo os mais utilizados o UPGMA e Neighbor-Joining. Nos critérios qualitativos, as diferenças entre as moléculas são consideradas como uma série de variáveis descontínuas. Os métodos mais empregados, embora não sejam os únicos, são a MáximaParcimônia (MP) e a Máxima Verossimilhança (MV). O princípio da MP é que a hipótese mais simples, ou seja, aquela em que a árvore que apresente o menor número de passos (=menor número de mudanças de estado de caráter) será a escolhida para explicar um determinado conjunto de dados. Desse modo, não há um modelo evolutivo explícito embasando essa metodologia (Lesk *et al.*, 2008).

Problemas operacionais podem ser evitados apenas com a observação de um número muito grande de árvores igualmente mais parcimoniosas ou a influência demasiada de homoplasias. Porém, a questão mais crítica é de cunho filosófico: A Natureza é parcimoniosa? A MV baseia-se em modelos evolutivos explícitos de substituição de nucleotídeos. Esses modelos são avaliados quanto a sua probabilidade de explicar um conjunto de dados de

forma que reflita a história evolutiva mais verossímil. O modelo que apresentar o melhor valor de verossimilhança, que, por questões operacionais, é dado em forma logarítmica, será o escolhido como base para a reconstrução da árvore. Tanto para a MP, quanto para MV, existem dois tipos de algoritmo de busca da melhor árvore: 1) Busca Exaustiva, em que todas as possibilidades de topologias são verificadas; 2) Busca Heurística, em que apenas um subconjunto de árvores probabilisticamente mais prováveis é examinado. Este último, em termos práticos, reduz sensivelmente o tempo de processamento computacional que, em alguns casos, dependendo do número de seqüências comparadas, pode durar dias e até meses (NEI *et al*, 2000; MATIOLI, 2001).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Analisar o gene mitocondrial COX2 das diferentes cepas industriais

Objetivos Específicos

- Analisar a característica evolutiva do gene mitocondrial e suas seqüências das diferentes linhagens de *D. bruxellensis*.
- Determinar se ocorre polimorfismos entre as seqüências de *D. bruxellensis* em caldo de cana industrial.
- Investigar se as linhagens de *Dekkera* pertencem filogeneticamente ao grupo dos hemiascomicetos.
- Construir primers para os genes estruturais mitocondriais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagens e meios

Linhagens celulares

As linhagens de *D. bruxellensis* GDB237, GDB239, GDB240, GDB242, GDB248 e GDB251 foram provenientes de diferentes destilarias de álcool do Nordeste do Brasil. As linhagens CBS60, CBS739, CBS5512, CBS9919 CBS79, CBS74 foram gentilmente cedidas pelo prof. Desmond Clark-Walker da Universidade Nacional da Austrália, Camberra, Austrália.

As células foram cultivadas em meio YPD (2% glicose, 2% peptona, 1% extrato de levedura) para crescimento celular ou em YPA (2% acetato de potássio, 2% de peptona 1% de extrato de levedura) para indução de esporulação. Este meio foi utilizado com a finalidade de aumentar o conteúdo celular de DNA mitocondrial, já que induz a respiração celular. As células foram pré-cultivadas em 20 ml de meio YPA por 24 h e essas culturas foram utilizadas para inocular mais 180 ml do mesmo meio. As culturas foram incubadas por mais 24 h ou até atingir 3 g de biomassa.

Análises genéticas

Extração de DNA com meio enriquecido com mtDNA

As células foram inoculadas em meio YPA e cultivadas por 48 horas a 30°C. Depois de coletadas por centrifugação, as células foram incubadas com 3 ml na solução de protoplastização (20 mg. ml⁻¹ da enzima lítica glucanex; 10 mg. ml⁻¹ de BSA; 0.8 M de KCl; 20 mM de citrato de sódio) por 3 horas a 30°C. Os protoplastos foram lavados com a solução 01 (1 M sorbitol, 50 mM tampão citrato pH 5.8) e ressuspensos em 2 ml da solução 02 (200 mM de sucrose; 65 mM de KCl; 20 mM de EGTA; 10 mM de MgCl₂; 50 mM de HEPES-KOH pH 7.2). Logo após foram acrescidos 3 ml da solução 03 (20mM de sucrose; 65mM de KCl; 20mM de EDTA; 50mM de HEPES-KOH pH 7.2) e 1 ml da solução de DNase A 10 U.ml⁻¹ para hidrólise da maior parte do DNA nuclear. Depois da incubação por 3 horas a 75°C, foram adicionados 3 ml da solução 04 (10mM de EDTA; 50mM de Tris-HCl pH 8.2; 50µg.ml⁻¹ de proteinase K; 0,3% de SDS) para lise da membrana da mitocôndria, seguido de extração e purificação do DNA mitocondrial a partir de extração fenólica com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1). O DNA foi precipitado com etanol absoluto a 4°C. O precipitado foi ressuspenso três vezes com etanol a 70% e ressuspendido em 30 µl tampão TE (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA). O DNA extraído foi analisado por eletroforese em gel de agarose 1% e sua concentração foi estimada por espectrofotometria e gel de agarose com marcador Hindλ onde a concentração de DNA foi mensurada em 60 ng/µl.

Quantificação e avaliação da integridade do DNA total

As amostras de DNA foram quantificadas em espectrofotômetro. A quantificação foi realizada, utilizando-se a seguinte conversão: uma unidade de absorbância a 260 nm representa 50 µg/ml de DNA. As amostras foram diluídas (1:100) e a DO mensurada. Para a determinação da concentração e pureza, as absorbâncias de 260 nm e 280 nm foram observadas. A relação Abs260/Abs280 ideal deve ser próxima de dois para o DNA puro, sendo aceitáveis valores entre 1,9 e 2,1. Para a determinação da integridade das amostras de DNA, as mesmas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1%, utilizando-se tampão de corrida apropriado. Para a corrida, foram utilizados 4 µl de DNA e 1 µl de tampão

de amostra. O gel foi corado com brometo de etídeo e visualizado em transiluminador UV. A eficiência do método foi testada a partir de ensaios de PCR semi-quantitativa utilizando os primers nuclear Db e o mitocondrial DbCOX2 desenhados a partir do programa Primer3 (<http://fokker.wi.mit.edu/primer3/input.htm>). Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose a 0,8% e visualizado após coloração com brometo de etídeo.

Análise da sequência do gene COX2

As sequências homólogas ao gene *COX2* de *S. cerevisiae* foram retiradas do GenBank. As sequências foram alinhadas pelo CLUSTALX e as regiões consenso foram identificadas onde os primers foram desenhados a partir dos consensos. Os primers foram desenhados com auxílio do software *Primer 3* (<http://fokker.wi.mit.edu/primer3/input.htm>). Para a construção dos primers foram obedecidos os seguintes critérios: tamanho do amplicon em torno de 607pb, tamanho do oligo entre 20 e 25 nucleotídeos, conteúdo GC entre 20 e 80% e Tm médio de 60°C. A reação ocorreu em tubos de 100µL contendo tampão Taq DNA polimerase (20mM Tris-HCl pH 8.0, 50mMKCl), MgCl₂ 1,5mM, 200µM de cada dNTP, 10pmol de cada oligonucleotídeo iniciador, 500ng de DNA extraído e 2,5 unidades de Taq DNA polimerase (Invitrogen). Os reagentes foram misturados e aquecidos a 94°C por 4 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamentos a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. A visualização da amplificação foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1% utilizando um padrão de peso molecular de 1 kb Plus (Invitrogen) para comparação (Sambrook e Russell, 2001). O produto da amplificação foi então purificado utilizando-se o kit de purificação de PCR (High Pure PCR purification Kit - PROMEGA) e sendo quantificado por eletroforese em gel de agarose a 1% utilizando-se o marcador de peso molecular λ Hind III. A partir da amplificação da linhagem GDB237 as linhagens industriais GDB237, GDB239, GDB240, GDB242, GDB248 e GDB249 e as linhagens cedidas pelo Prof. Clark walker CBS60, CBS739, CBS5512, CBS9919 CBS79, CBS74 foram extraídas, purificadas e sequenciadas e submetidas a análise das sequências.

Reação de sequenciamento

Os trabalhos iniciais foram realizados utilizando-se 2µl de Big dye num volume total de reação de 10µl. Então montou-se uma reação de PCR nas seguintes proporções: 2µl de DNA, 3µl de água miliQ, 2µl de tampão, 1µl de primer forward COX2 () 3,2 mM e 2µl de BigDye. Após a reação da cadeia da polimerase, as placas (PCR- Optical 96 well reaction plate number N-801-0560) são retiradas do termociclador, recebem isopropanol na concentração de 65%. São seladas com adesivo resistente a álcool (Adhesive PCR Film N- 21950), misturadas por inversão durante três vezes, a seguir permanecem ao abrigo da luz em temperatura ambiente por 15 min. Posteriormente são centrifugadas por 45 min a 3400rpm. O excesso de isopropanol é descartado e as placas invertidas em papel toalha. Acrescenta-se etanol 60 % e centrifuga-se à mesma velocidade por 10 min. Descarta-se novamente o excesso de etanol e invertem-se as placas sobre o papel toalha. Para

secar, as placas são submetidas a um spin de 300 rpm com as placas invertidas sobre papel toalha e em seguida encaminha-se para a estufa a 37 °C durante 15 minutos após secas, as placas recebem 10 mL de formamida e são encaminhadas para o termociclador para a reação de desnaturação. Após esta etapa, as placas foram encaminhadas para o sequenciador automático de DNA, modelo ABI 3700 Prism Analyser.

Análise filogenética das seqüências do gene COX2 dos diferentes isolados.

As seqüências de nucleotídeos do gene *COX2* foram realinhadas usando-se o programa ClustalW. À distância do alinhamento das seqüências par a par foram derivadas usando o método descrito por Feng et al. (1985) e Feng e Doolittle (1990) os quais corrigem a composição de bases parciais usando a seguinte relação: $D = -\ln(S_{\text{real}} - S_{\text{ao acaso}}) / (S_{\text{idênticas}} - S_{\text{ao acaso}}) * 100$, no qual S_{real} é o placar dos alinhamentos originais, $S_{\text{ao acaso}}$ é o placar das seqüências aleatórias de mesmo tamanho e de mesma composição de bases e $S_{\text{idênticas}}$ será a média das duas seqüências, cada uma alinhada com elas mesmas. A árvore filogenética foi construída pelo método —neighbor-joiningll de Saito e Nei (1987).

Coleta das seqüências gênicas, construção de primers degenerados e condições de amplificação

Para a construção dos primers degenerados foram analisadas várias topologias a partir do trabalho de Woofit et al (2007) o qual relaciona os clados referentes aos gêneros e espécies mais próximas a *Dekkera bruxellensis* a partir da análise de genes nucleares. Com isso foi possível inferir um mapa físico do genoma mitocondrial deste clado. Seis espécies apresentando similaridade genômica nuclear com *D. bruxellensis* foram submetidos a alinhamentos múltiplos através do programa computacional Mega v. 4.0 (<http://www.megasoftware.net>) a partir da seguinte ordem gênica baseada no genoma do DNA mitocondrial de *S. cerevisiae*: COX2, COX3, COX1, ATPase8, ATPase6, CYTb, ATPase9 e VAR1. Os programas CODEHOP (<http://bioinformatics.weizmann.ac.il>) e Codon Usage (http://www.bioinformatics.org/sms2/codon_usage.html) foram usados com a finalidade de refinar o desenho de primers degenerados a fim de se amplificar os genes ortólogos de *D. bruxellensis*.

RESULTADOS

Seleção das Linhagens

Todas as linhagens apresentaram bom crescimento celular em meio YPA, no qual acetato foi a única fonte de carbono. Isto significa que *D. bruxellensis* pode se desenvolver em metabolismo puramente respiratório. Porém, a linhagem GDB237 foi selecionada para a continuidade dos ensaios devido ao melhor crescimento observado.

Avaliação da extração e amplificação do gene COX2.

O protocolo desenvolvido para extração de DNA mitocondrial apresentou alto rendimento pela grande quantidade de material obtido ao final do processo (Figura 1). A eficiência do processo foi avaliada a partir dos experimentos de PCR semi-quantitativa, a partir do qual se verificou a maior amplificação do material extraído a partir dos primers DbCOX2, que amplificam um fragmento de 650 pb relativo ao gene *COX2* mitocondrial (Figura 1), e a menor amplificação com os primers Db, que amplificam o gene nuclear que codifica o RNA ribossomal 26S.

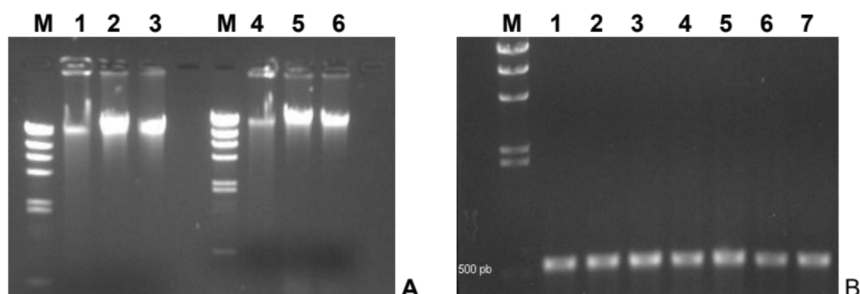


Figura 1. Otimização do protocolo de extração de DNA mitocondrial de *D. bruxellensis*. **A.** Gel de agarose das amostras de DNA mitocondrial respectivamente (GDB237, GDB239, GDB240, GDB242, GDB248 GDB249). **B.** Amplificação do gene mitocondrial *COX2* das amostras de DNA mitocondrial (GDB237). Linha M: marcador λ -HindIII.

Avaliação das seqüências.

Estes isolados tornam interessantes do ponto de vista de evolução do genoma mitocondrial em *D. bruxellensis*, já que estudos anteriores do grupo mostraram que esses foram consistentemente identificados como *D. bruxellensis*, mas apresentam marcadores moleculares únicos no genoma mitocondrial por conta da variação intraespecífica. Estas modificações se traduziram em alterações pontuais na seqüência de aminoácido de Ile para Met, ou vice-versa (Figura 3). Ainda nestas alterações únicas notam-se na seqüência de DNA (Figura 2) duas mudanças únicas no uso de códons: a primeira mudança no 31º aminoácido é evidente nas linhagens industriais seqüenciadas onde um códon do tipo ACA difere das linhagens *D. bruxellensis* e *B. custersii* do Genbank por apresentar ACT, a segunda se encontra no 65º aminoácido onde se evidencia TTT para as linhagens industriais seqüenciadas e TTC em *D. bruxellensis* e *B. custersii*.

Do total de alterações, 18 foram transições e 30 foram transversões. Este resultado se mostra satisfatório quando comparado com a mutabilidade do DNA mitocôndrial de mamíferos, nos quais a taxa de transversões excede a taxa de transições na relação 2:1.

```

#MEGA
!Title Cox2;
!Format
  Data=Type=Nucleotide CodeTable=Yeast_Mitochondrial
  NSeqs=14 NSites=579
  Identical=, Missing=? Indel=-;

!Domain=Data property=Coding CodonStart=1;
#D.bruxellensis_mitochondrial ATG GAA GGT ATG ATA GAA TTA CAT AAT AAT GAA ATA TTT TAT TTA TGT ATA ATA TTA GGA TTT GAA TCA TAT ATG TTA
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#D.bruxellensis_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB574_DB-F .....
#CB579_DB-F .....

#B.custersii_mitochondrial TAT AAC ATA TTA ACT ACA TAT AAT CAT TCA GTA TTA CCA TAT AAA TAT TTA TAT CAT GGA GAA TTT AAT GAA ATT GAA
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#D.bruxellensis_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB574_DB-F .....
#CB579_DB-F .....

#B.custersii_mitochondrial TGA ACA ACA TTC CCA GCT ATA ATT TTA TTA ATT ATA GCT TTC CCT AGT TTT ATT TTA TTA TAT ATT TGT GAT GAA GTT
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#D.bruxellensis_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB574_DB-F .....
#CB579_DB-F .....

```

Figura 2. Alinhamento múltiplo da sequência de nucleotídeo do gene *COX2* de linhagens industriais de *D. bruxellensis* e de linhagens de coleção de *D. bruxellensis* e *B. custersii*.

```

#MEGA
!Title Cox2;
!Format
  Data=Type=Protein
  NSeqs=14 NSites=193
  Identical=, Missing=? Indel=-;

!Domain=Data;
#D.bruxellensis_mitochondrial MEGMMLHNN VMFYLCMLLG FVSVMYLYNML TTYNHVLPV KYLYHGQFIE IWWTTFPAMI LLIIAPPSPFI LLYICDEVIA
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#B.custersii_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB579_DB-F .....
#CB574_DB-F .....

#D.bruxellensis_mitochondrial FAMTIKAMGL QWYWKYEYSD FIDDKGETIE FESYMFEDL LEEGQLRQLD VDSPIVCVFD THMRFIVTAA DVIHDFAMPS
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#B.custersii_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB579_DB-F .....
#CB574_DB-F .....

#D.bruxellensis_mitochondrial LGIKKIDAVPG RINQTSALIQ REGVYVQCQS ELC
#CB560_DB-F .....
#CB5739_DB-F .....
#CB55512_DB-F .....
#Db239_DB-F .....
#Db242_DB-F .....
#Db251_DB-F .....
#Db737_DB-F .....
#JPC-7-1_DB-F .....
#MCE-5-71_DB-F .....
#B.custersii_mitochondrial .....
#CB59919_DB-F .....
#CB579_DB-F .....
#CB574_DB-F .....

```

Figura 3. Alinhamento múltiplo da sequência de aminoácidos do gene *COX2* de linhagens industriais de *D. bruxellensis* e de linhagens de coleção de *D. bruxellensis* e *B. custersii*.

Análise filogenética

Quando submetidas a uma análise de agrupamento, as seqüências do gene *COX2* das linhagens industriais de *D. bruxellensis* agruparam-se no clado da levedura *B. custersii* (linhagem tipo CBS 5512) (Figura 5).

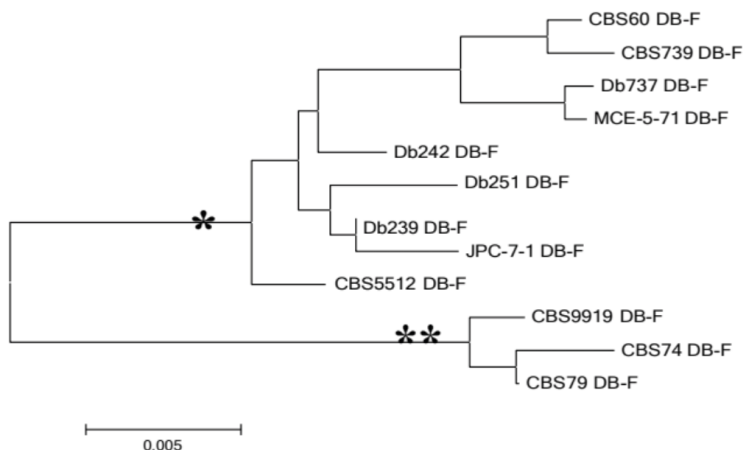
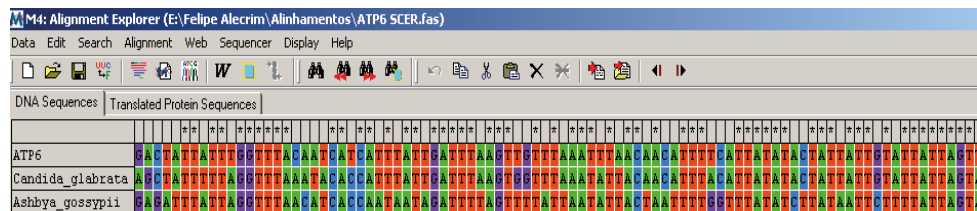
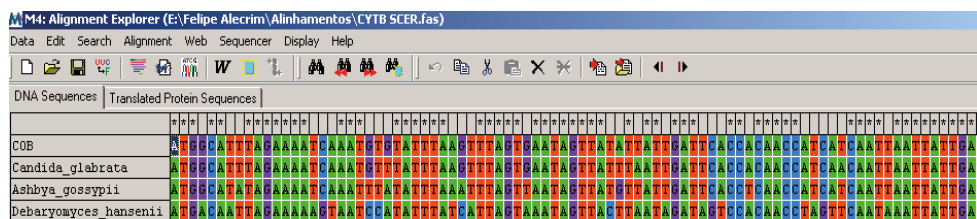
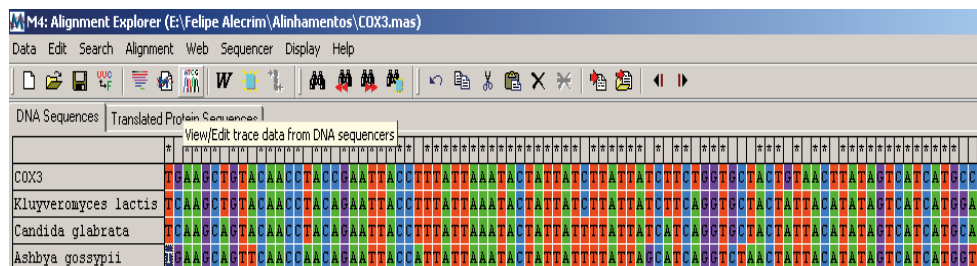
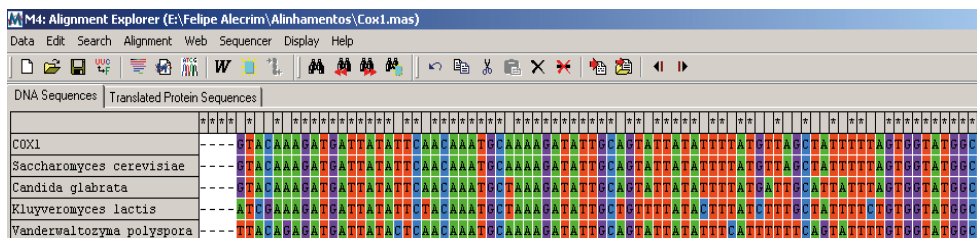
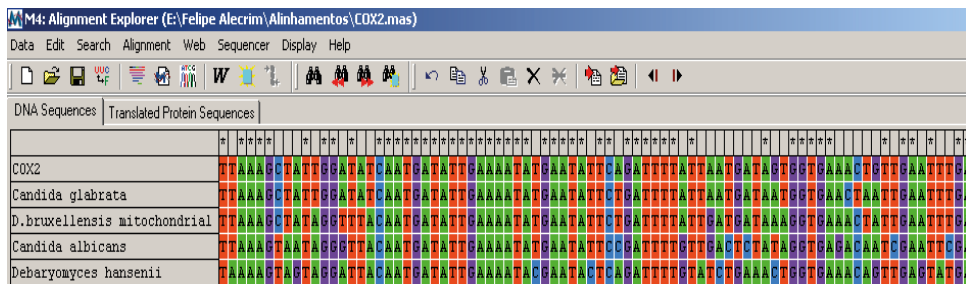


Figura 5. Análise filogenética pelo método de agrupamento Neighbor joining das seqüências de nucleotídeos do gene *COX2* das linhagens industriais de *D. bruxellensis* comparadas com as linhagens de coleção do clado *B. custersii* (*) e do clado *D. bruxellensis* (**). colocar bootstrap e quantidade de pares bases alinhadas

Entretanto, pode-se verificar uma grande variabilidade genética dentro desse grupo. Isto sugere que o gene *COX2* está sob grande pressão seletiva onde, na maioria dos casos, a substituição de resíduos de Met (presente na linhagem tipo de *D. bruxellensis* CBS 74) para resíduos de Ile são característicos de *B. custersii*

Análise “*in silico*” do genoma mitocondrial

Uma vez que o genoma mitocondrial de *D. bruxellensis* não foi seqüenciado, a construção de primers para amplificação e clonagem de seus genes estruturais foi realizada com o uso de ferramentas computacionais através do programa MEGA4, utilizando seqüências depositadas nos bancos NCBI e Génolevures. Os seguintes genes foram considerados: *COX1*, *COX3*, *ATP6*, *ATP8*, *ATP9*, *CYTb* e *VAR1*, segundo a discriminação para *S. cerevisiae*. A primeira análise foi feita com o objetivo de se avaliar a relação filogenética entre os genomas mitocondriais dos ascomicetos disponíveis. Com isso foi possível a construção de um mapa físico do genoma mitocondrial deste clado. (Figuras 6 a 12)



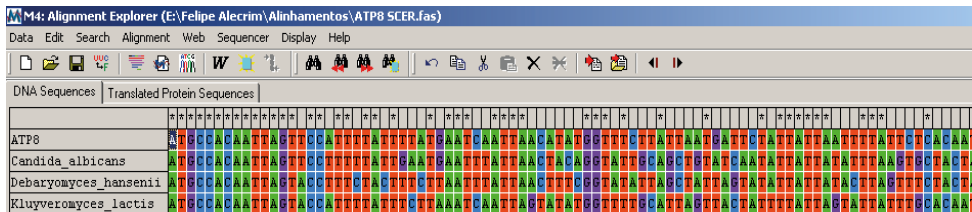


Figura 11. Alinhamento múltiplo do gene *ATP8* para as leveduras ascomicetos.

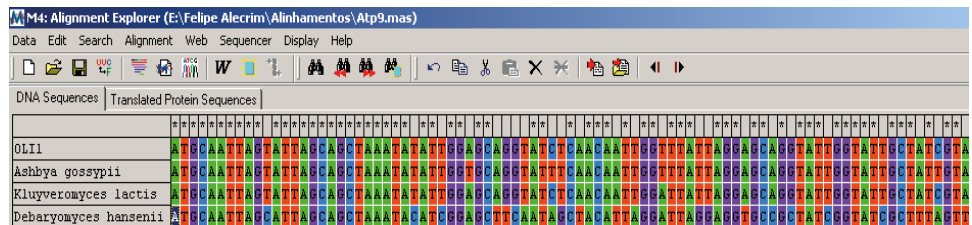


Figura 12. Alinhamento múltiplo do gene *ATP9* para as leveduras ascomicetos.

Os resultados mostraram que a levedura *Debaryomyces hansenii* não agrupou com os ascomicetos estudados e sim com as seqüências que ,em princípio, serviriam como outgroups.

DBATP6 Primer forward		DBATP6 Primer reverse	
S	P L E Q F E	L M C L E F A I	Aminoácido do alim MEGA4
TCT	CCA TTG GGA CAA TTT GAA	TAA TAC ACA AAC CTT AAA CGA TAA	CODEHOP
TCT	CCA TTG GGA CAA TTT GAA	ATT ATG TOT TTG GAA TTT OCT ATT	Complemento
A	G A T G	ATT ATG TOT TTG GAA TTT OCT ATT	NT correspondente ao Alim MEGA4
TCw	CCA TTG GAR CAA TTT GAR	ATT ATG TOT TTG GAA TTT OCT ATT	CODON USAGE + all degener
5' TCw	CCA TTG GAR CAA TTT GAR 3'	3' ATT ATG TOT TTG GAA TTT OCT ATT 5'	Primer Reverse (para Blast N)
Características TM 57.6° C Hairpin loops 4.4° C Dimers -83.6° C Bulge loops -59.2° C Internal loops -79.7° C		Características TM 57.9° C Hairpin loops 0° C Dimers -93.1° C Bulge loops -89.4° C Internal loops -88.2° C	

Figura 13. Análise das seqüências consenso para os genes mitocondriais dos ascomicetos com vistas a construção de primers degenerados para amplificação e seqüenciamento dos ortólogos em *D. bruxellensis* (exemplo gene *ATP6*).

Os programas CODEHOP e Codon Usage foram usados com a finalidade de refinar o desenho de primers degenerados para amplificação dos genes ortólogos de *D. bruxellensis* (Figura 13). Os alinhamentos se mostraram representativos para construção dos primers, uma vez que foi observada uma boa conservação entre as seqüências gênicas sintênicas dos genes estruturais anteriormente citados. Estes dados promovem uma base para futuras análises da genética e da evolução da população de *D. bruxellensis*, que servirá de base para o estabelecimento de correlações entre a variabilidade e genética e as capacidades fisiológicas de diferentes cepas. Os primers foram desenhados (Tabela 1) e encomendados. Os experimentos de amplificação dos genes de *D. bruxellensis* com os primers degenerados foram parcialmente expressivos onde 50% dos primers testados

amplificaram e serão submetidos à seqüenciamento. Inicialmente estão sendo feitos testes de adequação da reação da PCR, tanto nas concentrações dos reagentes da reação como do programa de amplificação. Até o momento os genes *COX1* e *ATP6* foram amplificados. Estes fragmentos serão clonados e seqüenciados.

Nome do primer	Seqüência (5'-3')		
cons-Cox3-FW	CAACAACATCCWTTYCATATRG	cons-ND1-RV	TAATTCWGATTACGCTTCAAC
cons-Cox3-RV	ATRTATAARAATAATCARATWAC	cons-ND4-FW	CATACWTGATTACCWGTWGTWCA
cons-Atp6-FW	TCWCCATTAGARCAATTTG	cons-ND4-RV	TAAWCCTTGATAATAATAWAT
cons-Atp6-RV	AATAGCRAATTCTAACAWYATAAT	cons-CytB-FW	TTATTAGGWTTATGTTTAGTWA
cons-Cox1-FW	AGATGATTATAYTCWACAAATGC	cons-CytB-RV	TAAYACTTTTAAWGTATTWCCTCT
cons-Cox1-RV	CWGCWGGWGGWSWWGTTAA	cons-ND5-FW	GCTACWCGTAAAAGTGCWCAA
cons-ND1-FW	TTAATGGCTATWGCTGATG	cons-ND5-RV	CCWTATAATGATTCDATAATRATATCTTT

Tabela 1. Seqüências dos primers degenerados para amplificação e seqüenciamento dos ortólogos em *D. bruxellensis*

DISCUSSÃO

Os experimentos de crescimento celular revelaram que glicose e sacarose são as fontes de carbono mais adequadas para apoiar o crescimento da levedura *D. bruxellensis*. Conterno *et al.* (2006) realizaram caracterização fisiológica de diversas linhagens desta levedura e verificaram que estas mesmas fontes de carbono são mais prontamente utilizadas por *D. bruxellensis*. Entretanto, Basílio *et al.*, (2008) mostraram que o consumo de sacarose por células de *D. bruxellensis* é menor do que o observado para células de *S. cerevisiae*. Portanto, este fator não deve contribuir para a melhor adaptação de *D. bruxellensis* ao mosto de caldo de cana. Em contraposição, os experimentos de cultivo celular mostraram que *D. bruxellensis* cresce melhor em meio com acetato de potássio como fonte alternativa de carbono proporcionando uma melhor velocidade de crescimento do que os meios contendo glicose, glicerol e acetato de cálcio. Como o meio YPA favorece a respiração, há indícios que esta levedura, que possui um metabolismo Crabtree positivo, esteja utilizando a via oxidativa e seus genes para se manter nas dornas mesmo quando a sacarose é completamente depletada pela *Saccharomyces cerevisiae*.

A partir do DNA extraído foi possível a amplificação do gene *COX2* de todas as amostras. Estes fragmentos foram submetidos a seqüenciamento de nucleotídeos e os resultados mostraram uma intensa variação com doze mudanças identificadas. Segundo Hoeben *et al* (1993) estas mudanças estão de acordo com a alta taxa de evolução do gene *COX2* nessas espécies. O DNA mitocondrial evolui cerca de cinco vezes mais rápido que o DNA nuclear (Cann e Wilson 1983). Essa variação intraespecífica se deve, em primeiro lugar, ao fato da mitocôndria ser uma grande geradora de radicais livres, proporcionando um ambiente favorável a mutações no DNA. Outra causa seria a ausência de histonas, que exercem um papel protetor no DNA nuclear (Yakes e Van Houten, 1997). Além disso, a enzima DNA polimerase mitocondrial possui baixa atividade corretora quando comparada à DNA polimerase nuclear (Kunkel e Loeb, 1981) e a reparação do DNA dependente de excisão de

nucleotídeos não está presente em mitocôndrias (Croteau *et al.* 1999). A partir deste fato, das doze mudanças evidenciadas nas seqüências de DNA apenas a segunda e a sexta mudança merecem atenção. Onde se evidencia trincas de bases nas linhagens industriais que são exclusivas e não se comparam nem a *D. bruxellensis* nem a *B. custersii*. As trincas ACA e TTT das linhagens industriais se diferenciam de ACT e TTC das linhagens de *D. bruxellensis* e *B. custersii*. Do total de alterações, 18 foram transições e 30 foram transversões.

Em comparação, a seqüência de aminoácidos, traduzida com o código universal através do programa Mega 4.0 demonstrou que as linhagens industriais se identificam mais com *B. custersii* do que com *D. bruxellensis* como levedura predominante nas destilarias de caldo de cana. Liberal *et al.* (2005) descreveram estas leveduras industriais como *D. bruxellensis* através de primers específicos porém, o estudo realizado mostra que as alterações na seqüência dos aminoácidos no gene *COX2* demonstra que estas são mais parecidas com *B. custersii*. Segundo Hoebe *et al* (1993) *Dekkera bruxellensis* codifica ATA para isoleucina no código universal, porém as linhagens industriais codificam ATT metionina evidenciando o mesmo códon na espécie *B. custersii* e vice versa. Clark-Walker *et al* (1992) dizem que há uma grande semelhança entre *D. bruxellensis* e *B. custersii*, esta é enfatizada pela identidade das seqüências de aminoácidos a despeito das seqüências de DNA na qual, só foram localizadas 13 alterações pontuais. Contudo estas alterações ocorrem sempre na terceira posição o que suporta a teoria vista no trabalho de Jupeng *et al* (1996) que separa estas duas espécies em clados diferentes, demonstrando que são espécies filogeneticamente diferentes, o que nos leva a crer que as linhagens industriais são *B. custersii* e não *D. bruxellensis*.

Este tipo de identificação pela seqüência de DNA e aminoácidos já vem se mostrando utilizável. Gerdini *et al* (2000) tipificaram espécies patogênicas de *Candida glabrata* por comparação das seqüências de DNA e aminoácidos de diferentes espécies e cepas demonstrando assim a eficácia do método através do gene da citocromo oxidase dois.

A análise filogenética do gene *COX2* foi precisa no que diz respeito à suspeita de que as linhagens industriais se agrupam próximos a *B. custersii* e não a *Dekkera bruxellensis*, porém, como descrito por Hoebe *et al* (1986), este gene se encontra sob grande pressão seletiva verificando que a taxa de mutação é grande gerando controvérsias sob a certeza da classificação.

Apesar de sua importância, *D. bruxellensis* ainda é pouco caracterizada geneticamente. De fato, Woolfit *et al.* (2007) foram pioneiros no estudo genético desta levedura, tendo fornecido muitos dos dados utilizados para as atuais pesquisas envolvendo a base genética de suas capacidades fisiológicas. Estes pesquisadores realizaram um seqüenciamento parcial que cobriu aproximadamente 40% do genoma de *D. bruxellensis*, identificando cerca de 3000 genes. Dentre estes, é interessante notar a presença de genes envolvidos apenas com os genomas nucleares, uma vez que linhagens *petite* foram utilizadas pelo grupo do professor Piskur. No intuito de elucidar esta questão, primers degenerados foram sintetizados para que fosse realizado uma filogenia, através da concatenação de genes estruturais. Esta análise foi feita —in silico, gerando sete pares de primers

Em contraposição ao trabalho de Woolfit et al, 2007, no qual neste só foi utilizado mutantes sem mtDNA, este trabalho é relevante para o presente trabalho no sentido de orientar na determinação das seqüências consenso para os diferentes genes do metabolismo oxidativo. Baseado no genoma de *Saccharomyces cerevisiae* a ordem gênica foi definida como L-rRNA COII COIII S-rRNA COI ATPase 8 ATPase 6 Cyt b ATPase 9 Var 1, através de dados do Genbank *aromyces cerevisiae*. Os programas CODEHOP (<http://bioinformatics.weizmann.ac.il>) e Codon Usage (http://www.bioinformatics.org/sms2/codon_usage.html) foram usados com a finalidade de refinar o desenho de primers degenerados para amplificação dos genes ortólogos de *D. bruxellensis*. Kurtzein et al, (2007) concatenou genes através da análise —in silico— para o grupo dos hemiascomicetos definindo que *Dekkera bruxellensis* se encontra entre os hemiascomicetos. Dos primers testados 50% amplificaram com a quantidade de pares de bases prevista pelo Programa CAP3 porém não foram seqüenciados e nem clonados sendo esperado que estes primers sirvam para futuras pesquisas no âmbito de se elucidar o genoma mitocondrial desta levedura.

A partir de estudos destes genes concatenados será possível ter uma informação precisa da posição filogenética das espécies industriais, *apesar de no estudo feito o grau de identidade com B. custerssii ser bem maior do que em D. bruxellensis*. Duas únicas mudanças pontuais das linhagens industriais que se encontram na terceira base no 31º aminoácido e na terceira base do 62º aminoácido identificam um certo polimorfismo neste gene em questão. Porém a taxa de bases idênticas que se alinham num grau de semelhança faz com que as linhagens industriais preditas sejam classificadas como *B. custerssii*.

CONCLUSÃO

- O processo do protocolo da extração do mtDNA favoreceu a respiração e consequentemente a obtenção da seqüência do gene COXII.
- A análise das seqüências de DNA foram expressivas no que diz respeito à identificação de novas trincas advindas das linhagens industriais.
- A análise de aminoácidos confirma que as linhagens industriais se assemelham a *B. custerssii*.
- A síntese dos primers é benéfica no que diz respeito a servir de base para futuros estudos.
- Portanto a análise do gene COXII mostrou que as linhagens industriais ditas *D. bruxellensis* nas destilarias de caldo de cana são mais semelhantes a *B. custerssii*.

REFERÊNCIAS

- Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR (1977). Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5350-5354.
- Andrianopoulos A, Kourambas S, Sharp JA, Davis MA, Hynes MJ (1998). Characterization of the *Aspergillus nidulans* *nmrA* gene involved in nitrogen metabolism repression. *J. Bacteriol.* 180, 1973–1977.
- Attfield PV (1997). Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast. *Nat. Biotechnol.* 15:1351–1357.
- Avila J, Perez MD, Brito N, Gonzalez C, Siverio JM (1995). Cloning and disruption of YNR1 gene encoding the nitrate reductase apoenzyme of the yeast *Hansenula polymorpha*. *FEBS Lett.* 366, 137–142.
- Avila J, Gonzalez C, Brito N, Siverio JM (1998). Clustering of the YNA1 gene encoding a Zn(II)2Cys6 transcriptional factor in the yeast *Hansenula polymorpha* with the nitrate assimilation genes YNT1, YNI1 and YNR1, and its involvement in their transcriptional activation. *Biochem.J.* 335, 647–652.
- Avila J, Gonzalez C, Brito N, Machin F, Perez MD, Siverio JM (2002). A second Zn(II)2Cys6 transcriptional factor encoded by the YNA2 gene is indispensable for the transcriptional activation of the genes involved in nitrate assimilation in the yeast *Hansenula polymorpha*. *Yeast* 19, 537–544.
- Barnett JA, Payne RW, Yarrow D (2002). *Yeasts: Characteristics and Identification*. Cambridge: Cambridge University Press, 1002p
- Basílio ACM, Pinheiro W, Morais Jr MA, Simões DA (2005). Utilização do padrão de amplificação com o marcador (GTG)5 para identificação rotineira de leveduras contaminantes da fermentação alcoólica industrial. In: XV Simpósio Nacional de Bioprocessos, Recife. Anais do XV Simpósio Nacional de Bioprocessos. Recife: Editora da UFPE, v. 15. p. 1-7.
- Basílio AC, de Araújo PR, de Morais JO, da Silva Filho EA, Morais Jr MA, Simões DA (2008). Detection and identification of wild yeast contaminants of the industrial fuel ethanol fermentation process. *Curr Microbiol. Apr*;56(4):322-6.
- Bertram PG, Choi JH, Carvalho J, Ai W, Zeng C, Chan TF, Zheng XF (2000). Tripartite regulation of Gln3p by TOR, Ure2p, and phosphatases. *J. Biol. Chem.* 275, 35727–35733.
- Boer VM, Tai SL, Vuralhan Z, Arifin Y, Walsh MC, Piper MDW, de Winde JH, Pronk JT, Daran JM (2007). Transcriptional responses of *Saccharomyces cerevisiae* to preferred and nonpreferred nitrogen sources in glucose-limited chemostat cultures. *FEMS Yeast Res* 7 604–620.
- Brazma A, Vilo J (2000). Gene expression data analysis. *FEBS Letters* 480 (2000). 17-2418.
- Bruto N, Avila J, Pérez MD, Gonzalez C, Siverio JM (1996). The genes YNI1 and YNR1, encoding nitrite reductase and nitrate reductase, respectively, in the yeast *Hansenula polymorpha*. *Biochem. J.* 317, 89-95.
- Bruto N, Perez MD, Perdomo G, Gonzalez C, Garcia-Lugo P, Siverio JM (1999). A set of *Hansenula polymorpha* integrative vectors to construct lacZ fusions. *Appl Microbiol Biotechnol* 53: 23–29.
- Burger G, Tilburn J, Scazzocchio C. (1991a). Molecular cloning and functional characterization of the pathway-specific regulatory gene *nirA*, which controls nitrate assimilation in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Cell. Biol.* 11, 795–802.
- Burger G, Strauss J, Scazzocchio C, Lang BF (1991b). *nirA*, the pathway-specific regulatory gene of nitrate assimilation in *Aspergillus nidulans*, encodes a putative GAL4-type zinc finger protein and contains four introns in highly conserved regions. *Mol. Cell. Biol.* 11, 5746–5755.

Cabrini KT, Gallo CR (1999). Identificação de leveduras no processo de fermentação alcoólica em usina do Estado de São Paulo, Brasil. *Sci. agric.* vol.56 n.1 Piracicaba

Caddick MX, Arst Jr HN, Taylor L.H, Johnson RI, Brownlee AG (1986). Cloning of the regulatory gene *areA* mediating nitrogen metabolite repression in *Aspergillus nidulans*. *EMBO J.* 5, 1087–1090.

Carvalho J, Bertram PG, Wente S, Zheng XF (2001). Phosphorylation regulates the interaction between Gln3p and the nuclear import factor Srp1p. *J. Biol. Chem.* 276, 25359–25365.

Chatonnet P, Dubourdieu JN Boidron. (1995). The influence of *Brettanomyces/Dekkera* sp. yeast and lactic acid bacteria on the ethyl phenol content of red wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 46:463-468.

Chatonnet P, Viala C, Dubourdieu D (1997). Influence of polyphenolic components of red wines on the microbial synthesis of volatile phenols. *Am. J. Enol. Vitic.* 48:443- 448.

Chiang, TY & Marzluf GA (1994). DNA recognition by the NIT2 nitrogen regulatory protein: importance of the number, spacing, and orientation of GATA core elements and their flanking sequences upon NIT2 binding. *Biochemistry* 33, 576–582.

Coffman JA, Rai R, Cunningham T, Svetlov V, Cooper TG (1996). Gat1p, a GATA family protein whose production is sensitive to nitrogen catabolite repression, participates in transcriptional activation of nitrogen-catabolic genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 16, 847–858.

Cogoni C, Valenzuela L, Gonzalez-Halphen D, Olivera H, Macino G, Ballario P, Gonzalez A (1995). *Saccharomyces cerevisiae* has a single glutamate synthase gene coding for a plant-like high-molecular-weight polypeptide. *J. Bacteriol.* 177, 792–798.

Conterno L, Joseph CML, Arvik TJ, Henick-Kling T, Bisson LF (2006). Genetic and physiological characterization of *Brettanomyces bruxellensis* strains isolated from wines. *Am. J. Enol. Vitic.* 57:139–147.

Cooper TG (2002). Transmitting the signal of excess nitrogen in *Saccharomyces cerevisiae* from the Tor proteins to the GATA factors: connecting the dots. *FEMS Microbiol. Rev.* 26, 223-238.

Coschigano PW, Magasanik B (1991). The URE2 gene product of *Saccharomyces cerevisiae* plays an important role in the cellular response to the nitrogen source and has homology to glutathione transferases. *Mol. Cell. Biol.* 11, 822–832.

Coton E, Coton M, Levert D, Casaregola S, Sohier D (2006). Yeast ecology in French cider and black olive natural fermentations. *Int. J. Food Microbiol.* 108: 130–135.

Courchesne WE, Magasanik B. (1988). Regulation of nitrogen assimilation in *Saccharomyces cerevisiae*: roles of the URE2 and GLN3 genes. *J. Bacteriol.* 170, 708–713.

de Azeredo LA, Gomes EA, Mendonca-Hagler LC, Hagler AN (1998). Yeast communities associated with sugarcane in Campos, Rio de Janeiro, Brazil. *Int Microbiol* 1, 205–208.

de Souza Liberal AT, da Silva Filho EA, de Moraes JO, Simões DA, Moraes Jr MA (2005). Contaminant yeast detection in industrial ethanol fermentation must by rDNA-PCR. *Lett Appl Microbiol.* 40(1):19-23.

de Souza Liberal AT, Basílio ACM, Resende AM, Brasileiro BTV, da Silva-Filho EA, de Moraes JOF, Simões DA, de Moraes JR MA (2007). Identification of *Dekkera bruxellensis* as a major contaminant yeast in continuous fuel ethanol fermentation. *J. Appl. Microbiol.* 102, 538–547.

Feng B & Marzluf GA (1998). Interaction between major nitrogen regulatory protein NIT2 and pathway-specific regulatory factor NIT4 is required for their synergistic activation of gene expression in *Neurospora crassa*. *Mol. Cell. Biol.* 18, 3983–3990.

- Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. *Biotechniques* 26:112–125.
- Fu YH, Feng B, Evans S, Marzluf GA (1995). Sequencespecific DNA binding by NIT4, the pathway-specific regulatory protein that mediates nitrate induction in *Neurospora*. *Mol. Microbiol.* 15, 935–942.
- Garcia-Lugo P, Gonzalez C, Perdomo G, Brito N, Avila J, de la Rosa JM, Siverio JM (2000). Cloning, sequencing, and expression of HaYNR1 and HaYNI1, encoding nitrate and nitrite reductases in the yeast *Hansenula anomala*. *Yeast* 16, 1099-1105.
- Gerós H, Azevedo MM, Cássio F (2000). Biochemical studies on the production of acetic acid by the yeast *Dekkera anomala*. *Food Technol. Biotechnol.* 38: 59- 62.
- Godard P, Urrestarazu A, Vissers S, Kontos K, Bontempi G, van Helden J, Andre B (2007). Effect of 21 Different Nitrogen Sources on Global Gene Expression in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* p. 3065–3086.
- Gomes FC, Pataro C, Guerra JB, Neves MJ, Correa SR, Moreira ES, Rosa CA (2002). Physiological diversity and trehalose accumulation in *Schizosaccharomyces pombe* strains isolated from spontaneous fermentations during the production of the artisanal Brazilian cachaça. *Can J Microbiol* 48, 399–406.
- Granchi L, Bosco M, Messini A, Vincenzini M (1999). Rapid detection and quantification of yeast species during spontaneous wine fermentation by PCR- RLFP analysis of the rDNA ITS region. *J. Appl. Microbiol.* 87, 949–956.
- Grenson M, Dubois E, Piotrowska M, Drillien R, Aigle M (1974). Ammonia assimilation in *Saccharomyces cerevisiae* as mediated by the two glutamate dehydrogenases. Evidence for the *gdhA* locus being a structural gene for the NADP-dependent glutamate dehydrogenase. *Mol. Gen. Genet.* 128, 73–85.
- Grenson M & Dubois E (1982). Pleiotropic deficiency in nitrogen uptake systems and derepression of nitrogen-catabolite enzymes in *npr-1* mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur. J. Biochem.* 121, 643-647.
- Guerra JB, Araújo RA, Pataro C, Franco GR, Moreira ES, Mendonca-Hagler LC, Rosa CA (2001). Genetic diversity of *Saccharomyces cerevisiae* strains during the 24 h fermentative cycle for the production of the artisanal Brazilian cachaça. *Lett Appl Microbiol* 33, 106–111.
- Hahn S (2004). Structure and mechanism of the RNA polymerase II transcription machinery. *Nat. Struc. & Mol. Biol.* 11:394-403.
- Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM (1996). Real time quantitative PCR. *Genome Res* 6:986– 994.
- Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)* 10:413 – 417.
- Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R (1993). Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (NY)* 11:1026 – 1030.
- Horak J (1997). Yeast nutrient transporters. *Bioch. Biophys. Acta.* 1331, 41–79.
- Ibeas JI, Lozano I, Perdignes F, Jimenez J (1996). Detection of *Dekkera*– *Brettanomyces* strains in sherry by a nested PCR method. *Appl Environ Microbiol* 62: 998–1003.
- Kornberg RD, Lorch Y (1999). *Cell* 98, 285–294.

- Kornberg RD (2007). The molecular basis of eukaryotic transcription. PNAS August 7, 2007 vol. 104 no. 32 12955–12961.
- Lema C, Garcia-Jares C, Orriols I, Angulo L (1996). Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albariño wine aroma. *Am. J. Enol. Viticult.* 47, 206– 216.
- Lima UA (2001). *Biotecnologia industrial. Processos fermentativos e enzimáticos*. Vol.1, SP, Editora Blucher LTDA.
- Lin Y, Tanaka S (2006). Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 69: 627–642.
- Liu W, Saint DA (2002). Validation of a quantitative method for real time PCR kinetics. *Biochem Biophys Res Commun* 294:347– 353.
- Livak KJ (2001). User Bulletin #2, ABI PRISM 7700 Sequence detection system. Applied Biosystems. <http://www.docs.appliedbiosystems.com/pebi docs/ 04303859.pdf>.
- Livak KJ & Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods* 25:402-408.
- Loureiro V & Malfeito-Ferreira M. (2003) Spoilage yeasts in the wine industry. *Int J Food Microbiol* 86, 23–50.
- Magasanik, B (1992). Regulation of nitrogen utilization. In: *The Molecular and Cellular Biology of the Yeast Saccharomyces: Gene Expression* (Jones, E.W., Pringle, J.R. and Broach, J.R., Eds.), pp. 283-317. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Magasanik B & Kaiser CA (2002). Nitrogen regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 290: 1–18.
- Magasanik B (2003). Ammonia Assimilation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic Cell*, p. 827–829
- Marzluf GA (1997). Genetic Regulation of Nitrogen Metabolism in the Fungi. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* p. 17–32. Vol. 61, No. 1
- Miller SM, Magasanik B (1990). Role of NAD-linked glutamate dehydrogenase in nitrogen metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 172, 4927– 4935.
- Miot-Sertier C & Lonvaud-Funel A (2007). Development of a molecular method for the typing of *Brettanomyces bruxellensis* (*Dekkera bruxellensis*) at the strain level. *J. Appl. Microbiol.* 102 555–562.
- Mitchell AP, Magasanik B (1983). Purification and properties of glutamine synthetase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* 258, 119–124.
- Mitchell AP (1985). The GLN1 locus of *Saccharomyces cerevisiae* encodes glutamine synthetase. *Genetics* 111, 243–258.
- Mitrakul CM, Henick-Kling T & Egli CM (1999) Discrimination of *Brettanomyces*/ *Dekkera* yeast isolates from wine by using various DNA fingerprint methods. *Food Microbiol* 16: 3–14.
- Mo X & Marzluf GA (2003) Cooperative action of the NIT2 and NIT4 transcription factors upon gene expression in *Neurospora crassa*. *Curr. Genet.* 42, 260– 267.

Molina FI, Shen P, Jong SC (1993) Validation of the species concept in the genus *Dekkera* by restriction analysis of genes coding for rRNA. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43:32-35.

Narendja F, Goller SP, Wolschek M, Strauss J (2002). Nitrate and the GATA factor AreA are necessary for in vivo binding of NirA, the pathway-specific transcriptional activator of *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 44, 573–583.

Navarro FJ, Marchin F, Martín Y, Siverio JM (2006). Down-regulation of Eukaryotic Nitrate Transporter by Nitrogen-dependent Ubiquitinylation. *The Journal of Biol. Chem.* Vol. 281, No. 19, pp. 13268–1327.

Olasupo NA, Bakre S, Teniola OD, James SA (2003). Identification of yeasts isolated from Nigerian sugar cane peels. *J. Basic Microbiol.* 43, 530–533.

Pannetier C, Delassus S, Darche S, Saucier C, Kourilsky P (1993). Quantitative titration of nucleic acids by enzymatic amplification reactions run to saturation. *Nucleic Acids Res.* 21 :57 7 – 58 3.

Parthun MR, Jaehning JA (1990). Purification and characterization of the yeast transcriptional activator GAL4. *J. Biol. Chem.* 265, 209–213.

Passoth V, Blomqvist J, Schnürer J (2007). *Dekkera bruxellensis* and *Lactobacillus vini* form a stable ethanol-producing consortium in a commercial alcohol process. *Appl. Environ. Microbiol.*

Pérez MD, González C, Ávila J, Brito N, Siverio JM (1997). The YNT1 gene encoding the nitrate transporter in the yeast *Hansenula polymorpha* is clustered with genes YNI1 and YNR1 encoding nitrite reductase and nitrate reductase, and its disruption causes inability to grow in nitrate. *Biochem. J.* 321, 397±403

Phister TG & Mills DA (2003). Real-Time PCR Assay for Detection and Enumeration of *Dekkera bruxellensis* in Wine. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 7430–7434. Vol. 69, No. 12.

Pignocchi C, Berardi E, Cox BS (1998). Nitrate reduction and the isolation of Nit mutants in *Hansenula polymorpha*. *Microbiology* 144, 2323–2330.

Piskur J, Rozpedowska E, Polakova S, Merico A & Compagno C (2006). How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? *Trends Genet.* 22:183– 186.

Pretorius IS (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16:675–729.

Renouf V & Lonvaud-Funel A (2007). Development of an enrichment medium to detect *Dekkera/Brettanomyces bruxellensis*, a spoilage wine yeast, on the surface of grape berries. *Microbiological Research* 162 154–167.

Renouf V, Falcou M, Miot-Sertier C, Perello MC, De Revel G, Lonvaud-Funel A (2006). Interactions between *Brettanomyces bruxellensis* and other yeast species during the initial stages of winemaking. *J. Appl. Microbiol.* 100:1208– 1219.

Reue K (1998). mRNA Quantitation Techniques: Considerations for Experimental Design and Application. *Am. Soc. Nutr. Sci. J. Nutr.* 128: 2038–2044.

Röder C, König H & Fröhlich J (2007). Species-specific identification of *Dekkera/Brettanomyces* yeasts by Fluorescently labeled DNA probes targeting the 26S rRNA. *FEMS Yeast Res* 1–14.

Rossi B, Manasse S, Serrani F, Berardi E (2005). *Hansenula polymorpha* NMR2 and NMR4, two new loci involved in nitrogen metabolite repression. *FEMS Yeast Res.* 2005 Nov;5(11):1009-17. Epub 2005 Sep 27.

- Rowen DW, Esiobu N, Magasanik B. (1997). Role of GATA factor Nil2p in nitrogen regulation of gene expression in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 179, 3761–3766.
- Scheffe JH, Lehmann KE, Buschmann IR, Unger T, Funke-Kaiser H (2006). Quantitative real-time RT-PCR data analysis: current concepts and the novel “gene expression’s CT difference” formula. *Journal of molecular medicine*. Nov;84(11):901-10.
- Schwan RF, Mendonca AT, da Silva JJ, Jr Rodrigues V, Wheals AE (2001). Microbiology and physiology of Cachaca (Aguardente) fermentations. *Antonie Van Leeuwenhoek* 79, 89–96.
- Serrani F, Rossi B, Berardi E (2001). Nitrogen metabolite repression in *Hansenula polymorpha*: the nmrl-1 mutation. *Curr. Genet.* 40, 243–250.
- Sherata AM (1960). Yeasts isolated from sugar cane and its juice during the production of aguardente de cana. *Appl Microbiol* 8, 73–75.
- Silva Filho EA (2003) Caracterização genética de populações de leveduras em destilarias de álcool combustível com vistas a seleção de linhagens promissoras para expressão heteróloga de genes de interesse industrial. Tese de Doutorado, UFPE – Biologia de Fungos. 120p.
- Silva-Filho EA, Santos SKB, Resende AM, Morais JOF, Morais Jr MA, Simões DA (2005a). Yeast population dynamics of industrial fuel-ethanol fermentation process assessed by PCR-fingerprinting. *Antonie van Leeuwenhoek* 88, 13- 23.
- Silva-Filho EA, de Melo HF, Antunes DF, dos Santos SK, do Monte Resende A, Simões DA, Morais Jr MA (2005b). Isolation by genetic and physiological characteristics of a fuel-ethanol fermentative *Saccharomyces cerevisiae* strain with potential for genetic manipulation. *J Ind Microbiol Biotechnol.* Oct;32(10):481-6.
- Siverio JM (2002). Assimilation of nitrate by yeasts. *FEMS Microbiology Reviews* 26 277-284.
- Southern EM (1975). Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 98: 503–517.
- Stanbrough M, Magasanik B (1995). Transcriptional and posttranslational regulation of the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* 174, 94–102.
- Stanbrough M, Rowen DW, Magasanik B, (1995). Role of the GATA factors Gln3p and Nil1p of *Saccharomyces cerevisiae* in the expression of nitrogen- regulated genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 9450–9454.
- ter Schure EG, Sillje HHW, Vermeulen EE, Kalhorn JW, Verkleij AJ, Boonstra J, Verrips CT (1998). Repression of nitrogen catabolic genes by ammonia and glutamine in nitrogen-limited continuous cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*, 144, 1451–1462.
- ter Schure EG, van Riel NAW, Verrips CT (2000). The role of ammonia metabolism in nitrogen catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 24 67-83.
- The Basics: Northern Analysis. Ambion Applied Biosystems. <http://www.ambion.com/techlib/basics/northern/index.html>
- VanGuilder HD, Vrana KE, Freeman WM (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *BioTechniques* 44:619-626

- van Maris AJA, Abbott DA, Bellissimi E, van den Brink J, Kuyper M, Luttik MAH, Wisselink HW, Scheffers WA, van Dijken JP, Pronk JT (2006). Alcoholic fermentation of carbon sources in biomass hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae*: current status. *Antonie van Leeuwenhoek*, 90:391–41
- Wheals AE, Basso LC, Alves DMG, Amorim HV (1999). Fuel ethanol after 25 years. *Tibtech*, Vol 17.
- Wiame JM, Grenson M, Arst Jr H.N (1985). Nitrogen catabolite repression in yeasts and filamentous fungi. *Adv. Microbiol. Physiol.* 26, 1–88.
- Wilhelm J, Pingoud A (2003). Real-time polymerase chain reaction. *Chembiochem* 4:1120– 1128.
- Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP (1997). Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques* 22:130 – 138.
- Woolfit M, Rozpedowska E, Piskur J, Wolfe KH (2007). Genome Survey Sequencing of the Wine Spoilage Yeast *Dekkera* (*Brettanomyces*) *bruxellensis*. *Eukaryotic Cell*, Apr. 2007, Vol. 6, No. 4, p. 721–733.
- Wray GA, Hahn MW, Abouheif E, Balhoff JP, Pizer M, Rockman MV, Romano LA (2003). The Evolution of Transcriptional Regulation in Eukaryotes. *Mol. Biol. E* vol. 20(9):137 7–1419.
- Xiao X, Fu YH, Marzluf GA (1995). The negative-acting NMR regulatory protein of *Neurospora crassa* binds to and inhibits the DNA-binding activity of the positive-acting nitrogen regulatory protein NIT2. *Biochemistry* 34, 8861–8868.
- Zipper H, Brunner H, Bernhagen J, Vitzthum F (2004). Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications. *Nucleic Acids Res.* 32:e103.

CONTRIBUIÇÕES DO ESTÁGIO CURRICULAR NO CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DO IFPI: PERCEPÇÃO DISCENTE



<https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402103>

Data de aceite: 17/10/2024

Joseane Inácio da Silva Moraes

EMBRAPA/MN; Teresina/PI
<http://lattes.cnpq.br/0035369080655781>

Hortência Kardec da Silva

Centro Universitário Maurício de Nassau/
Polo São Raimundo Nonato/PI
São Raimundo Nonato/PI
<http://lattes.cnpq.br/1799010022139668>

RESUMO: O estágio curricular é o momento onde os alunos dos cursos de Licenciatura podem colocar em prática toda, ou pelo menos parte da teoria vista em sala de aula. O objetivo do trabalho consistiu em analisar as contribuições do estágio curricular na formação profissional dos alunos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFPI. Os sujeitos da pesquisa foram nove estudantes que estão cursando o sétimo período do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFPI e dez estudantes egressos do curso. Neste estudo, foram utilizados dois instrumentos de coleta de dados, o primeiro deles foi a aplicação de dois questionários e o outro instrumento utilizado foi o levantamento de documentos institucionais. Os resultados revelaram que os discentes entendem que o estágio

proporciona a conexão da teoria com a prática; o desenvolvimento profissional e pessoal; o contato direto com a profissão docente e com profissionais experientes na área; e também possibilita a tomada de decisão se querem ou não continuar na profissão que inicialmente escolheram. Portanto, são inúmeras as contribuições do estágio para os alunos do curso de Biologia do IFPI. No entanto, alguns pontos devem ser melhorados, como a falta de professor supervisor em número suficiente para o acompanhamento de todos os alunos no momento de desenvolver a prática docente. **PALAVRAS-CHAVE:** Docentes, prática educativa, ensino-aprendizagem, Biologia.

CONTRIBUTIONS OF THE CURRICULAR INTERNSHIP IN THE LICENSE COURSE IN BIOLOGICAL SCIENCES AT IFPI: STUDENT PERCEPTION

ABSTRACT: The curricular internship is the moment when students on degree courses can put into practice all, or at least part, of the theory seen in the classroom. The aim of this study was to analyze the contributions made by the curricular internship to the professional training of students on the Biological Sciences degree course at IFPI. The subjects of the study were nine students who are studying for their seventh term in the Biological Sciences degree course at IFPI and ten students who have graduated from the course. In this study, two data collection instruments were used, the first of which was the application of two questionnaires and the other instrument used was a survey of institutional documents. The results revealed that the students believe that the internship provides a connection between theory and practice; professional and personal development; direct contact with the teaching profession and with experienced professionals in the field; and also makes it possible to decide whether or not to continue in the profession they initially chose. Therefore, the internship's contributions to IFPI Biology students are numerous. However, some points need to be improved, such as the lack of a sufficient number of supervising teachers to accompany all the students as they develop their teaching practice.

KEYWORDS: Teachers, educational practice, teaching-learning, Biology.

INTRODUÇÃO

O estágio curricular é o momento onde os alunos dos cursos de Licenciatura podem colocar em prática toda, ou pelo menos parte da teoria vista em sala de aula, possibilitando dessa forma aos estudantes as vantagens do aprender fazendo, sendo, portanto, uma oportunidade insubstituível para a construção da identidade profissional, estabelecendo-se assim um vínculo entre o saber e o saber fazer. O Estágio/Prática de Ensino realizado nos cursos de formação de professores para a Educação Básica vem a ser um exercício de participação, de conquista e aprendizado voltado à formação do profissional professor (PERRENOUD, 2001).

Devido à necessidade de professores na área de Ciências Biológicas, Química, Física e Matemática o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI) oferece à comunidade esses cursos de licenciaturas que visam entre outros objetivos atender à demanda por profissionais qualificados. O curso de Biologia dentre as muitas disciplinas que proporcionam o embasamento teórico, possibilita aos alunos ainda o Estágio Curricular Obrigatório, ou seja, a parte prática, através das disciplinas Prática Profissional, as quais são responsáveis por possibilitarem a produção de conhecimentos pedagógicos formais. O Estágio Curricular Supervisionado é uma etapa obrigatória dos cursos de Formação de Professores de acordo com as Resoluções CNE/CP nº 01/2002 e CNE/CP nº 02/2002.

Ainda de acordo com a CNE/CP nº 02/2002, a prática de ensino não pode estar desconectada do restante do curso, num espaço reduzido, configurando como estágio isolado. Pelo contrário, a prática deve ser valorizada desde o início do curso, permeando todo o itinerário formativo do professor, ou seja, deverá estar integrada a todas as disciplinas que formam a matriz curricular do curso e não somente às disciplinas pedagógicas como acontece via de regra.

Dentre os objetivos do estágio curricular está o desenvolvimento dos estudantes através de experiências práticas para que dessa forma possa lhes ser possibilitado a análise de situações, o desenvolvimento de estratégias e a criação de ferramentas inovadoras na prática docente. Formando assim, profissionais críticos reflexivos capazes de promoverem mudanças no ambiente profissional ao qual serão inseridos após a formação. Nesse contexto, o Estágio Curricular é de grande relevância nas Instituições de Ensino Superior para a formação profissional dos futuros docentes, portanto devem ser realizadas pesquisas sobre como o Estágio curricular está acontecendo nas Instituições, tais estudos irão contribuir para que a prática educativa se desenvolva de forma eficiente. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi analisar as contribuições do Estágio curricular na formação profissional dos alunos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFPI.

MATERIAL E MÉTODOS

Instituição campo de pesquisa

O Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí é uma instituição que oferece educação profissional tecnológica de nível médio, graduação e pós-graduação. Atualmente o IFPI possui 20 unidades descentralizadas com sede situada na Praça da Liberdade nº 1597 no centro de Teresina/PI.

Delimitação da amostra

Os sujeitos da pesquisa foram nove estudantes que estão cursando o sétimo período do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do IFPI e dez estudantes egressos do curso de Licenciatura Plena em Biologia. Os estudantes do sétimo período foram selecionados por estarem realizando o estágio curricular, ou seja, cursando a disciplina Prática Profissional III, já os estudantes concludentes foram escolhidos por já terem passado por todas as disciplinas práticas do curso.

Instrumentos e procedimentos de coletas de dados

Neste estudo foram utilizados dois instrumentos de coleta de dados, o primeiro deles foi a aplicação de dois questionários, tipo A e B, que apresentavam uma combinação de perguntas abertas e fechadas para os estudantes do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do sétimo período e os egressos. O questionário é uma entrevista estruturada que tem a função de descrever características e medir determinadas variáveis de um grupo social. Podem apresentar perguntas fechadas, perguntas abertas ou de caráter misto. As perguntas fechadas são destinadas a obter informações sociodemográfica dos entrevistados e identificação de opiniões, já as perguntas abertas são destinadas ao aprofundamento das opiniões do entrevistador (RICHARDSON, 2008).

O outro instrumento utilizado foi o levantamento de documentos institucionais para a análise, como o Projeto Político Pedagógico Institucional do IFPI, a matriz curricular do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas e os planos das disciplinas Prática Profissional, sendo esses documentos importantes fontes na condução da pesquisa.

ANÁLISE DE DADOS

Inicialmente após o retorno dos questionários foi realizada a pré-análise e organização do material onde houve a verificação, a codificação e a tabulação dos mesmos. Além disso, foi verificado se todas as questões tinham sido respondidas, se o texto era compreensível e se as respostas possuíam coerência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados a seguir demonstram as contribuições do estágio curricular na visão dos alunos do curso de Licenciatura em Biologia do IFPI. O questionário contemplou perguntas objetivas e subjetivas, perfazendo assim um total de sete questões. A primeira questão é referente ao que representa para os alunos o Estágio Curricular. O que se evidenciou nessa questão foi que para a maioria dos alunos o estágio é a possibilidade de vivenciar na prática as teorias vistas em sala de aula, sendo seguida pela oportunidade de desenvolvimento profissional (Tabela 1).

O que representa para você o Estágio Curricular?	Frequência das respostas	%
Ligação entre a teoria e a prática	8	42, 10
Desenvolvimento profissional	5	26,31
Observar pontos positivos e negativos da profissão	3	15,78
Iniciação à docência	2	10,52
Disciplina autoritária e de interesse institucional	1	5,26

Tabela 1 - Representações do Estágio Curricular para os alunos do IFPI.

O estágio muitas vezes é entendido como atividade prática, entretanto, na concepção de Pimenta (2006) o estágio não é atividade prática, mais sim teórica, instrumentalizadora da práxis docente, devendo ser entendida como uma atividade de transformação da realidade. Sendo, portanto, uma atividade teórica de conhecimento, fundamentação, diálogo e intervenção, ou seja, é no contexto da sala de aula, do sistema de ensino e da sociedade que a práxis se dá. Ainda de acordo com a autora a finalidade do estágio é propiciar aos alunos uma aproximação da realidade.

O período de realização do estágio pré-profissional é fundamental na carreira de qualquer profissional docente, pois é no exercício da profissão que se consolida o processo de tornar-se professor, ou seja, o aprendizado da profissão a partir de seu exercício possibilita configurar como vai sendo construído o processo de aprender a ensinar. Tal construção ocorre à medida que o professor vai efetivando a articulação entre os conhecimentos teóricos/acadêmicos e o contexto escolar com a prática docente.

Quando questionados sobre a importância do estágio para o processo de formação profissional quase que uma totalidade dos estudantes considera que seja muito importante (Gráfico 3).

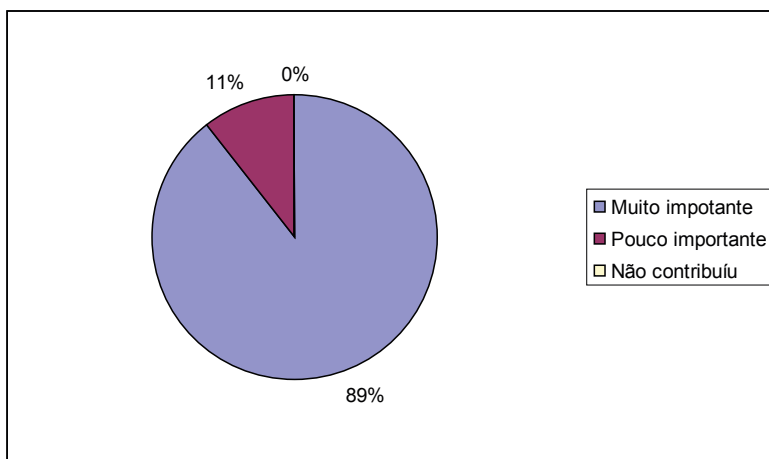


Gráfico 3- A importância do estágio para o processo de formação profissional

Pediu-se ainda que, com relação ao nível de importância relacionado ao estágio para os alunos atribuírem uma justificativa as suas respostas. Algumas dessas justificativas podem ser observadas logo abaixo:

"Nos ajuda a definir métodos de ação e escolher a melhor forma de proceder no processo ensino-aprendizagem, visando um exercício satisfatório de nossa profissão" (Aluno 4).

"Através do estágio foi possível vivenciar as situações de adversidade em sala de aula, foi uma prévia do que vamos encontrar durante a execução de nossa profissão" (Aluno 12).

“É o ponto inicial para aprender a lidar com as situações de professor, momento de experiência onde adquirimos autonomia e maturidade para a resolução de problemas rotineiros em ambiente escolar” (Aluno 18).

Como se pode observar, para os alunos, o estágio é um momento de familiarização com a profissão docente, é onde eles podem vivenciar as diferentes situações que o futuro professor irá encontrar em sala de aula, adquirindo assim experiências e buscando alternativas para lidar com essas situações da forma mais adequada, favorecendo sempre o aprendizado de seus educandos, ou seja, é o momento do “aprender fazendo”. Nesse pressuposto Pimenta (2006), afirma que a formação deve preparar o estagiário para a realização das atividades a serem desenvolvidas nas escolas, com os professores em sala de aula, bem como para exercício de análise, avaliação e crítica, possibilitando dessa forma a intervenção a partir de desafios e das dificuldades que a rotina do estágio nos revela.

Outro questionamento foi quanto à presença de um professor supervisor para o acompanhamento dos alunos nas atividades desenvolvidas durante a prática docente, ajudando-os a planejar, a desenvolver materiais, diferentes estratégias em sala de aula e posteriormente avaliá-los, nessa questão, porém houve divergência nas respostas (Gráfico 4).

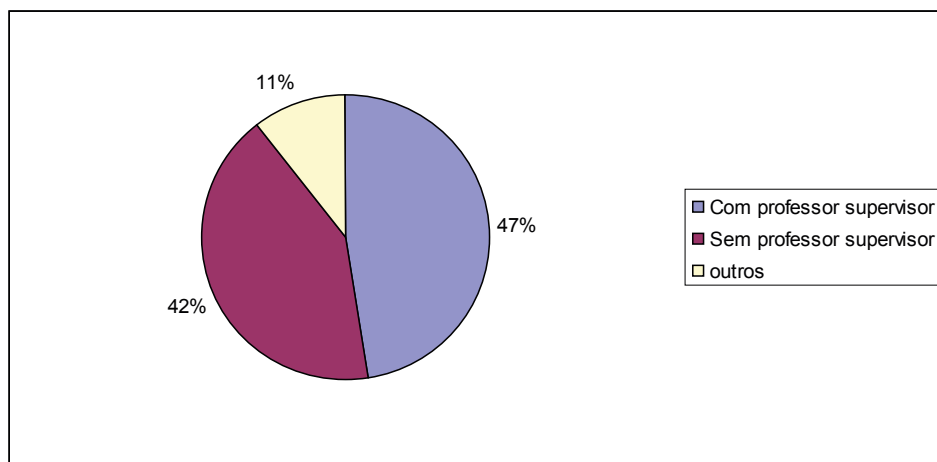


Gráfico 4- Opinião dos alunos quanto ao acompanhamento do professor supervisor.

Nos termos da Lei nº 11.788, de 25 de setembro de 2008, que dispõe sobre o estágio de estudantes, em seu capítulo II, inciso III, estabelece-se que, é de responsabilidade da Instituição de Ensino indicar, professor orientador, da área a ser desenvolvida no estágio como responsável pelo acompanhamento e avaliação do estagiário.

Cabe ao supervisor de estágio da Instituição de Ensino Superior e professor regente de turma da escola ajudar os licenciandos a se tornarem mais conscientes dos conhecimentos que já possuem, além de estimular diferentes formas de reflexão, ampliando o processo de problematização da prática. Pois é no momento da prática que os estagiários

estão mais sensíveis e receptivos às sugestões de colegas. Uma orientação adequada neste período pode contribuir para aquisição de maior confiança e dedicação ao longo de sua carreira.

O professor que recebe o estagiário é um profissional experiente que assume a responsabilidade de conduzir o futuro professor nas inserções pelo ensino, em sua sala de aula na escola básica, garantindo que o estágio se configure como “tempo de aprendizagem” que supõe uma relação pedagógica entre alguém que já é um profissional reconhecido em um ambiente institucional de trabalho e um aluno estagiário (BRASIL, 2001). Entretanto, muitas vezes, esses professores atuam apenas no limite da concessão do espaço da sala de aula aos alunos estagiários para que estes possam cumprir seu estágio, sem compartilhar suas perspectivas de ensino, num contexto em que as atividades desenvolvidas parecem compor um protocolo que não foi estabelecido por ambas às partes.

Nesse sentido, é restrito ao professor supervisor da instituição orientar e encaminhar os futuros professores para o estágio a fim de que se efetive o contato com a realidade da escola e da sala de aula e o aluno possa, de fato, vir a conhecer esse espaço de atuação de forma direta e realista. Ele coordena ações e juntamente com o professor em atividade na escola, desenvolve atividades inerentes ao ensino, de forma a cumprir adequadamente a finalidade do estágio, que é a aprendizagem da docência.

De acordo com o exigido pela Lei do estágio, o IFPI disponibiliza sim, professores para que possam acompanhar e avaliar seus alunos estagiários, entretanto, o que se observa é que ainda existe uma carência de profissionais na instituição, o que faz com que um professor tenha que supervisionar muitos alunos ao mesmo tempo. Abaixo podemos acompanhar algumas das respostas dadas pelos alunos com relação ao acompanhamento do Professor Supervisor.

“Ao realizar meu estágio tive a atenção de um professor que me guiou em minhas ações” (Aluno 7).

“Visto que o professor supervisor não tem muita disponibilidade de tempo, não há este acompanhamento de perto para com o estagiário” (Aluno 5).

“Não teve, de fato, um professor supervisor, tivemos um professor para a disciplina, em que não foi proveitoso” (Aluno 15).

Foi perguntado ainda se, na opinião dos discentes, os profissionais destinados a supervisão dos estagiários possuíam qualificação adequada ao desenvolvimento dessa atividade. Foi observado que, 68,42% dos alunos responderam que eles possuem sim a qualificação e competência adequadas ao acompanhamento, afirmando ainda que, como já explicitado anteriormente, o que existe é um número muito baixo de professores para acompanhar todos os alunos que estão matriculados na disciplina Estágio Supervisionado, deixando dessa forma muitos alunos sem supervisão. Os outros 31,58% afirmam que os professores não possuem a qualificação necessária ao desenvolvimento da atividade de supervisão, visto que muitos não são da área em que estão supervisionando.

Pediu-se então para que os alunos relacionassem os pontos positivos e negativos referentes ao Estágio curricular, sendo assim, descritos na tabela abaixo os assuntos mais relevantes segundo eles.

Pontos positivos	Pontos negativos
Contato direto com a prática	Falta de um professor supervisor
Conhecer as dificuldades de ser professor	Burocracia excessiva no que se refere à documentação exigida.
Desenvolvimento profissional do aluno	Falta de pagamento do seguro por parte do IFPI
Relacionar teoria e prática	Falta de acompanhamento pela escola campo.
Professor sempre presente	Pouco tempo para cumprir a carga horária
Saber se querem continuar ou não na profissão	Restrito

Pode-se perceber que são muitos os pontos positivos no que diz respeito à disciplina Estágio Curricular no IFPI, no entanto, ao mesmo tempo verificou-se a ocorrência também de alguns pontos negativos. É notório que sempre está em evidência a questão de que é no momento do estágio que os alunos podem relacionar a teoria e a prática, o que lhes possibilita o desenvolvimento e aperfeiçoamento da profissão docente.

Outro ponto positivo citado pelos alunos é o fato de ser nesse momento que muitos alunos decidem se querem ou não seguir a carreira docente. Muitos estudantes quando iniciam os Estágios Supervisionados deparam-se com uma espécie de “desencanto” mediante a realidade das salas de aula. Nessa perspectiva Perissé (2009) afirma que seria interessante se nos primeiros anos de atividade profissional eles fossem acompanhados pelo coordenador, isso de fato, evitaria as desistências com a profissão. Por isso, a importância do professor supervisor, cujo objetivo é orientar o aluno em sua iniciação docente, ensinando-o a planejar, a desenvolver estratégias, orientando-o na tomada de decisões e acima de tudo fazendo com que o estudante aprenda a refletir a sua prática, para que, dessa forma, venha a contribuir na relação ensino-aprendizagem promovendo mudanças no contexto social que futuramente estará inserido.

Foi solicitado ainda aos alunos que definissem em sua concepção o que é ser professor. Em análise às respostas foi perceptível que alguns deles ainda possuem a concepção de que o professor seja apenas um transmissor de conhecimento, ou seja, aquela pessoa que estuda, aprende e quando chega à sala de aula repassa mecanicamente todo o conhecimento adquirido ao longo de sua formação. Entretanto, muitos outros afirmaram que ser professor não é apenas transmitir conhecimento, mas ser um mediador do mesmo e contribuir para a vida de alguém respeitando a realidade e as diferenças individuais de cada estudante e ainda ser responsável por transformar essa realidade social e conduzir o aluno a ir em busca de conhecimento.

Para Freire (2006) o professor é um indivíduo que leva a sério sua profissão, que estuda, se esforça para desempenhar uma boa didática e tem força moral para coordenar as atividades da classe que assume. Além disso, o bom professor sabe coordenar a sua emancipação e desenvolvimento profissional.

E por último foi perguntado aos discentes o que mudariam na disciplina Estágio curricular no IFPI. Muitas foram as sugestões de mudança na disciplina de Estágio Supervisionado, evidencia-se aqui que os alunos reconhecem a importância de haver um professor que os oriente para que o processo de aprendizado possa acontecer de forma mais eficaz.

Assim para os alunos são muitas as contribuições do Estágio curricular, fazendo-os desenvolverem-se tanto pessoal como profissionalmente, permitindo ainda o contato direto com a profissão docente e possibilitando-lhes o contato com profissionais experientes e aprender com eles, entretanto, o IFPI ainda deixa a desejar no que diz respeito a questões referente ao baixo número de professores supervisores o que faz com que a prática termine por não alcançar completamente todos os seus objetivos.

CONCLUSÕES

Pode-se observar que são muitas as contribuições do estágio para os alunos do curso de biologia do IFPI. Os discentes entendem que é no momento da prática que eles estão em contato direto com a profissão, sendo assim, o estágio é o momento onde eles entram em contato com a realidade da escola e podem começar a viver essa realidade. Além disso, esse é o momento de decidirem se querem ou não continuar na profissão que inicialmente escolheram para si. No entanto, foi possível observar que o estágio curricular ainda necessita de melhorias, por exemplo, a falta de professor supervisor em número suficiente para o acompanhamento de todos os alunos no momento de desenvolver a prática docente. Muitos dos futuros profissionais docentes não possuem o acompanhamento do professor supervisor quando vão desenvolver a prática do estágio, o que acaba por impossibilitar o desenvolvimento eficaz da prática educativa.

REFERÊNCIAS

BRASIL. MEC. Conselho Nacional de Educação. Parecer nº 09, de 2001. Institui Diretrizes Curriculares Nacionais para a Formação de Professores da Educação Básica, em nível superior, curso de licenciatura, de graduação plena. Diário Oficial da União, Brasília, Diário Oficial da União, 18/01/2001.

BRASIL. Conselho Nacional de Educação. Resolução CNE/CP nº 01, de 18 de fevereiro de 2002. Institui as Diretrizes Curriculares Nacionais para a Formação de Professores da Educação Básica, em nível superior, curso de licenciatura, de graduação plena. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 9 abr. 2002, Seção 1, p. 31.

BRASIL. Conselho Nacional de Educação. Resolução CNE/CP nº 02, de 19 de fevereiro de 2002. Institui a duração e a carga horária dos cursos de formação de professores da educação básica em nível superior, curso de licenciatura, de graduação plena. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 mar. 2002, Seção 1, p. 9.

BRASIL. Lei nº 11.788, de 25 de setembro de 2008. Dispõe sobre o estágio de estudantes e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 26 set. 2008. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/l11788.htm. Acesso em: 10 set. 2024.

FREIRE, P. Pedagogia da Autonomia: saberes necessários à prática educativa. São Paulo: Paz e Terra, 1996.

PERRENOUD, P., Paquay, L., altet, M. & Charlier, E. Formando professores profissionais. Quais estratégias? Quais competências? ARTMED, 2001.


PERISSÉ, Gabriel. Não existe uma única solução para a Educação. [Editorial]. Profissão Mestre, n.114, p.4-6, mar., 2009.

PIMENTA, S. G. O estágio na formação de professores: unidade teórica e prática? 7ª. Ed. São Paulo: Cortez, 2006.

PIMENTA, S. G., GHEDIN, E., (orgs.). Professor reflexivo no Brasil: gênese e crítica de um conceito. 4ª.ed. São Paulo: Cortez, 2006.

RICHARDSON, R. J. (et al.) Pesquisa social: métodos e técnicas. 3ª. Ed. São Paulo: Atlas, 2008.

PANORAMA ATUAL DA FEBRE Q NO BRASIL

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402104>

Data de aceite: 18/10/2024

Adriano Silvio Neto

Danielly Dias Moreira

Betania Barreiros dos Santos

João Victor Mesquita Mota

Vanessa Lopes de Souza

Víctor Gerardo Petro Hernández

Elizabeth Dutra Vasconcelos

RESUMO: A *Coxiella burnetii* é o agente etiológico da doença conhecida como Febre Q, uma zoonose de distribuição mundial que pode se apresentar de forma aguda e crônica. No Brasil, existem poucos relatos da doença e a notificação dos casos não é considerada compulsória. Por a doença não apresentar sinais clínicos específicos, isso dificulta seu diagnóstico e o estabelecimento de protocolos específicos para os médicos sobre tratamentos e condutas a serem tomadas. A doença é subdiagnosticada no Brasil, portanto, faz-se necessária a realização de pesquisas com o objetivo identificar e notificar a população humana diagnosticada com a doença, que, por se tratar de uma zoonose grave tem grande importância para a saúde pública. O Brasil, por ser o segundo maior produtor de leite do mundo, e os ruminantes por serem os principais reservatórios da doença, coloca

o país como um dos principais alvos de estudo para a infecção por *Coxiella burnetii*.

PALAVRAS-CHAVE: Bactéria, febre, legionellales, reservatório, zoonose.

CURRENT OVERVIEW OF Q FEVER IN BRAZIL

ABSTRACT: *Coxiella burnetii* is the etiological agent of the disease known as Q Fever, a zoonosis with worldwide distribution that can present itself in acute and chronic forms. In Brazil, there are few reports of the disease and reporting of cases is not considered mandatory. Because the disease does not present specific clinical signs, this makes it difficult to diagnose and establish specific protocols for doctors regarding treatments and procedures to be taken. The disease is underdiagnosed in Brazil, therefore, it is necessary to conduct research with the aim of identifying and reporting the human population diagnosed with the disease, which, as it is a serious zoonosis, is of great importance for public health. As Brazil is the second largest milk producer in the world, and ruminants are the main reservoirs of the disease, the country is one of the main targets for studies on *Coxiella burnetii* infection.

KEYWORDS: Bacteria, fever, legionellales, reservoir, zoonosis.

INTRODUÇÃO

A *Coxiella burnetii* é o agente etiológico da doença conhecida como Febre Q, uma zoonose de distribuição mundial e que pode se apresentar de forma aguda e crônica. A bactéria *Coxiella burnetii* pertence a ordem das Legionellales, grupo gama das Proteobactérias e apresenta-se morfológicamente como um cocobacilo gram-negativo, de alta resistência e intracelular obrigatório (BROM *et al.*, 2015).

O principal meio de contaminação é através da inalação da bactéria, que por sua vez, é fagocitada pelos macrófagos alveolares e, em seguida, pelos macrófagos do tecido hepático. Na fase aguda da doença os principais sinais clínicos são bem inespecíficos, como febre, dor de cabeça, artralgia, mialgia e calafrios. A fase crônica geralmente ocorre devido a uma falha imunológica do paciente (SHANNON & HEINZEN, 2009).

O diagnóstico da doença pode ser através de métodos diretos, como a identificação molecular e histopatológica ou por métodos indiretos como a detecção de anticorpos. O método diagnóstico dependerá de alguns fatores, como a finalidade da investigação e o tipo da amostra. Os fármacos utilizados para o tratamento dependerão da fase da doença (BARRIO & FONS, 2018).

A bactéria *Coxiella burnetii* é altamente resistente a agentes químicos e físicos e possui a característica de ser altamente infectante, o que a inclui na classificação de microrganismos com potencial para uso em armas biológicas. A notificação da doença no Brasil não é considerada compulsória e seu diagnóstico é dificultado devido a sintomatologia clínica inespecífica. (SANTOS *et al.*, 2007).

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma revisão bibliográfica sobre a Febre Q, enfatizando informações sobre seu histórico, agente etiológico, formas de transmissão, manifestações clínicas, tratamentos, métodos diagnósticos e de prevenção.

METODOLOGIA

O presente trabalho é uma revisão de literatura, a qual a metodologia utilizada compreende uma pesquisa exploratória, de abordagem qualitativa, com as mais recentes informações do tema: A importância da Febre Q no Brasil e no mundo. As fontes de pesquisa utilizadas foram Google Acadêmico, *Scielo* e outras revistas de importância médico-veterinária e de saúde pública.

Como critério de inclusão, os trabalhos selecionados foram artigos em português e inglês com a temática sobre a Febre Q, seu agente causador e o impacto zoonótico na medicina veterinária e na saúde pública, traçando a evolução e disseminação da doença desde a descoberta do agente etiológico até os dias atuais. Para isto, foram utilizadas palavras-chave como: Bactéria; Febre; Legionellales; Reservatório; Zoonose. Estabeleceu-se como exclusão os trabalhos que não abordavam a temática proposta, sites e artigos de opinião sem comprovação científica.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Histórico e evolução

A febre Q é causada pelo agente etiológico *Coxiella burnetii*, uma zoonose de distribuição mundial. Na maioria das vezes a doença apresenta quadro leve, com simples manifestações febris, porém, podem evoluir raramente para quadros mais graves (ENDIN *et al.*, 2017). Sua primeira descrição foi na Austrália em 1935, em 1937 o microrganismo foi atribuído ao gênero *Rickettsia* e denominada de *Rickettsia burnetii*. (ESPANA *et al.*, 2020).

Nos Estados Unidos (EUA) pesquisadores ao trabalhar com um microrganismo desconhecido só foram perceber tempos depois que se tratava do mesmo microrganismo descrito em 1935 e 1937, que após a identificação molecular foi classificado como do gênero *Coxiella* e recebeu o nome de *Coxiella burnetii* (OYSTON & DAVIES, 2011).

No Brasil existem poucos relatos da doença e a notificação dos casos não é considerada compulsória. Pela doença não apresentar sinais clínicos específicos, isso dificulta seu diagnóstico e o estabelecimento de protocolos específicos para os médicos veterinários sobre tratamentos e condutas a serem tomadas (SANTOS *et al.*, 2007).

O primeiro relato da doença no Brasil foi no ano de 1953, a partir daí as publicações da doença em território brasileiro são escassas. Os primeiros estudos sobre a febre Q no Brasil envolveu a análise do soro de 200 ordenhadores e tratadores de rebanhos bovinos no Vale da Paraíba, no estado de São Paulo, das 200 amostras 17 foram positivas. A primeira prova molecular da bactéria no Brasil foi realizada pelo teste molecular de Reação em cadeia Polimerase (PCR) para confirmar a infecção em um homem de 47 anos com histórico de contato recente com cabras e produto de aborto de animais (RIBEIRO, 1964).

Agente etiológico e transmissão

A bactéria *Coxiella burnetii* pertence a ordem das Legionellales, grupo gama das Proteobactérias e apresenta-se morfológicamente como um cocobacilo gram-negativo, de alta resistência e intracelular obrigatório (BROM *et al.*, 2015). As vias aéreas são a porta de entrada do patógeno no organismo, infectando os macrófagos alveolares e posteriormente as células de Kupffer no fígado. A bactéria é fagocitada pelos macrófagos e formam vacúolos em seu interior, a ação das enzimas lisossômicas sobre o vacúolo é benéfica para a *Coxiella burnetii* por acidificar o meio e favorecer a multiplicação da mesma (SHANNON & HEINZEN, 2009).

A alta resistência a agentes físicos e químicos está entre as principais características desta bactéria, podendo permanecer viável no solo em temperatura ambiente por 4 meses e nas fezes de carrapatos por 36 meses. Além disso, a *Coxiella burnetii* é resistente ao hipoclorito de sódio na concentração de 100mg/ml e pode sobreviver por aproximadamente três dias em formol 0,5% e ao etanol 50% sobrevive por 15 minutos (DAMASCENO & GUERRA, 2018).

Outro fator que torna esta bactéria ainda mais perigosa é sua capacidade alta de poder infectante, acredita-se que 1 a 10 células microbianas já são capazes de desencadear doença. Portanto, o Center for Disease Control and Prevention (CDC) classificou a bactéria como pertencente a categoria B, ou seja, microrganismos com potencial para uso em armas biológicas (CLEA *et al.*, 2019).

A transmissão da *Coxiella burnetii* ocorre por meio de vetores, como carrapatos, entre animais. No meio rural, animais infectados como bovinos e caprinos podem servir como reservatório do microrganismo. Para os seres humanos a transmissão está ligada à liberação da bactéria no ambiente, por meio de fezes, urina, leite e restos placentários (BARRIO & FONS, 2018). No ambiente a bactéria pode ser dispersada livremente pelo vento ou poeira e a infecção acontece pela inalação de partículas em suspensão. A infecção humana pode acontecer também pelo contato direto com a fonte do microrganismo (CDC, 2011).

Manifestações clínicas

A Febre Q apresenta duas manifestações clínicas: a fase aguda e a fase crônica, mas é importante evidenciar que na maioria dos casos a doença é autolimitante e assintomática. Na fase aguda da doença os principais sinais clínicos incluem febre, sudorese, calafrios, letargia, fadiga, cefaleia, artralgia, mialgia, hepatite aguda e pneumonia atípica (SOUZA *et al.*, 2022). O período de incubação varia de 10 a 21 dias e os sintomas podem variar de 10 a 90 dias para surgirem, porém, condições de imunossupressão, idade avançada, doenças concomitantes e gravidez podem influenciar no curso da infecção (DAMASCENO & GUERRA, 2018).

De acordo com Kampschreur *et al.*, (2011) 1 a 5% dos casos de Febre Q podem evoluir para a fase crônica, principalmente, em função de uma resposta imune ineficaz. As pessoas mais propensas ao desenvolvimento da fase crônica são mulheres grávidas, indivíduos com doença das válvulas cardíacas e pacientes imunodeprimidos.

Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da Febre Q pode ser determinado por diferentes métodos, considerando a finalidade da investigação e o tipo de amostra obtida. Os testes diagnósticos podem ser diretos ou indiretos (SOUZA *et al.*, 2022). Os testes diretos incluem análise histológica, análise molecular e isolamento do agente. Os testes indiretos são realizados a partir de sorologia e detecção de anticorpos e incluem Imunofluorescência Indireta (IFI), ELISA e Teste de Fixação do Complemento (CFT) (DAMASCENO & GUERRA, 2018).

O tratamento pode ser dividido em tratamento da fase aguda e da fase crônica da doença. Geralmente na fase aguda são empregados os fármacos: doxiciclina, ciprofloxacino, moxifloxacino e rifampicina. Em casos de não resolução da doença, emprega-se os fármacos da fase crônica, que segundo Kampschreur *et al.*, (2011) pode ser a combinação de doxiciclina e hidroxicloroquina por longos períodos.

Prevenção

A prevenção através do uso de equipamentos de proteção individual, como máscaras, principalmente, que impedem a inalação do agente. No ambiente, é necessário medidas de controle como antissepsia, controle de carrapatos, limpeza dos locais de ordenha, incineração de materiais de alto risco, como os produtos do aborto, tratamento do esterco com cal ou cianeto de cálcio antes de espalhar pelo terreno e evitar a ingestão de leite ou derivados a partir do leite não pasteurizado. Já existe hoje em dia vacinas para a Febre Q, mas que não estão disponíveis no Brasil (SOUZA *et al.*, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Febre Q no Brasil é uma doença subdiagnosticada e subnotificada, portanto, faz-se necessária a realização de pesquisas com o objetivo identificar e notificar a população humana diagnosticada com a doença, que por se tratar de uma zoonose grave tem grande importância para a saúde pública. Através dessa identificação, será possível traçar o perfil epidemiológico e os fatores de risco associados aos indivíduos. O Brasil por ser o segundo maior produtor de leite do mundo e os ruminantes por serem os principais reservatórios da doença, coloca o país como um dos principais alvos para estudo e alerta da infecção por *Coxiella burnetii*.

REFERÊNCIAS

- ELDIN, C.; MÉLENOTTE, C.; MEDIANNIKOV, O.; GHIGO, E.; MILLION, M.; EDOUARD, S.; MEGE, J.-L.; MAURIN, M.; RAOULT, D. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. **Clin Microbiol Rev** 30:115–190, 2017.
- SANTOS, A. S.; BACELLAR, F.; FRANÇA, A. Febre Q: revisão de conceitos. **Rev Soc Port de Med Inter**, 14(2):90-99, 2007.
- ESPAÑA, P. P.; URANGA, A.; CILLÓNIZ, C.; TORRES, A. Q Fever (*Coxiella Burnetii*). **Semin Respir Crit Care Med**. Aug;41(4):509-521, 2020.
- RIBEIRO-NETTO, A.; NIKITIN, T.; RIBEIRO, I. F. Estudo sobre febre Q em São Paulo: Prevalência em ordenhadores e tratadores de bovinos. **Rev Inst Med Trop**, 6(6):255-257, 1964.
- BROM, R.VAN DEN, ENGELIN, E.VAN, ROEST, H.I.J., HOEK, W.VAN DER, VELLEMA, P., *Coxiella burnetii* infections in sheep or goats: an opinionated review. **Veterinary Microbiology**, 2015.
- SHANNON, J.; HEINZEN, R. A. Adaptive Immunity to the Obligate Intracellular Pathogen *Coxiella burnetii*. **National Institutes of Health**, 43(1-3):138-148, 2009.
- DAMASCENO, I. A. M.; GUERRA, R. C.; *Coxiella burnetii* e a febre Q no Brasil, uma questão de saúde pública, **Ciência & Saúde Coletiva**, 23(12):4231-4239, 2018.

CLÉA, M.; MATTHIEU, D.; New insights in *Coxiella burnetii* infection: diagnosis and therapeutic update, **Expert Review of Anti-infective Therapy**, 2019.

GONZÁLEZ-BARRIO, D.; RUIZ-FONS, F. *Coxiella burnetii* in wild mammals: A systematic review. **Transbound Emerg Dis**. Mar;66(2):662-671, 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC) **Rickettsial Zoonoses Branch**. Q Fever, 2011. [acessado 2012 Ago 20]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/qfever/>.

KAMPSCHREUR, L. M.; OOSTERHEERT, J. J.; VRIES, F. C. A.; DELSING, C. E.; HERMANS, M. H. A.; VAN-SLUIVELD, I. L. L.; LESTRADE, P. J.; RENDERS, N. H. M.; ELSMAN, P.; WEVER, P. C. Chronic Q Fever-Related Dual-Pathogen Endocarditis: Case Series of Three Patients. **J Clin Microbiol**, 49(4):1692-1694, 2011.

SOUZA, E. A. R.; ANDRÉ, M. R.; LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C. Q fever and coxiellosis in Brazil: an underestimated disease? A brief review. **Braz J Vet Parasitol**, 31(3), 2022.

ELDIN, C.; MÉLENOTTE, C.; MEDIANNIKOV, O.; GHIGO, E.; MILLION, M.; EDOUARD, S. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. **Clin Microbiol Ver**, 30(1): 115-190, 2017.

MILLER, H. K.; PRIESTLEY, R. A.; KERSH, G. J. Q. Fever: a troubling disease and a challenging diagnosis. **Clin Microbiol Newsl**; 43(13): 109-118, 2021.

CAPÍTULO 5

A PESQUISA EXPERIMENTAL E SUA ADESAO AOS MÉTODOS ALTERNATIVOS COM O USO DE BRONQUIÓLOS SUÍNOS PROVENIENTES DE ABATEDOURO: RELATO DE EXPERIÊNCIA



<https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402105>

Data de submissão: 04/11/2024

Data de aceite: 06/11/2024

Luís Pereira-de-Morais

Universidade Regional do Cariri (URCA),
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/3425970032144286>

Andressa de Alencar Silva

Universidade Regional do Cariri (URCA),
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/3144511152006306>

Renata Evaristo Rodrigues Duarte

Universidade de Pernambuco (UPE),
Ouricuri – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/9143816484570239>

Lindaiane Bezerra Rodrigues Dantas

Universidade de Pernambuco (UPE),
Serra Talhada – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/0395579865939862>

Marília Cavalcante Araújo

Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Fortaleza - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/8813903233446787>

Romário Pinheiro Lustosa

Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Fortaleza - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/2904584957218745>

Jane Lane de Oliveira Sandes

Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Fortaleza - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/5709463385360128>

Bianca de Sousa Barbosa Ferreira

Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Fortaleza - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/4062300174772931>

Raimundo Luiz Silva Pereira

Universidade Regional do Cariri (URCA),
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/3243461705511408>

Edvanildo De Sousa Silva

Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Fortaleza - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/1160257257811776>

Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins

Universidade Regional do Cariri (URCA),
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/1256452602214240>

Isaac Moura Araújo

Universidade Regional do Cariri (URCA),
Crato - Ceará
<http://lattes.cnpq.br/4804278307317640>

RESUMO: O uso de animais vertebrados na pesquisa médica é uma prática que persiste até os dias atuais, buscando desenvolver técnicas benéficas para a saúde humana. Dentre esses animais, o porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*) é destacado por sua semelhança fisiológica com o ser humano, em aspectos como dentição, sistema cardiovascular e estrutura renal. Contudo, devido aos altos custos de manutenção, o uso de suínos em pesquisas foi inicialmente limitado, levando ao desenvolvimento de minipigs para facilitar estudos nas áreas de farmacologia e toxicologia. No contexto da Universidade Regional do Cariri (URCA), visando a redução de eutanásias experimentais e seguindo os princípios dos 3Rs (*Reduction, Replacement, Refinement*), o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis (LFCE) realiza experimentos com bronquíolos de suínos obtidos de abatedouros locais. Fragmentos do pulmão são cuidadosamente coletados e transportados em solução fisiológica para evitar contaminações e preservar a viabilidade do tecido. Após um período de armazenamento, as amostras são preparadas para testes de contração e relaxamento muscular, registrando as respostas mecânicas via transdutor. Esse método demonstrou ser eficaz e já resultou em estudos sobre o efeito broncodilatador de substâncias como óleo essencial de *Lippia sidoides* e metil-eugenol, com potencial aplicação farmacológica. A técnica contribui para a tendência mundial de reduzir o uso de animais em laboratório, aproveitando tecidos provenientes de abatedouros para pesquisas científicas.

PALAVRAS-CHAVE: Bronquíolos, Porco doméstico, Pesquisa científica

EXPERIMENTAL RESEARCH AND ITS ADHERENCE TO ALTERNATIVE METHODS WITH THE USE OF PORCINE BRONCHIOLES FROM SLAUGHTERHOUSES: EXPERIENCE REPORT

ABSTRACT: The use of vertebrate animals in medical research remains a common practice today, aimed at developing techniques beneficial to human health. Among these animals, the domestic pig (*Sus scrofa domesticus*) stands out due to its physiological similarities to humans in aspects such as dentition, cardiovascular system, and renal structure. However, due to high maintenance costs, the use of pigs in research was initially limited, leading to the development of minipigs to facilitate studies in pharmacology and toxicology. At the Regional University of Cariri (URCA), aiming to reduce experimental euthanasia and following the 3Rs principles (Reduction, Replacement, Refinement), the Laboratory of Physiology and Pharmacology of Excitable Cells (LFCE) conducts experiments with pig bronchioles obtained from local slaughterhouses. Lung fragments are carefully collected and transported in physiological solution to avoid contamination and preserve tissue viability. After a storage period, samples are prepared for muscle contraction and relaxation tests, recording mechanical responses via transducer. This method has proven effective and has led to studies on the bronchodilator effects of substances like *Lippia sidoides* essential oil and methyl eugenol, with potential pharmacological applications. The technique contributes to the global trend of reducing the use of laboratory animals by utilizing tissues from slaughterhouses for scientific research.

KEYWORDS: Bronchioles, Domestic pig, Scientific research

INTRODUÇÃO

O uso de animais, vertebrados, esteve presente desde o início da medicina experimental até os dias atuais, que continuam sendo utilizadas como objeto de pesquisa para o desenvolvimento de métodos e técnicas que beneficiem o homem (MARIANO 2003).

Dentre esses animais, o porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*) teve sua anatomia, fisiologia e fisiopatologia estudadas e comparadas ao homem. No ano de 1965 pesquisadores encontraram semelhanças entre suínos e seres humanos, quanto a dentição, morfologia e fisiologia renal, da pele, cardiovascular, digestiva, imunológica e estrutura do olho. (Bustard e McClellan, 1965)

Apesar dessas semelhanças, o uso de suínos nas pesquisas era pouco comum pois a sua criação e manutenção geravam muitas despesas para as instituições de pesquisa, então, na Universidade de Minnessota em 1949 iniciou-se um projeto voltado para o desenvolvimento de suínos miniatura a serem utilizados para a pesquisa (ENGLAND et al. 1954).

Os minis porcos ou *Minipigs* possuem semelhanças fisiológicas com os humanos e constituem de um modelo bem estabelecido nas áreas de farmacologia e toxicologia (BODE et al, 2010). No Brasil o *Minipig* BR-1 é a única linhagem de porco miniatura desenvolvida para pesquisa (STRAMANDINOLI-ZANICOTTI, 2014).

Apesar do desenvolvimento desses porcos em miniatura, o que barateou o custo de produção e manutenção desses animais, algumas universidades não possuem condições de reproduzir e os acondicionar.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

Pensando nisso, o grupo do Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis-LFCE da Universidade Regional do Cariri-URCA situada na cidade de Crato-CE, na macrorregião do Cariri, visando a substituição de animais de laboratório, seguindo os princípios dos 3Rs, *Reduction* (redução), *Refinement* (refinamento) e *Replacement* (substituição), pelo grupo *The Universities Federation for Animal Welfare* – UFAW's, buscaram utilizar bronquíolos de porcos em seus experimentos, de contração e relaxamento da musculatura lisa, no intuito de reduzir as eutanásias de animais apenas para fins experimentais.

Para que houvesse os experimentos foram realizadas coletas de fragmentos de bronquíolos do lobo inferior do pulmão direito de suínos abatidos no Frigorífico Industrial do Cariri.

Para tanto, foram adotadas todas as normas de biossegurança antes de entrar na sala da coleta, e seguido à risca uma série de procedimentos para garantir que não haja contaminação do ambiente e do material biológico. Ademais, por se tratar de produtos que servirá para alimentação humana, todos os animais e suas vísceras foram inspecionadas por médicos veterinários para verificação e constatação de sua sanidade.

Após o abate do animal, as vísceras foram separadas e levadas a uma sala para preparação, onde os pesquisadores realizaram a coleta. A parte usada pelo grupo foram os bronquíolos, para tanto, alguns critérios de exclusão foram adotados, pois, foi visto que características como tromboembolismo por broncoaspiração de sangue, abundância de secreções do epitélio brônquico, evidências de inflamação e presença de nódulos, cistos e tumoração no referido órgão, interferem diretamente na viabilidade do tecido.

Após a coleta os fragmentos de órgão foram colocados em Tyrode modificado (TM) e refrigerado, com a seguinte composição em mM: NaCl, 136; KCl, 5.0; MgCl₂, 0.98; NaH₂PO₄, 0.36; NaHCO₃, 11.9; CaCl₂, 2.0 e glicose, 5.5 e pH= 7.4. A solução fisiológica TM é utilizada em muitas preparações para protocolos com musculatura lisa do sistema respiratório de roedores em banho de órgão, isentando a utilização de mistura carbogênica (O₂ 95% e CO₂ 5%) pois segundo a equação de Henderson-Hasselbalch, ao elevar o bicarbonato de sódio (NaHCO₃) promove o tamponamento da solução fisiológica, sendo assim ela também se mostrou eficaz para o transporte do material biológico coletado ao laboratório e seu armazenamento em freezer (-8 °C), sendo essa temperatura necessária para reduzir o metabolismo celular, ajudando na conservação da viabilidade do tecido, em seguida é transportado em caixa térmica para o laboratório.

No laboratório os materiais biológicos foram manipulados em TM, onde foram limpos para retirada de tecidos adjacentes e armazenados em freezer para realização do protocolo após 12 a 24 horas de armazenamento, pois foi observado que dentro desse período se obteve a melhor resposta do tecido aos agentes contraturante e, quando o protocolo era realizado pouco tempo após a coleta não era observado uma resposta satisfatória. Isto pode estar relacionado com o processo de *rigor mortis*, pois segundo Cristian (2019), este processo tem início no musculo liso em aproximadamente 2 horas após a morte, o *rigor mortis* está diretamente relacionado com a sinalização de cálcio para promover a contração muscular. Esse curto período para dar início a rigidez cadavérica coincide com o tempo levado do frigorífico ao laboratório, enfatizando a necessidade de deixar um tempo superior a 12 horas para que as fibras desfaçam essa contração relacionada a morte do animal e estejam prontas para iniciar os experimentos.

Após esse período os fragmentos de bronquíolo foram transferidos a uma placa de petri e em seguida seccionados em anéis de 3 a 5 mm de comprimento, suspensos horizontalmente por duas hastes de aço inoxidável, sendo um fixo no equipamento e o outro móvel ligado ao transdutor de força, e montados em banho de órgãos isolados com capacidade para 10 mL de TM com aeração continua, regulação de temperatura a 37 °C e pH 7.4.

Após os preparos os anéis foram submetidos a uma tensão 1.5 gf, e a estabilização foi mantida por um período de 1h com renovação do TM a cada 15 min, tempo necessário para o tecido se adaptar as novas condições.

As respostas musculares mecânicas (contração e relaxamento) são transformadas em sinal elétrico pelo transdutor que está conectado a um amplificador diferencial (DATAQ, modelo PM-1000, EUA) e este a uma placa conversora analógica-digital (DATAQ DI-200) ligado a um computador, os dados coletados pelo WINDAQ (DATAQ Instruments, Inc. USA) foram armazenados para análise posterior.

Após a implantação da técnica já foram realizados e publicados 2 estudos analisando produtos naturais sobre a musculatura lisa de bronquíolos isolados de suínos. Pereira-de-Morais et al., (2020) observaram o efeito broncodilatador do óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELs), sendo realizadas as curvas de concentração dose-resposta tanto para contrações induzidas por KCl (acoplamento eletromecânico) quanto para Acetilcolina (Ach) (acoplamento farmacomecânico) obtendo a EC_{50} de $450.49 \pm 5.73 \mu\text{g/mL}$ para o acoplamento eletromecânico, no entanto, para o acoplamento farmacomecânico o OELs relaxou apenas 30 % da contração.

Souza et al., (2021) demonstraram que o metil-eugenol também promoveu efeito broncodilatador em ambos os acoplamentos (KCl e Ach), com valores de EC_{50} de $25.50 \pm 14.93 \mu\text{M}$ e $12.79 \pm 9.57 \mu\text{M}$ respectivamente, mostrando que sua substância possui uma alta potência farmacológica no relaxamento da musculatura lisa brônquica.

CONCLUSÃO

A utilização de tecidos provenientes de porcos de abate vai de encontro com a tendência mundial de reduzir e substituir o uso de animais de laboratório (KIRK, 2018). Foi observado que durante a coleta e realização dos experimentos que existem vantagens de se trabalhar com o tecido proveniente de tecidos advindos do abatedouro, contudo, essa técnica possui algumas especificidades importantes.

REFERENCIAS

BODE, Gerd et al. The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 62, n. 3, p. 196-220, 2010.

BUSTAD, L. K.; MCCLELLAN, R. O. Use of pigs in biomedical research. **Nature**, v. 208, n. 5010, p. 531-535, 1965.

CRISTIAN, Ortigoza Guerrero José. Mecanismos moleculares implicados en rigidez cadavérica (rigor mortis), 2019.

DE SOUZA, Mikael A. et al. Toxicity of methyl eugenol against *Drosophila melanogaster* and its myorelaxant activity in bronchioles isolated from *Sus scrofa domestica*. **Biologia**, v. 76, n. 4, p. 1275-1283, 2021.

ENGLAND, David C.; WINTERS, Laurence M.; CARPENTER, Lawrence E. The development of a breed of miniature swine; a preliminary report. **Growth**, v. 18, n. 4, p. 207-214, 1954.


KIRK, Robert GW. Recovering the principles of humane experimental technique: the 3Rs and the human essence of animal research. **Science, Technology, & Human Values**, v. 43, n. 4, p. 622-648, 2018.

MARIANO, Mario. Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental: o Minipig br1. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 5, p. 387-391, 2003.

PEREIRA-DE-MORAIS, L.; Silva, A. A.; Silva, R. E. R.; Bastos, C. M. S.; Araújo, I. M.; Costa, R. H. S.; Cunha, F. A. B.; Leal-Cardoso, J. H. & Barbosa, R. Bronchodilator Activity of the essential oil from *Lippia sidoides* in bronchial isolated from swine *Sus scrofa domestica*. **ANais da Academia Cearense de Ciências**, v. 4, n. 1, p.33-40, 2020.

STRAMANDINOLI-ZANICOTTI, Roberta Targa et al. Brazilian minipig as a large-animal model for basic research and stem cell-based tissue engineering. Characterization and in vitro differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. **Journal of Applied Oral Science**, v. 22, n. 3, p. 218-227, 2014.

MANCHAS DE SANGUE CAST-OFF EM CENA DE CRIME

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402106>

Data de aceite: 08/11/2024

Leonardo de Paula Miranda

Doutor em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros–Unimontes. Perito Criminal Oficial da Superintendência de Polícia Técnico-científica de Minas Gerais/Polícia Civil-MG

Thatiane Lopes Oliveira

Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes. Docente do Eixo Tecnológico do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais

Leila Conceição de Paula Miranda

Mestre em Ensino em Saúde. Docente do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais

RESUMO: O estudo de perfis de manchas de sangue em locais de crime é de suma importância na atuação profissional forense, dada a frequência dessas evidências em ambiente delitivos. Uma identificação acurada das manchas hemáticas se torna fundamental para performance laboral em tais cenários. Destarte, o objetivo deste trabalho foi descrever um caso de homicídio ocorrido no norte do estado de Minas Gerais, Brasil, e destacar a relevância da análise técnica e científica das manchas

hematoides no local dos fatos. Neste crime, a avaliação dos perfis de manchas hemáticas *cast-off* no cenário criminal foi essencial para o estabelecimento de uma inferência pericial relativa à dinâmica violenta e diagnóstico da causa jurídica de morte. A hematologia forense tem se tornado uma área de destaque no escopo profissional em criminalística.

PALAVRAS-CHAVE: manchas de sangue; homicídio; local de crime.

CAST-OFF BLOOD STAINS AT CRIME SCENE

ABSTRACT: The study of bloodstain profiles at crime scenes is extremely important in professional forensic practice, given the frequency of this evidence in criminal environments. Accurate identification of blood stains becomes essential for work performance in such scenarios. Therefore, the objective of this work was to describe a case of homicide that occurred in the north of the state of Minas Gerais, Brazil, and highlight the relevance of the technical and scientific analysis of hematoid stains at the scene of the events. In this crime, the evaluation of cast-off blood stain profiles in the criminal scenario was essential for

establishing an expert inference regarding the violent dynamics and diagnosis of the legal cause of death. Forensic hematology has become a prominent area in the professional scope of criminalistics.

KEYWORDS: blood stains; homicide; crime scene.

INTRODUÇÃO

A hematologia forense tem se destacado dentro do campo criminalístico, assumindo notória relevância científica. O estudo das manchas hemáticas em ambiente de crime pode direcionar eficazmente o profissional forense a um estabelecimento técnico da causa jurídica de morte, do instrumento utilizado, posição da vítima, local do evento, dinâmica do fato, dentre outras inferências relativas ao delito ¹⁻⁶.

Segundo pontua a literatura, a presença de sangue humano em local de crime denota rompimento de tecidos corpóreos, levando ao extravasamento de líquido hemático e sua deposição no ambiente. Expresso rompimento pode ocorrer como resultado de uma ação violenta, como um impacto de projétil de arma de fogo ou a estocada de uma faca ⁵. Por isso, torna-se profícuo ao perito criminal a realização de uma análise acurada e científica desses vestígios em cenas delitivas.

A classificação de perfis de manchas de sangue é vastamente descrita na literatura forense³⁻⁶. No âmbito criminalístico nacional, destaca-se a classificação proposta por Canelas Neto (2017)⁴. Consoante tal classificação, as manchas hematoides são subdivididas inicialmente em regulares e irregulares, levando em consideração a morfologia e o mecanismo de geração da mancha. Dessa forma, as manchas regulares são formadas por gotas de sangue que se encontravam em voo livre antes de atingir uma superfície. Apresentam predominantemente formatos geométricos circulares ou elípticos e se dividem em gotejadas e *spatters*. As *spatters* se subdividem em projetadas, *cast-off* e impactadas. Opostamente, as manchas irregulares são aquelas não provenientes de gotas em voo livre e que se depositam sobre uma superfície. Dividem-se em contato, alteradas, acúmulo e escorrimento⁴. É de suma relevância que o profissional forense esteja familiarizado com a precisa classificação dos perfis expressos, a fim de que seja estabelecida uma efetiva inferência criminal.

Assim, ante o exposto, o objetivo deste estudo é destacar a importância da análise técnica de manchas de sangue em locais de crime, notadamente as manchas *cast-off*, mediante descrição de um caso relativo a homicídio.

RELATO DE CASO

Trata-se de um caso referente a homicídio ocorrido em uma cidade do norte do estado de Minas Gerais, em data específica no ano de 2020. Assim, a perícia criminal foi acionada por autoridade policial competente e compareceu ao local do evento, realizando os devidos trabalhos técnicos iniciais *in situ*.

Foi alvo de exames a porção frontal externa de um imóvel residencial situado em um bairro da cidade. A fachada da residência estruturava-se em alvenaria e possuía um passeio desprovido de pavimentação. A via pública local apresentava pavimento asfáltico.

Observou-se que o cadáver se encontrara estendido sobre o solo do passeio local. Jazia em decúbito dorsal, com a região occipital apoiada sobre o solo e membros superiores semifletidos apoiados sobre a mesma superfície; os membros inferiores encontravam-se entreabertos, estendidos e apoiados sobre o solo. Tratava-se de um indivíduo adulto, sexo masculino e biotipo mesomorfo.

Mediante exame perinecropsóptico (externo), a perícia criminal constatou a presença dos seguintes ferimentos:

- I) Três feridas perfuroincisas localizadas na face direita e com sede no arco supraorbital, região maxilar e região orbicular direita da boca, com características de ferimento produzido pelo uso de instrumento perfurocortante.
- II) Cinco feridas perfuroincisas dispostas na lateral esquerda do pescoço, com características de ferimento produzido pelo uso de instrumento perfurocortante.

Durante o exame pericial realizado no local, os seguintes vestígios foram verificados:

- a) Manchas hematóides *cast-off* localizadas sobre a superfície externa inferior do portão da residência e sobre o solo adjacente à face esquerda do cadáver. Tais manchas denotavam terem sido geradas por gotas de sangue que se dissociaram de instrumento perfurocortante durante a execução dos golpes efetuados pelo autor contra a vítima no local.
- b) Mancha hemática, formada por empoçamento, localizada sobre o solo e sob o crânio da vítima.
- c) Manchas hematóides, formadas por escorrimento, dispostas sobre a face e pescoço do cadáver.
- d) Manchas hemáticas, formadas por gotejamento, dispostas sobre a superfície direita da via, distando 12,40 m da vítima.
- e) Rigidez cadavérica presente na nuca e mandíbula da vítima.
- f) Duas escuriações localizadas no dorso da mão direita e duas feridas contusas situadas no dedo polegar esquerdo, com características de lesões indicativas de possível reação de defesa por parte da vítima.

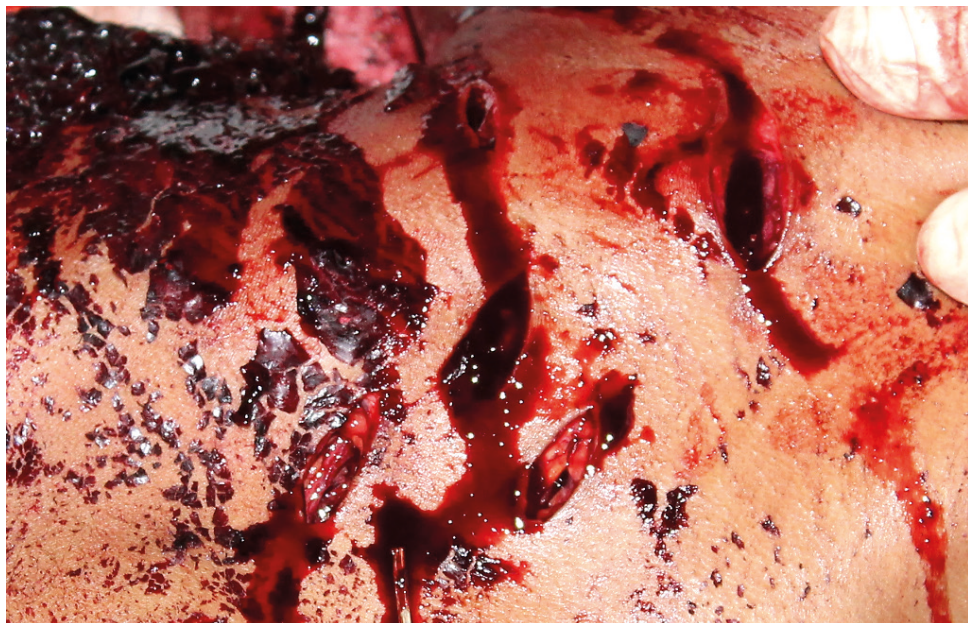


Figura 01. Feridas perfuroincisas localizadas no pescoço da vítima.



Figura 02. Manchas hematóides *cast-off* constatadas no local.



Figura 03. Detalhe das manchas hematoides *cast-off*, destacando a direção e sentido de projeção das gotas no ambiente.

A análise das evidências constadas no local permitiu à perícia criminal indicar o homicídio como a causa jurídica de morte do caso em tela. O exame técnico das manchas hemáticas observadas *in loco* foi decisivo para a interpretação sistêmica do evento e estabelecimento de uma dinâmica verossímil. Destarte, a hipótese forense mais plausível para a dinâmica criminoso é a de que a vítima, posicionada inicialmente sobre a via, tenha sido lesionada mediante uso de instrumento(s) perfurocortante, originando as manchas hemáticas gotejadas indigitadas, com seu subsequente deslocamento pela pista. Sequencialmente, teria se projetado sobre o solo do passeio local, onde fora alvo de golpes remanescentes, formando as manchas hematoides *cast-off* descritas.

DISCUSSÃO

As manchas de sangue classificadas como *cast-off* são aquelas formadas por gotas de sangue que se dissociam de um objeto contendo sangue. Expresso objeto se movimenta no meio circundante, dissociando parte do sangue impregnado em sua superfície. Este sangue dissociado perfaz um voo livre em formato de gotas até atingir uma superfície. As manchas geradas pelas gotas de sangue oriundas deste mecanismo obedecem, geralmente, ao sentido de movimentação do objeto. Acresce-se que tais gotas atingem a superfície mais próxima com diferentes ângulos, ocasionando um perfil comumente visualizado como linhas de manchas de sangue. Ante a possibilidade de gerar gotas de sangue na superfície ambiental durante todo decurso de movimentação do objeto, tais gotas podem formar manchas mais circulares no início da movimentação e finalizar com manchas mais elípticas⁴.

No caso em análise, vale destacar que as manchas de sangue *cast-off* observadas localmente foram fundamentais para o estabelecimento da dinâmica criminosa. Foram constatadas manchas com formatos circulares e elípticas dispostas sobre as superfícies contíguas ao cadáver, indicando que foram geradas em decorrência da movimentação do instrumento agressor, contendo sangue sobre sua superfície.

Cumprе ressaltar que em situações de movimentação de objetos impregnados com sangue, especialmente quando há mudança de direção, haverá a geração de uma componente inercial de força. Ante um movimento curvilíneo, essa componente é centrífuga e tenderá ao desprendimento de gotas a partir da extremidade do objeto em trajetória tangencial ao movimento. Essas gotas dissociadas de objetos tendem a ser projetadas sequencialmente, gerando padrões lineares ou curvilíneos⁵. No caso analisado, foram observadas no ambiente manchas dissociadas geradas em um padrão mais linear e excêntrico em relação à posição do cadáver, indicando ainda a execução de golpes sequenciais.

A literatura enfatiza que esse padrão de mancha de sangue (*cast-off*) está relacionado não somente à movimentação de instrumento utilizado em crime, mas pode também indicar movimentação de membros do corpo da vítima ou qualquer superfície impregnada com material hemático⁴⁻⁵. Por exemplo, mãos ensanguentadas podem gerar perfis bastante típicos e que não devem ser confundidos com armas de crime⁴.

Finalmente, pontua-se que o perfil *cast-off* pode ser de grande auxílio na busca de manchas suspeitas, haja vista que, em certas situações, as manchas provenientes deste mecanismo alcançam maiores distâncias e se depositam em locais fora da área imediata do crime. No caso investigado, esclarece-se que as manchas *cast-off* se concentravam de forma imediata e somente adjacente à vítima, indicando a execução sequencial de golpes naquele ambiente.

CONCLUSÃO

O estudo delineado das manchas hemáticas especificadas, considerando mecanismo de geração, forma e acurada classificação, foi fundamental para o estabelecimento de uma inferência pericial relativa ao evento delitivo. É mister que os profissionais com atuação em locais de crime tenham profícua qualificação científica no campo da hematologia forense, a fim de se garantir uma performance laboral proficiente.

REFERÊNCIAS

1. V.P. Stunvoll; V.M. Quintela. *Criminalística*. 7.ed. Campinas, SP: Millennium (2019).
2. L.E. Dorea; V.P. Stunvoll; V.M. Quintela. *Criminalística*. 5.ed. Campinas, SP: Millennium (2012).
3. J.A. Velho; K.A. Costa; C.T.M. Damasceno. *Locais de crime: dos vestígios à dinâmica criminosa*. Campinas, SP: Millennium (2018).
4. A.A. Canelas Neto. *Perfis de mancha de sangue: do local de crime à elaboração do laudo*. São Paulo: Lura Editorial (2017).
5. C.R. Dias Filho; A.V.P. D'Ávila (Org.). *Hematologia Forense. Da identificação à análise de manchas de sangue*. Campinas, SP: Millennium (2022).
6. S.H. James; P.E. Kish; T.P. Sutton. *Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice*. Florida: CRC Press (2005).

AVANÇOS E ABORDAGENS NO TRATAMENTO DO TRAUMA FACIAL: UMA REVISÃO NARRATIVA



<https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402107>

Data de aceite: 13/11/2024

Aliandro Willy Duarte Magalhães

Diana Barth Amaral de Andrade
<http://lattes.cnpq.br/4481841855192903>

Jaqueline Ferraz Rego
<http://lattes.cnpq.br/3170101497925056>

Lucas Souza Presutto
<https://lattes.cnpq.br/6339464575602105>

Eduarda Costa Guidon
<http://lattes.cnpq.br/2038896457996389>

João Victor Raposo de Faria Rachide
<http://lattes.cnpq.br/6737064131878708>

Letícia Beatriz Freire Quintino
<http://lattes.cnpq.br/5912857070361347>

Vinícius Louza Garcia
<http://lattes.cnpq.br/0753056509195919>

Álvaro Antônio Martins Silva
<http://lattes.cnpq.br/2803427763933049>

Victória Elizabeth Baptista da Luz
<http://lattes.cnpq.br/9820168653044051>

Arthur Vieira Cupolillo
<http://lattes.cnpq.br/7230885670250072>

Benedicto Maw Baptista da Luz Neto
<https://lattes.cnpq.br/8044094215942453>

Enzo Salles Fatuch

<http://lattes.cnpq.br/8359006887414694>

Mariana Magro Reinato

<http://lattes.cnpq.br/8961583221729335>

Ana Beatriz Poletto Ainbinder

<http://lattes.cnpq.br/2417359619111202>

Mauricio Lopes da Silva Netto

<http://lattes.cnpq.br/4791743372358340>

RESUMO: INTRODUÇÃO O trauma facial é uma condição complexa e prevalente, frequentemente associada a acidentes de trânsito e violência urbana. Devido à anatomia delicada e funcionalmente significativa da face, as lesões podem ter impactos graves, afetando a respiração, mastigação, e a estética facial. Com os avanços em diagnósticos por imagem, como tomografia computadorizada e ressonância magnética, e o uso de tecnologias como impressão 3D, a precisão no diagnóstico e o planejamento cirúrgico evoluíram significativamente, oferecendo abordagens mais eficazes para minimizar as sequelas estéticas e funcionais. **OBJETIVOS** O objetivo principal deste trabalho é revisar as

principais abordagens diagnósticas e terapêuticas para o trauma facial, analisando avanços tecnológicos, métodos de reabilitação e o impacto das lesões faciais na funcionalidade e estética. **MÉTODOS** Trata-se de uma revisão narrativa. Foi utilizado os bancos de dados PubMed, sciELO e Medline e os seguintes descritores: “Traumatismos Faciais” OR “Cirurgia Reconstructiva de Face” OR “Lesões Maxilofaciais” OR “Fraturas Crânio-faciais” OR “Reabilitação Pós-Trauma Facial” nos últimos anos. **RESULTADOS E DISCUSSÃO** As lesões faciais variam em prevalência e risco conforme a faixa etária e o contexto, com fatores como violência urbana e esportes de contato representando riscos importantes. Técnicas diagnósticas avançadas, como TC e RM, são essenciais para a avaliação da complexidade das fraturas. No tratamento, a osteossíntese com placas de titânio e o uso de enxertos para reconstruções orbitárias e naso-orbitárias oferecem suporte estrutural e funcional superior. A reabilitação física e o suporte psicológico são cruciais para restaurar a funcionalidade e a qualidade de vida dos pacientes. A abordagem multidisciplinar, incluindo tecnologias como a impressão 3D, é destacada por otimizar o prognóstico e reduzir complicações a longo prazo. **CONCLUSÃO** O tratamento do trauma facial requer uma abordagem integrada que abranja desde a prevenção até a reabilitação, com foco na recuperação estética e funcional do paciente. Os avanços tecnológicos, como a osteossíntese e a impressão 3D, proporcionam resultados mais precisos, mas ainda há desafios em contextos com recursos limitados. O suporte psicológico é essencial para a adaptação dos pacientes às mudanças físicas e emocionais, enquanto a reabilitação funcional maximiza o retorno às atividades cotidianas. A colaboração multidisciplinar e as políticas de prevenção são fundamentais para reduzir a incidência e melhorar os resultados para pacientes com traumas faciais.

PALAVRAS-CHAVE: Trauma de Face; Reabilitação Pós-Traumática; Fraturas Maxilofaciais; Abordagem Multidisciplinar; Tecnologia 3D em Cirurgia Facial.

INTRODUÇÃO

O trauma de face representa um dos desafios mais complexos na medicina de emergência e nos cuidados cirúrgicos. A face, devido à sua anatomia única e complexa, desempenha não apenas funções estéticas, mas também essenciais para a fisiologia humana, incluindo respiração, alimentação e comunicação verbal e não verbal¹. As lesões faciais, portanto, vão muito além de uma disfunção localizada e apresentam potenciais impactos sistêmicos que podem comprometer gravemente a qualidade de vida do paciente¹. O aumento na prevalência de traumas faciais em decorrência de acidentes de trânsito, violência urbana e atividades esportivas intensificou a demanda por profissionais capacitados e por abordagens terapêuticas inovadoras¹. Assim, a compreensão da anatomia facial, dos mecanismos de lesão e das melhores práticas de diagnóstico e tratamento é crucial para minimizar as sequelas e proporcionar uma reabilitação efetiva².

A epidemiologia do trauma facial varia consideravelmente em função de fatores demográficos, culturais e socioeconômicos. Em países com elevados índices de urbanização e violência, como Brasil e Estados Unidos, as lesões faciais são frequentemente associadas a agressões físicas e acidentes automobilísticos². Em áreas rurais e em populações

de idosos, no entanto, quedas e acidentes domésticos assumem uma importância epidemiológica maior². Essa variabilidade exige que os profissionais considerem o contexto social e as condições de vida dos pacientes, adaptando suas abordagens diagnósticas e terapêuticas conforme a realidade de cada caso³. Estudos recentes apontam ainda para uma maior incidência de trauma facial entre homens jovens, o que sugere uma correlação com atividades de alto risco e maior exposição a comportamentos impulsivos e violentos³.

Do ponto de vista anatômico, a face humana é composta por uma estrutura óssea delicada, mas resistente, protegendo órgãos vitais e componentes de extrema importância funcional, como os nervos faciais, as glândulas salivares e o sistema visual. A complexidade estrutural da face torna as lesões traumáticas potencialmente devastadoras, especialmente quando atingem áreas críticas, como órbitas, mandíbula e estruturas nasais³. As fraturas faciais podem variar desde pequenas fissuras a complexas fraturas múltiplas que comprometem a integridade do crânio e afetam múltiplas funções⁴. Tal complexidade estrutural não apenas influencia o tipo de tratamento necessário, mas também determina a sequência e a urgência das intervenções cirúrgicas⁴. Em muitos casos, a presença de lesões associadas no crânio ou no sistema cervical requer uma abordagem multidisciplinar para garantir a segurança e a eficiência no manejo do paciente⁴.

As causas e os mecanismos de trauma facial estão intrinsecamente ligados ao tipo de lesão e à extensão do dano causado. Em contextos de violência urbana, por exemplo, as lesões geralmente são resultado de forças contundentes e fraturas múltiplas, enquanto acidentes de trânsito tendem a produzir fraturas combinadas, muitas vezes envolvendo tanto a mandíbula quanto a órbita ocular⁵. Além disso, quedas em idosos e crianças muitas vezes geram traumas de baixa velocidade que podem não ser facilmente detectados em exames iniciais⁵. Esse entendimento detalhado dos mecanismos lesivos auxilia não apenas no diagnóstico, mas também na elaboração de protocolos de atendimento rápido e preciso⁵. A natureza da lesão influencia diretamente a escolha da abordagem terapêutica, especialmente em casos onde há risco de infecção ou de complicações mais graves⁶.

O diagnóstico precoce e preciso é um fator determinante para o sucesso no tratamento de traumas faciais, especialmente em lesões complexas. Exames de imagem, como tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM), desempenham um papel fundamental no mapeamento das lesões e na definição da estratégia terapêutica⁶. A TC, em especial, permite uma avaliação detalhada das estruturas ósseas, sendo indicada como exame padrão em casos de fraturas complexas⁶. A RM, por outro lado, é preferida para análise de tecidos moles, como músculos e vasos sanguíneos, sendo essencial em casos onde há suspeita de lesão neurológica ou vascular⁷. A seleção apropriada de exames, portanto, é essencial para evitar diagnósticos incompletos ou imprecisos que poderiam comprometer a recuperação do paciente⁷.

O manejo terapêutico dos traumas faciais evoluiu consideravelmente nas últimas décadas, com o desenvolvimento de técnicas cirúrgicas menos invasivas e o aprimoramento dos materiais de fixação óssea⁷. A osteossíntese, por exemplo, permitiu uma maior estabilidade nas fraturas faciais, reduzindo o tempo de recuperação e minimizando o risco de complicações⁸. A escolha entre tratamento conservador e cirúrgico depende de uma série de fatores, incluindo a extensão da fratura, a idade do paciente e as condições prévias de saúde⁸. Em casos leves, onde a estabilidade facial é mantida, o tratamento conservador pode ser eficaz; entretanto, em lesões graves, a intervenção cirúrgica é frequentemente a única opção viável⁸.

Um dos maiores desafios no tratamento de traumas faciais está na prevenção de complicações a longo prazo. Infecções, perda de função motora e deformidades estéticas são alguns dos riscos associados ao tratamento de fraturas faciais, exigindo uma monitorização rigorosa e um acompanhamento frequente do paciente⁹. Além disso, pacientes que sofreram traumas faciais muitas vezes precisam de suporte psicológico para lidar com as consequências estéticas e funcionais das lesões⁹. A reabilitação, nesse contexto, assume um papel crucial, oferecendo não apenas uma recuperação física, mas também auxiliando na reintegração social e na restauração da autoestima do paciente⁹.

Os avanços tecnológicos no campo da cirurgia facial, como o uso de impressão 3D para modelagem de próteses e estruturas faciais personalizadas, têm ampliado as possibilidades de tratamento e melhorado os resultados estéticos e funcionais para pacientes com traumas graves¹⁰. A possibilidade de criar modelos tridimensionais permite que os cirurgiões planejem com precisão as etapas do procedimento, reduzindo o tempo de cirurgia e aumentando a previsibilidade dos resultados¹⁰. Além disso, novas abordagens minimamente invasivas estão sendo desenvolvidas, como o uso de técnicas endoscópicas para correção de fraturas, diminuindo o tempo de internação e o risco de complicações¹⁰.

OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho é revisar as principais abordagens diagnósticas e terapêuticas para o trauma facial, analisando avanços tecnológicos, métodos de reabilitação e o impacto das lesões faciais na funcionalidade e estética.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Examinar a prevalência e os fatores de risco associados aos diferentes tipos de trauma facial.
2. Avaliar a eficácia das técnicas cirúrgicas modernas, como o uso de osteossíntese e impressão 3D, no tratamento de fraturas faciais complexas.
3. Discutir a importância do suporte psicológico e da reabilitação física no manejo pós-trauma.
4. Analisar o papel das abordagens preventivas e das políticas públicas na redução da incidência de traumas faciais.

5. Explorar a relevância de uma abordagem multidisciplinar no tratamento integrado dos traumas faciais.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão narrativa, na qual foram analisados as principais abordagens diagnósticas e terapêuticas para o trauma facial, analisando avanços tecnológicos, métodos de reabilitação e o impacto das lesões faciais na funcionalidade e estética nos últimos anos. O início do estudo foi realizado com treinamento teórico utilizando as seguintes bases de dados: PubMed, sciELO e Medline, utilizando os descritores: “Traumatismos Faciais” OR “Cirurgia Reconstrutiva de Face” OR “Lesões Maxilofaciais” OR “Fraturas Crânio-faciais” OR “Reabilitação Pós-Trauma Facial” nos últimos 5 anos. Por ser uma revisão narrativa, este estudo não possui riscos.

Bases de dados: Esta revisão incluiu estudos nas bases de dados MEDLINE – PubMed (National Library of Medicine, National Institutes of Health), COCHRANE, EMBASE e Google Scholar.

Os critérios de inclusão aplicados na revisão analítica foram estudos de intervenção humana, estudos experimentais, estudos de coorte, estudos de caso-controle, estudos transversais e revisões de literatura, editoriais, relatos de caso e apresentações de pôster. Também foram incluídos apenas estudos escritos em inglês e português.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da prevalência dos tipos de trauma facial revela variações significativas conforme o grupo populacional e o contexto social. Estudos demonstram que fraturas de mandíbula e de ossos nasais estão entre as mais frequentes, devido à vulnerabilidade estrutural dessas regiões e à sua localização mais exposta no crânio¹². Observa-se uma alta incidência de traumas faciais em indivíduos jovens, especialmente do sexo masculino, associada a comportamentos de risco e exposição a situações de violência urbana¹². Já em populações idosas, as quedas são as principais responsáveis pelos traumas faciais, particularmente em contextos domésticos e de cuidados de longo prazo, onde o declínio da mobilidade e o aumento da fragilidade óssea potencializam esses eventos¹².

Os fatores de risco relacionados ao trauma facial são diversos e incluem desde a exposição a atividades de alto risco até condições pré-existentes que possam fragilizar a estrutura óssea facial¹³. A presença de osteoporose, por exemplo, é um fator predisponente importante em mulheres pós-menopausa, onde traumas de baixa intensidade podem causar fraturas graves¹³. Da mesma forma, a ausência de uso de equipamentos de proteção individual em esportes de contato aumenta substancialmente o risco de lesões faciais, especialmente em práticas como futebol, boxe e esportes radicais¹³. Esse panorama ressalta a necessidade de medidas preventivas direcionadas a esses grupos específicos, promovendo intervenções que visem minimizar os riscos.

Em relação aos métodos de diagnóstico, a tomografia computadorizada (TC) permanece como o exame de escolha em traumas faciais devido à sua alta resolução e capacidade de detalhar estruturas ósseas com precisão¹⁴. A TC permite visualizar a extensão das fraturas e identificar com clareza o alinhamento dos ossos, auxiliando na decisão cirúrgica e no planejamento do tratamento¹⁴. Em contrapartida, a ressonância magnética (RM) é preferencialmente usada em casos que envolvem lesões de tecidos moles ou suspeitas de lesões neurovasculares, como hematomas ou lesões de nervos faciais¹⁴. O uso desses exames complementares proporciona uma visão abrangente da condição do paciente, sendo indispensável para um manejo terapêutico eficaz.

O debate entre tratamento conservador e cirúrgico para traumas faciais tem se intensificado, especialmente em fraturas menos complexas ou em pacientes com alto risco cirúrgico¹⁵. Para fraturas minimamente desviadas ou que não comprometem funções vitais, o tratamento conservador, com imobilização e monitoramento, pode ser adequado¹⁵. Entretanto, lesões que comprometem a simetria facial, a função mandibular ou que envolvem deslocamentos significativos frequentemente requerem intervenção cirúrgica para assegurar um realinhamento preciso e uma recuperação funcional satisfatória¹⁵. Essa decisão deve considerar o perfil do paciente e as potenciais complicações associadas ao procedimento.

A eficácia das técnicas cirúrgicas aplicadas ao trauma facial avançou consideravelmente com o uso de placas de fixação óssea de titânio, que proporcionam uma fixação robusta e permitem a cicatrização óssea em uma posição anatômica adequada¹⁶. Essas placas são essenciais para fraturas complexas da mandíbula e do maxilar, garantindo a estabilidade durante o processo de recuperação¹⁶. O uso de materiais biocompatíveis também tem reduzido o risco de rejeição e complicações associadas, permitindo melhores resultados estéticos e funcionais¹⁶. A escolha do material e da técnica de fixação depende, entretanto, do tipo e da gravidade da fratura, assim como das condições gerais do paciente.

No contexto das fraturas orbitárias, a cirurgia apresenta desafios específicos devido à proximidade de estruturas sensíveis, como o globo ocular e o nervo óptico¹⁷. As fraturas orbitárias podem causar enoftalmia e diplopia, comprometendo a visão e a simetria facial do paciente¹⁷. A reconstrução da órbita com o uso de enxertos, seja autólogo ou sintético, é uma técnica comumente empregada para restaurar a anatomia orbitária e corrigir deformidades¹⁷. No entanto, a escolha do material do enxerto deve ser criteriosa, considerando o risco de infecções e reabsorção, que podem impactar negativamente os resultados a longo prazo¹⁸.

A abordagem para traumas naso-orbitários complexos requer uma estratégia multidisciplinar que envolva oftalmologistas, cirurgiões bucomaxilofaciais e neurocirurgiões, especialmente em casos que envolvem múltiplas fraturas e lesões vasculares ou neurológicas¹⁸. Esse tipo de lesão não apenas compromete a estética facial, mas também pode levar a complicações funcionais severas, incluindo obstrução respiratória e perda de visão¹⁸. O tratamento demanda uma abordagem coordenada, e o uso de modelos tridimensionais tem se mostrado eficaz no planejamento pré-operatório, permitindo aos cirurgiões antecipar potenciais complicações e estabelecer uma sequência precisa de intervenções¹⁹.

A reabilitação pós-operatória é fundamental para a recuperação funcional em traumas faciais e inclui fisioterapia para restauração da mobilidade e suporte psicológico para lidar com as alterações estéticas resultantes¹⁹. Pacientes submetidos a cirurgias extensas frequentemente necessitam de terapias complementares para reestabelecer o movimento e prevenir fibrose, que pode limitar a amplitude de movimentos e afetar a qualidade de vida¹⁹. A inclusão de profissionais de diversas áreas, como fisioterapeutas e psicólogos, melhora os resultados globais, oferecendo um suporte integral que favorece a reintegração social do paciente²⁰.

A fixação interna rígida, por meio de osteossíntese com placas e parafusos, tem se mostrado altamente eficaz em fraturas complexas, reduzindo significativamente o tempo de recuperação e melhorando os desfechos estéticos e funcionais²⁰. Essa técnica possibilita uma reabilitação mais precoce e diminui o risco de complicações, como a não-união óssea e as infecções²⁰. Embora eficaz, o uso de osteossíntese pode apresentar limitações em pacientes pediátricos, nos quais o crescimento ósseo continua, exigindo uma avaliação criteriosa do prognóstico e das necessidades específicas de cada caso²¹.

As lesões de tecidos moles, frequentemente associadas a fraturas faciais, representam um desafio adicional, pois podem aumentar o risco de infecção e afetar a cicatrização²¹. O manejo adequado dessas lesões requer técnicas de sutura específicas que minimizem a cicatriz e respeitem a anatomia facial, além de cuidados rigorosos para evitar infecções secundárias²¹. Em casos de lesões extensas, o uso de retalhos e enxertos cutâneos é necessário para restaurar a integridade dos tecidos, assegurando uma recuperação mais completa²².

O uso de tecnologias emergentes, como impressão 3D, tem facilitado o planejamento e execução de cirurgias faciais, especialmente em traumas complexos²². A possibilidade de criar modelos tridimensionais personalizados permite ao cirurgião simular o procedimento, aumentando a precisão e reduzindo o tempo intraoperatório²². Estudos mostram que essa abordagem contribui para melhores resultados estéticos e reduz a necessidade de reintervenções, um benefício significativo tanto para o paciente quanto para o sistema de saúde²³. O suporte psicológico tem papel essencial na reabilitação de pacientes com trauma facial, especialmente naqueles que apresentam deformidades visíveis ou perda funcional significativa²³. A reabilitação não se limita apenas ao aspecto físico, mas também envolve o tratamento dos impactos psicológicos, que podem incluir ansiedade, depressão e transtorno de estresse pós-traumático²³. Oferecer apoio emocional e psicoterapia durante a recuperação tem se mostrado eficaz na melhoria da qualidade de vida, facilitando o processo de adaptação e a aceitação da nova aparência²⁴.

A idade do paciente influencia diretamente o prognóstico e a abordagem no tratamento de traumas faciais, especialmente em idosos e crianças²⁴. Nos idosos, a fragilidade óssea e a presença de comorbidades aumentam o risco de complicações, exigindo uma abordagem mais conservadora ou menos invasiva quando possível²⁴. Em crianças, o tratamento deve considerar o potencial de crescimento ósseo, que pode alterar a posição das estruturas faciais ao longo do tempo, exigindo reavaliações periódicas e possíveis ajustes²⁵. Por fim,

a importância da prevenção é um aspecto indiscutível no contexto dos traumas faciais. A implementação de medidas preventivas, como o uso de capacetes em atividades de risco e a conscientização sobre a importância dos equipamentos de segurança em esportes e no trânsito, tem reduzido a incidência de traumas faciais em diversos grupos populacionais²⁵. Campanhas de saúde pública focadas na educação e conscientização são fundamentais para promover a segurança e minimizar os impactos físicos e psicológicos do trauma facial²⁵.

CONCLUSÃO

Na conclusão, é essencial destacar a complexidade e a importância do tratamento multidisciplinar no manejo de traumas faciais, considerando a necessidade de abordagens personalizadas que integrem tanto os aspectos clínicos quanto os psicológicos do paciente. A prevenção, diagnóstico, e o tratamento desses traumas demandam um elevado nível de especialização e uma compreensão profunda das interações entre estruturas anatômicas e suas funções. Embora as técnicas cirúrgicas e as inovações tecnológicas tenham avançado significativamente, os desafios persistem, especialmente em lesões complexas que exigem planejamento cirúrgico detalhado e recursos especializados. A complexidade do trauma facial exige que o tratamento vá além da reparação estrutural, considerando a funcionalidade e a estética de maneira equilibrada para promover uma recuperação abrangente e satisfatória.

Os avanços recentes no uso de tecnologias, como a impressão 3D e a osteossíntese, têm mostrado benefícios claros em termos de precisão e resultados pós-operatórios. Esses avanços não apenas aprimoram a capacidade do cirurgião de planejar e executar procedimentos com precisão, mas também reduzem o tempo de internação e os riscos de complicações a longo prazo. A possibilidade de criar modelos anatômicos personalizados permite que a equipe cirúrgica antecipe possíveis desafios e minimize a necessidade de reintervenções, o que representa um progresso significativo no campo da cirurgia de trauma facial. No entanto, o acesso a essas tecnologias ainda é restrito em alguns contextos, especialmente em regiões com menos recursos, o que limita a sua aplicabilidade universal e ressalta a importância da formação contínua e da adaptação das técnicas aos recursos disponíveis.

O suporte psicológico desempenha um papel crucial no tratamento de pacientes com trauma facial, oferecendo auxílio não apenas na aceitação das mudanças físicas, mas também na superação das barreiras emocionais impostas pelo trauma. A perda da integridade facial e as cicatrizes visíveis podem impactar profundamente a autoestima e o bem-estar emocional do paciente, influenciando seu processo de recuperação. Intervenções psicossociais e acompanhamento terapêutico durante o período de reabilitação demonstram benefícios importantes na qualidade de vida e na adaptação social dos pacientes, facilitando uma recuperação mais completa e integrada. O tratamento do trauma facial deve, portanto, incluir uma abordagem integral que considere o paciente como um todo, indo além dos aspectos físicos para contemplar a saúde mental e social.

A reabilitação é outro ponto crítico, especialmente para a restauração funcional de movimentos e para o retorno do paciente às suas atividades diárias. Pacientes que necessitam de intervenções extensas podem enfrentar desafios de longo prazo, como limitações na mobilidade mandibular, perda de função nervosa e comprometimento estético. A integração de profissionais especializados, como fisioterapeutas e fonoaudiólogos, é fundamental para otimizar a recuperação funcional e garantir que o paciente possa retomar suas atividades com qualidade de vida e autonomia. A reabilitação deve ser vista como parte indispensável do tratamento, com planos personalizados que atendam às necessidades específicas de cada caso.


Em suma, o trauma facial exige uma abordagem médica abrangente e altamente especializada, que abranja a prevenção, o diagnóstico, o tratamento cirúrgico e a reabilitação. O sucesso no manejo do trauma facial depende de uma colaboração multidisciplinar, da incorporação de tecnologias avançadas e do apoio psicológico, que juntos contribuem para uma recuperação física, funcional e emocional completa. Políticas públicas de prevenção, aliadas ao contínuo desenvolvimento de técnicas e tecnologias médicas, são essenciais para reduzir a incidência e os impactos do trauma facial, promovendo uma qualidade de vida melhor para os pacientes afetados.

REFERÊNCIAS

1. Lee K, Kim Y, Lee MH, Kim SG. Analysis of facial bone fractures: An 11-year study of 2,094 patients. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019;47(8):1212-7.
2. Al-Moraissi EA, Ellis E 3rd. Surgical management of anterior table frontal sinus fractures: A systematic review and meta-analysis. *J Craniomaxillofac Surg.* 2020;48(5):453-62.
3. Gassner R, Tuli T, Hächl O, Rudisch A, Ulmer H. Cranio-maxillofacial trauma: A 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019;47(5):784-90.
4. Chrcanovic BR. Factors influencing the incidence of maxillofacial fractures. *Oral Maxillofac Surg.* 2019;23(2):225-47.
5. Boffano P, Rocchia F, Zavattero E, Dediol E, Uglesic V, Kovacic Z, et al. European Maxillofacial Trauma (EURMAT) project: A multicentre and prospective study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2015;43(1):62-70.
6. Hwang K, You SH. Analysis of facial bone fractures: An 11-year study of 2,094 patients. *Indian J Plast Surg.* 2010;43(1):42-8.
7. Motamedi MH, Dadgar E, Ebrahimi A, Shirani G, Haghighat A, Jamalpour MR. Pattern of maxillofacial fractures: A study in five major hospitals in Tehran, Iran. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(7):1283-90.
8. Gassner R, Tuli T, Hächl O, Rudisch A, Ulmer H. Cranio-maxillofacial trauma: A 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003;31(1):51-61.

9. Bormann KH, Wild S, Gellrich NC, Kokemüller H, Stühmer C, Schmelzeisen R, et al. Five-year retrospective study of mandibular fractures in Freiburg, Germany: Incidence, etiology, treatment, and complications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(6):1251-5.
10. Hwang K, You SH. Analysis of facial bone fractures: An 11-year study of 2,094 patients. *Indian J Plast Surg.* 2010;43(1):42-8.
11. Motamedi MH, Dadgar E, Ebrahimi A, Shirani G, Haghighat A, Jamalpour MR. Pattern of maxillofacial fractures: A study in five major hospitals in Tehran, Iran. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(7):1283-90.
12. Gassner R, Tuli T, Hächl O, Rudisch A, Ulmer H. Cranio-maxillofacial trauma: A 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003;31(1):51-61.
13. Bormann KH, Wild S, Gellrich NC, Kokemüller H, Stühmer C, Schmelzeisen R, et al. Five-year retrospective study of mandibular fractures in Freiburg, Germany: Incidence, etiology, treatment, and complications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(6):1251-5.
14. Hwang K, You SH. Analysis of facial bone fractures: An 11-year study of 2,094 patients. *Indian J Plast Surg.* 2010;43(1):42-8.
15. Motamedi MH, Dadgar E, Ebrahimi A, Shirani G, Haghighat A, Jamalpour MR. Pattern of maxillofacial fractures: A study in five major hospitals in Tehran, Iran. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(7):1283-90.
16. Gassner R, Tuli T, Hächl O, Rudisch A, Ulmer H. Cranio-maxillofacial trauma: A 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003;31(1):51-61.
17. Bormann KH, Wild S, Gellrich NC, Kokemüller H, Stühmer C, Schmelzeisen R, et al. Five-year retrospective study of mandibular fractures in Freiburg, Germany: Incidence, etiology, treatment, and complications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(6):1251-5.
18. Hwang K, You SH. Analysis of facial bone fractures: An 11-year study of 2,094 patients. *Indian J Plast Surg.* 2010;43(1):42-8.
19. Motamedi MH, Dadgar E, Ebrahimi A, Shirani G, Haghighat A, Jamalpour MR. Pattern of maxillofacial fractures: A study in five major hospitals in Tehran, Iran. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(7):1283-90.
20. Gassner R, Tuli T, Hächl O, Rudisch A, Ulmer H. Cranio-maxillofacial trauma: A 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg.* 2003;31(1):51-61.
21. Bormann KH, Wild S, Gellrich NC, Kokemüller H, Stühmer C, Schmelzeisen R, et al. Five-year retrospective study of mandibular fractures in Freiburg, Germany: Incidence, etiology, treatment, and complications. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(6):1251-5.
22. Choi KY, Yang JD, Chung HY, Cho BC. Current concepts in the mandibular condyle fracture management part II: Open reduction versus closed reduction. *Arch Plast Surg.* 2012;39(4):301-8.
23. Zandi M, Seyed Hoseini SR. Conservative management of orbital floor fractures: A prospective study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68(9):2070-6.
24. Rohini M, Manjunath KS, James L, Jayanthi K. Orbital fractures: A review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018;47(5):635-42.

HISTÓRIA DO ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO NOS TRANSPLANTES DE ENXERTO

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402108>

Data de submissão: 14/11/2024

Data de aceite: 18/11/2024

Luan Nascimento Mesquita

Universidade Federal do Pará (UFPA)
Belém – Pará
<https://orcid.org/0000-0003-3995-4189>

Brenda Pinto de Moraes

Fundação Centro de Hematologia
e Hemoterapia do Estado do Pará
(Fundação HEMOPA), Belém – Pará
<https://orcid.org/0000-0002-2088-6334>

Emanoelle Das Neves Martins

Universidade da Amazônia (UNAMA)
Belém – Pará
<https://orcid.org/0009-0009-1928-4115>

Maria Eduarda Rodrigues Figueiredo

Centro Universitário FIBRA, Belém – Pará
<https://orcid.org/0009-0000-2308-1964>

Jade Geovana Galvão Sousa

Universidade da Amazônia (UNAMA)
Belém – Pará
<https://orcid.org/0009-0000-8358-6577>

Lays Costa Teixeira

Universidade da Amazônia (UNAMA)
Belém – Pará
<https://orcid.org/0009-0001-2276-6483>

Ana Cecília Bonfim de Carvalho

Universidade da Amazônia (UNAMA)
Belém – Pará
<https://orcid.org/0009-0003-4915-0886>

Patricia Jeanne de Souza Mendonça Mattos

Fundação Centro de Hematologia
e Hemoterapia do Estado do Pará
(Fundação HEMOPA), Belém – Pará
<https://orcid.org/0000-0001-6608-4954>

RESUMO: Antecedentes: a evolução histórica das pesquisas biomédicas, clínicas e farmacológicas experimentais com Antígeno Leucocitário Humano (HLA) permitiram enormes avanços nos estudos de transplantes de órgãos sólidos em humanos na contemporaneidade. Objetivo: elucidar ao longo da evolução científica as conquistas de saúde através da pesquisa do HLA para os transplantes. Metodologia: Trata-se de uma Revisão de Literatura, com base do acrônimo TQO e incluindo as bases de dados Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), Capes Periódicos, *Google Scholar*, *Embase*, *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE)*, *Science Direct* e *Scopus*. Utilizou-se como descritores termos de interesse encontrados no *Medical Subject Headings (MeSH)* e no *Descritores das Ciências da Saúde (DeCS)*. Discussão e Resultados: a retrospectiva das pesquisas com HLA ao longo da história humana percebe-se a multidisciplinariedade do trabalho na prática de transplante de enxertos sólidos. Conclusão: as técnicas

experimentais e clínicas de pesquisa de Antígenos Leucocitário Humano a nível médico, biomédico e farmacológico proporcionaram grandes avanços para o sucesso de transplantes de enxertos sólidos humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Saúde Pública; Enxertos de Tecidos; Antígeno de Leucócito Humano; Pesquisa Médica

HISTORY OF HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN IN GRAFT TRANSPLANTS

ABSTRACT: Background: The historical evolution of experimental biomedical, clinical and pharmacological research with Human Leukocyte Antigen (HLA) has allowed enormous advances in the studies of solid organ transplantation in humans in contemporary times. Objective: to elucidate throughout scientific evolution the health achievements through HLA research for transplants. Metadology: This is a Literature Review, based on the acronym TQO and including the Virtual Health Library (VHL), Capes Periodicals, Google Scholar, Embase, Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Science Direct and Scopus databases. Terms of interest found in the Medical Subject Headings (MeSH) and Health Sciences Descriptors (DeCS) were used as descriptors. Discussion and Results: the retrospective of research on HLA throughout human history shows the multidisciplinary nature of the work in the practice of solid graft transplantation. Conclusion: the experimental and clinical research techniques of Human Leukocyte Antigens at the medical, biomedical and pharmacological levels have provided great advances for the success of human solid graft transplants.

KEYWORDS: Public Health; Tissue Grafts; Human Leukocyte Antigen; Medical Research

INTRODUÇÃO

A história da saúde é um movimento das ciências humanas e sociais em saúde como elemento de análise das ações e de políticas públicas da saúde, além de trazer sentido de contingência e complexidade da experiência individual e social com a saúde e a doença de forma a aproximar as questões contemporâneas a experiência passada para transformar o presente nos sistemas de saúde pública (HOCHMAN, 2020).

Dentre os processos históricos de saúde temos a conquista do Antígeno Leucocitário Humano do Antígeno Leucocitário Humano (do inglês, *Human Leukocyte Antigens* - HLA) que se deu através do desenvolvimento de metodologias de pesquisas baseadas em técnicas experimentais e clínicas de genética e de imunologia no século XX que devido ao grande polimorfismo genético tendem a atuar em muitas doenças hematológicas e de busca de doadores e dos receptores compatíveis em transplantes de órgãos sólidos (MENEZES, 2019; ALVES, 2018).

Tais transplantes de enxertos sólidos, sendo o primeiro a ocorrer em 1933, é uma opção, que cresce nos últimos anos, de tratamento para doenças crônicas e terminais de pacientes e que constantemente sofre evoluções no tratamento de patologias dos rins, pâncreas, fígado, coração, pulmão e do intestino e no uso de medicamentos de imunossupressão (MENDES *et al.*, 2012; COELHO; BONELLA, 2019). Nesse sentido, a presente pesquisa histórica busca elucidar ao longo da evolução científica as conquistas de saúde através da pesquisa do HLA para os transplantes.

METODOLOGIA

Trata-se de uma Revisão de Literatura (RL) (ANDRADE, 2021). A RL é um desenho de estudo secundário que fornece uma fonte de bibliográfica relevante para construção e divulgação do conhecimento científico com função histórica através da demonstração de uma visão geral do estado de desenvolvimento de um assunto em determinado período, além de um caráter de atualização na medida que busca fornecer aos profissionais, de qualquer área, o desenvolvimento corrente da ciência ajudando-os a direcioná-los a estudos primários de melhor qualidade científica sobre o tema (ANDRADE, 2021; DORSA, 2020; ALVES *et al.*, 2022).

A estratégia de pesquisa foi estruturada através do mnemônico T (Tema), Q (Qualificador) e O (Objetivo) (ARAÚJO, 2020), sendo T: História, Q: Transplantes de Enxertos e O: Antígeno Leucocitário Humano.

A pesquisa de dados foi feita na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), Capes Periódicos, *Google Scholar*, *ScienceDirect*, *Scopus* e *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE)*. As palavras-chave usadas foram combinadas com os operadores booleanos AND e OR na busca, sendo *History of Public Health*; *Transplants*; *HLA Antigens*; *Biomedical Research* foram usados nas buscas. Os termos de busca estão indexados no *Medical Subject Headings (MeSH)* e no Descritores das Ciências da Saúde (DeCS).

Utilizou-se como critérios de inclusão artigos relacionados à temática proposta, publicados nos idiomas português, espanhol e inglês, no período de janeiro de 1989 a dezembro de 2023. Foram excluídos trabalhos que fossem duplicatas.

Em relação à seleção e triagem de dados, títulos e resumos, selecionados de acordo com critérios de inclusão e exclusão, análises de viés e de estatística foram importados para o gerenciador de referência Mendeley®. Os estudos completos recuperados foram exportados para a Plataforma Rayyan®, sendo selecionados de forma independente e cego pelos 8 (oito) autores no aplicativo de Revisão e de Metanálise. As discordâncias foram resolvidas consensualmente entre os autores. Os dados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel®. Para extração de dados de artigos, um formulário de extração foi usado para organizar os seguintes dados da RI: nomes de artigos e autores, revista e ano de publicação, objetivo do estudo, desenho do estudo, métodos estatísticos usados, tipos de intervenções avaliadas, resultados, avaliação de qualidade e de vieses, inclusão de países, análise de subgrupos e contribuição do estudo, perguntas não respondidas, lacunas de trabalho, conflito de interesse, limitação do estudo, citação e referência do artigo, além do uso de referência atualizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PRIMÓRDIOS DOS TRANSPLANTES

A ideia de substituir partes doentes do corpo já existe a milênios na humanidade que se estendeu para uma complexidade maior como o transplante de uma perna feita pelos médicos santos Cosme e Damião no Século III a.C. em que um zelador da igreja romana sofre de câncer na perna esquerda, fazendo com que os irmãos médicos realizassem a amputação e colocação da perna amputada de um mouro morto, criando “O Milagre do Transplante da Perna Negra” como ilustrado na imagem 1. Mas, em 600 a.C, já era realizado a substituição de narizes perdidos a partir de retalhos cutâneos autógenos. No século XVI, Gaspare Tagliacozzi e outros cirurgiões plásticos obtiveram sucesso na troca das vias aéreas (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; BENJAMENS *et al.*, 2020).



Imagem 1: Milagre da Perna Preta de São Cosme e Damião

Fonte: Nascimento (2023)

O PAI DA CIRURGIA DE TRANSPLANTES

O século XX apresentou um momento que se confirmava a possível rejeição de enxertos e o início científico dos transplantes de órgãos sólidos e teciduais. A começar pelo médico-cirurgião e biólogo francês Alexis Carrel (1873 – 1944), na imagem 2, que contribuiu consideravelmente na prática cirúrgica de transplante de órgãos sólidos pelo pioneirismo em cirurgias vasculares e demais técnicas de saúde, garantindo-o um Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1912. Esse interesse médico deu-se após a morte do presidente francês Carnot por perfuração da artéria porta-hepática. Além da experiência em bordados finos em seda que aprendeu em Lyon com uma bordadeira experiente que o permitiu desenvolver o método de anastomose arterial e venosa em cães que é usado até hoje, conforme a ilustração da imagem 3, uma vez que não havia na época cirurgias vasculares que poderiam ter salvado o Chefe de Estado Francês, colocando-a em prática através de um transplante de renal canino em 1902 (VERNON, 2019; SINGLA; KOTECHA, 2021).

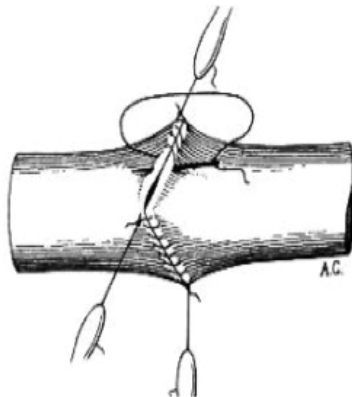


Imagem 2 e 3: Alexis Carrel e a Técnica de Anastomose Vascular

Fonte: Levin (2015)

Em seguida, no ano de 1930, com ajuda do engenheiro e aviador Charles Lindbergh, criaram um estudo de uma bomba (“Coração Artificial”) que poderia manter oxigenados e vivos órgãos inteiros o qual aplicou-se em um coração e tireoide de um gato. Atualmente, foi ressuscitado pelos cirurgiões com esse objetivo na forma de bomba de perfusão. A outra contribuição do biólogo francês é a criação de técnicas de conservação extracorpórea de tecidos por criopreservação (com uso de resfriamento da vaselina), transplante de rins de animais, método de transplante de órgãos como tireoide, rim, baço e orelhas, transfusão sanguínea intervivos, assepsia rigorosa em transplantes, o uso de agulhas finas e material de sutura para as cirurgias de enxertos, além da criação de habilidades técnicas em cirurgias em transplantes. Todavia, observou que os enxertos vasculares não sobreviviam por muito tempo (VERNON, 2019; GUILLAUMON, 2023; SHARRER, 2022; RUTKOWSKI *et al.*, 2018).

O NASCIMENTO DA IMUNOLOGIA DOS TRANSPLANTES

A rejeição de certos enxertos, até não explicável, foi esclarecida pelos trabalhos do zoólogo e médico-cirurgião anglo-brasileiro, da imagem 4, da Universidade de Oxford, Peter Medawar (1915 – 1987) e o médico australiano da Un:][76iversidade de Melbourne Frank Burnet (1899 – 1985) – na imagem 5 – que os garantiram um Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1960. Isso se deve as pesquisas de sistema imune do professor australiano em que observou que o indivíduo imunologicamente era capaz de diferenciar células e proteínas próprias e distintas ao entrar em contato, a aceitação e rejeição de antígenos e da produção de anticorpos contra os antígenos especificamente (conceito de “eu” e “não-eu” ou “reconhecimento de si mesmo”) (SHARRER, 2022).



Imagem 4: Peter Medawar

Fonte: Yacoub (2017)

Enquanto, o cientista da Oxford observando os feridos da Segunda Guerra Mundial percebeu que os enxertos de pele aplicado nos pacientes não eram permanentes, fazendo com que se realizasse testes de camundongos quiméricos os quais resultaram na tolerância a enxertos de pele da cepa doadora, o resultado garantiu a confirmação das ideias do professor universitário de Melbourne de “reconhecimento de si mesmo”. Por conseguinte, trabalhou com bovinos dizigóticos e monozigóticos com enxertos de pele, os resultados da pesquisa mostraram uma boa aceitação do tecido doado, principalmente, de bovinos dizigóticos, posto que tinham compartilhado durante o desenvolvimento embrionário antígenos pelo sangue, confirmando a assertiva de Burnet. Além disso, trabalhando com parâmetros de tolerância e imunidade aos transplantes alogênicos conclui que o processo em si é mediado por células em vez de ser humoral (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; PETROFF, NGUYEN; AHN, 2022).



Imagem 5: Frank Burnet

Fonte: Bernard (2016)

A TRANSIÇÃO ENTRE IMUNOLOGIA COM A GENÉTICA DOS TRANSPLANTES:

É o período que se buscou pesquisar os possíveis grupos de leucócitos como os grupos sanguíneos na forma de ABO, Rh e outros dos glóbulos vermelhos e que poderiam estar envolvidos nas reações transfusionais (BODMER; BODMER, 1999).

Representado pela imagem 6, o médico italiano Ruggero Ceppellini (1917 - 1988) deu o início ao processo de transição dos estudos imunológicos para níveis genéticos de transplante de órgãos. As contribuições científicas focaram na descoberta de haplótipos de Imunoglobulinas, a capacidade de sobrevivência dos enxertos de pele ser maior quando os indivíduos eram pareados para os grupos definidos pelo ensaio de aglutinação de leucócitos como irmãos, pais e filhos, lançamento das bases para descoberta do HLA-DR e outros determinantes de Classe II usando técnicas sorológicas específicas de células B mediante inibição da Cultura Mista de Linfócitos (CML) por Anti-HLA-DR, produção anticorpos monoclonais e as variantes do HLA associadas com doenças destacando a malária e a talassemia (BODMER, 2019).



Imagem 6: Ruggero Ceppellini

Fonte: Bodmer (1989)

A descrição de dois pesquisadores da Universidade de Stanford da Faculdade de Medicina de um novo sistema de isoantígenos de leucócitos mediante anti-soros de mulheres múltiparas não transfundidas denominado LA, sendo L de leucócito para diferenciá-lo das células vermelhas e A de locus gênico identificado com as variantes LA1 e LA2, Hoje HLA-A1 e A2, respectivamente também marcou o período. Esses pesquisadores PhD são o professor de genética Walter Bodmer (na imagem 7) e a pesquisadora associada sênior Rose Payne (da imagem 8), sendo a última com maior destaque da dupla de cientistas de Stanford que trabalharam em conjunto para o desenvolvimento do HLA por técnicas imunológicas e genéticas (PAYNE, 1965; BODMER; BODMER, 1999).



Imagem 7: Walter Bodmer

Fonte: ESHG (2007)

A médica e pesquisadora estadunidense Rose Payne (1909-1999) foi pioneira no campo da histocompatibilidade humana (HLA) e baseada em estudos de reações transfusionais e da tentativa de revelar por meio de teste de aglutinação anticorpos contra leucócitos mistos percebeu que a estimulação fetal-materna dá origem a anticorpos (isoleucoaglutininas) contra glóbulos brancos através de antígenos gerando incompatibilidade leucocitária fetomaterna, identificando especificidades polimórficas em glóbulos brancos que podem ser herdados pelos descendentes. Essa descoberta da “mãe do HLA” propiciou o desenvolvimento da tipagem tecidual por soro de grávidas até ser substituída por anticorpos monoclonais e de técnicas de testagem molecular. Desempenhou um papel participativo sobre os Workshops de Histocompatibilidade ou de Imunogenética na forma de criação de nomenclaturas no Comitê responsável. Ademais, analisou a correlação entre as reações transfusionais não febris com anticorpos HLA, a expressão gênica do HLA nas células da pele, variabilidade do Antígeno Leucocitário Humano em populações humanas e de genes HLA responsáveis por doenças autoimunes e crônicas (BODMER; BODMER, 1999; PAYNE; ROLFS, 1958).



Imagem 8: Rose Payne

Fonte: Bodmer (1999)

Outra figura científica que alavancou a pesquisa de Payne sobre isoleucoaglutininas, ilustrado na imagem 9, foi o médico holandês Jon Van Rood (1926 – 2017), pioneiro do Antígeno Leucocitário Humano (HLA) e da Imunogenética dos transplantes, que através de análise estatística simples feitas por computadores com reações séricas de aglutinação de soros de grávidas múltiparas que garantiu não só a descoberta de antígenos dialélicos na forma de 4a e 4b (atualmente, BW4 e BW6, respectivamente) como também os padrões de aglutinação dando início as técnicas de bioinformática. Além disso, chegou na mesma conclusão que Rose Payne sobre a estimulação feto-materna com anticorpos contra antígenos denominado por Anti-IV (BODMER; BODMER, 1999; PLOEGH, 2018; JAGER; BRAND; CLAAS, 2019; BONTROP; BRAND; CLAAS, 2017).



Imagem 9: Jon Van Rood

Fonte: Jansen (2007)

ASCENSÃO DA GENÉTICA DOS TRANSPLANTES

Durante as Décadas 1960 e 1970, a partir de estudos laboratoriais experimentais permitiu avanços nos transplantes, estudo da genética das populações e a elucidação do mecanismo molecular individual no reconhecimento próprio e dos outros pela relação das estruturas genéticas determinadas da superfície celular que regulam as reações imunológicas. Fazendo com que, em 1980, o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina fosse atribuído aos cientistas Baruj Benacceraf, Jean Dausset e George Snell da imagem 10 (RUTKOWSKI *et al.*, 2018).



Imagem 10 (da esquerda para direita): George Snell, Jean Dausset e Baruj Benacerraf

Fonte: Complejo mayor de histocompatibilidad 1.

O primeiro da tríade é o cientista laboratorial norte-americano George Snell (1903 – 1996) do Laboratório Jackson em Bar Harbor de Maine, trabalhava com transplantes no Pós-Segunda Guerra Mundial e em conjunto com o imunologista Peter Gorer, estudando os transplantes, genética de camundongos e imunologia, identificaram o complexo do gene do Complexo H-2 em camundongos na qual usou para determinar a possível tolerância ou rejeição dos enxertos de tecido fazendo florescer a imunologia com os estudos do Complexo de Histocompatibilidade (do inglês, MHC). Além disso, foi o fundador e primeiro editor da revista científica *Immunogenetics* (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; ALVAREZ *et al.*, 2018).

O segundo vem ser o laboratorista francês Jean Dausset (1916 - 2009) do Hospital Infantil de Boston que na década de 1950, a partir do interesse pelas novas técnicas de imuno-hematologia aos eritrócitos e aos leucócitos, confirmou que os glóbulos brancos eram aglutinados por anticorpos de pacientes (denominados de leucoaglutininas) que receberam transfusões sanguíneas (politransfundidos) e de mulheres de múltiplas gravidezes (múltiparas) no soro e isso se devia as diferenças genéticas entre doadores e receptores. Ademais, caracterizou o primeiro antígeno leucocitário denominado MAC, posteriormente, nomeado de Antígeno Leucocitário Humano (HLA – A2 ou HLA) e a semelhança entre o H-2 de camundongos com o HLA-A2 também foi identificável pelo cientista francês que elaborou a complexa relação entre a compatibilidade do tecido e a sobrevivência do enxerto e definiu que quanto mais próximo for o tecido, maior as chances de sucesso (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; ALVAREZ *et al.*, 2018; SHARRER, 2022; BODMER; BODMER, 1999; BODMER, 2019).

E o último da equipe do Nobel de 1980, o médico venezuelano Baruj Benacerraf o qual trabalhou o sistema imune na Universidade de Nova York através de porquinhos-da-índia inoculados com determinados antígenos. O resultado foi que alguns dos roedores não desenvolveram uma resposta imunológica. Essa descoberta permitiu-o fazer melhoramentos genéticos para mostrar que a tolerância imunológica dos animais a esses antígenos se dá através de genes autossômicos dominantes (RUTKOWSKI *et al.*, 2018).

TRANSPLANTAÇÃO CELULAR E DE ENXERTIA HUMANA

Outros dois cientistas da saúde são agraciados pelo Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1990 por contribuições para transplantes de células e órgãos humanos que são Joseph E. Murray e Edward Donnall Thomas (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; TAN; MERCHANT, 2019).

A gênese do transplante de órgãos humanos deu-se com o médico estadunidense Joseph Murray (1919 – 2012), representado na imagem 11, que desenvolveu a ideia de que o transplante renal falha por questões imunológicas individuais que levam a reações inesperadas, além de que o uso de técnicas de radiação X (na forma de irradiação corporal total) e de Imunossupressores (com uso do Azatioprina) em hospedeiros geneticamente não-idênticos que garantem a tolerância imunológica a partir da supressão do sistema imune o qual permite o sucesso de um transplante de órgãos. Consequentemente, a prática das ideias deu-se através da realização mundial com sucesso do primeiro transplante renal entre irmãos gêmeos idênticos (ou monozigóticos) em 1954, aonde o irmão saudável Ronald Herrick dou um rim para o Richard Herrick que sofria de nefrite crônica, fazendo-o sobreviver por mais oito anos. Em 1959, o médico estadunidense conseguiu o primeiro aloenxerto bem-sucedido do mundo e, em 1962, o primeiro transplante renal cadavérico no mundo (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; PARK, 2023; SHARRER, 2022; TAN; MERCHANT, 2019).

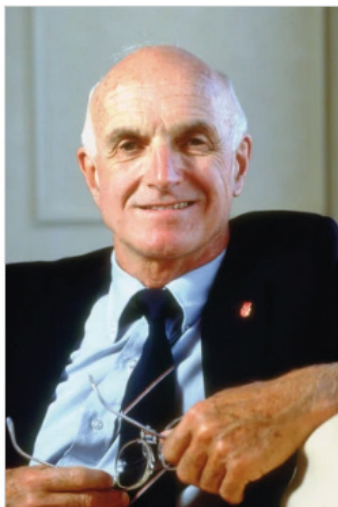


Imagem 11: Joseph E. Murray

Fonte: Morris (2013)

Posteriormente, da imagem 12, o colega de Prêmio Nobel de Murray também contribuiu consideravelmente para o transplante de órgãos. O médico hematologista norte-americano Donnall Thomas (1920 – 2012) trabalhando com Transplante de Medula Óssea (TMO) e Leucemias, pesquisou os fatores estimuladores de medula óssea e tentativas de realizar clinicamente o TMO, fazendo não só com que os alguns pacientes curassem da Leucemia como também houvesse o aperfeiçoamento da técnica de saúde (RUTKOWSKI *et al.*, 2018).



Imagem 12: Donnall Thomas

Fonte: Gale (2013)

Outra figura de destaque da época ganhadora do Prêmio Nobel é o médico judaico-canadense Ralph M. Steinman (1943-2011), representado na imagem 13, na qual trabalhando com a descoberta das células dendríticas e a resposta adaptativa e inata do sistema imune ocasionadas por elas, demonstrou que a respostas imunes adaptativas e inatas são condicionadas por mediação das células T (RUTKOWSKI *et al.*, 2018).

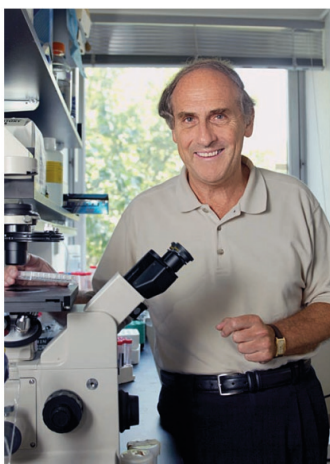


Imagem 13: Ralph M. Steinman

Fonte: Simm (2011)

A ERA DA FARMACOLOGIA DE TRANSPLANTES

Os avanços dos transplantes de órgãos e tecidos só se deram pelo desenvolvimento de medicamentos na forma de imunossuppressores, no intuito de inibir a rejeição imunológica dos enxertos, a produção de antibióticos (como a Estreptomicina e o Ácido Aminossalicílico) e Anti-Inflamatórios Esteroidais (na forma de Cortisona). Por conseguinte, fez com que o Comitê do Prêmio Nobel em 1998 premiasse a médica estadunidense Gertrude B. Elion (1918 – 1999) e o médico norte-americano George H. Hitchings (1905 – 1998) por desenvolverem as drogas Aziotioprina e a 6-mercaptopurina para essa finalidade terapêutica através da interferência na replicação celular (SHARRER, 2022; RUTKOWSKI *et al.*, 2018).

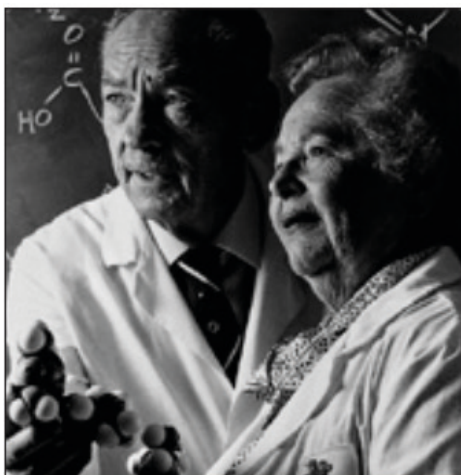


Imagem 14: George H. Hitchings & Gertrude B. Elion

Fonte: Pasero & Marson (2012)

Os cientistas estadunidenses, representados heroicamente na imagem 13, sintetizaram em laboratório o 6-mercaptopurina (tioguanina) que tratou e curou muitos pacientes oncológicos portadores de Leucemia Miocítica Aguda (LMA) tanto de adultos quanto de crianças, além de outras drogas que atacam o ciclo de vida do ácido nucleico das células como azatioprina (Imuran) um imunossupressor que revolucionou os transplantes de órgãos permitindo com que os receptores de enxertos recebessem os tecidos sem o risco de rejeição mediante a derrubada da expansão dos leucócitos na medula óssea (RUTKOWSKI *et al.*, 2018; SHARRER, 2022).

INTERNATIONAL HLA AND IMMUNOGENETICS WORKSHOP (IHIW)

Atualmente, o International human leukocyte antigen (HLA) and Immunogenetics (IHIWs) é o conjunto de colaborações internacionais que visam reunir pesquisadores e especialistas em HLA para atingir um consenso em tópicos sobre a imunogenética expresso na identificação e nomeação de reagentes e das moléculas imunológicas. (Materna *et al.*, 2021).

Foi através dos Workshops de Histocompatibilidade que algumas técnicas e padronizações, desde 1964 até o presente momento, com destaque ao uso do ensaio de microcitotoxicidade de Terasaki e McCelland para análise sorológica de reações com antígenos leucocitários humanos, uniformização das nomenclaturas dos antígenos e a criação do Comitê de Nomenclatura de Fatores do Sistema HLA da Organização Mundial de Saúde (Bodmer, 2016; Torres; Moraes, 2011).

CONTEMPORANEIDADE DO HLA

Atualmente, os avanços tecnológicos e científicos em biologia molecular aplicados em HLA são marcantes na busca de doadores e receptores compatíveis em hemocentros e centrais de transplantes. Com o advento das tecnologias de Sequenciamento Genético e de identificação de anticorpos específicos anti-Antígenos Leucocitários Humano (HLA), as avaliações clínicas e imunológicas pré e pós transplantes de têm sido mais precisas, contribuindo para o sucesso dos procedimentos, elevando a taxa de sobrevida e, consequentemente, melhor qualidade de vida para os pacientes (OLIVEIRA, 2014).

Entre as técnicas mais utilizadas no ramo temos a Reação em Cadeia da Polimerase de Oligonucleotídeos de Sequência Específica (do inglês, *Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Oligonucleotide*, PCR – SSO), Prova cruzada (*cross-match*) por Citotoxicidade Dependente de Complemento (CDC), Prova cruzada por Citometria de Fluxo, Painel de Reatividade de Anticorpos (PRA) e o Ensaio Luminex (SANTOS; MAGALHÃES, 2022).

Limites e vies: o recorte temporal, as restrições de idiomas, artigos elegíveis são os possíveis limites. A seleção dos estudos, métodos, análises e resultados dos artigos aplicados na pesquisa podem ser o possível viés.

Aplicação: compreender historicamente o desenvolvimento da pesquisa do HLA para o transplante de órgãos sólidos.

Conflito de Interesses: os autores declaram que não há conflito de interesse.

Financiamento: os autores declaram que não há ajuda de custo para produção científica.

CONCLUSÃO

Em resumo, as técnicas experimentais e clínicas de pesquisa de Antígenos Leucocitário Humano a nível médico, biomédico e farmacológico proporcionaram grandes avanços para o sucesso de transplantes de enxertos sólidos humanos. Conclui-se que a evolução dos transplantes de órgãos ao longo da história da saúde humana dependeu da experimentação animal, de engenharia biomédica e de uso de fármacos. Assim como o envolvimento multidisciplinar de áreas das ciências biológicas, exatas e de saúde como anatomia, fisiologia, farmacologia, imunologia, engenharia, estatística e genética. Nesse sentido, cabe ainda novos estudos para que se desenvolva novas narrativas sobre o tema que ainda vem ser pouco discutido dentro dos meios científicos a nível historiográfico de língua portuguesa.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

LNM, BPM, ENM, MERF, JGGS, LCT e ACBC conceberam o desenho da pesquisa em conjunto com PJSMM. LNM, BPM, ENM, MERF, JGGS, LCT e ACBC fizeram a investigação e escreveram o artigo sob a supervisão da PJSMM. Os autores leram e aprovaram a versão final do documento. O conteúdo do trabalho é de exclusiva responsabilidade individual dos autores.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Patrícia Jeanne de Souza Mendonça Mattos gerente da Gerência em Imunogenética (GERIM) da Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (Fundação HEMOPA).

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, Yolanda Trujillo; BUSTABAD, Sergio Arce; VIGUERA, Rolando; MOTAS, Isabel Martínez; MEDIACEJA, Víctor White. **El complejo mayor de histocompatibilidad. Organización genética, estructura, localización y función.** *Panorama Cuba y Salud*, Cuba, v. 13, n. 1, p. 53-57, abr. 2018. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cubaysalud/pcs-2018/pcs181i.pdf>. Acesso em: 03 set. 2023.

ALVES, Carla Adriana. **ANTÍGENOS HLA E SUPORTE TRANSFUSIONAL NOS TRANSPLANTES.** 2018. 16 f. Monografia (Especialização) - Curso de Pós –Graduação Latu- Senso em Hematologia e Banco de Sangue, Academia de Ciência e Tecnologia, Marília, 2018. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hemoterapia/transplante-medula-ossea/9-Antigenos-HLA-e-suporte-transfusional-nos-transplantes.pdf>. Acesso em: 08 nov. 2024.

ALVES, Mariana Rocha; RODRIGUES, Vinicius Dias; SOARES, Wellington Danilo; MONTEIRO JUNIOR, Renato Sobral. **REVISÃO DE LITERATURA E SUAS DIFERENTES CARACTERÍSTICAS.** Revisão Bibliográfica: o uso da metodologia para a produção de textos, [S.L.], v. 1, n. 2022, p. 46-53, 05 jul. 2022. Editora Científica Digital. <http://dx.doi.org/10.37885/220509058>. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/220509058.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ANDRADE, Mário César Rezende. **O papel das revisões de literatura na produção e síntese do conhecimento científico em Psicologia**. Gerais: Revista Interinstitucional de Psicologia, [S.L.], v. 14, n. , p. 1-5, dez. 2021. Gerais: Revista Interinstitucional de Psicologia. <http://dx.doi.org/10.36298/gerais202114e23310>. Disponível em: <https://pepsic.bvsalud.org/pdf/gerais/v14nspe/01.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ARAÚJO, Wânderson Cássio Oliveira. **Recuperação da informação em saúde: construção, modelos e estratégias**. Convergências em Ciência da Informação, Sergipe, v. 3, n. 2, p. 100-134, 10 jul. 2020. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/52993/1/2020_art_wcoaraujo.pdf. Acesso em: 10 nov. 2024.

BENJAMENS, Stan; MOERS, Cyril; SLART, Riemer H.J.A.; POL, Robert A.. **Kidney Transplantation and Diagnostic Imaging: the early days and future advancements of transplant surgery**. *Diagnostics*, [S.L.], v. 47, n. 11, p. 1-10, 30 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics11010047>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7823312/pdf/diagnostics-11-00047.pdf>. Acesso em: 02 set. 2023.

BERNARD, Nicholas J.. **When humoral became cellular**. *Nature Immunology*, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 9-9, dez. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.3604>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ni.3604>. Acesso em: 01 nov. 2024.

BODMER, Julia; BODMER, Walter F.. **Rose Payne 1909-1999**. *Tissue Antigens*, [S.L.], v. 54, n. 1, p. 102-105, jul. 1999. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-0039.1999.540113.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1399-0039.1999.540113.x>. Acesso em: 19 set. 2023.

BODMER, Julia; BODMER, Walter. **Rose Payne 1909–1999**. *Tissue Antigens*, [S.L.], v. 54, n. 1, p. 102-105, jul. 1999. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-0039.1999.540113.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1034/j.1399-0039.1999.540113.x>. Acesso em: 01 nov. 2024.

BODMER, W.F.. **In memoriam: ruggero ceppellini (1917-1988)**. *Immunogenetics*, Estados Unidos da América, n. 29, p. 145-147, jan. 1989. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF00373638.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2024.

BODMER, Walter F. **Paul Ichiro Terasaki (1929–2016): inventor of the microcytotoxicity assay and pioneer tissue typer**. *HLA*, [S.L.], v. 87, n. 5, p. 333-337, 22 abr. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tan.12809>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tan.12809>. Acesso em: 01 nov. 2024.

BODMER, Walter. **Ruggero Ceppellini: a perspective on his contributions to genetics and immunology**. *Frontiers In Immunology*, [S.L.], v. 10, p. 1-4, 5 jun. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.01280>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.01280/full>. Acesso em: 01 nov. 2024.

BONTROP, Ronald; BRAND, Anneke; CLAAS, Frans. **In memoriam Johannes Joseph van Rood (1926–2017)**. *Immunogenetics*, [S.L.], v. 70, n. 1, p. 1-4, 23 ago. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00251-017-1027-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00251-017-1027-1>. Acesso em: 01 nov. 2024.

COELHO, Gustavo Henrique de Freitas; BONELLA, Alcino Eduardo. **Doação de órgãos e tecidos humanos: a transplantação na espanha e no brasil**. *Revista Bioética*, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 419-429, set. 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422019273325>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bioet/a/9cnDZRj49xpVrCnqYRySzx/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 08 nov. 2024.

Complejo mayor de histocompatibilidad 1. Disponível em: <<https://www.studocu.com/latam/document/universidad-autonoma-de-santo-domingo/inmunologia/complejo-mayor-de-histocompatibilidad-1/46079695>>. Acesso em: 3 nov. 2024.

DORSA, Arlinda Cantero. **O papel da revisão da literatura na escrita de artigos científicos.** Interações (Campo Grande), [S.L.], v. 21, n. 4, p. 681-684, 30 out. 2020. Universidade Católica Dom Bosco. <http://dx.doi.org/10.20435/inter.v21i4.3203>. Disponível em: <https://www.scielo.br/ij/inter/a/cts4sLz6CkZY-QfZWBS4Lbr/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 nov. 2024.

ESGH. **Walter Bodmer.** Disponível em: <https://genmedhist.eshg.org/fileadmin/content/website-layout/interviewees-attachments/Bodmer,%20Walter.pdf>. Acesso em: 03 nov. 2024.

GALE, Robert Peter. **E Donnall Thomas (1920–2012).** Leukemia, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 259-259, fev. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2012.330>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/leu2012330>. Acesso em: 03 nov. 2024.

GUILLAUMON, Ana Terezinha. **Porque uma Técnica do Início do Século XIX é Importante no Desenvolvimento dos Transplantes de Órgãos?** Brazilian Journal Of Transplantation, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 1-6, 27 abr. 2023. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos. http://dx.doi.org/10.53855/bjt.v26i1.507_port. Disponível em: <https://bjt.emnuvens.com.br/revista/article/download/507/549>. Acesso em: 03 set. 2023.

HOCHMAN, Gilberto. **História, ciência e saúde coletiva.** Ciência & Saúde Coletiva, [S.L.], v. 25, n. 12, p. 4715-4721, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320202512.17982020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/dQxh4KTYwBFkdZHYVgfcPzh/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 10 nov. 2024.

JAGER, Martine J.; BRAND, Anneke; CLAAS, Frans H.J.. **Jon van Rood: the pioneer and his personal view on the early developments of hla and immunogenetics.** Transplant Immunology, [S.L.], v. 52, n. 2019, p. 1-26, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trim.2018.12.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966327418301850?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2024.

JANSEN, Jan. **Jon Van Rood: pioneer at the crossroad of human leukocyte antigens and transplantation.** Transfusion Medicine Reviews, [S.L.], v. 21, n. 2, p. 159-163, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmr.2006.11.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887796306000976>. Acesso em: 01 nov. 2024.

LEVIN, Sheldon Marvin. **Alexis Carrel's historic leap of faith.** Journal Of Vascular Surgery, [S.L.], v. 61, n. 3, p. 832-833, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2013.09.012>. Disponível em: <https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214%2813%2901703-5/fulltext>. Acesso em: 01 nov. 2024.

MATERN, Benedict M.; MACK, Steven J.; OSOEGAWA, Kazutoyo; MAIERS, Martin; NIEMANN, Matthias; ROBINSON, James; HEIDT, Sebastiaan; SPIERINGS, Eric. **Standard reference sequences for submission of HLA genotyping for the 18th International HLA and Immunogenetics Workshop.** HLA, [S.L.], v. 97, n. 6, p. 512-519, 25 mar. 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/tan.14259>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tan.14259>. Acesso em: 01 nov. 2024.

MENDES, Karina dal Sasso; ROZA, Bartira de Aguiar; BARBOSA, Sayonara de Fátima Faria; SCHIRMER, Janine; GALVÃO, Cristina Maria. **TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS E TECIDOS: responsabilidades do enfermeiro.** Texto Contexto Enfermagem. Florianópolis, p. 945-953, dez. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/tce/a/h6dwGwD4V4MH3FtkKZZpy9L/?format=pdf>. Acesso em: 08 nov. 2024.

MENEZES, Amanda Regina Pinatti. **TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA: importância do sistema hla**. 2019. 13 f. Monografia (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação Lato-Sensu em Hematologia Prática e Essencial, Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto – Sp, 2019. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hemoterapia/transplante-medula-ossea/12-Transplante-de-medula-ossea-importancia-do-sistema-HLA.pdf>. Acesso em: 08 nov. 2024.

MORRIS, Peter. **Joseph E. Murray (1919–2012)**. *Nature*, [S.L.], v. 493, n. 7431, p. 164-164, jan. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/493164a>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/493164a>. Acesso em: 03 nov. 2024.

NASCIMENTO, Rodson Ricardo do. **Do Milagre da Perna Negra à Medicina dos Transplantes do século XXI: como os santos cosme e damião se tornaram padroeiros da cirurgia?. Como os Santos Cosme e Damião se tornaram padroeiros da cirurgia?**. Elaborado por Anatomia & Fisioterapia (A&F). Disponível em: <https://anatomiaefisioterapia.com/2023/09/27/do-milagre-da-perna-negra-a-medicina-dos-transplantes-do-seculo-xxi-como-os-santos-cosme-e-damiao-se-tornaram-padroeiros-da-cirurgia/>. Acesso em: 27 set. 2023.

OLIVEIRA, Raquel Aparecida Fabreti de. **ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS (HLA) NA AVALIAÇÃO IMUNOLÓGICA PARA A SELEÇÃO DE RECEPTOR-DOADOR PARA TRANSPLANTES**. 2014. 196 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Bioinformática, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014. Disponível em: <https://www.repositorio.ufmg.br/>. Acesso em: 10 nov. 2024.

PARK, Hyung Wook. **Joseph E. Murray's Struggle to Transplant Kidneys: failure, individuality, and plastic surgery, 1950-1965**. *Journal Of The History Of Medicine And Allied Sciences*, [S.L.], v. 79, n. 2, p. 143-162, 14 ago. 2023. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jhmas/jrad042>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jhmas/article-abstract/79/2/143/7242350?redirectedFrom=fulltext&login=false>. Acesso em: 27 set. 2023.

PASERO, G.; MARSON, P. **A short history of anti-rheumatic therapy VIII. The immunosuppressants**. *Reumatismo*, [s. l.], v. 1, n. 64, p. 44-54, mar. 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/223985310_Short_story_of_antirheumatic_therapyVIII_The_immunodepressants. Acesso em: 03 nov. 2024.

PAYNE, Rose. **New Leukocyte Iso-Antigen System Described**. *Jama: The Journal of the American Medical Association*, [S.L.], v. 191, n. 10, p. 35, 8 mar. 1965. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1965.03080100111055>. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/655096>. Acesso em: 19 set. 2023.

PAYNE, Rose; ROLFS, Mary R.. **Fetomaternal Leukocyte Incompatibility**. *Journal Of Clinical Investigation*, [S.L.], v. 37, n. 12, p. 1756-1763, 1 dez. 1958. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci103768>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1062862/>. Acesso em: 19 set. 2023.

PETROFF, Margaret G.; NGUYEN, Sean L.; AHN, Soo Hyun. **Fetal-placental antigens and the maternal immune system: reproductive immunology comes of age***. *Immunological Reviews*, [S.L.], v. 308, n. 1, p. 25-39, 29 maio 2022. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imr.13090>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imr.13090>. Acesso em: 03 set. 2023.

PLOEGH, Hidde. **Obituary Johannes J**. *Current Opinion In Immunology*, [S.L.], v. 50, n. 2018, p. 1-1, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2017.12.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095279151730208X?via%3Dihub>. Acesso em: 03 set. 2023.

RUTKOWSKI, Przemyslaw; OSTROWSKI, Janusz; DEBSKA-SLIZIEN, Alicja; RUTKOWSKI, Boleslaw. **Nobel Prize Winners Who Contributed To Transplantation**. Gin, Itália, v. 70, n. 35, p. 1-6, jan. 2018. Disponível em: <http://giornaleitalianodinefrologia.it/wp-content/uploads/sites/3/2018/01/10-Rutkowski.pdf?x85047>. Acesso em: 03 set. 2023.

SANTOS, Camilla Natália Oliveira; MAGALHÃES, Lucas Sousa. **PRINCIPAIS TÉCNICAS MOLECULARES UTILIZADAS PARA VERIFICAR A COMPATIBILIDADE HLA ENTRE DOADOR E RECEPTOR NO TRANSPLANTE DE RINS PROVENIENTES DE DOADOR FALECIDO: uma revisão**. Ciências da Saúde: Oferta, acesso e utilização 2, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 59-71, 23 mar. 2022. Atena Editora. <http://dx.doi.org/10.22533/at.ed.5232223037>. Disponível em: www.atenaeditora.com.br. Acesso em: 10 nov. 2024.

SHARRER, G. Terry. **Transplantation Medicine: an historical perspective**. Molecular Frontiers Journal, [S.L.], v. 06, n. 0102, p. 46-62, jun. 2022. World Scientific Pub Co Pte Ltd. <http://dx.doi.org/10.1142/s2529732522400041>. Disponível em: <https://www.worldscientific.com/doi/10.1142/S2529732522400041>. Acesso em: 02 set. 2023.

SIMM, Michael. **Ralph Steinman and the dendritic cells**. 2011. Boehringer Ingelheim Fonds. Disponível em: https://www.immune-therapy.net/peters/Simm-2011-FUTURA_03_DCs_NobelPrize.pdf. Acesso em: 03 nov. 2024.

SINGLA, Animesh; KOTECHA, Krishna. **Advancement on the alexis carrel technique: a practical alternative for continuous end-to-end vascular anastomosis**. Indian Journal Of Vascular And Endovascular Surgery, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 363-365, dez. 2021. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/ijves.ijves_76_21. Disponível em: https://journals.lww.com/ijvs/Fulltext/2021/08040/Advancement_on_the_Alexis_Carrel_Technique__A.13.aspx. Acesso em: 03 set. 2023.


TAN, S.Y. & MERCHANT, J. **Joseph Murray (1919–2012): first transplant surgeon**. Singapore Medical Journal, [S.L.], v. 60, n. 4, p. 162-163, abr. 2019. Medknow. <http://dx.doi.org/10.11622/smedj.2019032>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6482420/#:~:text=Thanks%20to%20the%20groundbreaking%20work,finally%2C%20using%20a%20cadaveric%20donor..> Acesso em: 02 set. 2023.

TORRES, Margareth Afonso; MORAES, Maria Elisa Hue. **Nomenclature for factors of the HLA system**. Einstein (São Paulo), [S.L.], v. 9, n. 2, p. 249-251, jun. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082011md1914>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/cCW7BxpmrsQpm-tPJfvj785K/?lang=en>. Acesso em: 02 set. 2023.

VERNON, Gervase. **Alexis Carrel: “father of transplant surgery” and supporter of eugenics**. British Journal Of General Practice, [S.L.], v. 69, n. 684, p. 352-352, 27 jun. 2019. Royal College of General Practitioners. <http://dx.doi.org/10.3399/bjgp19x704441>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6592355/>. Acesso em: 03 set. 2023.

YACoub, Magdi. **Heart Transplants, Reflections, & Expectations**. European Heart Journal, [S.L.], v. 38, n. 46, p. 3420-3422, 7 dez. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehx735>. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/321676221_Heart_Transplants_Reflections_Expectations. Acesso em: 01 nov. 2024.

MANCHAS DE SANGUE IMPACTADAS EM LOCAIS DE CRIME

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.814112402109>

Data de aceite: 04/12/2024

Leonardo de Paula Miranda

Doutor em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros–Unimontes. Perito Criminal Oficial da Superintendência de Polícia Técnico-científica de Minas Gerais/Polícia Civil-MG

Thatiane Lopes Oliveira

Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes. Docente do Eixo Tecnológico do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais

Leila Conceição de Paula Miranda

Mestre em Ensino em Saúde. Docente do Instituto Federal do Norte de Minas Gerais

RESUMO: A análise de manchas hematoides em cenas de crime assume notória relevância na atuação pericial criminal, considerando a prevalência desses vestígios em ambiente delitivos. Assim, o objetivo deste estudo foi relatar um caso de homicídio ocorrido no norte do estado de Minas Gerais, Brasil, bem como destacar a importância do estudo técnico das manchas de sangue no local da ação violenta. Neste caso, ressalta-se que a avaliação dos perfis de manchas hemáticas impactadas na cena delitiva foi fundamental

para o estabelecimento de uma inferência pericial concernente à dinâmica violenta e diagnóstico da causa jurídica de morte. A hematologia forense tem se destacado como um campo profícuo em criminalística.

PALAVRAS-CHAVE: manchas de sangue; homicídio; local de crime.

IMPACTED BLOODSTAINS AT CRIME SCENE

ABSTRACT: The analysis of hematoid stains at crime scenes is highly relevant in forensic work, considering the prevalence of these traces in criminal environments. Thus, the objective of this study was to report a case of homicide that occurred in the north of the state of Minas Gerais, Brazil, as well as highlight the importance of the technical study of blood stains at the site of the violent action. In this case, it is noteworthy that the evaluation of the profiles of blood stains impacted at the crime scene was fundamental for establishing an expert inference regarding the violent dynamics and diagnosis of the legal cause of death. Forensic hematology has stood out as a fruitful field in criminalistics.

KEYWORDS: blood stains; homicide; crime scene.

INTRODUÇÃO

O ramo da hematologia forense tem ocupado expressiva importância no escopo das ciências forenses e da atuação pericial criminal. Historicamente, verifica-se que a análise dos perfis de manchas de sangue em locais de crimes remonta aos primórdios da criminalística. Destaca-se que o estudo das manchas hematóides associadas a delitos pode contribuir para a determinação do diagnóstico técnico da causa jurídica de morte (homicídio, suicídio ou acidente). Observa-se que as ações violentas lesivas, precipuamente envolvendo o uso de arma de fogo ou arma branca, geralmente resultam na deposição ambiente de material hemático, sendo um vestígio relevante em cenas delitivas ¹⁻⁶.

A análise dos padrões de manchas hemáticas engloba o conhecimento provindo de áreas como a física, biologia e matemática, e sua avaliação pode ser feita de forma indireta, mediante fotografias do ambiente criminal, ou de forma direta na cena ou ambas⁶. O estudo de padrões hematóides envolve cálculo da área de convergência e origem para reconstruir a posição relativa entre vítima e agressor; análise do ângulo de impacto; a inferência dos prováveis movimentos entre agressor e vítima e eventualmente os prováveis instrumentos utilizados no decurso do evento criminal ⁶.

Ressalta-se que a classificação de perfis de manchas de sangue é amplamente expressa na literatura forense³⁻⁶. Na seara forense brasileira, cumpre destacar a categorização elencada por Canelas Neto (2017)⁴. Segundo indigitado autor, as manchas hemáticas são, primariamente, subdivididas em regulares e irregulares, considerando a morfologia e o mecanismo de geração da mancha. Assim, as manchas regulares são formadas por gotas de sangue que se encontravam em voo livre antes de atingir uma superfície. Manifestam predominantemente formatos geométricos circulares ou elípticos e se dividem em gotejadas e *spatters*. As *spatters* se subdividem em projetadas, *cast-off* e impactadas. De forma oposta, as manchas irregulares são aquelas não provenientes de gotas em voo livre e que se depositam sobre uma superfície. Elas se dividem em alteradas, contato, escorrimento e acúmulo⁴. Logo, o profissional forense deve dominar mencionada classificação, almejando continuamente ofertar um trabalho técnico criminal eficiente.

Dessa forma, o objetivo deste estudo é pontuar a relevância da análise científica das manchas hemáticas em locais de crime, especificamente as manchas impactadas, por meio de descrição de um caso atinente a homicídio.

RELATO DE CASO

Trata-se de um caso relativo a um homicídio que ocorreu em uma cidade situada na região norte de Minas Gerais, Brasil, no ano de 2021. Assim, a perícia criminal foi acionada por autoridade policial competente e compareceu ao local do evento, realizando os devidos trabalhos técnicos iniciais *in situ*.

Foi alvo de exames o interior de um imóvel residencial situado em um bairro da cidade. A residência estruturava-se em alvenaria e possuía um muro circundante de mesma constituição estrutural. Era dotada de duas vias de acesso localizadas na porção frontal e posterior da habitação.

Verificou-se que o cadáver se encontrara estendido sobre a cama disposta no quarto da edificação. A cabeça se dispunha direcionada para a região posterior do imóvel e os pés em sentido oposto. Jazia em decúbito dorsal, com a face esquerda apoiada sobre o travesseiro; os membros superiores encontravam-se fletidos sobre o tronco; membros inferiores entreabertos, com membro esquerdo semifletido e o membro direito estendido sobre a cama. Tratava-se de um indivíduo adulto, sexo masculino, feoderma e biotipo mesomorfo.

Mediante exame perinecrocópico (externo), a perícia criminal constatou a presença dos seguintes ferimentos:

- I) Uma ferida cortocontusa compreendida entre a região maxilar direita da face e parietal direita do crânio, com características de ferimento produzido pelo uso de instrumento cortocontundente. Observou-se ainda fratura óssea subjacente à ferida.
- II) Uma ferida cortocontusa localizada na região direita do pescoço, com características de ferimento produzido pelo uso de instrumento cortocontundente.
- III) Ausência de lesões (em mãos ou antebraços) típicas de reação de defesa por parte de vítima.

Durante o exame pericial realizado no local, os seguintes vestígios foram verificados:

- a) Manchas hematóides impactadas localizadas sobre a superfície das paredes contíguas à cama de casal e superfície do lençol utilizado pela vítima como cobertor. Tais manchas indicam que foram geradas por gotas de sangue que se dissociaram do crânio, face e pescoço da vítima, em virtude dos impactos produzidos pelo instrumento (s) utilizado no evento criminoso.
- b) Manchas hematóides saturadas e empoçada dispostas sobre o travesseiro e lençol da cama.
- c) Manchas hematóides gotejadas em trilha dispostas sobre o piso do quarto e cozinha. Denota-se que tais manchas tenham sido formadas, muito provavelmente, em função de gotas de sangue desprendidas da superfície do instrumento utilizado na prática delituosa. Dessa forma, infere-se que, após a execução dos golpes contra a vítima, o autor teria se deslocado em direção à cozinha, empunhando referido instrumento e originando a trilha descrita.
- d) Rigidez cadavérica generalizada e ausência de mancha verde abdominal, indicando morte ocorrida entre 8 e 16 horas antecedentes ao exame perinecrocópico local.
- e) Ausência de evidências indicativas de danificação/arrombamento do imóvel.

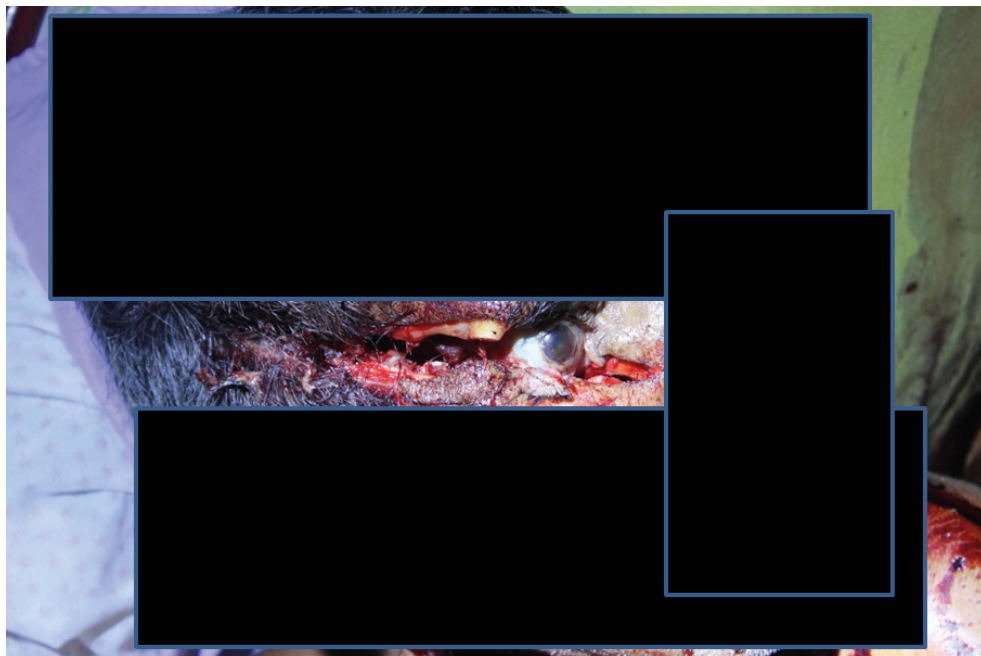


Figura 01. Ferida cortocontusa situada na face e região craniana direita da vítima.



Figura 02. Ferida cortocontusa localizada no pescoço da vítima.



Figura 03. Manchas hematóides impactadas constatadas no local.



Figura 04. Detalhe das manchas hematóides impactadas, destacando a direção e sentido de projeção das gotas no local.

A análise técnica dos vestígios e evidências observados no local permitiu à perícia criminal indicar o homicídio como a causa jurídica de morte do caso em investigação. O exame das manchas hematóides constatadas na cena delitiva foi fundamental para a interpretação sistêmica do fato e estabelecimento de uma dinâmica verossímil. Assim, a hipótese pericial mais plausível para a dinâmica criminosa é a de que a vítima, disposta sobre a cama do imóvel e posicionada como foi encontrada pelo subscritor, fora atingida por golpes de instrumento (s) cortocutundente (s) em seu crânio/face e pescoço. Depreende-se que o autor (res), ao efetuar os golpes, posicionara-se adjacente à lateral direita da cama, em região coincidente com a cabeça da vítima. Os vestígios denotam ainda que, após o cometimento do delito, o agente do fato teria se movimentado em direção à cozinha, com posterior evasão da residência.

DISCUSSÃO

As manchas de sangue classificadas como impactadas são aquelas formadas por gotas de sangue em voo livre e que foram dissociadas da fonte de sangue por conta de um impacto. Uma gota de sangue em voo livre, ao atingir uma superfície, como uma parede, o faz com determinados ângulos de impacto. Dessa forma, gotas que atingem a superfície com ângulos mais oblíquos terão a tendência ao formato de elipse, enquanto que gotas que atingem ângulos mais retos formarão manchas com formatos mais circulares⁴.

Ao analisar o formato final do perfil das manchas impactadas, portanto, visualiza-se um leque de distribuição de manchas que parece provir de um centro imaginário ou de uma determinada origem (impacto), onde é possível enxergar manchas predominantemente com ângulos mais retos próximas a este centro, e manchas predominantemente com ângulos mais oblíquos à medida que nos afastamos deste centro⁴.

Convém pontuar ainda que a distribuição das manchas impactadas podem indicar o direcionamento e sentido do impacto na superfície em que se encontram. Acresce-se que a quantidade de sangue gerada em perfis impactados depende de fatores como tipo e quantidade de lesões geradas, objeto responsável pela lesão, número de lesões e posição da vítima ^{4,6}.

No caso investigado, destaca-se que as manchas de sangue impactadas observadas no local foram essenciais para o estabelecimento da dinâmica criminosa e local onde ocorreu a ação violenta. Constataram-se manchas com morfologia circular e elípticas dispostas sobre superfícies contíguas ao cadáver (parede, travesseiro e lençol usados pela vítima), indicando que foram geradas em decorrência de impactos do instrumento agressor contra a face e pescoço da vítima, que se encontrava posicionada no local em que foi encontrada. Tais manchas formavam o típico leque de distribuição, com centro de origem situado na região de cabeça e pescoço da vítima.

Cumprе acrescentar que objetos do tipo cortocontundentes, como facões e machados, por exemplo, podem gerar manchas hematóides impactadas, dependendo do ângulo de corte/incidência e da forma como atingem uma determinada fonte de sangue⁴. No caso analisado, a inferência pericial apontou para manchas hemáticas ambientes oriundas de impacto produzido mediante uso de instrumento cortocontundente, consoante expresso.


CONCLUSÃO

A análise técnica dos perfis das manchas hematóides explicitadas, considerando forma, mecanismo de geração e efetiva classificação, foi essencial para o estabelecimento de uma inferência pericial concernente ao evento criminal. É fundamental que os profissionais forenses com atuação em locais de crime tenham uma efetiva qualificação científica no escopo da hematologia forense, garantindo um labor proficiente no campo criminalístico.

REFERÊNCIAS

1. V.P. Stunvoll; V.M. Quintela. *Criminalística*. 7.ed. Campinas, SP: Millennium (2019).
2. L.E. Dorea; V.P. Stunvoll; V.M. Quintela. *Criminalística*. 5.ed. Campinas, SP: Millennium (2012).
3. J.A. Velho; K.A. Costa; C.T.M. Damasceno. *Locais de crime: dos vestígios à dinâmica criminosa*. Campinas, SP: Millennium (2018).
4. A.A. Canelas Neto. *Perfis de mancha de sangue: do local de crime à elaboração do laudo*. São Paulo: Lura Editorial (2017).
5. C.R. Dias Filho; A.V.P. D'Ávila (Org.). *Hematologia Forense. Da identificação à análise de manchas de sangue*. Campinas, SP: Millennium (2022).
6. S.H. James; P.E. Kish; T.P. Sutton. *Principles of bloodstain pattern analysis: theory and practice*. Florida: CRC Press (2005).

SERVIÇOS ECOSSISTÊMICOS: BENEFÍCIOS DA BIODIVERSIDADE PARA A HUMANIDADE

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.8141124021010>

Data de aceite: 16/11/2024

Igor Araújo

Instituto Federal Goiano – IFGOIANO,
Campus Ceres.

RESUMO: A biodiversidade é crucial para a manutenção dos ecossistemas e oferece uma variedade de serviços essenciais para a sobrevivência humana, incluindo provisão de alimentos, regulação do clima e benefícios culturais. Este capítulo explora as categorias de serviços ecossistêmicos, como serviços de provisão, regulação, culturais e de suporte, enfatizando a interdependência entre a biodiversidade e o bem-estar humano. A pesquisa revela que práticas insustentáveis, como a urbanização e a agricultura intensiva, ameaçam esses serviços, levando à degradação ambiental e à perda de habitats. Além disso, destaca a necessidade urgente de estratégias de conservação e uso sustentável dos recursos naturais, incluindo a criação de áreas protegidas, promoção da agricultura sustentável e educação ambiental. Os resultados demonstram que a preservação da biodiversidade não é apenas uma questão ambiental, mas um imperativo social e econômico, essencial para garantir a qualidade de vida das populações.

Portanto, o reconhecimento da importância da biodiversidade e dos serviços que ela fornece é fundamental para promover um desenvolvimento sustentável e equitativo.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiversidade, Serviços ecossistêmicos, Conservação, Urbanização, Agricultura sustentável, Bem-estar.

INTRODUÇÃO

A biodiversidade desempenha um papel fundamental no funcionamento dos ecossistemas, oferecendo uma ampla gama de serviços ecossistêmicos essenciais para a sobrevivência e bem-estar da humanidade (DE OLIVEIRA; HORSZCZARUK, 2024). Esses serviços incluem a provisão de alimentos, água, matéria-prima, e a regulação de processos ecológicos, como o controle de pragas, polinização e purificação da água (HINATA; BASSO, 2022). A interdependência entre os seres humanos e a biodiversidade é profunda, e a degradação dos ecossistemas pode levar a consequências severas, como a escassez de recursos naturais, a perda de habitat e o aumento das emissões de gases de efeito estufa (BRIGNOL et al., 2024).

Este capítulo se propõe a explorar os serviços ecossistêmicos fornecidos pela biodiversidade, destacando não apenas sua importância, mas também os benefícios diretos e indiretos que proporcionam à sociedade humana. Serão discutidas as diferentes categorias de serviços ecossistêmicos - serviços de provisão, regulação, culturais e de suporte - e como a preservação da biodiversidade é crucial para a manutenção desses serviços (WIENKE; ALTMANN, 2024). Além disso, abordaremos as ameaças enfrentadas pela biodiversidade, como a urbanização, a agricultura intensiva e as mudanças climáticas, e as estratégias necessárias para promover a conservação e o uso sustentável dos recursos naturais. Compreender os serviços ecossistêmicos e os benefícios da biodiversidade para a humanidade é essencial não apenas para a formulação de políticas públicas e práticas de gestão ambiental, mas também para a promoção de uma cultura de valorização e respeito à natureza (DE ARRUDA SOUZA; JUNIOR, 2024). Ao reconhecer a importância desses serviços, podemos avançar na construção de um futuro mais sustentável, onde a relação entre seres humanos e natureza seja equilibrada e harmônica.

METODOLOGIA

A metodologia foi estruturada em etapas inter-relacionadas, visando uma abordagem abrangente e sistemática para investigar os serviços ecossistêmicos e os benefícios da biodiversidade para a humanidade. I) Inicialmente, foi realizada uma revisão bibliográfica abrangente sobre o tema, envolvendo livros, artigos científicos e relatórios de organizações ambientais (MARTINS & THEÓPHILO, 2009). Esta etapa permitiu identificar conceitos-chave, categorias de serviços ecossistêmicos e estudos de caso relevantes, além de compreender as principais ameaças à biodiversidade e estratégias de conservação; II) Em seguida, foram coletados dados secundários de fontes confiáveis, como relatórios de agências governamentais e organizações não governamentais. Esses dados incluem informações sobre a diversidade biológica em diferentes ecossistemas, indicadores de serviços ecossistêmicos e análises de impacto da perda de biodiversidade em diversas regiões do mundo; III) Para ilustrar os conceitos abordados, foram selecionados estudos de caso que destacam a relação entre a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos em diferentes contextos. Esses casos foram escolhidos com base na diversidade geográfica e na variedade de serviços analisados, permitindo uma compreensão mais profunda das dinâmicas locais e regionais e IV) A coleta e análise de dados foram realizadas utilizando abordagens qualitativas e quantitativas. Os dados qualitativos foram analisados por meio de técnicas de análise de conteúdo, enquanto dados quantitativos, quando disponíveis, foram tratados estatisticamente para identificar padrões e correlações entre a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos.

RESULTADOS

Os resultados desta pesquisa destacam a importância das diferentes categorias de serviços ecossistêmicos - serviços de provisão, regulação, culturais e de suporte - e evidenciam como a preservação da biodiversidade é crucial para a manutenção desses serviços.

Serviços de Provisão

Os serviços de provisão referem-se aos recursos diretamente extraídos da natureza, como alimentos, água, fibras e combustíveis (JACQUES, 2024). A biodiversidade desempenha um papel fundamental na produção desses recursos. Por exemplo, a variedade de plantas cultivadas e suas interações com polinizadores e outros organismos aumentam a produtividade agrícola e a segurança alimentar. A preservação de habitats naturais também garante a disponibilidade de água potável e a qualidade dos ecossistemas aquáticos (DOS SANTOS; GOMES, 2024). No entanto, práticas de uso insustentável, como a agricultura intensiva e a exploração excessiva de recursos naturais, estão ameaçando esses serviços, levando à degradação dos solos e à contaminação de fontes hídricas.

Serviços de Regulação

Os serviços de regulação envolvem o controle de processos ambientais que beneficiam a sociedade, como a regulação do clima, o controle de enchentes e a purificação do ar e da água (MELO; SILVA; DE ALMEIDA MOHEDANO, 2024). A biodiversidade é essencial para a eficácia desses serviços. Florestas, por exemplo, atuam como sumidouros de carbono, ajudando a mitigar as mudanças climáticas, enquanto os *wetlands* desempenham um papel crucial na regulação do ciclo hídrico e na filtragem de poluentes. A perda de biodiversidade, devido à urbanização e ao desmatamento, compromete a capacidade dos ecossistemas de regular o clima e de fornecer serviços de proteção contra desastres naturais, como enchentes e erosão (SOUSA et al., 2024).

Serviços Culturais

Os serviços culturais referem-se aos benefícios não materiais que as pessoas obtêm dos ecossistemas, incluindo recreação, educação e valores espirituais (MELO; SILVA; DE ALMEIDA MOHEDANO, 2024). A biodiversidade contribui para a saúde mental e o bem-estar, oferecendo espaços para lazer e contato com a natureza. Além disso, a diversidade biológica é essencial para a manutenção de tradições culturais e práticas de manejo sustentável. No entanto, a urbanização e a degradação ambiental têm diminuído o acesso a esses espaços, resultando na perda de valores culturais associados à natureza e prejudicando a qualidade de vida das comunidades.

Serviços de Suporte

Os serviços de suporte são aqueles que são necessários para a produção de todos os outros serviços ecossistêmicos, como a ciclagem de nutrientes e a formação de solo (MELO; SILVA; DE ALMEIDA MOHEDANO, 2024). A biodiversidade é vital para a manutenção desses serviços, pois a variedade de organismos contribui para a fertilidade do solo e a resiliência dos ecossistemas. A perda de biodiversidade, provocada pela agricultura intensiva e pela poluição, afeta negativamente a capacidade dos ecossistemas de sustentar esses processos, comprometendo a produção agrícola e a qualidade dos habitats.

Ameaças à Biodiversidade

As principais ameaças à biodiversidade incluem a urbanização desenfreada, que resulta na fragmentação de habitats e na perda de áreas naturais; a agricultura intensiva, que degrada o solo e utiliza insumos químicos que contaminam os ecossistemas; e as mudanças climáticas, que alteram os padrões climáticos e ameaçam a sobrevivência de diversas espécies. Essas ameaças não apenas afetam a biodiversidade em si, mas também comprometem a capacidade dos ecossistemas de fornecer serviços essenciais à sociedade.

Estratégias para Conservação e Uso Sustentável

Para enfrentar essas ameaças, é fundamental implementar estratégias de conservação e uso sustentável dos recursos naturais. Algumas das principais abordagens incluem a) estabelecer reservas e parques que protejam ecossistemas e espécies ameaçadas; b) incentivar a agricultura sustentável, que respeite os ciclos naturais e utilize técnicas de baixo impacto ambiental; c) promover programas educacionais que enfatizem a importância da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos, visando sensibilizar a sociedade sobre a necessidade de conservação (NIKOKAVOURAS, 2024) e d) implementar políticas que integrem a conservação da biodiversidade com o desenvolvimento econômico, garantindo que as comunidades locais se beneficiem da preservação dos recursos naturais (ALMEIDA; PRESTES; MORANDI, 2024). Esses resultados demonstram a interconexão entre a biodiversidade e os serviços ecossistêmicos, evidenciando a necessidade urgente de ações coordenadas para proteger a diversidade biológica e assegurar um futuro sustentável para as próximas gerações.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a preservação da biodiversidade não é apenas uma questão ambiental, mas um imperativo social e econômico, pois os serviços ecossistêmicos sustentam a vida e a qualidade de vida das populações em todo o mundo. Os dados obtidos mostram que a diversidade biológica é fundamental para a manutenção dos serviços de provisão, regulação, culturais e de suporte. Por exemplo, a biodiversidade agrícola, com a inclusão de variedades de culturas, não só aumenta a resiliência dos sistemas agrícolas frente a pragas e doenças, mas também contribui para a segurança alimentar em comunidades vulneráveis (OLIVEIRA et al., 2024). Além disso, os serviços de regulação, como a purificação da água e a mitigação das mudanças climáticas, são indissociáveis da saúde dos ecossistemas. Assim, a degradação da biodiversidade resulta na perda desses serviços, o que pode levar a consequências severas para as populações que dependem deles (DE JESUS; DA SILVA, 2024).

A urbanização, a agricultura intensiva e as mudanças climáticas emergem como as principais ameaças à biodiversidade (BARBOSA, 2024). A urbanização, frequentemente associada ao crescimento populacional e à expansão econômica, leva à fragmentação de habitats, dificultando a sobrevivência de diversas espécies. A agricultura intensiva, por sua vez, não apenas reduz a diversidade genética, mas também compromete a qualidade do solo e a saúde dos ecossistemas. As mudanças climáticas exacerbam esses problemas, alterando os padrões de distribuição das espécies e aumentando a vulnerabilidade dos ecossistemas (SOUSA et al., 2024). Estes desafios são complexos e interligados, exigindo abordagens integradas e multidisciplinares para a sua resolução.

As estratégias propostas para a conservação da biodiversidade e promoção do uso sustentável dos recursos naturais são cruciais para enfrentar as ameaças identificadas. A criação de áreas protegidas é uma medida eficaz para conservar ecossistemas e espécies ameaçadas, mas deve ser acompanhada por um manejo ativo que envolva as comunidades locais (FERREIRA et al., 2024). O engajamento da população é essencial, pois a conscientização e a educação ambiental são ferramentas poderosas para promover práticas sustentáveis e fomentar uma cultura de respeito à natureza (NETO; DE SOUZA; FALCÃO, 2024). Além disso, políticas públicas que integrem conservação e desenvolvimento econômico são necessárias para garantir que as comunidades se beneficiem da preservação dos recursos naturais. Incentivos para práticas agrícolas sustentáveis e o fomento à pesquisa e inovação em tecnologias ecológicas podem desempenhar um papel vital na promoção de uma economia verde (FONSECA et al., 2024).

A discussão sobre serviços ecossistêmicos e biodiversidade deve ir além da esfera acadêmica, envolvendo a sociedade como um todo. A conscientização sobre a importância da biodiversidade e os serviços que ela proporciona pode estimular a adoção de comportamentos mais sustentáveis e a pressão por políticas públicas eficazes. A proteção

da biodiversidade é um investimento no futuro, assegurando não apenas a continuidade dos serviços ecossistêmicos, mas também a qualidade de vida das gerações presentes e futuras (DOS SANTOS, 2024). Portanto, esse estudo reforça a urgência de ações integradas e colaborativas que reconheçam a importância da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos, promovendo um caminho em direção a um desenvolvimento sustentável e equitativo. O reconhecimento de que a saúde dos ecossistemas é intrinsecamente ligada ao bem-estar humano é um passo crucial para a construção de um futuro mais justo e sustentável.

CONCLUSÃO

A preservação da biodiversidade e a manutenção dos serviços ecossistêmicos são fundamentais para garantir a saúde e o bem-estar da humanidade. Este trabalho evidenciou a interdependência entre a diversidade biológica e os diversos serviços que ela fornece, como a provisão de alimentos, a regulação climática e os benefícios culturais. As ameaças enfrentadas, como a urbanização, a agricultura intensiva e as mudanças climáticas, requerem uma abordagem integrada que promova a conservação e o uso sustentável dos recursos naturais. Ao implementar políticas públicas eficazes, promover a educação ambiental e incentivar práticas sustentáveis, é possível garantir que as gerações presentes e futuras possam continuar a usufruir dos benefícios que a biodiversidade proporciona. Assim, a conservação da biodiversidade deve ser encarada não apenas como uma responsabilidade ambiental, mas como um imperativo social e econômico, essencial para um futuro sustentável.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ludimila Rodrigues de; PRESTES, Nayane Cristina Candida dos Santos; MORANDI, Paulo Sérgio. Payment for ecosystem services: the economy that will save natural environments?. **Acta Botanica Brasilica**, v. 38, p. e20230208, 2024.

BARBOSA, Eliane Soares Santos. Barreiras antropogênicas e conectividade do habitat. **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 3, p. e3508-e3508, 2024.

BRIGNOL, Andressa Rodrigues et al. SISTEMAS ALIMENTARES E VIGILÂNCIA EM SAÚDE: A IMPORTÂNCIA DE COMPREENDER OS IMPACTOS AMBIENTAIS E SOCIAIS DAS ESCOLHAS ALIMENTARES. **Revista Tópicos**, v. 2, n. 14, p. 1-12, 2024.

DE ARRUDA SOUZA, Celso; JUNIOR, Ernandes Sobreira Oliveira; DE SOUZA HACON, Sandra. Serviços Ecossistêmicos da Amazônia Brasileira. **Revista Brasileira De Geografia Física**, v. 17, n. 1, p. 178-198, 2024.

DE JESUS, Antonio Marcos; DA SILVA, Nilson. OS ODS E O CAMINHO PARA AS CIDADES SUSTENTÁVEIS. **Revista Educação Contemporânea**, v. 1, n. 2 dez, p. 330-346, 2024.

DE OLIVEIRA, Jaqueline Rodrigues; HORSZCZARUK, Jean Pedro. O papel dos serviços ecossistêmicos na economia e no bem-estar da sociedade. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 22, n. 6, p. e5010-e5010, 2024.

DOS SANTOS, Valdinei; GOMES, Aguinaldo Rocha. Abordagens práticas para a mensuração do valor de rio em propriedades rurais: uma análise das metodologias de avaliação contábil. **Revista Brasileira de Administração Científica**, v. 15, n. 1, p. 41- 52, 2024.

DOS SANTOS, Zenilda Ledo. **Apoio à tomada de decisão para identificação de áreas prioritárias para implementação de Programa de Pagamento por Serviços Ambientais (PSA)**. 2024. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

FERREIRA, Maristela Procidonio et al. INVESTIGAÇÃO SOBRE AS CONCEPÇÕES E PRÁTICAS DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL NA GESTÃO PÚBLICA. 2024.

FONSECA, Marcelo Trindade da et al. O renascimento dos guardiões de sementes sob a luz da legislação e das políticas públicas: uma análise multidimensional da agrobiodiversidade e da sustentabilidade. 2024.

HINATA, Sumire Da Silva; BASSO, Luis Alberto. Mapeamento do uso e cobertura do solo como subsídio à avaliação de serviços ecossistêmicos na sub-bacia hidrográfica do arroio passo fundo, Guaíba-RS. **Estudos Geográficos: Revista Eletrônica de Geografia**, v. 20, n. 1, p. 36-57, 2022.

JACQUES, Peter. **Sustentabilidade: O que está em jogo?**. Editora Vozes, 2024.

Martins, G. D. A., & Theóphilo, C. R. (2009). Metodologia da investigação científica. *São Paulo: Atlas*, 143-164.

MELO, Melissa Ely; SILVA, Dayane Dallago Conejo; DE ALMEIDA MOHEDANO, Rodrigo. Serviços ecossistêmicos:: do panorama conceitual à recepção jurídica de seus serviços ambientais. **JURIS-Revista da Faculdade de Direito**, v. 34, n. 2, p. 30-54, 2024.

NETO, Eleutério da Silva Magalhães; DE SOUZA, Vladimir; FALCÃO, Márcia Teixeira. Educação Ambiental como aliada ao Gerenciamento Adequado de Resíduos Sólidos na Comunidade Vila Vilena, Bonfim, Roraima. **Revista Verde Grande: Geografia e Interdisciplinaridade**, v. 6, n. 02, p. 304-333, 2024.


NIKOKAVOURAS, Elpída Andréia de Queiroz. Os serviços ecossistêmicos como estratégia de governança ambiental: proposição para a gestão do monumento natural Parque Ecológico Serrote do Quinamuiú, em Tauá, Ceará. 2024.

OLIVEIRA, Giovana Mendes de et al. Diálogos sobre sustentabilidade nas cidades. 2024.

SOUSA, Leta Vieira de et al. Os impactos da mudança climáticas na saúde e os desafios das políticas públicas atuais. 2024.

WIENKE, Felipe Franz; ALTMANN, Alexandre. Para além da noção de bens ambientais:: o conceito de serviços ecossistêmicos como nova categoria no direito brasileiro. **JURIS-Revista da Faculdade de Direito**, v. 34, n. 2, p. 79-95, 2024.

MUDANÇAS CLIMÁTICAS E BIODIVERSIDADE: DESAFIOS E IMPACTOS NOS BIOMAS BRASILEIROS

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.8141124021011>

Data de aceite: 16/11/2024

Igor Araújo

Instituto Federal Goiano – IFGOIANO,
Campus Ceres

RESUMO: Este trabalho apresenta uma revisão bibliográfica sobre os impactos das mudanças climáticas na biodiversidade dos biomas brasileiros, com foco no Cerrado, na Amazônia e na Mata Atlântica. A pesquisa destaca como as alterações nos padrões climáticos, incluindo o aumento das temperaturas e a modificação nos regimes de precipitação, afetam diretamente a flora e a fauna desses ecossistemas. No Cerrado, a combinação de secas mais intensas e a fragmentação de habitats resultam em riscos crescentes para espécies nativas, como o tamanduá-bandeira. Na Amazônia, eventos de seca e a savanização de áreas florestais ameaçam espécies endêmicas, como o boto-cor-de-rosa, e agravam os efeitos do desmatamento. Na Mata Atlântica, as mudanças climáticas alteram a fenologia das espécies, colocando em risco sua sobrevivência e integridade ecológica. A revisão também enfatiza a interconexão entre as mudanças climáticas e outras ameaças à biodiversidade, como

a introdução de espécies invasoras e o desmatamento. Diante desses desafios, são necessárias estratégias de conservação que considerem as complexas interações entre os fatores climáticos e antrópicos, além de pesquisas contínuas para abordar lacunas no conhecimento. A proteção da biodiversidade é crucial para a resiliência dos ecossistemas e para a sustentabilidade dos serviços ambientais essenciais à vida humana.

PALAVRAS-CHAVE: Mudanças climáticas, Biodiversidade, Cerrado, Amazônia, Mata Atlântica, Conservação.

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas representam um dos maiores desafios ambientais, sociais e econômicos do século XXI (ARTAXO, 2020) com impactos diretos e significativos sobre a biodiversidade global. O aumento das emissões de gases de efeito estufa, como dióxido de carbono e metano, associado às atividades humanas, tem provocado alterações na temperatura média do planeta, padrões de precipitação, níveis do mar e frequência de

eventos climáticos extremos (DE OLIVEIRA et al., 2022). Essas mudanças não apenas ameaçam a sobrevivência de inúmeras espécies, mas também comprometem a integridade de ecossistemas inteiros, colocando em risco os serviços ecossistêmicos que sustentam a vida na Terra.

A biodiversidade, definida pela variedade de formas de vida em todos os níveis de organização biológica, desempenha um papel fundamental na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas (OLIVEIRA; PIETRAFESA; DA SILVA BARBALHO, 2008). No entanto, os impactos das mudanças climáticas estão alterando habitats naturais, modificando ciclos reprodutivos e migratórios, e promovendo a extinção de espécies em ritmo acelerado (GARCIA, 2016). Biomas altamente vulneráveis, como as tundras e florestas tropicais, já apresentam sinais evidentes de deterioração, enquanto espécies com baixa capacidade adaptativa enfrentam riscos iminentes de desaparecimento (LI et al., 2018).

Além dos efeitos diretos sobre os ecossistemas, as mudanças climáticas interagem com outras ameaças à biodiversidade, como desmatamento, fragmentação de habitats e espécies invasoras, exacerbando os desafios de conservação (OLIVER; MORECROFT, 2014; HE et al., 2019). Diante desse cenário, surge a necessidade de ações urgentes e coordenadas que aliem mitigação e adaptação. Estratégias como a restauração ecológica, criação de corredores ecológicos, conservação *ex situ* e adoção de políticas públicas baseadas em ciência são fundamentais para enfrentar os impactos das mudanças climáticas na biodiversidade (TOWNSEND; MASTERS, 2015; TRAYLOR-HOLZER; LEUS; BYERS, 2020).

Este capítulo busca explorar a complexa relação entre mudanças climáticas e biodiversidade, apresentando as principais evidências científicas, impactos ecológicos e estratégias para a mitigação e adaptação a esse cenário desafiador. Ao refletir sobre as interações entre esses fenômenos, pretende-se destacar a importância de iniciativas globais e locais para proteger o patrimônio natural e garantir a resiliência dos ecossistemas frente às transformações climáticas.

METODOLOGIA

A metodologia adotada neste estudo foi baseada em uma revisão bibliográfica, com foco em publicações científicas e materiais relevantes produzidos entre os anos de 2010 e 2024. Essa abordagem teve como objetivo identificar lacunas no conhecimento e sintetizar os principais avanços na área de interesse (MARTINS & THEÓPHILO, 2009).

O tema de pesquisa foi inicialmente delimitado com foco na análise dos impactos das mudanças climáticas sobre a biodiversidade dos biomas brasileiros, com ênfase no Cerrado, na Amazônia e na Mata Atlântica, abordando três aspectos específicos: as alterações em habitats naturais, os efeitos sobre a distribuição e sobrevivência das espécies, e a interação das mudanças climáticas com outras ameaças, como desmatamento

e espécies invasoras. Esses aspectos foram escolhidos com base na relevância científica e na urgência das questões relacionadas à conservação da biodiversidade no contexto atual. A partir dessa delimitação, foram estabelecidos os seguintes objetivos para a revisão: (1) identificar as evidências científicas mais recentes, publicadas entre 2010 a 2024, sobre os impactos das mudanças climáticas sobre a biodiversidade dos biomas brasileiros, com ênfase no Cerrado, na Amazônia e na Mata Atlântica; (2) avaliar as principais estratégias de mitigação e adaptação propostas para enfrentar esses impactos; (3) analisar as lacunas no conhecimento científico que possam orientar futuras investigações; e (4) sintetizar os avanços na compreensão das interações entre mudanças climáticas e biodiversidade, com ênfase em biomas brasileiros, como Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica.

Foram utilizadas bases de dados acadêmicas renomadas, como Scopus, Web of Science, PubMed, SciELO e Google Scholar, para localizar artigos científicos, livros, teses e dissertações. Além disso, relatórios técnicos de instituições governamentais e não governamentais também foram incluídos quando pertinentes. Para garantir a relevância e a qualidade das fontes, foram adotados critérios específicos de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão consideraram publicações no período entre 2010 a 2024, estudos revisados por pares, trabalhos que abordam diretamente o tema em análise e documentos disponíveis em inglês e português. Por outro lado, foram excluídas fontes com informações superficiais ou desatualizadas, bem como estudos que não apresentaram metodologia clara.

As palavras-chave relacionadas ao tema foram combinadas utilizando operadores booleanos, como “and”, “or” e “not”. Os títulos e resumos dos materiais recuperados foram inicialmente analisados para triagem, e os estudos completos foram revisados posteriormente para garantir a pertinência e a profundidade das informações. As informações extraídas dos estudos selecionados foram organizadas em categorias temáticas, permitindo a identificação de tendências, padrões e divergências no corpo de conhecimento. O processo de análise incluiu a comparação crítica dos resultados, buscando alinhamento com os objetivos estabelecidos. Softwares como Mendeley e Zotero foram utilizados para gerenciar as referências bibliográficas, facilitando a organização e a padronização das fontes. O período de análise, compreendido entre 2010 a 2024, foi escolhido para abranger os avanços mais recentes na área, incluindo publicações que incorporam novas tecnologias, descobertas e políticas. Essa escolha assegurou que o estudo refletisse o estado mais atualizado do conhecimento, aspecto essencial para a construção de conclusões robustas e fundamentadas.

RESULTADOS

Os resultados deste trabalho, baseados na revisão bibliográfica, revelaram impactos significativos das mudanças climáticas sobre a biodiversidade dos biomas brasileiros, com ênfase no Cerrado, na Amazônia e na Mata Atlântica.

Cerrado

No Cerrado, as mudanças climáticas têm provocado uma alteração no regime de chuvas e um aumento nas temperaturas, resultando em secas mais intensas e frequentes (DOS SANTOS et al., 2021; MARENGO et al., 2022). Essas condições climáticas adversas têm contribuído para a degradação de habitats e um aumento na frequência de incêndios, que afetam a flora e a fauna local. Espécies nativas, como o lobo-guará e o tamanduá-bandeira, enfrentam pressões crescentes devido à perda de habitat e à fragmentação das áreas de vegetação (QUINTINO et al., 2024). Além disso, as mudanças no clima favorecem a introdução de espécies exóticas invasoras, que competem com as espécies nativas por recursos, alterando a dinâmica ecológica do bioma (FINCH, 2021). A combinação desses fatores resulta em uma perda de biodiversidade e na diminuição da resiliência dos ecossistemas do Cerrado.

Amazônia

Na Amazônia, os impactos das mudanças climáticas são ainda mais evidentes. O aumento das temperaturas e a alteração nos padrões de precipitação estão intensificando eventos de seca, que têm sido associados à savanização de áreas anteriormente cobertas por florestas (BOTTINO et al., 2024). Esse processo afeta diretamente a biodiversidade, levando à perda de espécies vegetais e animais que dependem de condições úmidas e estáveis. Espécies endêmicas, como o boto-cor-de-rosa e diversas árvores de grande porte, enfrentam riscos elevados de extinção (BRALOWER, 2021). Além disso, a combinação das mudanças climáticas com atividades humanas, como o desmatamento, agrava a vulnerabilidade dos ecossistemas, resultando em uma perda significativa da biodiversidade e na degradação de serviços ecossistêmicos essenciais (ELLWANGER et al., 2020).

Mata Atlântica

Na Mata Atlântica, as mudanças climáticas têm causado alterações nas zonas de distribuição das espécies (LEÃO et al., 2021). O aumento das temperaturas e a mudança nos padrões de chuva afetam a fenologia das plantas e a dinâmica das interações ecológicas, como polinização e dispersão de sementes (SCAVEN et al., 2013). Espécies como a onça-pintada e o mico-leão-dourado estão sob crescente ameaça devido à fragmentação de seus habitats, exacerbada pelas mudanças climáticas (DE HOLANDA LEITE et al., 2021).

O bioma, que já é um dos mais biodiversos do mundo, está em risco de perder ainda mais espécies, especialmente aquelas que são sensíveis a mudanças climáticas e dependem de habitats específicos. As florestas de altitude, em particular, enfrentam a possibilidade de extinção local à medida que as temperaturas aumentam, forçando as espécies a migrar para altitudes mais elevadas que, por sua vez, podem não ser adequadas para sua sobrevivência (GALETTI et al., 2021). Portanto, as mudanças climáticas representam uma ameaça significativa para a biodiversidade dos biomas brasileiros, com impactos diretos e indiretos que comprometem a integridade ecológica e a resiliência desses ecossistemas. A preservação e a conservação da biodiversidade nesses biomas são essenciais para mitigar os efeitos das mudanças climáticas e garantir a sustentabilidade dos serviços ecossistêmicos fundamentais para as populações humanas e a vida no planeta.

Estratégias de mitigação e adaptação

Foram identificadas estratégias promissoras para mitigar os impactos das mudanças climáticas na biodiversidade, incluindo a criação de corredores ecológicos para conectar áreas protegidas, o uso de técnicas de restauração ecológica em biomas degradados e a implementação de políticas públicas baseadas em ciência para reduzir as emissões de gases de efeito estufa (URBAN et al., 2016; SMITH et al., 2022). No entanto, a revisão também evidenciou a necessidade de maior investimento em pesquisa e monitoramento de longo prazo, especialmente em áreas de alta biodiversidade, como a Amazônia.

Lacunas no conhecimento

Apesar dos avanços científicos, foram identificadas lacunas significativas no conhecimento, como a escassez de estudos regionais detalhados sobre os efeitos sinérgicos das mudanças climáticas com outras pressões ambientais e a falta de dados de longo prazo sobre as respostas adaptativas de espécies e ecossistemas. Os resultados deste trabalho reforçam a urgência de ações integradas para enfrentar os desafios impostos pelas mudanças climáticas à biodiversidade. A combinação de estratégias de mitigação, conservação e educação ambiental surge como uma abordagem essencial para preservar os ecossistemas e garantir a resiliência das espécies frente às transformações climáticas.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesta revisão bibliográfica destacam a complexa interação entre as mudanças climáticas e a biodiversidade dos biomas brasileiros, com ênfase no Cerrado, na Amazônia e na Mata Atlântica. A análise evidencia que as alterações climáticas não afetam esses biomas de maneira isolada, mas interagem com outras pressões ambientais e antrópicas, exacerbando a vulnerabilidade da biodiversidade e desafiando as estratégias de conservação.

As mudanças climáticas estão promovendo transformações drásticas nas condições ambientais, resultando em secas, incêndios e alterações nos regimes de precipitação que, por sua vez, afetam diretamente a flora e a fauna dos biomas. No Cerrado, a combinação de aumento das temperaturas e a intensificação das secas leva à degradação dos habitats e à fragmentação das áreas nativas (MARENGO et al., 2022). A perda de espécies icônicas, como o tamanduá-bandeira, é um reflexo das dificuldades enfrentadas por essas espécies em um ambiente em rápida mudança (QUINTINO et al., 2024). Além disso, a introdução de espécies invasoras, impulsionadas pela alteração das condições climáticas, intensifica a competição e agrava a situação da biodiversidade local (FINCH, 2021).

Na Amazônia, os impactos das mudanças climáticas se manifestam de forma ainda mais aguda. A savanização de áreas florestais e os eventos de seca têm consequências devastadoras para a biodiversidade, com a perda de espécies endêmicas que dependem de ecossistemas úmidos (BOTTINO et al., 2024). A sinergia entre o desmatamento, que já é uma ameaça significativa, e as mudanças climáticas agrava a situação, levando a uma diminuição ainda maior da biodiversidade e à perda de serviços ecossistêmicos, como a regulação do clima e a ciclagem de nutrientes. As consequências para a fauna, como a extinção potencial de espécies icônicas, representam não apenas uma perda de biodiversidade, mas também a perda de um patrimônio natural fundamental (ELLWANGER et al., 2020).

Na Mata Atlântica, as mudanças climáticas afetam a fenologia das espécies e suas interações ecológicas, criando um cenário de incerteza sobre a sobrevivência de muitas delas. As alterações nas zonas de distribuição das espécies podem levar à extinção local, especialmente em um bioma já altamente fragmentado. A migração de espécies para altitudes superiores, em resposta ao aumento das temperaturas, pode não ser uma solução viável para todas as espécies, pois muitos habitats de altitude são limitados e já estão sujeitos a pressões adicionais (LEÃO et al., 2021). A fragilidade da Mata Atlântica, que abriga uma biodiversidade rica, requer atenção urgente para garantir que as estratégias de conservação sejam adaptativas e efetivas diante das mudanças climáticas (GALETTI et al., 2021).

Diante dos desafios impostos pelas mudanças climáticas, é fundamental que as estratégias de conservação sejam adaptativas e integradas. A criação de corredores ecológicos e a restauração de habitats degradados emergem como abordagens cruciais para facilitar a movimentação de espécies e a resiliência dos ecossistemas. Além disso, políticas públicas que promovam a conservação da biodiversidade devem ser baseadas em evidências científicas e incluir a participação das comunidades locais. A educação ambiental e a sensibilização para a importância da biodiversidade e das mudanças climáticas são também essenciais para promover a mobilização social em torno da conservação.

Apesar dos avanços na pesquisa sobre mudanças climáticas e biodiversidade, ainda existem lacunas significativas no conhecimento que precisam ser abordadas. Estudos adicionais são necessários para compreender melhor as interações entre mudanças climáticas e outros fatores estressantes, como a urbanização e a poluição, e para avaliar as respostas adaptativas das espécies a essas condições em mudança. O monitoramento contínuo da biodiversidade é crucial para informar estratégias de gestão e conservação, garantindo que sejam efetivas em um cenário de incerteza e mudanças rápidas.

CONCLUSÃO

As mudanças climáticas representam uma ameaça significativa à biodiversidade dos biomas brasileiros, como o Cerrado, a Amazônia e a Mata Atlântica, ao provocar alterações drásticas nos habitats e nas interações ecológicas que sustentam as espécies. A revisão evidenciou a necessidade urgente de estratégias de conservação adaptativas e integradas, que considerem as complexas interações entre fatores climáticos e antrópicos, além da importância de investigações contínuas para preencher lacunas no conhecimento. A proteção da biodiversidade não é apenas essencial para a preservação de espécies, mas também para garantir a resiliência dos ecossistemas e a sustentabilidade dos serviços ambientais que são vitais para a vida humana.

REFERÊNCIAS

- ARTAXO, Paulo. As três emergências que nossa sociedade enfrenta: saúde, biodiversidade e mudanças climáticas. **Estudos avançados**, v. 34, p. 53-66, 2020.
- BOTTINO, Marcus Jorge et al. Amazon savannization and climate change are projected to increase dry season length and temperature extremes over Brazil. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 5131, 2024.
- BRALOWER, Timothy; MILLET, April. – Endangered Species and Ecosystems. **Communities in Crisis: Student Voices on Climate Change**, 2021.
- DE HOLANDA LEITE, Maria José et al. **Ecologia em foco**. Ampla Editora, 2021.
- DE OLIVEIRA, Giovanna Fascina Prado et al. Mudanças Climáticas. **REGRASP- Revista para Graduandos/IFSP-Câmpus São Paulo**, v. 7, n. 2, p. 85-96, 2022.
- DOS SANTOS, Gilsonley Lopes et al. Degradation of the Brazilian Cerrado: Interactions with human disturbance and environmental variables. **Forest Ecology and Management**, v. 482, p. 118875, 2021.
- ELLWANGER, Joel Henrique et al. Beyond diversity loss and climate change: Impacts of Amazon deforestation on infectious diseases and public health. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. e20191375, 2020.
- FINCH, Deborah M. et al. Effects of climate change on invasive species. **Invasive species in forests and rangelands of the United States: a comprehensive science synthesis for the United States forest sector**, p. 57-83, 2021.

- GALETTI, Mauro et al. Causes and consequences of large-scale defaunation in the Atlantic forest. **The atlantic forest: history, biodiversity, threats and opportunities of the mega-diverse forest**, p. 297-324, 2021.
- GARCIA, LUCAS ARANTES. MUDANÇAS CLIMÁTICAS E GLOBAIS: UMA ANÁLISE DO PAPEL DO SER HUMANO E DAS RESPOSTAS EVOLUTIVAS DA BIODIVERSIDADE. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- HE, Xinyue et al. The effects of interaction between climate change and land-use/cover change on biodiversity-related ecosystem services. **Global Challenges**, v. 3, n. 9, p. 1800095, 2019.
- LEÃO, Tarciso CC et al. Projected impacts of climate and land use changes on the habitat of Atlantic Forest plants in Brazil. **Global Ecology and Biogeography**, v. 30, n. 10, p. 2016-2028, 2021.
- LI, Delong et al. Vulnerability of the global terrestrial ecosystems to climate change. **Global change biology**, v. 24, n. 9, p. 4095-4106, 2018.
- MARENGO, José A. et al. Increased climate pressure on the agricultural frontier in the Eastern Amazonia–Cerrado transition zone. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 457, 2022.
- Martins, G. D. A., & Theóphilo, C. R. (2009). Metodologia da investigação científica. *São Paulo: Atlas*, 143-164.
- OLIVEIRA, Daniela Almeida; PIETRAFESA, José Paulo; DA SILVA BARBALHO, Maria Gonçalves. Manutenção da biodiversidade e o hotspots cerrado. **Caminhos de Geografia**, v. 9, n. 26, p. 101-114, 2008.
- OLIVER, Tom H.; MORECROFT, Mike D. Interactions between climate change and land use change on biodiversity: attribution problems, risks, and opportunities. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change**, v. 5, n. 3, p. 317-335, 2014.
- QUINTINO, Débora Andrade. Relatório de estágio curricular em prática veterinária realizado junto ao Zoológico Municipal de Bauru/SP, ao Bioparque de Pomerode/SC e ao Centro de Medicina e Pesquisa de Animais Selvagens (CEMPAS) de Botucatu/SP:
- Revisão de literatura, principais causas de atendimento de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) de vida livre. 2024.
- SCAVEN, Victoria L.; RAFFERTY, Nicole E. Physiological effects of climate warming on flowering plants and insect pollinators and potential consequences for their interactions. **Current zoology**, v. 59, n. 3, p. 418-426, 2013.
- SMITH, Pete et al. How do we best synergize climate mitigation actions to co-benefit biodiversity?. **Global Change Biology**, v. 28, n. 8, p. 2555-2577, 2022.
- TOWNSEND, Patricia A.; MASTERS, Karen L. Lattice-work corridors for climate change: A conceptual framework for biodiversity conservation and social-ecological resilience in a tropical elevational gradient. **Ecology and Society**, v. 20, n. 2, 2015.
- TRAYLOR-HOLZER, Kathy; LEUS, Kristin; BYERS, Onnie. Ex situ management for conservation. In: **Life on Land**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 349- 359.
- URBAN, Mark C. et al. Improving the forecast for biodiversity under climate change. **Science**, v. 353, n. 6304, p. aad8466, 2016.



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Fundamentos da vida e
biodiversidade



www.atenaeditora.com.br



contato@atenaeditora.com.br



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



www.facebook.com/atenaeditora.com.br



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Fundamentos da vida e
biodiversidade

🌐 www.atenaeditora.com.br
✉ contato@atenaeditora.com.br
📷 @atenaeditora
📘 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena
Editora
Ano 2024