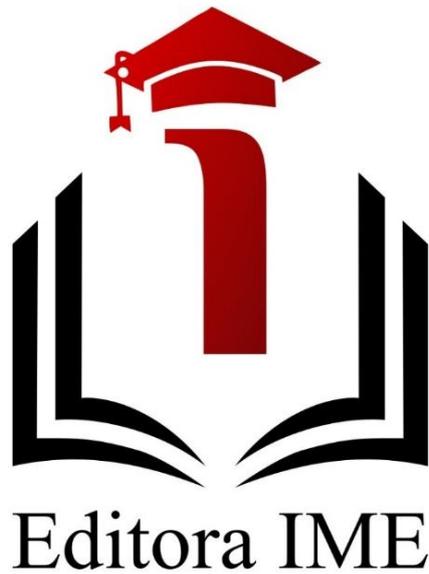




**I Congresso Nacional de
Pesquisas e Estudos Genéticos
On-line — GENETICON**

ANAIS DO EVENTO
ANAIS DO EVENTO
ANAIS DO EVENTO

VOL. 03 N°03 | ISSN: 2675-8008



A editora IME é a editora vinculada ao **I Congresso Nacional de Pesquisas e Estudos Genéticos On-line – GENETICON** atuando na publicação dos anais do respectivo evento.

A editora IME tem como objetivo difundir de forma democrática conhecimento científico, portanto, promovemos a publicação de artigos científicos, anais de congressos, simpósios e encontros de pesquisa, livros e capítulos de livros, em diversas áreas do conhecimento.

Os anais do I GENETICON estão publicados na Revista Multidisciplinar em Saúde (ISSN: 2675-8008), correspondente ao volume 3, número 3, do ano de 2022.

APRESENTAÇÃO

O **I Congresso Nacional de Pesquisas e Estudos Genéticos On-line** ocorreu entre os dias **11 a 14 de julho de 2022, considerado como** um evento de caráter técnico-científico destinado a acadêmicos, profissionais e curiosos na área da Genética.

O objetivo central do evento foi difundir o conhecimento e estimular o pensamento científico, discutindo temas de grandes relevâncias na área da Genética, com o intuito de atingir o maior número de pessoas possíveis. O I GENETICON também contou com um espaço para apresentação de trabalhos científicos e publicações de resumos nos anais do evento.

PROGRAMAÇÃO

Dia 11 de julho de 2022

Palestras:

- Abertura do Evento
- Doenças Raras
- Mapeamento genético e a medicina preditiva
- Mecanismos de variabilidade genética em bactérias e consequências da resistência antimicrobiana
- “Herdabilidade perdida” nas síndromes de predisposição hereditária ao câncer

Dia 12 de julho de 2022

Palestras:

- Avanços da Pesquisa Genética no Transtorno do Espectro do Autismo – TEA
- Homeostase em plantas: envolvimento da via de microRNAs e de degradação de RNA 5’-3’ no controle da sinalização do ácido abscísico
- Análise proteômica: atualidades, desafios analíticos e perspectivas
- Terapias personalizadas no câncer. Prevenção e tratamento baseado nos genes
- Câncer de mama hereditário

Dia 13 de julho de 2022

Palestras:

- Os Avanços da Genética para a Medicina de Precisão
- O Câncer sob o olhar da Epigenética
- A ciência e seus desafios na atualidade

- Importância do uso de testes genéticos nas abordagens clínicas
- Síndromes de Câncer Colorretal Hereditários
- Desvendando o dogma central da biologia através do sequenciamento de RNA

Dia 14 de julho de 2022

Palestras:

- Técnicas moleculares aplicadas ao estudo de microrganismos
- A epigenética na busca por biomarcadores moleculares no câncer de colo do útero
- Epigenética: Os nossos hábitos definem quem somos?
- PCR quantitativa em tempo real: Padrão ouro da pesquisa ao diagnóstico
- Ácidos graxos ômega- 3 e ômega-7 modulam a expressão de genes e função do tecido adiposo
- Encerramento do Evento



ANEUPLOIDIAS HUMANAS: ENSINANDO OS CONCEITOS BÁSICOS EM GENÉTICA A PARTIR DE LIVROS DIGITAIS E UM JOGO EDUCACIONAL

GRAZIELI CRISTINA RAMIRO; DANIEL APARECIDO MARASSATTI; RENATO MASSAHARU HASSUNUMA; PATRÍCIA CARVALHO GARCIA

Introdução: As aneuploidias são doenças genéticas caracterizadas pela alteração no número de cromossomos. Por vezes, a aquisição do conhecimento sobre as estas doenças pode ser dificultada pela quantidade de informações relacionadas a elas. Neste contexto, o uso de resumos e jogos educacionais podem ser considerados um recurso pedagógico motivador no ensino de Genética. **Objetivos:** O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de dois livros digitais sobre as principais aneuploidias humanas, sendo um livro-texto com resumos sobre as aneuploidias e um livro-jogo. **Metodologia:** Inicialmente, foi realizado um levantamento bibliográfico de artigos, livros e *sites* relacionados ao tema aneuploidias humanas e de imagens de cariótipos que estavam registradas em domínio público. Para obtenção das imagens foram utilizados recursos do Google Imagens[®] e do *site* Wikimedia Commons[®]. A partir do levantamento bibliográfico, foram estudadas as seguintes aneuploidias: Síndrome de Down, Síndrome de Edwards, Síndrome de Patau, Síndrome de Turner, Síndrome de Klinefelter, Síndrome de Jacobs e Síndrome do triplo X. Foram desenvolvidos dois livros e um baralho, redigidos e diagramados no *software* Microsoft Power Point[®]. **Resultados:** Os resultados obtidos foram publicados nos livros digitais: 1) ‘Aneuploidias: alterações cromossômicas numéricas’, um livro-texto que possui o resumo preparado para cada uma das principais aneuploidias humanas, que apresenta resumos sobre as aneuploidias; e 2) ‘Aneuploidias: livro-jogo para o ensino de Genética’, que apresenta um jogo educacional e um baralho. Ambos livros foram publicados pela Canal 6 Editora e estão disponíveis para *download* gratuito no *site* da Canal 6 Livraria. **Conclusões:** Os livros produzidos podem ser considerados uma interessante ferramenta pedagógica no ensino das principais anomalias cromossômicas numéricas, principalmente em relação ao livro-jogo que estimula a interatividade entre os alunos. Uma vez que os livros digitais estão disponibilizados gratuitamente no *site* da editora, o material pode ser facilmente adquirido e utilizado em sala de aula por alunos e professores de diferentes níveis e instituições de ensino.

Palavras-chave: Anomalias cromossômicas, Cariotipagem, Ensino, Genética.



A IMPORTÂNCIA DOS MÉTODOS DE EDIÇÃO GÊNICA NA DIMINUIÇÃO DOS CASOS DE CÂNCER DECORRENTES DA MUTAÇÃO DO GENE TP53: UMA REVISÃO

AMANDA PEZZINI MARTINS

Introdução: Alternativas diversas vêm sendo testadas, como método de edição gênica na busca da substituição de genes TP53 mutantes de potencialidade cancerosa por similaridades que não causem qualquer efeito genotóxico no indivíduo. Tais genes se localizam no cromossomo 17, e tem sido associados à diferentes tipos de neoplasias devido ao grande número de variações apresentadas, principalmente entre os éxons 5 e 8. **Objetivos:** Alternativas diversas vêm sendo testadas, como método de edição gênica na busca da substituição de genes TP53 mutantes de potencialidade cancerosa por similaridades que não causem qualquer efeito genotóxico no indivíduo. A CRISPR/Cas9 é um dos mecanismos de edição gênica mais utilizados, que consiste na clivagem do gene afetado e substituição por um gene normal guiada pelo mecanismo de reparo DSB (Clivagem da dupla cadeia). **Materiais e Métodos:** Revisão bibliográfica de pesquisas envolvendo métodos genéticos para redução da expressão tumoral através da análise de artigos e publicações em revistas científicas, recursos disponíveis no National Center for Biotechnology Information (NCBI), PUBMED e Mouse Models of Human Cancer Database (MMHCdb). Foram palavras chave para a pesquisa das publicações: p53; biologia de tumores em camundongos; CRISPR e o câncer; supressão de tumor p53, dentre outros. **Resultados e Discussão:** Um número significativo de publicações é encontrado na literatura envolvendo papel do gene p53 no funcionamento celular normal e neoplásico, envolvendo praticamente todos os tipos de células. Outros recursos têm sido explorados em busca de uma alternativa clínica para a supressão tumoral e o controle de crescimento celular. Uma dessas possibilidades envolve o método de edição gênica CRISPR Cas9, tendo como principal foco o silenciamento de oncogenes, avaliando a supressão tumoral in vitro e in vivo. **Conclusão:** Os avanços científicos têm auxiliado no combate à cânceres, seja com o diagnóstico precoce, descoberta de novas drogas ou imunoterapia. Muitas técnicas tem sido aplicadas nas pesquisas e o cenário é otimista, sendo necessário mais estudos e recursos para que no futuro haja a possibilidade da redução drástica das mais de 9.6 milhões de mortes em todo o mundo.

Palavras-chave: Cancer, P53, Edição gênica.



A INFLUÊNCIA DAS VIAS DE REPARO NO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DAS LEUCEMIAS

MARIA HELOYSA ALVES LEAL; JOSÉ PEREIRA DOS SANTOS JÚNIOR; EDUARDA ALVES DE PAULA MELO SANTOS

Introdução: As leucemias são neoplasias hematológicas resultantes de mutações em células hematopoiéticas na medula óssea, classificadas de acordo com o grau de maturação das células (agudas ou crônicas) e com a linhagem celular (linfoide ou mieloide). **Objetivos:** Elucidar de que maneira as vias de reparo do DNA podem dificultar a quimioterapia em pacientes leucêmicos. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão da literatura, construída a partir do levantamento bibliográfico nas bases de dados: Scientific Electronic Library Online (SciELO) e PubMed, por meio da utilização dos seguintes Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): antineoplásicos, reparo do DNA e neoplasias malignas. Foram incluídos 6 artigos publicados entre 2015 e 2022, disponíveis de forma completa e gratuita. Foram excluídos os artigos que não apresentaram nenhum dos descritores selecionados. **Resultados:** O tratamento pode variar de acordo com a idade, estado geral do paciente, bem como com o subtipo celular envolvido, mas de maneira geral a quimioterapia tem sido o método de tratamento específico mais difundido. Apesar de bem difundida, a quimioterapia possui um percentual de insucesso considerável devido principalmente à ação dos mecanismos de resistência ao tratamento existentes, que podem ser: a) intrínsecos, presentes nas células neoplásicas malignas, como o aumento da atuação das vias de reparo do DNA; b) adquiridos, resultantes de novas mutações durante o tratamento que ativam vias de sinalização compensatórias que tornam as células resistentes aos agentes antineoplásicos. Esses agentes interferem no ciclo celular maligno de diversas formas interrompendo a síntese de DNA através de danos ao mesmo. De forma fisiológica as vias de reparo atuam corrigindo danos ao DNA e diante de um processo neoplásico a ação dessas vias é consideravelmente ampliada, fato que pode dificultar a remissão dos pacientes em tratamento com agentes inibidores da síntese de ácidos nucleicos por dano direto. **Conclusão:** Visto que boa parte dos agentes quimioterápicos utilizados no tratamento das leucemias e de outras neoplasias hematológicas atuam inibindo a síntese de DNA, o aumento da atuação das vias de reparo nas células cancerígenas é apontado como determinante no tratamento, uma vez que ao atuarem no sentido oposto ao fármaco, podem culminar no fracasso terapêutico.

Palavras-chave: Antineoplásicos, Reparo do dna, Neoplasias malignas.



CARACTERIZAÇÃO, ANÁLISE FILOGENÉTICA E PERFIL DE EXPRESSÃO DA FAMÍLIA MULTIGÊNICA DA ASCORBATO PEROXIDASE (APX) EM SORGHUM BICOLOR L. MOENCH

JOSÉ APARECIDO DE SOUSA BERNARDINO LEITE; MARIA VITÓRIA DE SOUSA LEITE;
IARA CAROLINA FERREIRA DA SILVA; KATIA DANIELLA DA CRUZ SARAIVA

Introdução: Ascorbato peroxidase (APX) é um dos componentes centrais do ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH). É uma enzima antioxidante crucial para o mecanismo de defesa antioxidante através da remoção do excesso de H_2O_2 nas plantas. Devido a essa importância para a manutenção da homeostase redox, a APX tem sido alvo de vários estudos bioquímicos e moleculares. Sendo assim, objetivamos caracterizar *in silico* os genes da família multigênica da APX e analisá-los, filogeneticamente, em sorgo e outras espécies da ordem poales, que têm o genoma disponível em bancos de dados públicos. **Metodologia:** A identificação e anotação manual dos genes APX foi feita a partir de buscas em bancos de dados públicos usando sequências homólogas da APX de *Arabidopsis thaliana* através do BLAST. A análise filogenética foi realizada usando o programa MEGA 7.0 e a espécie *Arabidopsis thaliana* (ordem Brassicales) como grupo externo. **Resultados:** As análises de Bioinformática evidenciaram que o número de genes APX variou entre as espécies analisadas, sendo o menor número encontrado em milho (4 genes) e o maior em *Triticum aestivum* (18 genes). Em sorgo foram identificados 8 genes APX, sendo observado presença de 3 variantes gênicas no cromossomo 4. A estrutura éxon/intron é conservada entre os genes APX no sorgo, comportamento similar também foi observado nas outras Poales. O alinhamento de sequências revelou identidades que variaram de 34.60% a 99.95% em nucleotídeos e 30.03% a 100% nas sequências de aminoácidos deduzidas. A análise filogenética demonstrou que os genes APX das Poales estão divididos em quatro clados de genes ortólogos e são divergentes dos de *Arabidopsis thaliana*. A análise do genoma do sorgo demonstrou que os 8 genes APX estão localizados em 6 cromossomos distintos e alta divergência é observada na região dos promotores. Esse padrão também foi observado em outras Poales, sugerindo que os genes APX podem ser regulados diferencialmente. **Conclusão:** Esses achados reforçam a importância de análises experimentais para estabelecer os perfis de expressão desses genes em condições ambientais adversas, possibilitando, inclusive, eleger genes alvos que poderão ser utilizados como ferramentas biotecnológicas para obtenção de cultivares/genótipos mais adaptados a condições de estresse.

Palavras-chave: Apx, Poales, Sorgo.



EROSÃO GENÉTICA: PERDA DE DIVERSIDADE GENÉTICA DAS ESPÉCIES.

MATHEUS LIMA OLIVEIRA¹, FRANCISMARY BARROS DA SILVA², EZILDO FRANCISCO FELINTO FILHO³, CARLOS ROBERTO SILVA DE OLIVEIRA⁴, VIVIANE NUNES DOS SANTOS⁵.

¹ – Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900, matheus.limaoliveira@ufrpe.br

² – Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900.

³ – Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900.

⁴ – Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900.

⁵ – Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil, 52.171-900.

RESUMO

Introdução: A erosão genética é a perda de um único gene e/ou complexos gênicos. O termo pode ser aplicado em um sentido restrito, considerando apenas a perda de genes ou alelos, ou de forma ampla, considerando a perda de espécies específicas. Esse fenômeno não implica necessariamente na extinção de uma espécie ou subpopulação e sim na perda de variabilidade genética e consequente flexibilidade. **Objetivo:** O trabalho tem como objetivo apresentar as principais definições, consequências, alguns estudos e as perspectivas acerca das pesquisas relacionadas com a temática da Erosão Genética nas espécies vegetais. **Material e Métodos:** Esse manuscrito consiste em uma revisão bibliográfica acerca da temática Erosão Genética em espécies vegetais. Essa foi confeccionada por meio da consulta de 32 trabalhos selecionados nos principais indexadores de periódicos. **Resultados:** O processo de domesticação e a seleção artificial imposta pelo ser humano têm contribuído de forma bastante elevada para o fenômeno da erosão genética. Como uma solução para o incremento variabilidade genética nas espécies cultivadas é o cruzamento destas com suas espécies silvestres. À medida que abordagens mais sistemáticas e

protocoladas para pesquisar a erosão genética em paisagens agrícolas tradicionais foram desenvolvidas, padrões complexos de perda, manutenção e aumento da diversidade foram revelados. O conceito de erosão genética é agora amplamente conhecido na conservação da biodiversidade. **Conclusão:** Essa temática possui muitas facetas, mesmo com o alto número de iniciativas para sanar esse problema que assola a biodiversidade, isso ainda é uma realidade na maioria dos países do mundo, em especial aqueles que visam o agronegócio, demonstrando que as pesquisas ainda necessitam evoluir, bem como o repasse dessas informações para a sociedade.

Palavras-chave: Biodiversidade; Melhoramento Genético de Plantas; Variabilidade Genética; Variedades Crioulas.

ABSTRACT

Introduction: Genetic erosion is the loss of a single gene and/or gene complexes. The term can be applied in a narrow sense, considering only the loss of genes or alleles, or broadly, considering the loss of specific species. This phenomenon does not necessarily imply the extinction of a species or subpopulation, but the loss of genetic variability and consequent flexibility. **Objective:** The objective of this work is to present the main definitions, consequences, some studies and perspectives on research related to the theme of Genetic Erosion in plant species. **Material and methods:** This manuscript consists of a bibliographic review about Genetic Erosion in plant species. This was made by consulting 32 works selected in the main indexes of journals. **Results:** The domestication process and the artificial selection imposed by the human being have contributed in a very high way to the phenomenon of genetic erosion. As a solution to increase genetic variability in cultivated species is the crossing of these with their wild species. As more systematic and protocol approaches to researching genetic erosion in traditional agricultural landscapes have been developed, complex patterns of loss, maintenance and increase in diversity have been revealed. The concept of genetic erosion is now widely known in biodiversity conservation. **Conclusion:** This theme has many facets, even with the high number of initiatives to solve this problem that plagues biodiversity, this is still a reality in most countries in the world, especially those aimed at agribusiness, demonstrating that research still needs to evolve, as well as the transfer of this information to society.

Key Words: Biodiversity; Plant Breeding; Genetic Variability; Landrace.

1 INTRODUÇÃO

Como foi citado por Iöw (2004) os processos históricos como a Revolução Verde e o advento dos pacotes tecnológicos, ambos associados à agricultura moderna, resultaram em aumentos expressivos no rendimento das principais culturas consumidas, gerando conseqüentemente, sérios problemas ambientais, como a erosão do solo, desertificação, poluição por agrotóxicos, perda da biodiversidade e homogeneização genética de variedades e raças.

De acordo com o segundo relatório sobre o estado dos recursos genéticos do mundo para a alimentação e agricultura, publicado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) no ano de 2010, diversos países relataram uma diminuição da diversidade de seus campos produtivos e a redução do número de cultivares utilizadas, ocasionando grandes perdas à agricultura devido à vulnerabilidade genética proporcionada pela homogeneização genética das variedades, o que define-se como erosão genética (FAO, 2010). A erosão genética pode ser definida como a perda de um único gene e/ou complexos gênicos, tais como aqueles mantidos pelas espécies crioulas

(VAN DE WOUW et al., 2009). O termo pode ser aplicado em um sentido restrito, considerando apenas a perda de genes ou alelos, ou de forma ampla, considerando a perda de espécies específicas.

Em todos os casos, esse fenômeno não implica necessariamente na extinção de uma espécie ou subpopulação e sim na perda de variabilidade genética e consequente flexibilidade (FAO, 2010), isso limita o leque de opções genéticas para os programas de melhoramento de plantas. A uniformidade de variedades ocasiona a perda da diversidade genética entre e dentro de populações ao longo dos anos, reduzindo a base genética de uma espécie, o que diminui a possibilidade de encontrar fatores de resistência a estresses bióticos e abióticos, predispondo os cultivos à vulnerabilidade genética, responsável por grandes perdas agrícolas em situações atípicas (JARVIS et al., 2000).

Esse desaparecimento de variedades locais conservadas *in situ* pode ser explicado por algumas causas, envolvendo tanto fatores ambientais e adaptativos quanto fatores socioculturais. Diagnosticar os processos de desaparecimento de variedades crioulas decorrentes de perda de sementes ou abandono do cultivo constitui um passo fundamental na elaboração de estratégias adequadas de conservação com finalidade de prevenção da erosão genética.

Outro fator que está relacionado com esse fenômeno é a ação do ser humano, sendo esse altamente significativo nessa perda gênica, como é citado por Silva *et al.* (2017). O aumento da população mundial tem sido considerado como um aspecto decisivo na alteração da dinâmica das relações que se estabelecem na natureza do planeta, levando à necessidade de que sejam configuradas ações que permitam reduzir os impactos a biodiversidade que já está sendo causado.

A perda destes genes, que pode ser referida em uma dimensão ecológica como perda de biodiversidade, assume, então, papel importante na lista de desafios que a humanidade enfrenta atualmente. A partir desse ponto essa revisão tem como objetivo apresentar as principais definições, consequências, alguns estudos e as perspectivas acerca das pesquisas relacionadas com a temática da Erosão Genética nas espécies vegetais.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho consiste em uma revisão bibliográfica acerca da temática Erosão Genética em espécies vegetais. Essa foi confeccionada por meio da consulta de 32 trabalhos nas plataformas indexadoras de artigos e outros trabalhos científicos Google Acadêmico, Portal de Periódicos da Capes e SciELO. Os trabalhos não foram selecionados de acordo com o ano de publicação e sim o *cache* no eixo abordado no trabalho, fazendo com que se obtivessem um maior número de estudos para um maior embasamento científico da revisão. Foram utilizados os termos “Erosão Genética”, “Diversidade Genética”, “Extinção de Espécies Vegetais”, “Estreitamento de Base Genética”, sendo realizadas as pesquisas tanto em português quanto em inglês.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

CAUSAS E CONSEQUÊNCIAS DA EROSÃO GENÉTICA NATURAL E ARTIFICIAL

Um dos fatores para a evolução de uma espécie na natureza, como foi demonstrado por Moody (1975), consiste na ocorrência de seleção natural, onde o ser vivo carrega os genes que são adaptados ao meio ambiente, podendo transmiti-los por diversas gerações.

Esse caráter evolutivo é expressivo para a sobrevivência da espécie na natureza, porém, observa-se que genes inferiores e deletérios são perdidos, os quais poderiam ser futuramente aproveitados. Este fenômeno é conhecido por erosão genética natural, o mesmo autor relata que, as mutações, fontes primárias de variabilidade, também são importantes para o surgimento de um novo genótipo, compensando ou minimizando os efeitos da perda do material genético causadas pela erosão. Bueno *et al.* (2001) informam que, através das mutações, uma espécie poderá formar várias outras. Assim, aqueles genes que faziam parte daquela espécie e que não se apresentam nas novas cultivares serão perdidos ao longo do tempo, principalmente se houver a extinção daquela variedade selvagem.

Já a erosão genética artificial é resultante do mau uso de bancos de germoplasma, manejo incorreto da exploração de espécies nativas e silvestres, estreitamento da base genética de algumas espécies entre outras ocorrências, causando a perda de genes importantes para a agricultura, economia e para a biodiversidade como um todo. Frequentemente os fatores resistentes por meio da genética dos indivíduos a uma determinada doença ou praga são encontrados na maioria das vezes em genótipos selvagens de uma determinada espécie, sendo geralmente pouco dispersos (PRIMACK & RODRIGUES, 2001).

O melhoramento de plantas visando o desenvolvimento sustentável da agricultura e da agroindústria requer uma aquisição contínua de genes dependendo, portanto, de uma diversidade de recursos genéticos (SANTOS, 2003). Segundo Borém (2005), a principal causa da redução da biodiversidade é a fragmentação e destruição do habitat. A substituição de cultivares primitivas por outras melhoradas, a inadequação de métodos de conservação de germoplasma, a eliminação de material de melhoramento, o aumento da população, a industrialização, as calamidades naturais e a expansão da fronteira agrícola contribuem para o desaparecimento dos recursos fitogenéticos (CHOER *et al.*, 2001).

O setor madeireiro é um dos fatores que mais vem agindo sem planejamento, realizando a exploração florestal sem cuidados e sem observar critérios técnicos e científicos que garantam a conservação da biodiversidade dos ambientes que estão inseridos. Com isso, aos poucos, as matrizes produtoras de sementes e portadoras de características genéticas superiores foram e continuam desaparecendo, e com isso sua genealogia específica acaba também se perdendo. A ameaça da erosão genética também aparece claramente em relação às plantas alimentícias. Estes correspondem a um número restrito de culturas, uniformizadas em função das práticas agrícolas modernas.

Como um exemplo claro de uso incorreto e inconsequente dessa alta seleção artificial Malajovich (2004) mostrou em seus trabalhos que no início do século XX existiam na Índia mais de 30 mil variedades nativas de arroz, porém hoje não restam hoje mais de 50. Este procedimento ocorre também em quase todas as outras culturas, acarretando a vulnerabilidade genética. Ferraz (2008) em seu manuscrito apresenta que nos Estados Unidos esse fenômeno também ocorre em diversas culturas agrícolas, como na ervilha que 96% da produção é realizada por duas variedades, e seis variedades de milho respondem por 71% do total produzido. No Brasil esse cenário também é muito semelhante principalmente em relação as commodities, como o milho e a soja onde são cultivadas área de milhares de hectares normalmente com no máximo dois materiais genéticos. Isto se traduz em um grande risco para a segurança alimentar da humanidade, que fica à mercê deste reduzido número de material biológico.

Nas espécies frutíferas a conservação de germoplasma é uma ação importante para a prevenção da erosão genética decorrente de diversas atividades agrícolas que perturbam os ecossistemas, com prejuízos, não raro irreversíveis, a muitas espécies, particularmente as

nativas (CARVALHO et al., 2002). Tombolato (2004) ressalta em seus estudos que a domesticação de espécies também tem consequências ecológicas importantes, pois ao se cultivar populações com base genética estreita a cultura torna-se mais vulnerável. A rusticidade e suas vantagens, como a capacidade de desenvolver-se em solos pobres e degradados, vão sendo perdidas à medida que a espécie progride na domesticação.

O processo de domesticação e a seleção artificial imposta pelo ser humano têm contribuído de forma bastante elevada para o fenômeno da erosão genética. Como uma solução para o incremento variabilidade genética nas espécies cultivadas é o cruzamento destas com suas espécies silvestres. Aumentando assim a base genética das plantas que serão cultivadas, além disso se desenvolve uma maneira de utilizar esses genótipos silvestres para que essa possua uma melhor utilização e se mantenha sempre ativa no ecossistema.

Outra causa da redução da biodiversidade é o plantio de espécies exóticas, substituindo as plantas nativas em seus locais de origem. Esse intercâmbio de espécies entre países tem sido um dos mais importantes fatores para o crescimento da agricultura mundial, porém deve ser efetuado de maneira mais ordenada, com o uso de locais de cultivos específicos sem degradar as espécies silvestres do país.

No Brasil, a introdução de plantas como a soja, o milho, o arroz, os citros, o café, o feijão, o trigo e outras espécies maximizou e tornou a agricultura mais forte no país, além de auxiliar na segurança alimentar de seus habitantes. Entretanto Borém (2005) cita que as espécies exóticas introduzidas poderão ameaçar as nativas, se aquelas apresentarem uma boa adaptação as condições edafoclimáticas da região. Em geral, as espécies introduzidas não são ameaçadas por pragas e doenças em seu novo habitat, o que lhes confere vantagem adaptativa. Então esse processo migratório de espécies vegetais é muito importante para a agricultura, todavia deve ser realizado de maneira correta, tendo em vista que objetivo de aumentar a base genética do país, pode na verdade causar uma erosão genética e estreitamento do genoma das plantas locais. A diversidade genética sustenta a produtividade, resiliência e capacidade adaptativa das espécies agrícolas. A perda desta é, portanto, preocupante. Embora os alarmes relativos a declínios evidentes na diversidade de culturas tenham sido levantados por mais de um século, a magnitude, a trajetória, as causas e a importância dessas perdas permanecem pouco compreendidas (RENARD & TILMAN, 2019).

Como resultado dessas preocupações houve uma expansão de programas nacionais e internacionais de coleta e manutenção da diversidade genética de culturas em bancos de germoplasma. O International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) foi estabelecido em 1974 para coordenar um programa global de conservação da diversidade ameaçada. O IBPGR apoiou a coleta de mais de 200.000 amostras de espécies locais, aparentados silvestres de culturas e outros recursos genéticos em 136 países entre 1975 e 1995, e ajudou a estabelecer coleções internacionais de bancos de genes para manter essas amostras (THORMANN et al., 2019).

EROSÃO GENÉTICA X DIVERSIDADE GENÉTICA

Sob o ponto de vista genético, a diversidade biológica representa um patrimônio, pois cada espécie tem um genoma diferenciado, formando um "banco de dados" de valor inestimável a ser empregado pela Engenharia Genética e pela Biotecnologia. Espécies ainda não mapeadas geneticamente poderão fornecer genes que tornem plantas cultivadas mais resistentes às pragas e intempéries (SARIEGO, 2008). Esta variabilidade existente, segundo

Ramalho *et al.* (2004), consiste na capacidade de uma espécie, de uma população ou de uma progênie para expressar diferentes fenótipos. A variação genética aparece devido às diferenças nas constituições do genoma das espécies, podendo ser transmitida à descendência, sendo o fator básico para a evolução.

Em estudos realizados por Faleiro (2008) ele cita que, a existência da variabilidade genética entre as espécies permitiu a obtenção, via melhoramento genético, de novas combinações de maior interesse para o homem, como cultivares produtivas, resistentes a pragas e doenças e adaptadas as diferentes condições edafoclimáticas. Deve-se considerar que as necessidades humanas variam com o tempo, de modo que a demanda futura para características específicas pode ser diferente das atuais. Assim, é fundamental que tenhamos diversidade genética suficiente para atender aos requisitos exigidos para o melhoramento de culturas (RAMALHO *et al.*, 2004). Brandt *et al.* (2008) afirmam que, a erosão genética é notória dentro de uma mesma espécie, que passa por reduções nos tamanhos das populações, isto é, algumas características podem ser perdidas em função da perda de variabilidade genética por consequência da perda de alelos em vários genes.

Apesar de todos esses benefícios e necessidades para o processo de evolução da agricultura para a segurança alimentar, essa biodiversidade está sendo destruída numa velocidade alarmante, devido ao crescimento desorganizado e à exploração sem controle dos ecossistemas e de seus recursos naturais. A diversidade contida em um germoplasma deve ser protegida contra eventuais perdas, visando sua preservação como futura fonte de fatores a serem agregados no desenvolvimento de cultivares quanto para a preservação da biodiversidade na terra.

PERSPECTIVAS DO ESTUDO DE EROÇÃO GENÉTICA

À medida que abordagens mais sistemáticas e protocoladas para pesquisar a erosão genética em paisagens agrícolas tradicionais foram desenvolvidas, padrões complexos de perda, manutenção e aumento da diversidade foram revelados. O conceito de erosão genética é agora amplamente conhecido na conservação da biodiversidade, isso é exemplificado por uma métrica, de 400 artigos publicados com o termo no título e mais de 23.000 com a frase no texto nos últimos anos, no indexador de trabalhos Google Acadêmico.

Isso foi possibilitado pela expansão do escopo das revistas e pela variedade de interpretações que o acompanha: encontramos definições/descrições diferentes na literatura acerca da erosão genética. Estes variam principalmente por tipo de melhoramento que está sendo empregado (apenas variedades locais, ou também cultivares modernos e/ou parentes selvagens), âmbito geográfico (apenas dentro de regiões de domesticação de culturas, ou também em outro país), ambiente (no local apenas, ou também incluindo *ex situ*) e o grau em que os fatores de perda são especificados. Erosão genética como um termo e como uma preocupação também se expandiu além da agricultura para incluir uma ampla gama de estudos em plantas selvagens e animais (LEIGH *et al.*, 2019).

Conforme a pesquisa de erosão genética evoluiu, três alvos principais de medição surgiram: perdas absolutas (MEGERSA, 2014), mudanças na riqueza (DYER *et al.*, 2014), e mudanças em abundâncias, frequências ou uniformidade (KHLESTKINA *et al.*, 2004). Essas medidas inter-relacionadas também podem ser combinadas, refletindo a métrica comumente usada em ecologia e genética de populações, como os índices de Shannon e Simpson (BONNEUIL *et al.*, 2012; BROWN & HODGKIN, 2015). A quantificação pode ser direta ou por meio de proxies, como números de produtores ou locais

específicos (OLODO et al., 2020). Por meio de estudos na área da genética empregou-se um conjunto de técnicas de marcadores moleculares e análises genéticas populacionais, incluindo estimativas de diversidade, diferenciação, história demográfica e padrões de divergência adaptativa (FU & DONG, 2015). Abordagens indiretas para medir a mudança na diversidade genética também foram empregadas, incluindo coeficientes de parentesco e métricas relacionadas usadas para comparar pedigrees (MARTYNOV et al., 2006).

A pesquisa de diversidade dentro da variedade também incluiu investigações de mudanças na variação fenotípica, muitas vezes com foco em características agrônômicas (SCHOUTEN et al., 2019). Essas análises de diversidade de culturas foram conduzidas em uma ampla gama de escalas geográficas, desde o local, a comunidade em conjunto com o sistema ecológico, o país e a região. Os prazos para avaliar as mudanças também variam, de intervalos curtos a décadas e, mais recentemente, com o auxílio de métodos para a avaliação do DNA e para algumas culturas propagadas vegetativamente, séculos ou milênios (SMITH et al., 2019). Os estudos de intervalo de tempo intermediário frequentemente compilam e relatam mudanças de diversidade em intervalos padronizados, como as décadas (FU & DONG, 2015).

A partir dos estudos e trabalhos apresentados por meio dessa revisão, podemos perceber o quanto é importante o debate acerca da Erosão Genética, tanto a que ocorre de maneira natural, tendo em vista que os melhoristas e técnicos que trabalham no desenvolvimento de cultivares e na agricultura, tem que apresentar um conhecimento mínimo das relações de seleção natural das espécies vegetais. Também deve-se ter muita atenção no que diz respeito a perda de diversidade genética por meio da erosão genética artificial, pois esse processo pode ocasionar a perda de espécies que podem vir ser cruciais para a manutenção da segurança alimentar de uma determinada região, principalmente aquelas que não possuem os sistemas de produção ecológicos bem desenvolvidos.

4 CONCLUSÃO

Esse tema como foi demonstrado possui muitas facetas, mesmo com o alto número de estudos e iniciativas para sanar esse problema que assola a biodiversidade, isso ainda é uma realidade na maioria dos países do mundo, em especial aqueles que se voltam muito para o agronegócio, deve-se buscar o repasse de maneira mais efetiva do que o aumento dessa perda de variabilidade genética pode ocasionar na vida das pessoas, não somente no processo de melhoramento genéticos das plantas.

REFERÊNCIAS

- BONNEUIL, C.; GOFFAUX, R.; BONNIN, I.; MONTALENT, P.; HAMON, C.;
BALFOURIER, F.; GOLDRINGER I. A new integrative indicator to assess crop genetic diversity. **Ecological Indicators**, 2012. 23: 280–289.
- BORÉM, A. **Biotecnologia e Meio Ambiente**. Viçosa: UFV, 2005. p.51-67.
- BRANDT, F.M.; MARSCHELAK, R.; VIBRANS, A.C. **Melhoramento (Genético) Florestal**. 2008. Disponível em: < <http://home.furb.br/rubensm/>>. Acesso em: dezembro de 2021.

- BROWN, A.H.D.; HODGKIN, T. (2015) Indicators of genetic diversity.; genetic erosion.; and genetic vulnerability for plant genetic resources. In: AHUJA, M.R.; JAIN, S.M.; eds. **Genetic diversity and erosion in plants**. Cham.; Switzerland: Springer. 2015. p.25–53.
- BUENO, L.C de S.; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, S.P. **Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos**. Lavras: UFLA. 2001. 282 p.
- CARVALHO, P. C. L.; SOARES FILHO, W. S.; RITZINGER, R.; CARVALHO, J. A. G. S.
Conservação de germoplasma de fruteiras tropicais com a participação do agricultor. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal.; v.24.; n.1. 2002. p. 25-32.
- CHOER, E.; AUGUSTIN, E.; PEREIRA, A. S.; LEITE, D. L.; CASTRO, L. A. S.; FORTES, G. F. **Banco ativo de germoplasma de hortaliças da Região Sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2001. 2 p.
- DYER, G. A.; LOPEZ-FELDMAN, A.; YUNEZ-NAUDE, A.; TAYLOR, J. E. Genetic erosion in maize's center of origin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**.; USA. 2014. 111: 14094–14099.
- FALEIRO, F. G. **Preservação da variabilidade genética de plantas: um grande desafio**. 2008. Disponível em: <
<http://www.boletimpecuario.com.br/artigos/showartigo.php?arquivo=artigo350.txt&tudo=sim>> Acesso em: dezembro de 2021.
- FAO Food and Agriculture Organization **The Second Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture**. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. 2010. Rome.
- FERRAZ, J. M. G. **A insustentabilidade da revolução verde**. 2006. Disponível em:<
<http://www.cnpma.embrapa.br/>>. Acesso em: dezembro de 2021.
- FU, Y. B.; DONG, Y. B. Genetic erosion under modern plant breeding: case studies in Canadian crop gene pools. In: AhujaMR.; Jain SM.; eds.**Genetic diversity and erosion in plants.; sustainable development and biodiversity**. Cham.; Switzerland: Springer International. 2015. p. 89–104.
- IÖW - Institute for Ecological Economy Research. **Position Paper for Sustainable Plant and Animal Breeding**. 2004. Disponível em:
<http://www.agrobiodiversitaet.net/agrobiowebseite/site/page/downloads/Positionspapier_en.pdf> Acesso em: dezembro de 2021.
- JARVIS, D. I.; MEYER, L.; KLEMICK, H.; GUARINO, L.; SMALE, M.; BROWN, A. H. D.; SADIKI M.; STHAPIT, B.; HODGKIN, T. **A training guide for in situ conservation on-farm**. Bioversity International. 2000.
- KHLESTKINA, E. K.; RODER, M. S.; EFREMOVA, T. T.; BORNER, A.; SHUMNY, V. K.
The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as

determined by microsatellite markers. **Plant Breeding**. 2004. 123: 122–127.

LEIGH, D. M.; HENDRY, A. P.; VAZQUEZ-DOMINGUEZ, E.; FRIESEN, V. L. Estimated six per cent loss of genetic variation in wild populations since the industrial revolution.

Evolutionary Applications. 2019. 12: 1505–1512.

MALAJOVICH, M. A. **BIOTecnologia**. Rio de Janeiro: Axcel Books. 2004. 344 p.

MARTYNOV, S. P.; DOBROTVORSKAYA, T. V.; PUKHALSKIY, V. A. Dynamics of genetic diversity in winter common wheat *Triticum aestivum* L. cultivars released in Russia from 1929 to 2005. **Russian Journal of Genetics**. 2006. 42: 1137–1147.

MEGERSA, G. Genetic erosion of barley in North Shewa Zone of Oromiya Region.; Ethiopia. **International Journal of Biodiversity Conservation**. 2014. 6: 280–289.

MOODY, P. A. **Introdução à evolução**. 4. ed. Brasília: UnB. 1975. 426 p.

OLODO, K. F.; BARNAUD, A.; KANE, N. A.; MARIAC, C.; FAYE, A.; COUDERC, M.; ZEKRAOUEI, L.; DEQUINCEY, A.; DIOUF, D.; VIGOUROUX, Y. Abandonment of pearl millet cropping and homogenization of its diversity over a 40 year period in Senegal. **PLoS ONE**. 2020. 15: e0239123.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: Planta. 2001. 327 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. 3. ed. Lavras: UFLA. 2004. 472 p.

RENARD, D.; TILMAN, D. National food production stabilized by crop diversity. **Nature**. 2019. 571: 257–260.

SANTOS, E. K. Totipotência vegetal e cultura de tecidos vegetais. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UFRGS. 2003. p. 415-444.

SARIEGO, J. C. L. **Cientistas alertam para o perigo da "erosão genética"**. 2008. Disponível em: <<http://paginas.terra.com.br/educacao/sariego/>>. Acesso em: dezembro de 2021.

SCHOUTEN, H. J.; TIKUNOV, Y.; VERKERKE, W.; FINKERS, R.; BOVY, A.; BAI, Y.; VISSER, R. G. F. Breeding has increased the diversity of cultivated tomato in the Netherlands. **Frontiers in Plant Science**. 2019. 10: 1606.

SILVA, P. M. *et al.* TRANSGÊNICOS E EROSÃO GENÉTICA: O PARADOXO DA (IN)SEGURANÇA ALIMENTAR. **Agroecologia**.; Murcia.; v. 12.; n. 2. 2017. p. 81-81. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10201/62960>. Acesso em: dez. 2021.

SMITH, O.; NICHOLSON, W. V.; KISTLER, L.; MACE, E.; CLAPHAM, A.; ROSE, P.; STEVENS, C.; WARE, R.; SAMAVEDAM, S.; BARKER, G. A domestication history of dynamic adaptation and genomic deterioration in sorghum. **Nature Plants**. 2019. 5: 369–379.

THORMANN, I.; ENGELS, J. M. M.; HALEWOOD, M. Are the old International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) base collections available through the Plant Treaty's multilateral system of access and benefit sharing? A review. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 2019. 66: 291–310.

TOMBOLATO, A. F. C. **Cultivo comercial de plantas ornamentais**. Campinas: C & M Gráfica Editora. 2004. 211 p

VAN DE WOUW, M.; KIK, C.; VAN HINTUM, T.; VAN TREUREN, R.; VISSER, B. Genetic erosion in crops: concept.; research results and challenges. **Plant Genetic Resources**. 2009. 8(01): 1-15.



AVALIAÇÃO DA TÉCNICA ARMS-PCR PARA A GENOTIPAGEM DO LEITE A1 E A2 DA B-CASEÍNA BOVINA

LETÍCIA DOS SANTOS NASCIMENTO; AYLTON BARTHOLAZZI JUNIOR

Introdução: A caseína constitui cerca de 80% das proteínas presentes no leite de vaca. Durante a digestão é liberado o peptídeo opióide β -casomorfina-7 (BCM-7), que afeta os mecanismos de propulsão gastrointestinal, a motilidade, além de inibir as secreções gástricas e pancreáticas. A β -caseína bovina possui duas variantes, β -caseína A1 e A2. A diferença é a alteração de um nucleotídeo (SNP), que acarreta a troca de um aminoácido. Com genótipo A2, em homozigose, durante a digestão a liberação de BCM-7 não ocorre ou ocorre em quantidades pequenas. Devido ao alto custo da genotipagem por sequenciamento ou ship de SNP, a *ARMS-PCR* é uma metodologia de genotipagem de SNPs envolvendo somente um PCR seguido de eletroforese em gel, que torna a genotipagem simples e econômica. **Objetivo:** O objetivo foi avaliar a *ARMS-PCR* para genotipagem do SNP A1/A2 no gene da β -caseína. **Material e Método:** Foram coletadas amostras de sangue de 20 vacas da raça Girolando produtoras de leite. Foi extraído o DNA das amostras de sangue e realizada a amplificação do loco do gene da β -caseína pela técnica *ARMS-PCR* com quatro primers, dois internos e dois externos. **Resultados:** Após a amplificação as amostras foram analisadas por eletroforese em gel de agarose a 2%, corada com GelRed e visualizadas em luz UV. As mesmas amostras foram amplificadas pela PCR convencional e sequenciadas em 3 repetições cada. Após a identificação do genótipo, as amostras foram classificadas como positivas (A2/A2) e negativas (A1/A1 e A1/A2) para as amostras da *ARMS-PCR* em relação ao genótipo apresentado no sequenciamento. Foram analisadas a sensibilidade e a especificidade. Todas as amostras amplificaram e foram genotipadas pela técnica de *ARMS-PCR*. A sensibilidade e especificidade da *ARMS-PCR* foi de 100%, em todas as amostras a identificação do genótipo foi idêntica a observada pelo sequenciamento do loco de DNA. Dos 20 animais avaliados, 40% eram A2/A2, 25% A1/A1 e 35% A1/A2. Concluímos que a *ARMS-PCR* é eficiente para genotipagem do SNP da β -caseína (leite A1 e A2), e pode ser aplicada para a genotipagem dos animais.

Palavras-chave: B-casomorfina-7, Proteína do leite, Snp.



MELHORAMENTO E EXPLORAÇÃO DE PLANTAS DIÓICAS

Francismery Barros da Silva¹; Carlos Roberto Silva de Oliveira¹; Ezildo Francisco Felinto Filho¹; Matheus Lima Oliveira²; Viviane Nunes dos Santos²

¹– UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco - Bolsista CAPES/Facepe,

²– UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco - Bolsista CAPES.

RESUMO

Introdução: As plantas dioicas são caracterizadas pelo dimorfismo sexual tanto nas características sexuais (órgãos reprodutivos) flores estaminadas, pistiladas, como nas suas características sexuais secundárias, como diferenças entre tamanho e recursos atrativos geralmente associadas ao custo/sucesso de reprodução. **Objetivo:** Esta revisão bibliográfica acerca da temática melhoramento e exploração de plantas dióicas. **Material e métodos:** A revisão foi elaborada por meio da consulta em trabalhos nas plataformas indexadoras de artigos e outros trabalhos científicos Google Acadêmico, Portal de Periódicos da Capes e SciELO indexados com alto fator de impacto. **Resultados:** O melhoramento genético das plantas é beneficiado pelo cruzamento, favorecendo a manutenção da alta heterozigosidade, todavia como a base genética da dioicia apesar dos avanços ainda não é totalmente clara. A exploração dos avanços teóricos aplicados no melhoramento genético das plantas dioicas vem contribuindo para resolução de problemas práticos no desenvolvimento de novas cultivares em culturas agrícolas dioicas exemplo espinafre, aspargos, lúpulo, cannabis, kiwis, pistache tamareiras, mamão e figo. Além de existir um significativo de número de espécies silvestres com potencial farmacológico e florestal. Portanto a compreensão das bases genéticas das plantas dioicas contribui para exploração e o desenvolvimento de programas de melhoramento genético de plantas dioicas impulsionadas pelo maior entendimento dos mecanismos envolvidos no surgimento e manutenção da dioicia em plantas nos últimos anos, possibilitaram uma melhor compressão em termos teóricos/práticos dessas características inerentes a separação sexual das plantas. E fornecem uma fonte rica de novos genes para a exploração e manipulação da reprodução e adaptação ambiental nas plantas dioicas. **Conclusão:** É necessário maiores estudos dos genomas de plantas dioicas e aplicações no melhoramento genético principalmente para espécies em processo de domesticação afim definir quais os mecanismos bioquímicos, fisiológicos e moleculares e evolutivos estão envolvidos e sua aplicação no melhoramento ou domesticação das plantas.

Palavras-chave: Cromossomos, Separação Sexual, Dioicia.

¹ Agrônoma, Doutoranda do Programa francismerybarrosdasilva de Pós graduação em Agronomia Melhoramento Genético de Plantas – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. E-mail: francismerybarrosdasilva@gmail.com.

ABSTRACT

Introduction: Dioecious plants are characterized by sexual dimorphism both in sexual characteristics (reproductive organs), staminate and pistillate flowers, and in their secondary sexual characteristics, such as differences between size and attractive features generally associated with cost/success of reproduction. **Objective:** This bibliographic review is about breeding and exploitation of dioecious plants. **Material and methods:** The review was carried out by consulting works on the platforms indexing articles and other scientific works Google Scholar, Portal de Periódicos da Capes and SciELO indexed with a high impact factor. **Results:** The genetic improvement of plants is benefited by the crossing, favoring the maintenance of high heterozygosity, however how the genetic basis of dioecy despite advances is still not entirely clear. The exploration of theoretical advances applied in the genetic improvement of dioecious plants has contributed to solving practical problems in the development of new cultivars in dioecious agricultural crops such as spinach, asparagus, hops, cannabis, kiwifruit, pistachio date palms, papaya and fig. In addition to the existence of a significant number of wild species with pharmacological and forestry potential. Therefore, the understanding of the genetic basis of dioecious plants contributes to the exploration and development of genetic improvement programs for dioecious plants, driven by a greater understanding of the mechanisms involved in the emergence and maintenance of dioecious plants in recent years, allowing a better understanding in theoretical terms/ practical aspects of these characteristics inherent to the sexual separation of plants. And they provide a rich source of new genes for the exploration and manipulation of reproduction and environmental adaptation in dioecious plants. **Conclusion:** Further studies of the genomes of dioecious plants and applications in genetic improvement are necessary, especially for species in the process of domestication, in order to define which biochemical, physiological and molecular and evolutionary mechanisms are involved and their application in the improvement or domestication of plants.

Key Words: Chromosomes, Sexual separation, Dioecious.

1 INTRODUÇÃO

As espécies de plantas dioicas são caracterizadas por flores unissexuais masculinas e femininas em plantas diferentes (Renner 2014). Acredita-se que a separação sexual encontrada em plantas dioicas evoluiu em uma pequena porção de espécies de plantas compreendendo apenas 5–6% em angiospermas (Renner 2014). No entanto, embora a dioicia seja considerada rara entre as plantas com flores, sua ocorrência foi relatada em vários taxon filogenéticos (cerca de 15.600 espécies espalhadas por 175 famílias e 987 gêneros) (Westergaard 1958, Renner 2014). As principais referências sobre a origem do diocismo sugerem que o mesmo surgiu independentemente em diferentes famílias e gêneros de plantas, mas 43% de todas as angiospermas dioicas são encontradas em apenas 34 cladus inteiramente dioicos, sugerindo que seu modo de determinação do sexo evoluiu há muito tempo (Westergaard 1958, Renner 2014, Renner e Müller 2021).

Como implicação desta separação sexual, as plantas dioicas exibem dimorfismo sexual tanto nas características sexuais (órgãos reprodutivos) flores estaminadas, pistiladas, como nas suas características sexuais secundárias, como diferenças entre tamanho e recursos atrativos, (características vegetativas), que geralmente são associadas a compensações entre o custo de reprodução e outras funções da planta (Charlesworth 1991). O diocismo é presumivelmente um componente do ciclo evolutivo para a origem de novas espécies (Bharathi *et al.* 2014). O por que e como isso aconteceu é uma questão de longa data, desde o reconhecimento diversidade da dos sistemas sexuais realizados por Darwin (Barrett 2002), até os dias atuais, biólogos

evolutivos tentam explicar a origem da dioicia em plantas (Renner e Müller 2021). Portanto essa breve revisão de literatura tem como objetivo investigar quais são as vantagens e desvantagens da exploração do diocismo em plantas e aplicações no melhoramento genético.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho é uma revisão bibliográfica acerca da temática melhoramento exploração de plantas dióicas. Essa foi confeccionada por meio da consulta em trabalhos nas plataformas indexadoras de artigos e outros trabalhos científicos Google Acadêmico, Portal de Periódicos da Capes e SciELO indexados com alto fator de impacto. Os trabalhos foram selecionados de acordo com as palavras “melhoramento genético”, “Diocismo”, “plantas dioicas” sendo realizadas as pesquisas tanto em português quanto em inglês. Após leitura crítica foram escolhidos os trabalhos que se encararam no eixo abordado no trabalho, fazendo com que se obtivessem um maior número de estudos para um maior embasamento científico da revisão. Foram utilizados os termos “Erosão Genética”, “Diversidade Genética”, “Extinção de Espécies Vegetais”, “Estreitamento de Base Genética”, sendo realizadas as pesquisas tanto em português quanto em inglês.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A EXPLORAÇÃO DAS PLANTAS AS VANTAGEM E DESVANTAGENS DO DIOCISMO

Levando em consideração que um número significativo de plantas dioicas é cultivado, como espinafre (*Spinacia oleracea*), aspargos (espécies de *Asparagus*), lúpulo (espécies de *Humulus*), cannabis (espécies de *Cannabis*), kiwis (espécies de *Actinidia*), pistache (espécies de *Pistacia*), tamareiras (*Phoenix dactylifera*), mamão (*Carica papaya*) e figo (*Ficus carica*) (Henry *et al.* 2018). Além disso, as variedades cultivadas não dióicas de caqui (*Diospyros kaki*) (Bawa 1980), uva (*Vitis vinifera*) (Picq *et al.* 2014) e morango (espécies *Fragaria*) (Liston *et al.* 2014) são derivadas de parentes dioicos próximos. Podemos considera que exploração de plantas dioicas vem sendo realizada desde muito tempo através da observação das características inerentes a tal característica.

E apenas nos últimos dez anos, a genômica e a descoberta funcional das plantas se aceleraram, elucidando a evolução do genoma e as bases bioquímicas e regulatórias das características das plantas, incluindo a base molecular da dioicia nas plantas (Henry *et al.* 2018). Tal debate sobre as forças que impulsionam a evolução da diocismo criou duas hipóteses: a visão predominante, que a separação dos sexos evoluiu porque reduz a consanguinidade (que é vista como inerentemente prejudicial), e a visão menos comum, seleção para especialização sexual, ou seja, seleção diferencial em aspectos da reprodução (Freeman *et al.* 1997).

A primeira hipótese favorece a manutenção de alta heterozigosidade, enquanto a segunda pode estar relacionada com a redução de gasto de energia em flores hermafroditas intensificando o investimento na especialização em flores masculinas e femininas, podendo assim serem, mais eficientes na reprodução (Freeman *et al.* 1980). Por exemplo, os machos podem dedicar todos os seus recursos para produzir e dispersar com eficiência grãos de pólen de alta qualidade, resultando em uma fertilização mais bem-sucedida (Charlesworth 2018). Sabe-se que a qualidade dos grãos de pólen é importante em espécies com polinização pelo vento, chegando (31%) espécies dióicas e (6%) em não-dióicas (Renner 2014).

Um exemplo especialização sexual pode ser é relacionado a maior fertilidade de sementes para fêmeas em comparação com hermafroditas, combinada com níveis substanciais de endogamia e depressão por endogamia para hermafroditas

em *Schiedea adamantis ginodioica* (Sakai *et al.* 1997). Da mesma forma, altas frequências de machos em populações androdioicas de *Mercurialis annua* estão associadas a uma maior produção de pólen e maiores probabilidades de procriação por grão de pólen para machos em comparação com hermafroditas (Eppley e Pannell 2007, M. Eppley e R. Pannell 2015). Portanto as fêmeas podem investir mais energia na produção de sementes e os machos na produção e qualidade do polén (Freeman *et al.* 1997).

A evolução da dioicia também envolve algumas desvantagens; os machos não geram progênie, eles são improdutivos na ausência de fêmeas disponíveis, mas ainda competem por recursos. Em segundo lugar, o acasalamento entre indivíduos sésseis requer que muito pólen seja desperdiçado na tentativa de alcançar ovários distantes (Youngsteadt e Sorenson 2018). Essa desvantagem não é exclusiva da dioicia, mas afeta todos os sistemas de cruzamento.

As plantas fêmeas unissexuais estão expostas ao risco de não receberem pólen, de modo que a frutificação pode não acontecer. Provocando os eventos de gargalo resultando na extinção de espécies dioicas, o que é referido como a hipótese do “beco sem saída” (Henry *et al.* 2018). Entretanto estudos recentes validaram um mecanismo para a rápida dissolução da dioicia e a evolução do hermafroditismo funcional em condições que podem ocorrer frequentemente durante períodos de baixa densidade populacional, colonização repetida ou expansão de alcance (Cossard *et al.* 2021). Talvez explicando parcialmente por que os táxons dioicos incluem menos espécies do que os táxons irmãos (Heilbuth 2000).

Outro problema a longo prazo frequentemente citado em dioicos é a evolução dos cromossomos sexuais e tal seleção elimina a recombinação X-Y, e os genes ligados a Y podem acumular mutações deletérias e eventualmente, ser deletados levando à redução da sobrevivência masculina e menor sucesso dos cromossomos Y em portadores de pólen principalmente em espécies ainda silvestres (Charlesworth e Charlesworth 2000). Entretanto tal mecanismo pode ser útil no desenvolvimento de variedades comerciais exemplo (*Carica papaya*) que possui plantas puramente femininas (geneticamente XX), árvores com flores bissexuais que têm um cromossomo Y com defeito, referido como XYh (hermafrodita Y), e árvores masculinas (XY) devido ao processo de domesticação e melhoramento genético (VanBuren *et al.* 2015). Porque para consumo, os frutos de indivíduos XYh são preferidos porque contêm menos sementes (Renner e Müller 2021). Em associação as vantagens e desvantagens relacionadas aplicam-se à domesticação e reprodução de plantas. E há uma grande extensão a ser explorada em relação ao mecanismo real de dioicia em plantas (Sarkar *et al.* 2017).

Para a implantação de programas de melhoramento de plantas dioicas é necessário levar em consideração algumas características; porque os projetos de melhoramento de plantas visam a produção de cultivares femininas e masculinas. Entretanto, os objetivos de melhoramento para cultivares femininos e masculinos diferem e geralmente, há mais critérios de qualidade a serem atendidos em uma cultivar feminina (Kalia *et al.* 2011). Infelizmente, em plantas dioicas o sexo das mudas não pode ser determinado até a floração, que geralmente ocorre após 3-8 anos no campo, a depender da espécie (Chawla *et al.* 2014, Renner 2016). Isso representa um sério problema para os melhoristas de plantas, que precisam reter um grande número de machos por vários anos. Portanto a determinação sexual precoce de plantas dióicas é essencial para o melhoramento genético e o cultivo comercial bem-sucedidos (Chawla *et al.* 2014). Por isso houve um aumento significativo no número de trabalhos com seleção assistida por marcadores do tipo de sexo desejado entre as culturas dióicas economicamente importantes (Heikrujam *et al.* 2014, Hallingbäck *et al.* 2021). Justamente porque o uso de marcadores robustos capazes de determinar o sexo das mudas em um estágio inicial, reduz gastos para manutenção de bancos germoplasma até a floração. Além

disso a dormência das sementes e menor taxa de domesticação são os principais fatores limitantes que restringem o cultivo comercial de algumas plantas dioicas (Bharathi *et al.* 2014).

Levando em consideração a hipótese que as fêmeas especializadas são de fato mais produtivas do que os hermafroditas citados anteriormente, o rendimento superior poderia ser alcançado por meio da diócia, desde que a proporção de machos e fêmeas pudessem ser administradas com eficácia no campo. Todavia a maioria das plantas dioicas possui cromossomos sexuais morfologicamente indistinguíveis (homomórficos), enquanto apenas uma minoria de espécies tem cromossomos sexuais notavelmente morfologicamente diferentes (heteromórficos) ou seja apenas alguns deles mostram uma variação clara (Baránková *et al.* 2020).

Entretanto estudos em *Marchantia polymorpha*, identificaram um fator de transcrição autossômico do tipo MYB MpFGMYB crucial para o início do desenvolvimento feminino. O mesmo trabalho mostra que a perda da função MpFGMYB converte gametófitos femininos em masculinos. Mutações nesse transcrito antisense convertem gametófitos masculinos em femininos não funcionais portanto o gene autossômico *MpFGMYB* funciona como um interruptor entre a diferenciação feminina e masculina (Hisanaga *et al.* 2019). Tais informação tem uma contribuição significativa para o futuro do melhoramento genético e engenharia genética em plantas dioicas pois possibilitam a identificação de genes promissores o que é de interesse de programas de melhoramento.

Além disso os sexos separados reforçam o cruzamento, favorecendo a manutenção de alta heterozigosidade e heterose associada, o que faz a dioicia um sistema eficaz para produzir sementes híbridas e potencialmente aumentar o rendimento por meio da heterose (Henry *et al.* 2018). No qual temos um exemplo claro da exploração do potencial produtivo via heterose na cultura do mamoeiro pois as cultivares na Malásia antes da década de 1980 eram cultivares de polinização aberta (Siriyan 2014). Em 1987 o Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Agrícola da Malásia (MARDI) lançou o 'Eksotika', uma linha pura de autopolinização com forte fundo genético 'Solo'. Através do melhoramento convencional incluiu a coleta, seleção e cruzamento de mamões. As cultivares de mamão que deram origem ao 'Eksotika' foram coletadas de várias fontes, plantadas e selecionadas pelas características agrícolas (VanBuren *et al.* 2015). Eles foram autopolinizados para aumentar a pureza das linhas.

Posteriormente através de reprodução por retrocruzamento lançaram o 'Eksotika II' um híbrido F₁, entre duas linhagens de irmãos. E através de cruzamentos amplos alcançaram heterose no rendimento de híbridos de 118-200% em relação ao melhor pai (Siriyan 2014). Atualmente Sabe-se que produção mundial de mamão está ameaçada por uma miríade de problemas, incluindo pragas e doenças devastadoras (Rimberia *et al.* 2018) o que resulta na busca da ampliação da base genética dos bancos de germoplasma existente. No Brasil a situação não é diferente, as cultivares de mamão mais comumente cultivadas são aquelas dos grupos 'Solo' e 'Formosa' (Silva *et al.* 2018). No qual os programas de melhoramento genético do mamoeiro no Brasil têm dado ênfase a variedades dioicas exemplo o trabalho (Oliveira *et al.* 2018) que estudou o potencial de progênes dioicas de mamoeiro para resistência à oídio com o objetivo de selecionar novos materiais como fontes de genes de resistência.

Entretanto é importante ressaltar que atualmente o melhoramento convencional do mamoeiro tem sido difícil devido ao pool estreito de germoplasma no gênero *Carica* e problemas de incompatibilidade sexual encontrados durante a hibridização intergenérica com outros gêneros da família *Caricaceae* (Dhekney *et al.* 2016). Portanto as tecnologias inovadoras e o crescente entendimento para manipular o fenótipo do mamão em nível molecular fornecem novas oportunidades para o melhoramento do mamão. Por meio da tecnologia de transferência de genes, reprodução por mutação e seleção e reprodução assistida

por marcadores é possível desenvolver o mamão transgênico com resistência a pragas e doenças e com melhor qualidade nutricional (Rimberia *et al.* 2018).

O exemplo da cultura do mamoeiro é importante pois demonstra o potencial de exploração e melhoramento genético para uma cultura dioica domesticada, no entanto temos um número significativo de espécies silvestres com potencial farmacológico e florestal exemplos; campião branco (*S. latifolia*), palmeira (*Borassus flabellifer* L.), cabaça pontiaguda (*Trichosanthes dioica* Roxb.), Cabaça de chá, cabaça de hera (*Coccinia indica* Wight e Arn. E *C. grandis* (L.) Voigt), Jojoba [*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider] e espinheiro-mar (*Hippophae* L.) (Sarkar *et al.* 2017, Al-Dossary *et al.* 2021). Que devido ao grande valor agregado estão em fase de domesticação e possuem programas de melhoramento genético em algum grau, no qual destaco a hibridização interespecífica utilizada para o melhoramento de espécies dioicas de *Momordica*, através de retrocruzamentos de F₁ com seus pais para restaurar a fertilidade dos híbridos estéreis desenvolvidos (Bharathi *et al.* 2012). Pois os híbridos produzidos anteriormente eram altamente estéreis (Bharathi *et al.* 2012).

4 CONCLUSÃO

A exploração e o desenvolvimento de programas de melhoramento genético de plantas dioicas impulsionadas pelo maior entendimento dos mecanismos envolvidos no surgimento e manutenção da diócia em plantas nos últimos anos, possibilitaram uma melhor compressão em termos teóricos/práticos dessas características inerentes a separação sexual das plantas. E fornecem uma fonte rica de novos genes para a exploração e manipulação da reprodução e adaptação ambiental nas plantas dioicas. Entretanto se faz necessários maiores estudos dos genomas de plantas dioicas e aplicações no melhoramento genético principalmente para espécies em processo de domesticação.

REFERÊNCIAS

AL-DOSSARY O, ALSUBAIE B, KHARABIAN-MASOULEH A, AL-MSSALLEM I, FURTADO A AND HENRY RJ The jojoba genome reveals wide divergence of the sex chromosomes in a dioecious plant. **The Plant Journal** n/a. 2021.

BARÁNKOVÁ S, PASCUAL-DÍAZ JP, SULTANA N, ALONSO-LIFANTE MP, BALANT M, BARROS K, D'AMBROSIO U, MALINSKÁ H, PESKA V, PÉREZ LORENZO I, KOVAŘÍK A, VYSKOT B, JANOUŠEK B AND GARCIA S. Sex-chrom, a database on plant sex chromosomes. **New Phytologist** **227**: 1594–1604 2020.

BARRETT SCH. The evolution of plant sexual diversity. **Nature Reviews Genetics** **3**: 274–284. 2002.

BHARATHI LK, MUNSHI AD, BEHERA TK, JOHN KJ, DAS AB, BHAT KV AND SIDHU AS. Production and preliminary characterization of inter-specific hybrids derived from *Momordica* species. **CURRENT SCIENCE** **103**: 9 2012.

BHARATHI LK, SINGH HS, SHIVASHANKAR S AND GANESHAMURTHY AN Characterization of a fertile backcross progeny derived from inter-specific hybrid of *Momordica dioica* and *M. subangulata* subsp. *renigera* and its implications on improvement of dioecious *Momordica* spp. **Scientia Horticulturae** **172**: 143–148. 2014

BHOGIREDDY S, XAVIER A, GARG V, LAYLAND N, ARIAS R, PAYTON P, NAYAK SN, PANDEY MK, PUPPALA N AND VARSHNEY RK. Genome-wide transcriptome and

physiological analyses provide new insights into peanut drought response mechanisms. **Scientific Reports 10**: 1–16. 2020.

CHARLESWORTH B. The Evolution of Sex Chromosomes. **Science 251**: 1030–1033. 1991

CHARLESWORTH B AND CHARLESWORTH D. A Model for the Evolution of Dioecy and Gynodioecy. **The American Naturalist 112**: 975–997. 1978.

CHARLESWORTH B AND CHARLESWORTH D. The degeneration of Y chromosomes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 355**: 1563–1572.2000.

CHARLESWORTH D. Does sexual dimorphism in plants promote sex chromosome evolution? **Environmental and Experimental Botany 146**: 5–12. 2018.

CHAWLA A, KANT A, STOB DAN T, SRIVASTAVA RB AND CHAUHAN RS. Cross-species application of sex-linked markers in *H. salicifolia* and *H. tibetana*. **Scientia Horticulturae 170**: 281–283. 2014.

COSSARD GG, GERCHEN JF, LI X, CUENOT Y AND PANNELL JR. The rapid dissolution of dioecy by experimental evolution. **Current Biology 31**: 1277-1283.e5. 2021.

EPPLEY SM AND PANNELL JR. Sexual Systems and Measures of Occupancy and Abundance in an Annual Plant: Testing the Metapopulation Model. **The American Naturalist 169**: 20–28. 2007.

FREEMAN DC, DOUST JL, EL-KEBLAWY A, MIGLIA KJ AND MCARTHUR ED. Sexual specialization and inbreeding avoidance in the evolution of dioecy. **The Botanical Review 63**: 65–92. 1997.

FREEMAN DC, HARPER KT AND CHARNOV EL. Sex change in plants: Old and new observations and new hypotheses. **Oecologia 47**: 222–232. 1980.

GOLENBERG EM AND WEST NW. Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. **American Journal of Botany 100**: 1022–1037.2013.

HALLINGBÄCK HR, PUCHOLT P, INGVARSSON PK, RÖNNBERG-WÄSTLJUNG AC AND BERLIN S. Genome-wide association mapping uncovers sex-associated copy number variation markers and female hemizygous regions on the W chromosome in *Salix viminalis*. **BMC Genomics 22**: 1–14.2021.

HEIKRUJAM M, SHARMA K, KUMAR J AND AGRAWAL V. Validation of male sex-specific UBC-8071200 ISSR marker and its conversion into sequence tagged sites marker in *Jobba*: a high precision oil yielding dioecious shrub. **Plant Breeding 133**: 666–671.2014.

HENRY IM, AKAGI T, TAO R AND COMAI L. One Hundred Ways to Invent the Sexes: Theoretical and Observed Paths to Dioecy in Plants. **Annual Review of Plant Biology 69**: 553–575.2018.

HISANAGA T, OKAHASHI K, YAMAOKA S, KAJIWARA T, NISHIHAMA R, SHIMAMURA M, YAMATO KT, BOWMAN JL, KOHCHI T AND NAKAJIMA K. A cis-

acting bidirectional transcription switch controls sexual dimorphism in the liverwort. **The EMBO Journal** **38**.2019.

KALIA RK, SINGH R, RAI MK, MISHRA GP, SINGH SR AND DHAWAN AK
Biotechnological interventions in sea buckthorn (*Hippophae* L.): current status and future prospects. **Trees** **25**: 559–575.2011.

LEITE MONTALVÃO AP, KERSTEN B, FLADUNG M AND MÜLLER NA. The Diversity and Dynamics of Sex Determination in Dioecious Plants. **Frontiers in Plant Science** **11**: 2280.2021.

M. EPPLEY S AND R. PANNELL J. Sexual Systems and Measures of Occupancy and Abundance in an Annual Plant: Testing the Metapopulation Model. **The American Naturalist**. 2015.

MÜLLER NA, KERSTEN B, LEITE MONTALVÃO AP, MÄHLER N, BERNHARDSSON C, BRÄUTIGAM K, CARRACEDO LORENZO Z, HOENICKA H, KUMAR V, MADER M, PAKULL B, ROBINSON KM, SABATTI M, VETTORI C, INGVARSSON PK, CRONK Q, STREET NR AND FLADUNG M. A single gene underlies the dynamic evolution of poplar sex determination. **Nature Plants** **6**: 630–637. 2020.

RENNER SS. Pathways for making unisexual flowers and unisexual plants: Moving beyond the “two mutations linked on one chromosome” model. **American Journal of Botany** **103**: 587–589.2016.

RENNER SS. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: Dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. **American Journal of Botany** **101**: 1588–1596. 2014.

RENNER SS AND MÜLLER NA. Plant sex chromosomes defy evolutionary models of expanding recombination suppression and genetic degeneration. **Nature Plants** **7**: 392–402. 2021.

SAKAI AK, WELLER SG, CHEN M-L, CHOU S-Y AND TASANONT C. Evolution of gynodioecy and maintenance of females: the role of inbreeding depression, outcrossing rates, and resource allocation in *schiedea adamantis* (*Caryophyllaceae*). **Evolution; International Journal of Organic Evolution** **51**: 724–736. 1997.

SARKAR S, BANERJEE J AND GANTAIT S. Sex-oriented research on dioecious crops of Indian subcontinent: an updated review. **3 Biotech** **7**. 2017.

VANBUREN R, ZENG F, CHEN C, ZHANG J, WAI CM, HAN J, ARYAL R, GSCHWEND AR, WANG J, NA J-K, HUANG L, ZHANG L, MIAO W, GOU J, ARRO J, GUYOT R, MOORE RC, WANG M-L, ZEE F, CHARLESWORTH D, MOORE PH, YU Q AND MING R. Origin and domestication of papaya Y^h chromosome. **Genome Research** **25**: 524–533. 2015.

WESTERGAARD M. The Mechanism of Sex Determination in Dioecious Flowering Plants. Academic Press, p. 217–281. In Demerec M (ed) **Advances in Genetics**. 1958.

YOUNGSTEADT E AND SORENSON CE. Failure of Pollen Transport Despite High Bee Visitation in an Endangered Dioecious Shrub. **Annals of the Entomological Society of America** **112**: 169–179. 2018.



ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM *Rineloricaria pentamaculata* (LORICARIIDAE:LORICARIINAE): uma revisão sistemática

FERNANDA ERRERO PORTO¹, ISABEL CRISTINA MARTINS-SANTOS²

¹ – Departamento de Ciências do Movimento Humano, Campus Regional do Vale do Ivaí, Universidade Estadual de Maringá.

² – Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá.

RESUMO

Introdução: As espécies de peixes do gênero *Rineloricaria* apresentam 76 espécies válidas que sob o ponto de vista citogenético tem sido pouco investigada, contudo, apesar de escassos os estudos demonstram que grande variabilidade cromossômica, com número diplóide variando de $2n=36$ a $2n=70$, além disso, polimorfismos cromossômicos numéricos e estruturais têm sido observados em algumas espécies do gênero, como na espécie *Rineloricaria pentamaculata*, com maior número de populações estudadas até o presente momento.

Objetivo: Desta forma, o presente estudo tem por objetivo realizar uma revisão da literatura sobre os estudos citogenéticos conduzidos na espécie *R. pentamaculata*. **Materiais e métodos:** Foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed, Google Acadêmico, Scientific Electronic Library Online (ScieELO), sendo encontrados 7 estudos (artigos, dissertações e teses em inglês e português) lidos na íntegra e compiladas informações referentes a local de coleta (nome do rio, ribeirão ou córrego), bacia hidrográfica e estado da federação, com relação aos dados citogenéticos foram reunidas informações sobre: número diplóide ($2n$), número fundamental (NF), fórmula cariotípica (FC), sistema de NOR e par portador da NOR (Ag-NOR e DNA 18S), quantidade e par portador de sítios de DNAr 5S e presença de cromossomos Bs. **Resultados:** Desta forma, as diferentes populações de *R. pentamaculata* apresentaram número diplóide variando de $2n=54$ a $2n=58$ cromossomos, além de diferenças nas fórmulas cariotípicas, número fundamental, sistema de NOR (simples e múltiplo) e presença de cromossomos B, sendo que a maioria dos estudos foram realizados em populações pertencentes a bacia do Alto Paraná. Contudo, a maioria das populações apresentaram características citogenéticas similares exibindo $2n=56$ cromossomos distribuídos em $8m/sm+48st/a$ (número fundamental igual a 64) e sistema NOR simples revelado por hibridização fluorescente in situ (FISH) com sonda de rDNA 18S, nitrato de prata e banda C positiva, tais características foram consideradas conservadas para a espécie. **Conclusão:** Todos os estudos revisados sugerem que os rearranjos cromossômicos robertsonianos provavelmente contribuíram a evolução cariotípica da espécie, desta forma, discutimos aspectos relacionados a este e outros fatores associados a evolução do grupo.

Palavras-chave: cariótipo; região organizadora do nucléolo; hibridização fluorescente in situ; banca-C.

ABSTRACT

Introduction: The species of fish of the genus *Rineloricaria* have 76 valid species that, from the cytogenetic point of view, have been little investigated, however, although few studies show that great chromosomal variability, with diploid number ranging from $2n=36$ to $2n=70$, furthermore, numerical and structural chromosomal polymorphisms have been observed in some species of the genus, such as the species *Rineloricaria pentamaculata*, with the largest number of populations studied so far. **Objective:** Thus, the present study aims to review the literature on cytogenetic studies conducted on the species *R. pentamaculata*. **Materials and methods:** A search was carried out in the PubMed, Google Scholar, Scientific Electronic Library Online (ScieELO) databases, and 7 studies were found (articles, dissertations and theses in English and Portuguese) read in full and compiled information regarding the place of collection (name of river, stream or stream), hydrographic basin and state of the federation, with regard to cytogenetic data, information was gathered on: diploid number ($2n$), fundamental number (FN), karyotypic formula (CF), RON system and RON carrier pair (Ag-RON and rDNA 18S), amount and pair carrying rDNA 5S sites and presence of Bs chromosomes. **Results.** Thus, the different populations of *R. pentamaculata* showed diploid numbers ranging from $2n=54$ to $2n=58$ chromosomes, in addition to differences in karyotypic formulas, fundamental number, NOR system (single and multiple) and presence of B chromosomes. most of the studies were carried out in populations belonging to the Upper Paraná basin. However, most populations showed similar cytogenetic characteristics showing $2n=56$ chromosomes distributed in $8m/sm+48st/a$ (fundamental number equal to 64) and simple NOR system revealed by fluorescent in situ hybridization (FISH) with 18S rDNA probe, silver nitrate and positive C-band, such characteristics were considered conserved for the species. **Conclusion:** All the studies reviewed suggest that Robertsonian chromosomal rearrangements probably contributed to the karyotypic evolution of the species, therefore, we discuss aspects related to this and other factors associated with the evolution of the group.

Key Words: karyotype; nucleolus organizer region; fluorescent hybridization in situ; C-ban

1 INTRODUÇÃO

Na Classe Osteichthyes estão alocados todos os peixes ósseos, sendo que na região Neotropical os peixes das ordens Siluriformes e Characiformes são os mais numerosos. Dentre os Siluriformes, a maior família é a Loricariidae que sob o ponto de vista citogenético apresenta grande variabilidade cromossômica, com número diplóide variando de $2n=34$ em *Ancistrus cuiabae* à $2n=96$ em *Upsilonodus* sp., essa diversidade cromossômica tem sido relacionada a rearranjos do tipo fusão e fissão cêntrica, muito comuns neste grupo, verificase também grande variabilidade estrutural em Loricariidae resultante de rearranjos que modificam o número fundamental como inversão pericêntrica e/ou translocações (KAVALCO et al., 2005).

Rineloricaria (BLEEKER, 1862), é o gênero mais rico em espécies da subfamília Loricariinae (pertencente à família Loricariidae), apresentando 76 espécies e amplamente distribuídas do Panamá na América Central até o nordeste da (FRICKE e ESCHMEYER, 2022). Apesar dessa ampla diversidade de espécies e habitats, estudos a respeito da taxonomia e filogenia do grupo são ainda escassos. *Rineloricaria* apresenta uma extensa diversidade cariotípica, com número diploide variando de 36 a 70 cromossomos (GIULIANO-CAETANO, 1998; ALVES et al., 2003; RODRIGUES e ALMEIDA-TOLEDO, 2008; ROSA et al., 2012), variação cariotípica dentro do gênero *Rineloricaria*, outra importante característica cromossômica para espécies deste gênero é a grande quantidade de variações inter e intrapopulacionais (ALVES et al., 2005). Neste gênero variações numéricas e estruturais são relativamente comuns.

Estudos citogenéticos foram realizados principalmente na espécie de *Rineloricaria pentamaculata*, mostrando que a maioria das populações possui características conservadas, em relação ao cariótipo, localização e sistema NOR simples e distribuição da heterocromatina constitutiva. No entanto, em algumas populações foi observada diversidade citogenética, devido a relatos de cromossomos B, diferenças cariotípicas intrapopulacionais e interpopulacionais, sistema NOR múltiplo e variação quanto à localização e quantidade de cromossomos com sítios rDNA 5S (PORTO et al. 2010; PORTO et al. 2011; VENTURELLI, 2014; PRIMO et al. 2016).

Visto que a espécie *Rineloricaria pentamaculata* foi a que mais apresentou estudos citogenéticos dentre as espécies de *Rineloricaria* e que tais dados podem contribuir para o entendimento da evolução cariotípica tanto do gênero, quanto da família Loricariidae e subfamília Loricariinae, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática dos estudos citogenéticos realizados até a presente data nesta espécie afim de descrever, fomentar e compilar tais estudos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento desta pesquisa foi realizada uma busca bibliográfica na PubMed, Google Acadêmico, Scientific Electronic Librery Online (ScieELO). Foram selecionados artigos, dissertações e teses em inglês e português, combinando os descritores de acordo com os operadores booleanos: (*Rineloricaria pentamaculata* OR *Rineloricaria* OR Loricariidae OR Loricariinae) AND (citogenética OR cariótipo OR cromossomos OR número diplóide OR evolução cariotípica OR sistema de NOR OR heterocromatina constitutiva).

Foram selecionados 7 estudos (artigos, dissertações e teses), lidos na íntegra e elaborada uma ficha para extração de informações dos artigos selecionados, contendo

informações sobre local de coleta (nome do rio, ribeirão ou córrego), bacia hidrográfica e estado da federação, com relação aos dados citogenéticos foram compiladas informações sobre: número diplóide ($2n$), número fundamental (NF), fórmula cariotípica (FC), sistema de NOR e par portador da NOR (Ag-NOR e DNA 18S), quantidade e par portador de sítios de DNAr 5S e presença de cromossomos Bs.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise dos estudos citogenéticos realizados em *R. pentamaculata* foram compilados na Tabela 1, sendo que dos 7 estudos revisados todos foram realizados com espécimes coletados em córregos, ribeirões e rios pertencentes a Bacia do Alto rio Paraná, sendo que em 6 estudos os peixes foram coletados no estado do Paraná (Tabela 1; ref. 2 a 7) e apenas 1 em São Paulo (tabela 1; ref. 1).

Para a maioria dos estudos a espécie apresentou-se conservada com relação ao mostrou número diplóide ($2n=56$), mesma fórmula cariotípica ($FC=8m/sm+48st/a$), número fundamental (NF=64) sistema de NOR simples localizado no primeiro par de cromossomos st/a (Ag-NOR e 18S; [tabela 1: ref. 1 a 7]) e poucos blocos de heterocromatina constitutiva distribuída principalmente na região pericentromérica e banca C positiva para região de NOR.

Contudo, alguns estudos apresentaram características derivadas. As populações do rio Taquaral (Paranapanema) e rio Barra do Rio Grande (Ivaí) apresentaram indivíduos com número diplóide igual a 58 e 54 (tabela 1: ref. 1 e 2), respectivamente, além disso, tanto as populações desses dois rios quanto a do córrego Tauá apresentaram fórmula cariotípica diferente das demais populações (tabela 1: ref. 1, 2 e 3). Polimorfismos cromossômicos foram detectados nas populações do rio Barra Grande e córrego Tauá, sendo que para o rio Barra

Grande a diferenças foram observada entre os espécimes que diferiram com relação ao número diplóide, fórmula caritípica e NF ($2n=56$, NF=70 e $FC=14m/sm+42st/a$ e $2n=54$, NF=64, $FC=10m/sm + 44st/a$) e na população do córrego Tauá, que além da ocorrência de cromossomos Bs em mais de 50% dos indivíduos, os mesmos diferiram com relação a fórmula cariotípica e NF ($FC=8m/sm + 48st/a$, NF=64 e $FC=9m/sm + 47 st/a$, NF=65; tabela 1; ref.: 2 e 3). Além disso, o sistema de NOR múltipla, foi detectada em espécimes coletados no córrego Tauá, com cromossomos contendo sítios de DNAr no primeiro e quarto par de cromossomos st/a (tabela 1; ref.: 3).

Alguns trabalhos apresentaram os dados de DNAr 5S que foram diferentes entre as populações, variando de 8 a 14 sítios e geralmente localizados na região terminal dos cromossomos (tabela 1; ref.: 1, 2, 4, 6 e 7).

Tabela 1: Estudos citogenéticos em *Rineloricaria pentamaculata*.

Rio/Bacia e Sub-bacia/Estado	2n (NF)	Fórmula Cariotípica	NOR		DNAr 5S	Bs	Autor
			Ag-NOR	DNAr 18S			
Rio Taquaral/sub-bacia do Paranapanema/ Bacia do Alto rio Paraná-SP	58(62)	4m/sm+54st/a	te (1th st/a)	te (1th st/a pair 3)	10 sítios/te	-	1-RODRIGUES 2010
Rios Juruba/sub-bacia do Tibagi/ Bacia do Alto rio Paraná- PR	56(70)	14m/sm+42st/a	-	te (1th st/a, pair 3)	12 sítios /te	-	2- PRIMO et al 2016
Rio Barra Grande / sub-bacia do Ivaí / Bacia do Alto rio Paraná-PR	56(70)*	14m/sm+42st/a	-	te (1th st/a, pair 3)	10 sítios /te	-	
	54(64)**	10m/sm + 44st/a	-	te (1° st/a,	8 sítios /te	-o	

				par 4)				
Córrego Tauá /sub-bacia do Ivaí/ bacia do Alto rio Paraná-PR	56(65)	9m/sm+47st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	-	0-3Bs		
	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	-	0-3Bs		3- PORTO et al., 2011
Córrego Tatupeba/ sub-bacia do Ivaí/ bacia do Alto rio Paraná-PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a) e 4° st/a)	-	-		PORTO et al. 2010
Ribeirão Keller/ sub-bacia do Ivaí/ bacia do Alto rio Paraná-PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	-	-		
Rio Jacucaca/Bacia do Alto rio Paraná/PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	12 sítios	-		4- MAIA et al. 2010 e VENTURELLI 2014
Córrego Água do Oito/sub-bacia do rio Tibagi/ bacia do Alto rio Paraná-PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	-	-	-		5- MAIA et al. 2010
Rio Quexada/ Bacia do Alto rio Paraná- PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	12 sítios	-		6- VENTURELLI 2014
Córrego Itiz/sub-bacia do rio Ivaí/ bacia do Alto rio Paraná-PR	56(64)	8m/sm+48st/a	te (1° st/a)	te (1° st/a)	14 sítios /te	-		7- CIUS. (2015)

Legenda: 2n: número diplóide; NF: número fundamental; m: metacêntrico; sm: submetacêntrico; st: subtlocêntrico; a: acrocêntrico; te: terminal; SP: São Paulo; PR: Paraná; (-): não apresentou esse dado Bs: cromossomos Bs ou supranumerários;

O propósito dessa revisão foi compilar, descrever e fomentar os estudos citogenéticos na espécie *R. pentamaculata*, pois embora esta espécie seja considerada conservada quando comparadas a outras espécies do gênero *Rineloricaria* do ponto de vista citogenético, com similaridades quanto número diplóide, fórmula cariotípica, número fundamental e sistema NOR (tabela 1, ref. 1 a 7), entretanto, cariótipos divergentes foram encontrados nas populações da bacia do Alto Paraná (PR), ou seja, $2n=58$ e $2n=54$ e fórmulas cariotípicas distintas (Tabela 1; ref. 1, 2 e 3). Na população de *R. pentamaculata* do rio Barra Grande, Primo et al. (2016, tabela 1) registraram um cariomorfo B ($2n=54$) e encontraram traços de ITS na região centromérica de um par de metacêntricos (par 1) sugerindo a ocorrência de fusão robertsoniana que resultou na redução de $2n$ de 56 para 54 cromossomos. Na população do córrego Tauá (PORTO et al. 2011, tabela 1), foram detectadas duas fórmulas cariotípicas e aquela com $9m/sm + 47st/a$ originada de $8m/sm + 48st/a$, e que mecanismos de não disjunção meiótica e fusão cromossômica promoveram esta alteração cariotípica, além disso, microcromossomos B (0-3B) também foram descritos para esta população, cuja origem tem sido sugerida como fragmentos cêntricos oriundos de rearranjos cromossômicos (PORTO et al. 2010; Tabela 1). Portanto, sugerimos que as características citogenéticas detectadas no presente estudo e na maioria das populações de *R. pentamaculata*, sejam consideradas uma condição primitiva para a espécie. Na família Loricariidae, do ponto de vista citogenético, o número diplóide de $2n=54$ cromossomos tem sido sugerido como uma característica plesiomórfica, e que devido a possíveis rearranjos cromossômicos como fusões e fissões ocorreram ao longo da evolução dos loricariídeos, promoveram o aumento e diminuição dos números diplóides (ARTONI e BERTOLLO 2001; KAVALCO et al. 2005, MENDES-NETO et al. 2011; ALVES et al. 2012).

Polimorfismos cromossômicos foram detectados em espécies do gênero *Rineloricaria*, como observado em: *R. lima* (ROSA et al., 2012), *R. lanceolata* (PORTO et al. 2014), *R.*

latirostris (PRIMO et al. 2016), tais polimorfismos foram relacionados aos eventos de fusão cêntrica, sendo que a ocorrência de polimorfismo cromossômico é considerado característica comum no gênero. Em *R. pentamaculata* do Rio Barra Grande, alguns espécimes apresentaram número diplóide de $2n=54$ cromossomos com o primeiro par de cromossomos metacêntrico portador de ITS (sítio intersticial telomérico), esses sítios foram consideradas traços de fusão cêntrica ocorrida entre cromossomos acrocêntricos dando origem a cromossomos metacêntricos e consequente redução do número diplóide de 56 para 54 cromossomos e alteração da fórmula cariotípica (tabela 1; PRIMO et al. 2016). Ainda as sequências de DNAr 5S associadas a ITS foram consideradas regiões hotspot para rearranjos cromossômicos, tendo sido relacionados a esses mecanismos tanto no gênero *Rineloricaria* quanto na espécie *R. pentamaculata* (ROSA et al. 2012, PRIMO et al. 2016; GLUGOSKI et al. 2018). Além disso, elementos transponíveis foram observados associadas a sequências de DNA repetitivo (sítios DNAr e/ou TTAGGGn) em uma população de *R. latirostris* (GLUGOSKI et al. 2018).

Em *R. pentamaculata*, o mapeamento físico de sequências de rDNA 5S, aumentou desde do ano de 2011 e em 5 artigos mostraram variação na localização e quantidade (8 a 14 sítios, tabela 1) e portanto sugerimos que esses . Porém, não é possível estabelecer sítios sejam um caráter específico para cada população, podendo ser utilizado distinguir as populações citogeneticamente (VENTURELLI et al, 2021).

Portanto, o presente estudo contribui para agregar e estimular estudos citogenéticos na espécie *Rineloricaria pentamaculata* e postulamos que o número diplóide de $2n=56$, fórmula cariotípica $8m/sm + 44st/a$, $NF=64$ e sistema NOR simples localizado no primeiro par de cromossomos ts/a reforçando esta estrutura cromossômica como representativa desta espécie e provavelmente, uma condição plesiomórfica/conservada para *R. pentamaculata*. Por outro lado, para aquelas populações que apresentaram características citogenéticas apomórficas/derivadas (córregos Tauá e Tatupeba e rios Barra Grande e Taquaral, Tabela 1), possivelmente os rearranjos robertsonianos causaram essas variações e confirmamos tais rearranjos como os principais envolvidos na evolução cariotípica da espécie *R. pentamaculata* e gênero *Rineloricaria*. No entanto, a presença de múltiplos sítios de rDNA 5S também parece ser uma característica da estrutura cromossômica de *R. pentamaculata*, constituindo um importante marcador de variações intraespecíficas em análises comparativas deste grupo, bem como regiões hotspot para rearranjos cromossômicos. Desta forma, através da presente revisão reforçamos a necessidade da ampliação dos estudos citogenéticos, que utilize além das técnicas citogenéticas convencionais também utilize técnicas citomoleculares para ampliar as informações e entendimento de como ocorreu a evolução cariotípica do grupo.

4 CONCLUSÃO

A espécie *Rineloricaria pentamaculata*, assim como outras espécies do gênero *Rineloricaria* apresenta diversidade cariotípica numérica e estrutural, além de variações com relação a sítios de DNAr 18S e 5S e presença de cromossomos Bs, e desta forma assim como as demais espécie do gênero constitui um grupo cujos polimorfismos cromossômicos tem sido atribuídos principalmente aos rearranjos de fusão e fissão. Portanto, existe a necessidade de ampliar os estudos citogenéticos e técnicas moleculares para o entendimentos dos principais fatores que acarretam na ocorrência dos polimorfismos cromossômicos frequentemente encontrados no gênero *Rineloricaria* e na espécie *R. pentamaculata*.

5 REFERÊNCIAS

- ALVES, A. L. C.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F.. Karyotype variability in eight species of the subfamilies Loricariinae and Ancistrinae (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). **Caryologia**. v. 1, p. 57–63, 2003.
- ALVES, A. L.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. Comparative cytogenetic analysis of eleven species 308 of subfamilies Neoplecostominae and Hypostominae (Siluriformes: Loricariidae). **Genetica**. v. 309, n. 124, p.127-136, 2005.
- ALVES, A. L.; BORBA, R. S.; OLIVEIRA, C.; NIRCHIO, M.; GRANADO, A.; FORESTI, F. Karyotypic diversity and evolutionary trends in the Neotropical catfish genus *Hypostomus* Lacépède, 1803 (Teleostei, Siluriformes, Loricariidae). **Comparative Cytogenetics**. Available from: <http://www.pensoft.net/journals/compcytogen>. 2012
- ARTONI, R. F.; BERTOLLO, L. A. C.. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes). **Hereditas**. v.134, p.201–210, 2001. Available from: <http://doi/10.1111/j.1601-5223.2001.00201.x>
- CIUS, Andréia. **Diversidade citogenética em duas espécies de *Rineloricaria* (Loricariidae, Loricariinae): polimorfismo cromossômico com evidências de fusões cêntricas e suas implicações evolutivas**. Orientador: Ana Luiza de Brito Portela-Castro. 2015. 28 f. Dissertação (mestrado em Ciências Biológicas) - Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2015
- KAVALCO, .K. F.; PAZZA, R.; BERTOLLO, L. A. C.; MOREIRA-FILHO, O. Karyotypic diversity and 370 evolution of Loricariidae (Pisces, Siluriformes). **Heredity**. v.4, p. 180-186, 2005.
- FRICKE, R.; ESCHMEYER, W, N. **A guide to fish collections in Eschmeyer’s catalog of fishes [internet]**. San Francisco: California Academy of Science. 2022. Available from: <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/collections.asp>. Accessed [2022-03-02].
- GIULIANO-CAETANO, LÚCIA. **Polimorfismo cromossômico Robertosiano em populações de *Rineloricaria latirostris* (Pisces, Loricariidae)**. 1998. Tese - Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.
- GLUGOSKI, L.; GIULIANO-CAETANO, L.; MOREIRAFILHO, O.; VICARI, M. R.; NOGAROTO, V. Co-located hAT transposable element and 5S rDNA in an interstitial telomeric sequence suggest the formation of Robertsonian fusion in armored catfish. **Gene**. v. 650, p. 49-54, 2018. Available from: <http://doi/10.1016/j.gene.2018.01.099>.
- MAIA, T. P. A.; GIULIANO – CAETANO, L.; RODRIGUEZ, M. S.; RUBERT, M.; TAKAGUI, F. H.; DIAS, A.L. Chromosomal banding in three species of the genus *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae). **Ichthyol Research**. v. 57, p. 209–213, 2010.
- PORTO, F. E.; PORTELA-CASTRO, A. L. B.; MARTINS-SANTOS, I.C. Possible origins of B chromossomes in *Rineloricaria pentamaculata* (Loricariidae, Siluriformes) from the Paraná River basin. **Genetic Molecular Research**. v. 9, n. 3, p. 1654-1659, 2010. DOI: 10.4238/vol9-3gmr859.

PORTO, F. E.; PORTELA-CASTRO, A. L. B.; MARTINS-SANTOS, I.C. Chromosome polymorphism in *Rineloricaria pentamaculata* (Loricariidae, Siluriformes) of the Paraná River basin. **Ichthyologic Research**. v. 58, p. 225–231, 2011. DOI:10.1007/s10228-011-0215-5.

PORTO, F. E.; VIEIRA, M. M. R.; BARBOSA, L. G.; BORIN-CARVALHO, L. A.; VICARI, M. R.; PORTELA-CASTRO, A. L. B.; MARTINS-SANTOS, I.C. Chromosomal polymorphism in *Rineloricaria lanceolata* Günther, 1868 (Loricariidae: Loricariinae) of the Paraguay basin (matogrosso do sul, Brazil): evidence of fusions and their consequences in the population. **Zebrafish**. v. 11, n. 4, p. 318-24, 2014. DOI:10.1089/zeb.2014.0996.

PRIMO, C. C.; GLUGOSKI, L.; MARA, C.; ALMEIDA, M. C.; ZAWADZKI, C. H.; MOREIRA-FILHO, O.; VICARI, M. R.; NOGAROTO, V. Mechanisms of chromosomal diversification in species of *Rineloricaria* (Actinopterygii: Siluriformes: Loricariidae). **Zebrafish**. v.14, p. 161-168, 2016.

RODRIGUES, Raquel Maria. **Estudos cromossômicos e moleculares em Loricariinae com ênfase em espécies de *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae): uma perspectiva evolutiva**. 2010, 218 f. Dissertação (mestre em Ciências) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROSA, K.O.; ZIEMNICZAK, K.; BARROS, A. V.; NOGAROTO, V.; ALMEIDA, M. C.; CESTARI, M. M.; ARTONI, R. F.; VICARI, M. R. Numeric and structural chromosome polymorphism in *Rineloricaria lima* (Siluriformes: Loricariidae): fusion points carrying 5S rDNA or telomere sequence vestiges. **Rev Fish Biol Fisheries**. 2012. DOI:10.1007/s11160-011-9250-6.

VENTURELLI, N. B. **Mapeamentos dos genes ribossômicos e cromossomos marcadores em nove espécies de *Rineloricaria* (Siluriformes, Loricariidae, Loricariinae) de distintas Bacias hidrográficas**. 2014. Dissertação - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

VENTURELLI, N. B.; TAKAGUI, F. H.; POMPEO, L. R. S.; RODRIGUEZ, M. S.; ROSA, R.; GIULIANO-CAETANO, L. Cytogenetic markers to understand chromosome diversification and conflicting taxonomic issues in *Rineloricaria* (Loricariidae: Loricariinae) from Rio Grande do Sul coastal drainages. **Biologia**. 2021. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00748-3>.



OCORRÊNCIA DE CROMOSSOMOS SUPRANUMERÁRIO EM UMA POPULAÇÃO DE RINELORICARIA LANCEOLATA (LORICARIIDAE, LORICARIINAE) DA BACIA O BAIXO PARAGUAI.

FERNANDA ERRERO PORTO; FERNANDA ERRERO PORTO; SUZANA DE PAIVA

Introdução: Cromossomos supranumerários ou/e cromossomos Bs foram detectados em algumas espécies de peixes Neotropicais, nestes geralmente foram considerados elementos adicionais que não possui homologia e que provavelmente a sua origem ocorreu partir do complemento A, além de apresentar morfologia distinta dos demais cromossomos. **Objetivo:** Desta forma, o objetivo deste trabalho é descrever a ocorrência de cromossomos supranumerários em uma população de *Rineloricaria lanceolata* coletados no córrego do Onça (Bacia do baixo Paraguai, Coxin-MS). **Material e Método:** Foram analisados 32 indivíduos, sendo que a maioria apresentou cromossomos Bs (56,25%), a frequência de Bs variou de 2,9% a 24,32% entre os indivíduos, com 1 a 2 cromossomos detectados por célula e morfologia do tipo acrocêntricos e menores que os demais cromossomos do complemento padrão, além disso, nas metáfases submetidas ao bandeamento C estes cromossomos revelaram-se totalmente heterocromáticos. **Resultados:** O gênero *Rineloricaria* é conhecido por algumas espécies apresentar polimorfismo cromossômico numérico e estrutural, sendo os rearranjos cromossômicos de fusão e fissão cêntrica que mais contribuíram para a ocorrência deste polimorfismo e conseqüentemente com a diversidade cromossômica detectada e para evolução cariotípica do grupo, contudo, cromossomos supranumerários foram observados apenas na espécie *R. pentamaculata* (bacia do Alto Paraná), com morfologia distinta e bem menores que o complemento A, foi sugerido que rearranjos cromossômicos de fissão cêntrica possivelmente gerou fragmentos cêntricos que teriam dados origem aos cromossomos Bs. **Conclusão:** Portanto, nós sugerimos que os rearranjos cromossômicos ocorridos em *R. lanceolata*, também sejam os responsáveis pela origem dos cromossomos Bs nesta espécie, já que nesta população foi detectado também um polimorfismo cromossômico numérico e que provavelmente as fusões cêntricas ocorridas deram origem a fragmentos cêntricos que posteriormente tornaram-se cromossomos Bs..

Palavras-chave: Cromossomos bs, *Rineloricaria*, Rearranjos cromossômicos.



APLICAÇÕES DA HIBRIDAÇÃO INTERESPECÍFICA NO MELHORAMENTO DE PLANTAS

EZILDO FRANCISCO FELINTO FILHO¹, CARLOS ROBERTO SILVA DE OLIVEIRA¹,
FRANCISMARY BARROS DA SILVA¹, MATHEUS LIMA OLIVEIRA², VITÓRIA
RAMOS CRUZ DA SILVA³

1– UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco - Bolsista

CAPES/FACEPE, 2– UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco -

Bolsista CAPES.

3– UPE – Universidade Pernambuco – Bolsista CNPq

RESUMO

Introdução: A hibridação e introgressão entre espécies vegetais é um evento de bastante ocorrência, pois ele é fonte de variações e acarreta o aparecimento de novas espécies, sendo de suma importância a precisa identificação dos híbridos produzidos. O resultado de cruzamentos interespecíficos pode variar desde a impossibilidade de se conseguir sementes até uma fertilidade absoluta dos híbridos F1. **Objetivos:** A obtenção de materiais que são geneticamente superiores e heterogêneos devido à hibridação interespecífica, proporcionando uma combinação da variabilidade genética em espécies que podem ser de certa forma contrastante uma da outra. **Materiais e métodos:** Esta revisão foi elaborada por meio de consultas em trabalhos nas plataformas indexadoras de artigos científicos como google acadêmico, portal de periódicos da CAPES e Scielo e outros. **Resultados:** Programas de melhoramento genético de plantas vêm sendo beneficiados quando se refere ao direcionamento de cruzamentos que sejam mais promissores e a introgressão de genes com o método de hibridação interespecífica de espécies silvestres e espécies já cultivadas. Estratégias adotadas para o melhoramento genético de plantas podem ser desenvolvidas e permitidas através de estimativa de parâmetros, diversidade genética e caracterização morfológica de híbridos interespecíficos, tendo em vista que é possível a identificação do componente genotípico em determinada característica de interesse. Os meios de introgressão de genes dessa técnica se dão por polinizações controladas ou abertas de pólenes de espécies com características desejadas agronomicamente. Existem três distintos tipos de cruzamentos interespecíficos, conhecidos como cruzamento entre espécies que originam duplicação do número cromossômico, cruzamentos entre espécies com números cromossômicos diferentes, sem duplicar o número de cromossomos da progênie e cruzamentos entre espécies cujos híbridos são férteis. Algumas barreiras podem tornar difícil a execução de uma hibridação

interespecífica, ou mesmo impedi-la, são elas a Inibição do crescimento do tubo polínico e o desequilíbrio Genético. **Conclusão:** É de suma importância que ocorra a prática do cruzamento entre espécies silvestres e cultivadas, para que devido a essa hibridação possa haver uma maior variabilidade genética dentro da cultura trabalhada.

Palavras-chave: Genes; Variabilidade; Cruzamento; Espécies.

ABSTRACT:

Introduction: Hybridization and introgression between plant species is a very frequent event, as it is a source of variations and leads to the appearance of new species, being of paramount importance the precise identification of the hybrids produced. The result of interspecific crosses can vary from the impossibility of obtaining seeds to absolute fertility of the F1 hybrids. **Objectives:** Obtaining materials that are genetically superior and heterogeneous due to interspecific hybridization, providing a combination of genetic variability in species that can be somewhat contrasting with each other. **Materials and methods:** This review was elaborated through consultations in works on the indexing platforms of scientific articles such as academic google, CAPES and Scielo journals portal and others. **Results:** Plant genetic improvement programs have been benefited when it comes to targeting the most promising crosses and the introgression of genes with the method of interspecific hybridization of wild species and species already cultivated. Strategies adopted for the genetic improvement of plants can be developed and allowed through the estimation of parameters, genetic diversity and morphological characterization of interspecific hybrids, considering that it is possible to identify the genotypic component in a given trait of interest. The means of introgression of genes in this technique are through controlled or open pollination of pollens from species with agronomically desired characteristics. There are three different types of interspecific crosses, known as crosses between species that cause doubling of the chromosome number, crosses between species with different chromosome numbers, without doubling the number of chromosomes of the progeny, and crosses between species whose hybrids are fertile. Some barriers can make it difficult to perform an interspecific hybridization, or even prevent it, they are Inhibition of pollen tube growth and Genetic imbalance. **Conclusion:** It is of paramount importance that the practice of crossing between wild and cultivated species occurs, so that due to this hybridization there can be a greater genetic variability within the cultivated culture.

Key Words: genes; Variability; Crossing; Species.

INTRODUÇÃO

A técnica de hibridação interespecífica tem sido usada principalmente para fazer a transferência de alelos de plantas silvestres, contendo alguma característica desejável para transferi-la a uma planta de uma espécie cultivada (Bueno et al. 2006). O cruzamento interespecífico é realizado entre indivíduos de espécies diferentes, porém ainda relacionados, geralmente estando dentro do mesmo gênero ou família (Gurevitch et al. 2006).

A hibridação e introgressão entre espécies vegetais é um evento de bastante ocorrência, pois ele é fonte de variações e acarreta o aparecimento de novas espécies, sendo de suma importância a precisa identificação dos híbridos produzidos (Lugon-Moulin et al. 1999).

Hibridações desse tipo permitem ao melhoristas a criação de novas combinações de formas e cores (Vervaeke et al. 2001; 2004). Essa técnica também é usada pelos pesquisadores quando há na planta alguma característica de interesse, tal como uma resistência a determinado patógeno a qual não é encontrada na espécie cultivada mas está presente numa espécie silvestre compatível (Allard, 1960).

A obtenção de materiais que são geneticamente superiores e heterogêneos devido à hibridação interespecífica é bastante comum e tem sua prática bastante frequente, pois a mesma proporciona uma combinação da variabilidade em espécies que podem até ser de certa forma contrastante uma da outra (Santos et al. 2012).

Algumas espécies silvestres são usadas como repositório de genes de interesse, e através da hibridação interespecífica vem permitindo o melhoramento de inúmeras espécies modernas que possuem uma importância econômica significativa (Hajjar & Hodgkin, 2007).

Os meios de introgressão de genes dessa técnica se dão por polinizações controladas ou abertas de pólenes de espécies com características desejadas agronomicamente (Boudet, 1998).

De acordo com Allard (1960) as características das espécies silvestres são passada para espécies cultivadas, atribuindo-lhe determinada resistência a alguns fatores estressantes, melhorando as suas qualidades nutricionais.

A partir do retrocruzamento realizado entre as espécies do mesmo complexo, pode haver o sucesso na obtenção de híbridos interespecíficos, contudo, o emprego de novas técnicas de resgates de embrião pode permitir a aquisição de novos híbridos entre espécies a qual possuem um complexo gênico distinto (Yoon., 2006). A hibridação interespecífica gera ampla variabilidade genética nas gerações seguintes (Siqueira et al., 1988) visando a obtenção de genótipos superiores que possam vir a suprir as inúmeras problemáticas existentes na agricultura moderna.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre o tema aplicações de hibridação interespecíficas no melhoramento de plantas. Essa revisão foi desenvolvida baseada em trabalhos de cunho científico voltados para a área de genética e melhoramento de plantas, objetivando não só a exposição de informações atualizadas como as menos atualizadas para fins de levantamento científico a cerca do assunto abordado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Hibridação Interespecífica.

A compatibilidade genética dos genótipos trabalhados nas hibridações interespecíficas é um dos principais pontos que devem ser analisado afim de que ocorra êxito no seu cruzamento, ou seja, espécies envolvidas devem apresentar homologia cromossômica para que sejam produzidos híbridos viáveis (Pereira et al. 2005).

Estratégias de melhoramento podem ser traçadas e permitidas através de estimativa de parâmetros, diversidade genética e caracterização morfológica de híbridos interespecíficos, uma vez que é possível a identificação do componente genotípico em determinada característica de interesse (Cruz; Carneiro et al. 2006).

O resultado de cruzamentos interespecíficos pode variar desde a impossibilidade de se conseguirem sementes até uma fertilidade absoluta dos híbridos F₁ (Bueno et al. 2006).

O cruzamento interespecífico ele também é usado para a produção de poliploides, como por exemplo, a produção de híbridos na cultura do morangueiro (*Fragaria ananassa*), que foi obtido através de cruzamentos de uma espécie silvestre da América do Norte (*Fragaria virginiana*) uma do Chile (*Fragaria chiloensis*). Também pode ser usada na obtenção de haploides e duplo-haploides, seja pelo simples cruzamento interespecífico entre

duas espécies, ou pelo cruzamento de uma espécie com outra que possui um gene indutor de haploidia (Souza, 2017).

Os aloploidos aparecem na natureza através da duplicação dos cromossomos depois de um cruzamento interespecífico. Quando acontece um cruzamento interespecífico, o descendente recebe apenas um genoma de cada genitor e é denominado anfipoliploide ou anfidiplóide, se as duas espécies parentais forem diploides (Ramalho et al. 2012).

2. Tipos de Cruzamentos Interespecíficos

Segundo Bueno et al. (2006) existem três distintos tipos de cruzamentos interespecíficos, são eles:

- Cruzamento entre espécies que originam duplicação do número cromossômico.

Os híbridos obtidos são anfidiplóides. Nem todos os anfidiplóides que são criados artificialmente são férteis e produzem sementes.

- Cruzamentos entre espécies com números cromossômicos diferentes, sem duplicar o número de cromossomos da progênie.

Podem realizar-se certos cruzamentos interespecíficos entre espécies com diferentes números de cromossomos, às vezes com algum êxito. Algumas vezes se obtém sucesso no cruzamento entre espécies diploides e tetraploides, taxonomicamente próximas, pela duplicação prévia do número de cromossomos do indivíduo diploide.

Plantas F₁ de muitos cruzamentos interespecíficos não são férteis. Em espécies propagadas vegetativamente, como cana-de-açúcar e algumas forrageiras, híbridos vigorosos podem constituir novas variedades, mesmo não produzindo sementes.

- Cruzamentos entre espécies cujos híbridos são férteis. A qual envolvem espécies que possuem o mesmo número de cromossomos e homologia cromossômica mais ou menos completa. O pareamento, na meiose, é regular nos híbridos F₁, cujas plantas são férteis. São produzidos óvulos e pólen viáveis.

3. Importância da Hibridação Interespecífica

Segundo Bueno et al. (2006), o trigo mais amplamente cultivado hoje, *Triticum aestivum*, foi formado pela participação de três espécies diferentes, as quais cruzaram-se em forma escalonada. O cruzamento de *T. monococcum*, do qual provém o genoma A, com *Aegilops speltoides*, provavelmente portador do genoma B, deu origem a *T. dicoccoides*.

As possibilidades de hibridação e a homologia cromossômica fizeram com que se modificasse a classificação dessa espécie, atualmente, todas as plantas tidas antes como *Aegilops* estão classificadas como *Triticum* (Bowden, 1954).

Outra contribuição que pode ser citada é em relação as espécies do gênero *Musa*, a maior parte das cultivares de banana, pertencentes à série *Eumusa*, originou-se do cruzamento entre *Musa accuminata* e *Musa balbisiana*, seu número básico de cromossomos é onze (Simmonds, 1962).

O desenvolvimento de fruteiras, plantas hortícolas, espécies florestais e outras, como ornamentais, tem como contribuição a hibridação interespecífica, nas quais sua participação foi decisiva, produzindo um grande número de espécies, como entre as orquídeas, rosas, violetas, dalias, rododendros e gladiolos (Bueno et al. 2006).

4. Barreiras que Impedem ou Dificultam os Cruzamentos Interespecíficos

Algumas barreiras podem tornar difícil a execução de uma hibridação interespecífica, ou mesmo impedi-la, duas são apresentadas por Brauer (1973).

- Inibição do crescimento do tubo polínico;
- Desequilíbrio Genético.

A transferência de genes desejáveis por meio da hibridação interespecífica em sua maioria tem sua limitação devido a barreiras de incompatibilidade tanto pré como pós-fertilização. As barreiras de incompatibilidade pré-fertilização resultam do atraso ou não crescimento do tubo polínico e/ou também da falta de germinação do grão de pólen. Após a fertilização, os principais fatores de impedimento são a morte do embrião devida à degeneração do endosperma e a esterilidade total ou parcial das plantas híbridas (HOGENBOOM, 1975; PRESTES & GOULART, 1995).

A quebra dessas barreiras prejudiciais à hibridação interespecífica é um dos mais significativos avanços para o melhoramento genético de plantas. Inúmeras técnicas vêm sendo utilizadas para transpassar essas barreiras, podendo citar o cultivo de embriões *in vitro* (SMITH, 1994), regeneração de plantas a partir de calos de embriões (THOMAS & PRATT, 1981), podendo ser feito também o cultivo de sementes imaturas (IMANISHI, 1985), mistura de inúmeros pólenes de alguns genótipos de espécies silvestres (MAHAEWARAN et al. 1986), ou até mesmo a seleção de linhagens de plantas silvestres que sejam compatíveis com a cultura comercial (RICK, 1983).

Logo em seguida a produção de híbridos que são férteis, proveniente de técnicas ou não para o contorno das barreiras, novas dificuldades são encontradas frente à transferência de genes de espécies selvagens para as cultivadas. Dentre essas, a ligação do gene desejável a um bloco gênico indesejável pode acarretar a inutilidade do híbrido produzido (PRESTES & GOULART, 1995).

Embora as dificuldades sejam enormes para as transferências de genes, existe um grande potencial de utilização da hibridação interespecífica e, apesar dos problemas, a imensa variabilidade gênica já justifica sua tentativa.

5. Técnicas Para Superar as Barreiras Interespecíficas

- CRUZAMENTO PONTE

Rotas alternativas de introgressão de Germoplasma têm sido sugeridas quando a hibridação direta é difícil ou impossível. Cruzamentos ponte têm sido usado quando a transferência de genes pelos métodos simples falharam. O método tem sido empregado só em condições especiais quando uma espécie “A” hibridiza com uma “B”, mas não hibridiza com “C”, e as espécies “B” e “C” formam híbridos viáveis (STALKER, 1980).

STALKER (1980) diz que o uso de espécies ponte é complicado e o método dificulta os processos de seleção dos genes desejáveis. Sem adequados procedimentos de avaliação aplicados no processo seletivo, genes desejáveis poderão facilmente ser perdidos. A probabilidade de sucesso na transferência de caracteres quantitativos é muito menor do que a de caracteres monogênicos dominantes.

- ANFIDIPLÓIDES

A obtenção de híbridos interespecíficos anfidiplóides pela aplicação de colchicina tem permitido a obtenção de plantas F1 férteis (STALKER, 1980).

Esta técnica foi empregada por THOMPSON & RYDER (1961) na obtenção da variedade de alface Vanguard. Nesse caso, mesmo usando a espécie *Lactuca serriola* como espécie ponte, híbrido interespecífico entre *L. sativa* e *L. virosa* foi estéril. Os autores não descreveram a metodologia utilizada, apenas comentaram que plantas F1 do híbrido complexo foram tratadas com colchicina e como resultado obtiveram plantas anfidiplóides férteis, que posteriormente foi retrocruzada com a *L. sativa* cv. Red Bensn.

- CULTURA “IN VITRO” DE EMBRIÃO

Segundo STALKER (1980) a cultura de embrião pode ser vantajosamente usada para obter plantas quando o endosperma degenera ou as sementes não atingem a maturidade fisiológicas. A técnica está sendo largamente utilizada como um passo bastante importante na obtenção de híbridos interespecíficos ou intergenéricos.

EENINK et al., (1982a) empregaram a técnica de cultura de embrião com sementes F1 ou RC1, da segunda geração de híbridos de *L. sativa*, *L. serriola* e *L. virosa*.

CONCLUSÃO

É de suma importância que ocorra a prática do cruzamento entre espécies silvestres e cultivadas, para que devido a essa hibridação possa haver uma maior variabilidade genética dentro da cultura trabalhada. Fazendo isso, o melhoramento da mesma poderá ser grandemente beneficiado, considerando que muitas das características desejadas em uma cultura comercial estão presentes em plantas silvestres, sendo possível o transporte dessa característica através do cruzamento interespecífico. Sendo um ponto bastante positivo quando se refere a programas de melhoramento.

REFERÊNCIAS

- Allard R.W. **Principles of plant breeding**. John Wiley Sons Inc, 1960, New York, p. 485.
- Bowden W.M. The taxonomy and nomenclature of the wheats, barleys and ryes and their wild relatives. **Canadian Journal of Botany** 37: 657-684, 1954.
- Bueno L.C.S.; Mendes A.N.G.; Carvalho S.P. **Melhoramento genético de plantas princípios e procedimentos**. UFLA, Lavras, p. 319, 2006.
- Cruz C.D. and Carneiro P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. UFV, Viçosa, p. 585, 2006.
- DE ASSIS, T.F. Melhoramento genético de Eucalyptus: desafios e perspectivas. **3º Encontro Brasileiro de Silvicultura**, v. 3, p. 127-148, 2015.
- Gurevitch J.; Scheiner S.M.; Fox G.A. **Ecologia Vegetal**. Artmed, p. 592, 2006.
- Hajjar R. and Hodgkin T. The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. **Euphytica** 156. p. 1-13, 2007.
- HOGENBOOM, N.G. Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. **Proc. R. Soc. London B**. p.361, 1975.
- IMANISHI, S.; WATANABE, Y.; HIURA, I. A simple and efficient method for interspecific hybridization between *L. esculentum* and *L. peruvianum*. *J. Yamagata Agr. For. Soc.* 42: p. 13-15, 1985.
- LUGON-MOULIN, N. et al. Hierarchical analyses of genetic differentiation in a hybrid zone of *Sorex araneus* (Insectivora: Soricidae). **Molecular ecology**, v. 8, n. 3, p. 419-431, 1999.

MAHAEWARAN, G.; PERRYMAN, T.; WILLIAMS, E. G. Use of an interspecific hybrids in identifying a new allelic specificity generated at the self-incompatibility locus after inbreeding in *Lycopersicon peruvianum*. *Theor. Appl. Genet.*, 50: p.391-398, 1986.

PRESTES, A.M. & GOULART, L.R. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. *RAPP* 3: p.315-363, 1995.

RALPH, John et al. N.M.R. characterization of altered lignins extracted from tobacco plants down-regulated for lignification enzymes cinnamylalcohol dehydrogenase and cinnamoyl-CoA reductase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, n. 22, p. 12803-12808, 1998.

Ramalho M.A.P.; Santos J.B.; Pinto C.A.B.P.; Souza E.A.; Gonçalves F.M.A.; Souza J.C. **Genética na agropecuária**. UFLA, Lavras, p.564, 2012.

RICK, C.M. Crossability between *L. esculentum* and a new race of *L. peruvianum*. *Tomato Genet. Coop. Rep.*, p.13, 1983.

Santos E.A.; Souza M.M.; Abreu P.P.; Conceição L.D.H.C.S.; Araújo I.S.; Viana A.P.; Almeida A.A.F.; Freitas, J.C.O. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use. **Euphytica**, 184: p. 389-399, 2012.

SMITH, P.G. Embryo culture of a tomato species hybrid. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* p. 413-416, 1944.

Souza, E.H.D. Reprodução e hibridação interespecífica e intergenérica em bromeliáceas com potencial ornamental. **Doctoral dissertation**, USP. 2013.

Souza, H.C.X. Produção de haplóides de melão (*Cucumis melo*) por meio de cruzamento interespecífico entre melão e outras espécies da família Cucurbitaceae. 2017.

THOMAS, B.R. & PRATT, D. Efficient hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *L. peruvianum* via embryo callus. *Theor. Appl. Genet.* p.215-219, 1981.

Vervaeke I.; Delen R.; Wouters R.; Deroose R.; Proft M.P. Division of the generative nucleus in cultured pollen tubes of the Bromeliaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. p. 17-28, 2004.

VERVAEKE, Ine et al. Prefertilization barriers between different Bromeliaceae. *Euphytica*, v. 118, n. 1, p. 91-97, 2001.

Yoon JB.; Yang D.C.; Do J.W. and Park H.G. Overcoming two post-fertilization genetic barriers in interspecific hybridization between *Capsicum annuum* and *C. baccatum* for introgression of anthracnose resistance. **Breeding Science**. 31-38, 2006.



O PAPEL DA ODONTOLOGIA NA ATROFIA MUSCULAR ESPINHAL

HELLEN REGIANE ESSU HOMINE; SILVANA RIBEIRO RODA; TATIANE MAREGA;
ALCIDES RICARDO GONÇALVES; MARCOS FERNANDO BALDINATO SANTIAGO

Introdução: A Atrofia Muscular Espinhal (AME) é uma doença genética neuromuscular rara, herdada com padrão autossômico recessivo. Ocorre uma mutação homozigótica no gene SMN1, localizado na região telomérica do cromossomo 5q13, o que ocasiona a redução dos níveis de proteína SMN, responsável pela sobrevivência do neurônio motor. Apesar de rara, a AME é a causa mais frequente de morte infantil, apresenta uma prevalência de 1 por 100.000 pessoas e incidência de 1 a cada 11.000 nascidos vivos. As principais características clínicas da AME são a fraqueza e atrofia muscular progressiva. **Objetivo:** Relatar a importância do papel da odontologia no atendimento do paciente com Atrofia Muscular Espinhal. **Metodologia:** Estudo retrospectivo e descritivo através de relato de caso clínico do paciente com AME na Faculdade São Leopoldo Mandic (Campinas -SP). **Resultados:** As principais características clínicas de portadores da AME que interferem na prática odontológica são: limitação de abertura de boca, fasciculação da língua e fraqueza muscular. A fraqueza muscular implica em certas particularidades no cuidado odontológico. Esta característica compromete a habilidade motora, sendo uma condição permanente que predispõe o músculo à fadiga muscular e piora da função, o que requer maior atenção à cavidade oral, por motricidade reduzida e dificuldade na manutenção da boa saúde oral. **Conclusão:** A participação do cirurgião dentista dentro da equipe multidisciplinar é de suma importância, ocorre de forma direta, com a adequação do meio bucal por meio de cuidados de higiene oral e intervenções odontológicas, resultando na melhoria da qualidade de vida dos pacientes com Atrofia Muscular Espinhal.

Palavras-chave: Atrofia muscular espinhal, Odontologia, Doenças neuromusculares, Doenças raras.



AMELOGÊNESE IMPERFEITA ASSOCIADA AO TAURODONTISMO

MARIELLY ISEPON; ALESSANDRO ZORZI; VICTOR MONTALLI; FRANCISCO NOCITTI;
ANA MONDADORI DOS SANTOS

Introdução: Amelogênese Imperfeita (AI) é uma alteração patológica no desenvolvimento da estrutura do esmalte dentário. Em 2016, Neville criou uma classificação considerando padrão de calcificação e sinais radiográficas, sendo 4 tipos principais: hipoplásica, hipocalcificada, hipomaturada-hipoplásica e hipoplásica-hipomaturada. Com padrão de herança variável, os principais genes são: Enamelina (*ENAM* – OMIM * 606585) autossômico dominante ou recessivo e Amelogenina (*AMELX* – OMIM * 300391) ligado ao cromossomo X. Taurodontismo é o aumento ocluso-apical da câmara pulpar dos dentes molares, acometendo um ou diversos dentes, unilateralmente ou bilateralmente. A combinação de ambas as condições, AI e Taurodontismo, pode ser identificada em pessoas com mutação no gene *DLX3*, resultando no espectro fenotípico variável com a identificação isolada das duas condições ou associada a alterações em cabelos e ossos, resultando na síndrome trico-dento-óssea (OMIM # 190320). **Objetivo:** Descrever caso clínico com associação de amelogênese imperfeita e taurodontismo. **Material e Métodos:** Descrição de caso clínico atendido no ambulatório da Faculdade de Medicina São Leopoldo Mandic, MedMandic. **Resultados:** Adolescente, 13 anos, masculino, encaminhado para avaliação genética devido amelogênese imperfeita e taurodontismo. Primeiro filho de casal jovem não consanguíneo com recorrência de alterações dentárias semelhantes ao propósito em família paterna (pai, meio – irmão, tia, tio, avó), sugerindo uma condição autossômica dominante. Os achados clínicos revelaram alta estatura (z-score > +2 d.p.), cabelos xeróticos e de difícil crescimento, alteração da coloração e da morfologia da coroa dos dentes, esmalte com característica hipoplásica. A radiografia panorâmica e periapical identificadas dentes supranumerários, taurodontismo dos dentes 11, 12, 13, 21, 31, 32, 41 e 42. Prosseguiu para tratamento odontológico e investigação de etiologia genética com sequenciamento de todas as regiões codificantes do genoma humano (exoma), sendo identificado no gene *DLX3* variante p.Ile175Met, ENST 00000434704.2, no genoma de referência Hg38, não reportada previamente, pelos critérios da *American College of Medical Genetics and Genomics* foi considerada como variante de significado incerto (VUS) e prosseguida validação com genotipagem dos genitores por técnica de Sanger, em análise. **Conclusão:** Através desse relato de caso enfatizamos a importância de uma investigação clínica e genética em pacientes com alterações dentárias aparentemente isoladas. Em conclusão, testes genéticos podem ser ótimos para diagnóstico e auxílio no aconselhamento genético.

Palavras-chave: Taurodontismo, Amelogênese imperfeita, Síndrome trico-dento-óssea.



VARIAÇÃO E PADRÕES DE CONSERVAÇÃO ENTRE DIFERENTES CEPAS DE CAMPYLOBACTER JEJUNI PARA O GENE GYRA

JOAO VICTOR JOSE DE BARROS DANTAS; PAULO ROBERTO ELEUTÉRIO DE SOUZA;
NARA SUZY AGUIAR FREITAS

Introdução: Polimorfismos de nucleotídeo único no gene *gyrA* têm sido relacionados com resistência antimicrobiana à infecção por *Campylobacter jejuni*. Com o passar dos anos, a ciência avançou com diversos medicamentos, entre eles os antimicrobianos. Entretanto, concomitantemente ao advento dos antimicrobianos, mais especificamente os antibióticos, notou-se uma certa resistência aos diversos mecanismos de atuação desses aliados contra agentes patogênicos. O grupo abordado neste trabalho foi a espécie *Campylobacter jejuni*. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar, através de análises comparativas, procurando regiões de alta similaridade e pequenas variações em regiões específicas do gene *gyrA* de *Campylobacter jejuni* depositado em um banco de dados NCBI. **Material e Método:** Um total de 18 sequências genômicas completas do gene *gyrA* de *Campylobacter jejuni* foram baixadas e alinhadas pelo software Clustalw. As análises comparativas mostraram regiões com dois grupos distintos de genomas. **Resultados:** O primeiro grupo apresentou regiões com alto grau de similaridade e também regiões com pequena variação de bases. No segundo grupo, todos os genomas foram 100% semelhantes. Assim, sugerimos que essa variação está relacionada à localização geográfica e origem (organismo, hospedeiro e isolados da alimentação humana) dessas sequências. **Conclusão:** Em conclusão, é possível que variações e padrões de genes estejam associados à história evolutiva, genética e ecológica dos genomas. Além disso, percebe-se que os genótipos de *Campylobacter jejuni* que apresentavam o gene *gyrA*, estavam associados aos organismos que foram isolados de hospitais, criações bovinas e criações aviárias, demonstrando a alta relação desse agente patogênico com o uso exacerbado de antibióticos. Dado isto, é de suma importância estudos futuros para investigar mais genes de resistência à antimicrobianos, visando a melhor alternativa para contornar essa situação que impacta cada vez mais todos os cenários da sociedade.

Palavras-chave: Análise comparativa, Deleção e substituição, Similaridade, *Campylobacter jejuni*, Alimentos.



IMPORTÂNCIA DA NUTRIGENÔMICA NA PREVENÇÃO DE DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT'S)

CHIMARA EMILIA NASCIMENTO SANCHES

Introdução: A alimentação é um fator de influência na modulação da expressão gênica e pode atuar no surgimento das DCNT's, inclusive nos últimos 50 anos houve um aumento no surgimento dessas doenças devido à alimentação inadequada, rica em ultraprocessados. Após a conclusão do Projeto Genoma em 2003 surgiu a nutrigenômica, e com ela foi possível entender que os nutrientes presentes nos alimentos podem induzir alterações nos padrões de metilação do DNA e na expressão genética.

Objetivo: Descrever a influência da alimentação na expressão gênica e sua relação com o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT's). **Metodologia:** Trata-se de uma revisão de literatura, para entender a relação entre os nutrientes da alimentação e a modulação genética. Foram utilizados artigos publicados entre os anos de 2000 a 2021, disponíveis nos seguintes bancos de dados: Scielo, PubMed e Portal BVS. **Resultados:** A nutrigenômica elucidou que tanto os alimentos influenciam na expressão gênica como também os genes determinam a necessidade de consumo de determinados nutrientes, através da hipometilação do genoma e da hipermetilação é possível tanto promover o crescimento desordenado das células como também diminuir o risco de câncer em determinado tecido, sendo assim certos alimentos podem influenciar tanto positivamente como negativamente na homeostase celular. **Conclusão:** Portanto, apesar de mais estudos serem necessários, já é possível afirmar que com o conhecimento da nutrigenômica é possível melhorar a qualidade de vida e até tratar e prevenir as DCNT's através de dietas personalizadas para cada indivíduo, potencializando o uso de cada nutriente a favor da homeostase celular.

Palavras-chave: Nutrigenômica; dcnt's; alimentação.



DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Nierembergia hatschbachii*

Daniele Cassiano Feliciano¹, Sara Mataroli de Godoy¹, João Fernando Marques da Silva², Paulo Maurício Ruas³, Claudete de Fátima Ruas¹

¹ – Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

² – Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

³ – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

RESUMO

Introdução. *Nierembergia* é um gênero da família Solanaceae, que possui 21 espécies que ocorrem, principalmente, na América do Sul, e que constituem plantas com potencial ornamental, de toxicidade para o gado ou com atividade antitumoral. O gênero apresenta características peculiares e incomuns, dado a um sistema de polinização não encontrado em outras Solanaceae. A maioria das espécies do gênero não possuem nectários, mas sim elaióforos produtores de óleo presentes no limbo da corola, o que atrai abelhas coletoras de óleo. A espécie *Nierembergia hatschbachii*, por sua vez, ocorre de forma restrita nos afloramentos rochosos de origem basáltica, os quais se distribuem pelo Terceiro Planalto Paranaense, e encontram-se inseridos no Bioma Mata Atlântica. Devido ao fato de os afloramentos serem isolados geograficamente, o estudo genético das espécies de ocorrência nos mesmos se faz extremamente importante, principalmente para traçar estratégias de conservação das espécies. Portanto, a aplicação de marcadores moleculares é imprescindível para compreender a estrutura genética de populações, bem como estimar os níveis de isolamento, fluxo gênico e definir o status genético de espécies endêmicas e ameaçadas. **Objetivos.** Com base nisso, o objetivo deste estudo foi verificar o status genético de populações de *N. hatschbachii* através de índices de diversidade genética. **Metodologia.** Foram gerados marcadores AFLP para 172 indivíduos da espécie, distribuídos em seis populações do estado do Paraná. **Resultados.** Os marcadores gerados foram eficientes em estimar os índices de diversidade genética, os quais se apresentaram de baixos a moderados, variando de 0,13 para a população PFJ a 0,17 para a população LAG2. As relações genéticas, inferidas por meio de Minimum Spanning Tree Network, mostraram isolamento entre as populações, sugerindo fluxo gênico restrito. Espécies de ocorrência em afloramentos rochosos têm apresentado considerável isolamento, pois funcionam como ilhas terrestres. Esse isolamento tende a limitar o potencial de polinização, diminuindo a diversidade genética das espécies por favorecer o aumento das taxas de cruzamento biparental e autofecundação. **Conclusão.** Por essa razão, ações que visem a conservação de *N. hatschbachii* devem ser rapidamente pensadas para evitar que a espécie acabe sendo extinta.

Palavras-chave: Afloramentos rochosos; conservação; isolamento genético; marcadores AFLP.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Nierembergia* Ruiz & Pav. pertence à família Solanaceae Juss., subfamília Cestroideae Schltl., tribo Nicotianeae G. Don. e à subtribo Nierembergiinae Hunz. (D'ARCY, 1991; HUNZIKER, 2001). O gênero apresenta características peculiares e incomuns, pois possui um sistema de polinização não encontrado em outras Solanaceae, já que os nectários estão ausentes na maioria das espécies do gênero, mas apresentam elaióforos produtores de óleo no limbo da corola e atraem abelhas coletoras de óleo (COCUCCI, 1991; SIMPSON; NEFF, 1981). *Nierembergia* possui 21 espécies encontradas principalmente na América do Sul, com uma espécie ocorrendo no México, sendo suas espécies notáveis como plantas ornamentais valiosas, ervas daninhas tóxicas para o gado, ou como fontes de cardenólídeos com atividade antitumoral de potencial uso farmacológico (BUSCHI; POMILIO 1987; GIL, et al., 1995; HUNZIKER, 2001).

Nierembergia hatschbachii A.A. Cocucci & Hunz. apresenta ocorrência restrita aos afloramentos rochosos de origem basáltica, os quais se distribuem, de maneira descontínua, pelo Terceiro Planalto Paranaense e encontram-se inseridos no Bioma Mata Atlântica. Tais afloramentos são ambientes com elevado grau de endemismo, sendo considerados, devido sua formação geológica, habitats naturalmente isolados, apresentando flora característica (BARROS et al., 2015; IGANCI et al., 2011). Estudos recentes, voltados aos afloramentos rochosos basálticos (APRÍGIO et al., 2020; FELICIANO et al., 2022; IGANCI et al., 2011), têm revelado a importância de se conservar um ecossistema rico em espécies endêmicas e altamente degradado, visto que muitas de suas espécies se apresentam classificadas em alguma categoria de ameaça (“Vulnerável”, “Em Perigo” e “Criticamente em Perigo”), assim como muitas das espécies da flora brasileira que já tiveram seu status avaliado (CNCFLORA, 2012; MARTINELLI; MORAES, 2013).

Um dos principais parâmetros a serem levados em conta em programas de conservação e manejo de espécies é a diversidade genética, a qual constitui matéria-prima para mudanças evolutivas adaptativas, enquanto seu decréscimo culmina na redução do fitness adaptativo de populações naturais, comprometendo sua sobrevivência a longo prazo (FRANKHAM et al., 2010). Com isso, a aplicação dos marcadores moleculares nas populações naturais se torna de fundamental importância, sendo escolhidos e aplicados conforme o objetivo do estudo. Dentre diferentes tipos de marcadores moleculares, os marcadores AFLP têm se mostrado eficientes, pois geram muitos fragmentos polimórficos, sendo altamente informativos e reprodutivos, abrangendo todo o genoma sem necessitar, entretanto, do conhecimento prévio deste (FELICIANO et al., 2022; GAIOTTO et al., 1997; PORTIS et al., 2004; SHAN et al., 2004). Portanto, o objetivo do presente estudo foi verificar o status genético de seis populações de *N. hatschbachii* por meio de marcadores moleculares AFLP.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização das análises genético-populacionais, foram coletados 172 indivíduos, provenientes de seis populações de *N. hatschbachii* (Figura 1) distribuídas por toda a área de ocorrência da espécie. O material coletado foi herborizado e incorporado ao Herbário do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.



Figura 1. *Nierembergia hatschbachii*. A- Ilustração: A.A. Cocucci e A. T. Hunziker, B- Foto: D. Cassiano

O DNA total foi extraído utilizando-se tampão CTAB 2% (*cetyltrimethylammonium bromide*), segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1987) com modificações. A técnica de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) foi realizada seguindo o protocolo proposto por Vos et al. (1995), com modificações implementadas por Godoy et al. (2017). Para a amplificação seletiva foram utilizadas quatro combinações de primers, os quais foram marcados com fluorescência para posterior resolução em sistema de eletroforese capilar automatizada ABI 3500xL: (*EcoRI*-AGC (6-FAM) / *MseI*-CTAG; *EcoRI*-ATC (VIC) / *MseI*-CTTC; *EcoRI*-ACC (NED) / *MseI*-CTC; *EcoRI*-ACG (PET) / *MseI*-CTA).

Os fragmentos gerados a partir das quatro combinações de primers seletivos foram combinados em uma única matriz de ausência (0) e presença (1). O nível de informação e a consistência dos dados obtidos foram verificados por meio de uma curva de acumulação genotípica utilizando o pacote poppr v.2.8.0 (KAMVAR et al., 2014; KAMVAR et al., 2015) implementado no R v.4.0.1 (R CORE TEAM, 2020). Os parâmetros de diversidade genética intrapopulacional foram estimados a partir do número de loci polimórficos (LP), percentual de loci polimórficos (%LP) e diversidade gênica (H_j) pelo software AFLP-SURV v.1.0 (VEKEMANS, 2002). Como forma de visualizar as relações genéticas entre as populações, foi construída uma Minimum Spanning Tree Network (MSTN) a partir da distância de Nei-Li (NEI; LI, 1979) por meio do pacote poppr v.2.8.0 (KAMVAR et al., 2014; KAMVAR et al., 2015) implementado no R v.4.0.1 (R CORE TEAM, 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quatro combinações de primers seletivos geraram 408 fragmentos AFLP, sendo 97,80% polimórficos. De acordo com a curva de acumulação genotípica, com apenas 110 marcadores AFLP todos os indivíduos da amostragem foram identificados como genótipos multilocus únicos, o que mostra a eficiência e utilidade desses nas estimativas de diversidade genética de populações de *N. hatschbachii*. Os índices de diversidade (H_j) variaram de baixo a moderado, estando entre 0,13 (PFJ) a 0,17 (LAG2). Também o percentual de loci polimórficos variou de 43,9 (PFJ) a 51,0 (LAG1) (Tabela 1). Tais resultados ressaltam a importância de se construir ações de conservação de *N. hatschbachii*, e corroboram com os índices observados em outras espécies endêmicas de habitats isolados (FELICIANO et al., 2022; PINANGÉ et al., 2020; RUAS et al., 2020).

Tabela 1 – Municípios de Coletas do Paraná e suas respectivas populações amostradas para *Nierembergia hatschbachii*. N = número de indivíduos; LP = número de loci polimórficos; %LP = percentual de loci polimórficos; H_j = diversidade gênica.

Município-PR	Populações	N	LP	%LP	H _j
Candói	LAG1	28	208	51,0	0,16
Candói	LAG2	26	199	48,8	0,17
Foz do Jordão (BR-373)	FOZ	29	197	48,3	0,16
Candói	FAZ	30	190	46,6	0,15
Foz do Jordão	PAZ	29	185	45,3	0,15
Foz do Jordão (PR-662)	PFJ	30	179	43,9	0,13

A Minumum Spanning Tree Network (Figura 3) evidenciou as amostras de mesma população agrupadas entre si. Apenas as populações LAG1 e LAG2 tiveram indivíduos misturados. Com a análise é possível verificar uma maior distância entre as populações PAZ/FAZ, sendo as populações LAG1/ LAG2, justamente, as que possuem a menor distância genética entre si.

Espécies de ocorrência em afloramentos rochosos têm apresentado considerável isolamento genético (FELICIANO et al., 2022; GONÇALVES-OLIVEIRA et al., 2017; RUAS et al., 2020), decorrente, principalmente, do fato desses afloramentos funcionarem como ilhas terrestres, o que diminui o fluxo gênico entre as populações. O isolamento populacional, entretanto, tende a limitar o potencial de polinização, o que diminui a diversidade genética das espécies por favorecer o aumento das taxas de cruzamento biparental e autofecundação, (CAVALLI; WINGE, 2003).

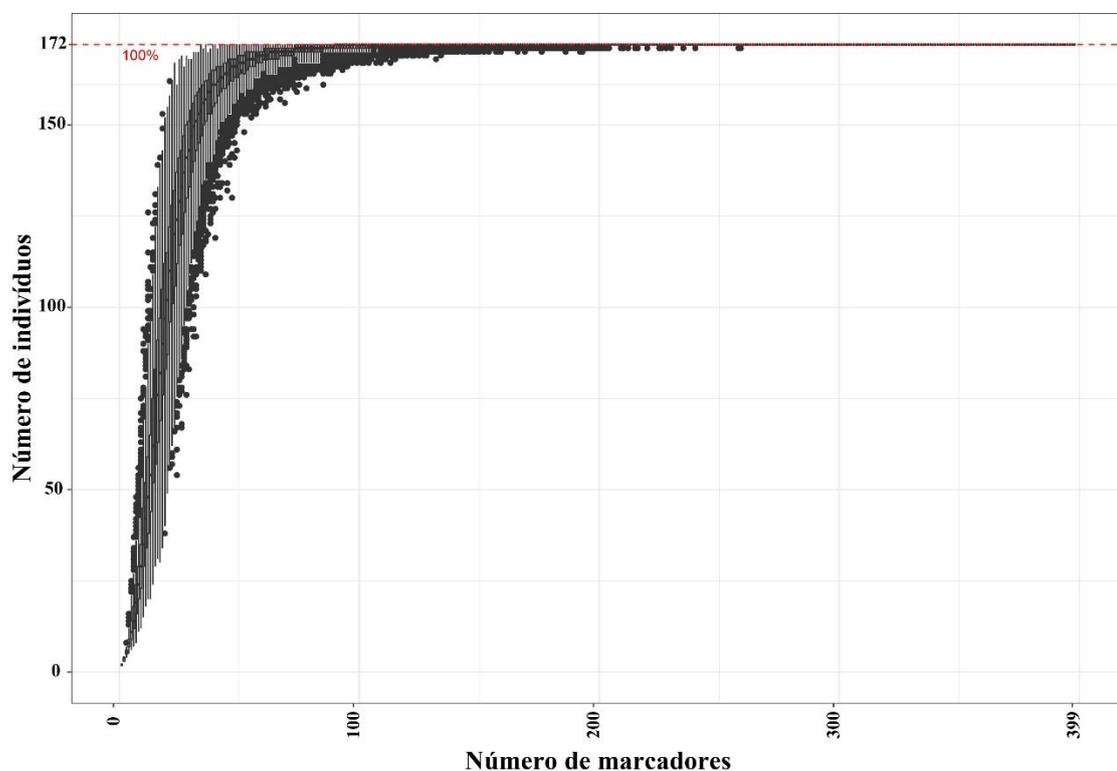


Figura 2. Curva de Acumulação Genotípica calculada a partir de 408 marcadores AFLP para 172 amostras de *Nierembergia hatschbachii*. No eixo vertical encontram-se as amostras, no eixo horizontal encontram-se os marcadores gerados no estudo.

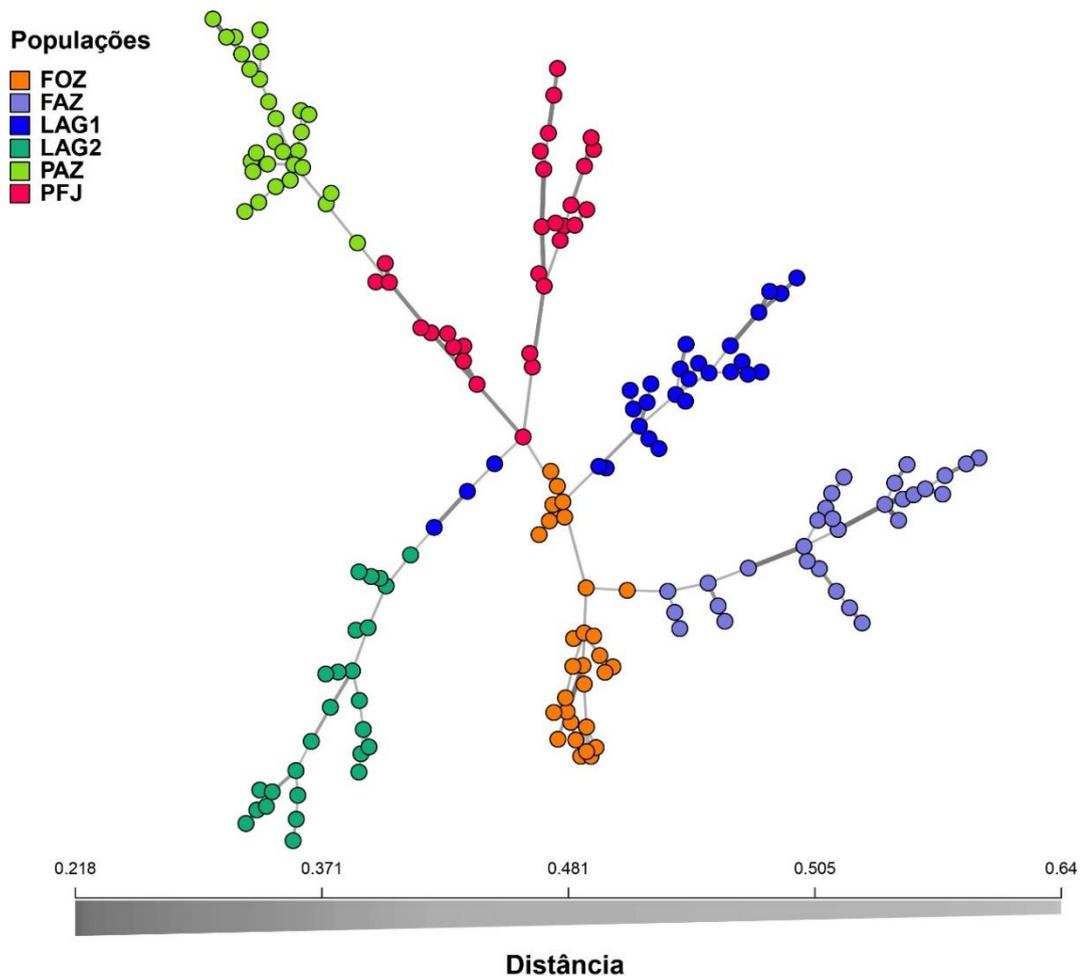


Figura 3. Minimum Spanning Tree Network construída por meio da distância de Nei-Li a partir de 408 marcadores AFLP gerados para seis populações de *Nierembergia hatschbachii*.

4 CONCLUSÃO

Os marcadores moleculares obtidos foram eficientes em estimar os índices de diversidade genética das seis populações de *N. hatschbachii*. Entretanto, esses índices foram moderados a baixo, o que traz certa preocupação. Espécies com pouca diversidade genética tendem a ter dificuldades para se adaptarem às mudanças ambientais, o que pode comprometer seu fitness adaptativo. Além disso, as populações aqui estudadas, apresentaram pouca mistura entre seus indivíduos, o que mostra um certo isolamento entre as mesmas e sugere fluxo gênico restrito. Com base nisso, ações que visem a conservação de *N. hatschbachii* devem ser rapidamente pensadas para evitar que a espécie acabe sendo extinta.

REFERÊNCIAS

APRÍGIO, N.G.O. **Diversidade e estrutura genética de populações de *Zephyranthes* (*Z. paranaensis* e *Z. flavissima*) de ocorrência em afloramentos rochosos basálticos do estado do Paraná.** 2020. 47 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

BARROS, M. J.; SILVA-ARIAS, G. A.; FREGONEZI, J. N.; TURCHETTO-ZOLET, A. C.; IGANCI, J. R.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; FREITAS, L. B. Environmental drivers of diversity in

Subtropical Highland Grasslands. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 17, n. 5, p. 360-368, 2015.

BUSCHI, C. A.; POMILIO, A. B. Pyrrole-3-carbamidine: a lethal principle from *Nierembergia hippomanica*. **Phytochemistry**, v. 26, p. 863-865, 1987.

CAVALLI, S. S.; WINGE, H. **Variabilidade genética em populações naturais. Genética e Evolução Vegetal**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2003. p. 165-175.

COCUCCI, A. A. Pollination biology of *Nierembergia* (Solanaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 174, p. 17-35, 1991.

CNFLORA (CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA). *Mimosa hatschbachii* Barneby, 2012. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/ptbr/profile/Mimosa%20hatschbachii>. Acesso em 09 jun. 2022.

D'ARCY, W.G. **The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography**. In: HAWKES, J.G.; LESTER, R.N.; NEE, M.; ESTRADA, N. (Ed.). *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Kew: The Royal Botanic Gardens/ London; London: The Linnean Society of London, 1991. p.75-137.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.

FELICIANO, D. C.; GODOY, S. M.; SILVA, J. F. M.; GÓES, B. D.; FERRAZ, J. R.; SANTOS, P. O.; RIBEIRO, J. E. L. S.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F. Landscape genetics reveal low diversity and adaptive divergence in *Portulaca hatschbachii* (Portulacaceae): an endangered species endemic to rocky outcrops of the Atlantic Forest. **Botanical Journal of the Linnean Society**, boac006, 2022.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to conservation genetics**. Cambridge University Press, Cambridge. 2ed. 2010. 619p.

GAIOTTO, F. A.; BRAMUCCI, M.; GRATTAPAGLIA, D. Estimation of outcrossing rate in a breeding population of *Eucalyptus urophylla* with dominant RAPD and AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 842-849. 1997.

GIL, R. R.; LIN, L-Z.; CHAI, H-B.; PEZZUTO, J. M.; CORDELL, G. A. Cardenolides from *Nierembergia aristata*. **Journal of Natural Products**, v. 58, p. 848-856, 1995.

GODOY, S. M.; SILVA, J. F. M.; PAULA, G. B. N.; RUAS, P. M.; GÓES, B. D.; RUAS, C. F. Phylogenetic relationships of Brazilian *Mikania* species (Asteraceae, Eupatorieae) based on multilocus DNA markers. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 184, p. 326-346, 2017.

GONÇALVES-OLIVEIRA, R. C.; WÖHRMANN, T.; BENKO-ISEPPON, A. M.; KRAPP, F.; ALVES, M.; WANDERLEY, M. G. L.; WEISING, K. Population genetic structure of the rock outcrop species *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae): the role of pollination vs. seed

dispersal and evolutionary implications. **American Journal of Botany**, v. 104, p. 868-878, 2017.

HUNZIKER, A. T. **Genera Solanacearum. The genera of Solanaceae illustrated, arranged according to a new system**. Liechtenstein: Gantner Verlag, 2001. 516 p.

IGANCI, J. R. V.; HEIDEN, G.; MIOTTO, S. V.; PENNINGTON, R. T. Campos de Cima da Serra: the Brazilian Subtropical Highland Grasslands show an unexpected level of plant endemism. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 167, p. 378-393, 2011.

KAMVAR, Z. N.; BROOKS, J. C.; GRÜNWARD, N.J. Novel R tools for analysis of genome-wide population genetic data with emphasis on clonality. **Frontiers in Genetics**, v. 6, 208, 2015.

KAMVAR, Z.N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWARD, N. J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, e281, 2014.

MARTINELLI, M.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. 1100p.

NEI, M.; LI, W-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

PINANGÉ, D. S.; LOUZADA, R. B.; WÖHRMANN, T.; KRAPP, F.; WEISING, K.; ZIZKA, G.; POLO, E. M.; WANDERLEY, G. L.; BENKO-ISEPPON, A. M. Population genetics shed light on species delimitation and life history of the *Dyckia pernambucana* complex (Bromeliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 192, p. 706-725, 2020.

PORTIS, E.; COMINO, C.; LENZI, A.; LOMBARDI, P.; TESI, R.; LANTERI, S. Amplified fragment length polymorphism for variety identification and genetic diversity assessment in oleander (*Nerium oleander* L.). **Euphytica**, v.136, n.2, p.125-137, 2004.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: **R Foundation for Statistical Computing**, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 09 jun. 2022.

RUAS, R. B.; PAGGI, G. M.; AGUIAR-MELO, C.; HIRSCH, L. D.; BERED, F. Strong genetic structure in *Dyckia excelsa* (Bromeliaceae), an endangered species found on ironstone outcrops in Pantanal, Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 192, p. 691-705, 2020.

SHAN, F.; CLARKE, H.; YAN, G.; PLUMMER, J. A.; SIDDIQUE, K. H. Development of DNA fingerprinting keys for discrimination of *Cicer echinospermum* (PH Davis) accessions using AFLP markers. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.55, n.9, p.947-952, 2004.

SIMPSON, B. B.; NEFF, J. Floral rewards: Alternatives to pollen and nectar. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 68, p. 301-322, 1981.

VEKEMANS, X. AFLP-SURV version 1.0. Laboratoire de Genetique et Ecologie Vegetale. **Universite Libre de Bruxelles, Belgium**, 2002. Disponível em: <https://ebe.ulb.ac.be/ebe/AFLP-SURV.html>. Acesso em: 09 jun. 2022.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERA, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.



DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Mimosa hatschbachii*

Sara Mataroli de Godoy¹, Daniele Cassiano Feliciano¹, João Fernando Marques da Silva², Paulo Maurício Ruas³, Claudete de Fátima Ruas¹

¹ – Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

² – Departamento de Biologia Animal e Vegetal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

³ – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR

RESUMO

Introdução. Apesar de ser o país com a maior biodiversidade do mundo, o Brasil é também um país cujos biomas vem sendo sistematicamente degradados, o que coloca em risco a sobrevivência de muitas espécies. Não é por acaso que cerca de 48% das espécies de plantas de ocorrência no país, que tiveram seus status analisado, encontram-se classificadas em alguma categoria de risco de extinção. Dentre elas se encontra *Mimosa hatschbachii*, classificada como “Em perigo” de extinção e endêmica ao estado do Paraná, onde se encontra distribuída em afloramentos rochosos. **Objetivos.** Como poucas informações são disponíveis para a espécie e a avaliação do status genético possibilita elucidar riscos de ameaça, o presente estudo teve por objetivo estimar os índices de diversidade genética de *M. hatschbachii* e obter informações acerca do status genético da espécie. **Metodologia.** O protocolo para obtenção de marcadores AFLP foi aplicado à 159 amostras, proveniente de sete populações distribuídas pelos afloramentos rochosos da região Centro-Sul do Paraná. A consistência e poder de discriminação dos marcadores foram verificadas por meio de uma curva de acumulação genotípica. Em seguida, análises de diversidade genética e de relações entre as populações foram realizadas. **Resultados.** Os 698 marcadores gerados foram suficientes e altamente informativos, evidenciando, de maneira geral, baixa diversidade genética para todas as populações, com índices que variaram de $H_j = 0,11$ (TUR1) à $H_j = 0,15$ (PAG). Também as relações genéticas, inferidas por Minimum Spanning Tree Network, sugerem estruturação genética e fluxo gênico restrito. De maneira geral, é esperado que espécies endêmicas e de distribuição restrita tenham níveis de diversidade genética menores do que espécies amplamente distribuídas, bem como maior estruturação, uma vez que a deriva genética, endogamia e seleção natural tendem a exercer maiores pressões nessas. **Conclusão.** Ainda assim, dada a importância da diversidade genética no processo de adaptação evolutiva, os índices encontrados em *M. hatschbachii* são preocupantes, especialmente pelo fato da espécie já se encontrar ameaçada. Por essa razão, ações de conservação devem ser priorizadas, de maneira a evitar perdas ainda maiores da diversidade genética da espécie, o que poderia inviabilizar sua sobrevivência a longo prazo.

Palavras-chave: Afloramentos rochosos; conservação; espécie ameaçada; marcadores moleculares.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta a flora mais rica do mundo, com mais de 36.000 espécies de plantas nativas, o que representa quase 15% da flora mundial. Além disso, no Brasil encontram-se dois dos oito hotspots neotropicais de biodiversidade: a Mata Atlântica e o Cerrado (GIULIETTI et al., 2005; MYERS et al., 2000). Entretanto, devido a extensiva degradação ambiental que esses biomas vêm sofrendo, as espécies que neles residem têm apresentado, cada vez menos, potencial de adaptação e sobrevivência. A avaliação do status de 6.046 espécies da flora brasileira mostrou que 2.953 (48%) estão classificadas em alguma categoria de ameaça (“Vulnerável”, “Em Perigo” e “Criticamente em Perigo”) e, ainda, 554 (9%) caem dentro da classificação “Dados Insuficientes” (CNCFLORA, 2012; MARTINELLI; MORAES, 2013). Portanto, ainda que o número de espécies da flora brasileira seja consideravelmente elevado, também o grau de destruição dos habitats naturais de ocorrência das mesmas é intenso, sendo especialmente grave para as espécies ameaçadas (LOYOLA et al. 2018; SPIELMAN, 2004).

Dentre as espécies brasileiras ameaçadas encontra-se *Mimosa hatschbachii* Barneby, uma planta arbustiva, endêmica do Paraná, listada no Livro Vermelho da Flora do Brasil como “Em perigo” (EN) de extinção e que ocupa uma área restrita de 614,75 km² (CNCFLORA, 2012; MARTINELLI; MORAES, 2013). Esta espécie está circunscrita na tribo Mimoseae da subfamília Mimosoideae, compondo a família Leguminosae ou Fabaceae (BARNEBY, 1991; LEWIS et al. 2005) e, apesar de ameaçada, poucos são os dados disponíveis acerca da mesma.

Informações obtidas através da aplicação de marcadores moleculares permitem avaliar o status genético das espécies, possibilitando elucidar os reais riscos de ameaça. Isso é especialmente importante, tendo em vista que a alta diversidade genética proporciona rápida capacidade de resposta às mudanças ambientais (SHARMA et al., 2000), enquanto a baixa diversidade tende a reduzir a capacidade reprodutiva e potencial evolutivo, podendo levar populações e espécies à extinção (JEONG et al., 2010; OUBORG, et al., 2006; SPIELMAN et al. 2004). Portanto, os marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados, uma vez que fornecem, além de estimativas de diversidade genética, informações sobre os padrões de fluxo gênico, o grau de isolamento e a distribuição dessa diversidade genética dentro e entre populações (SUNNUCKS, 2000), servindo de base para escolha de estratégias de conservação. Considerando o exposto, o presente estudo teve por objetivo estimar os índices de diversidade genética de sete populações de *M. hatschbachii* de ocorrência em afloramentos rochosos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de sete populações de *M. hatschbachii* (TUR1 e TUR2 – Município de Turvo; PAG – Guarapuava; CRG – Candói; CAN – Candoí; PFJ – Foz do Jordão; MA – Mangueirinha) foram coletadas em afloramentos rochosos de basalto, os quais se encontram distribuídos na região Centro-Sul do Estado do Paraná. A extração de DNA foi realizada por meio de tampão CTAB 2%, segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1987) com modificações. Após extraído, o DNA total teve sua integridade verificada em gel de agarose 1% e sua quantificação realizada em espectrofotômetro NanoDrop 2000/2000c.

Para acessar a diversidade genética das populações da espécie, foram aplicados marcadores AFLP. O método de obtenção dos marcadores seguiu o protocolo proposto por Vos et al. (1995), com modificações implementadas por Godoy et al. (2017). Foram utilizadas as seguintes combinações de primers seletivos, os quais foram marcados com fluorescência para posterior eletroforese capilar em sistema automatizado ABI 3500xL: (6-FAM) *EcoRI*-AGC / *MseI*-CTAG; (VIC) *EcoRI*-ATC / *MseI*-CTTC; (NED) *EcoRI*-ACC / *MseI*-CTC; (PET) *EcoRI*-ACG / *MseI*-CTA. Os marcadores obtidos a partir dos quatro pares de primers seletivos foram combinados em uma única matriz binária.

Como forma de verificar a consistência dos dados, foi calculada uma curva de acumulação genotípica por meio do pacote poppr v.2.8.0 (KAMVAR et al., 2014; KAMVAR et al., 2015) implementado no R v.4.0.1 (R CORE TEAM, 2020). A diversidade genética intrapopulacional foi estimada por meio do número de loci polimórficos (LP), percentual de loci polimórficos (PLP) e da diversidade gênica (H_j), usando o software AFLP-SURV v.1.0 (VEKEMANS, 2002). Para verificar as relações genéticas entre as populações, foi construída uma Minimum Spanning Tree Network (MSTN) a partir da distância de Nei-Li (NEI; LI, 1979) por meio do pacote poppr v.2.8.0 (KAMVAR et al., 2014; KAMVAR et al., 2015) implementado no R v.4.0.1 (R CORE TEAM, 2020).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quatro combinações de primers seletivos geraram 698 marcadores AFLP para as sete populações analisadas de *M. hatschbachii*, dos quais, 685 foram polimórficos (98,14%). A curva de acumulação genotípica (Figura 1) atingiu o platô com apenas 80 marcadores e, a partir de 240, nenhuma variância foi observada. Os dados obtidos evidenciam a eficiência dos marcadores gerados em discriminar os genótipos multilocus únicos da amostragem (KAMVAR et al., 2015; MÚNERA et al., 2019) e sua utilidade para estimar parâmetros genético-populacionais.

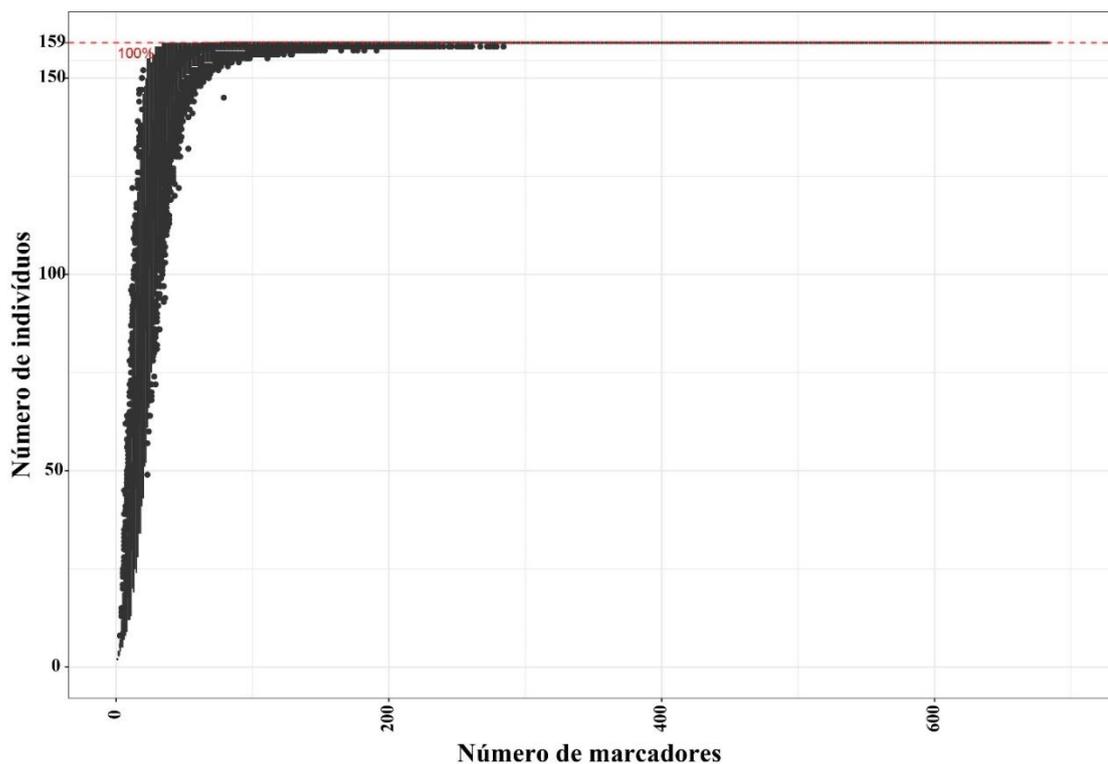


Figura 1. Curva de acumulação genotípica para 159 amostras de *Mimosa hatschbachii* a partir de 698 marcadores AFLP. O eixo horizontal representa o número de loci amostrados aleatoriamente, enquanto o eixo vertical mostra o número de genótipos multilocus observados.

Os índices de diversidade genética se mostraram baixos, tendo variado de $H_j = 0,11$ na população TUR1 à $H_j = 0,15$ na população PAG. Também o número e o percentual de locus polimórficos foram baixos e variaram na mesma tendência, sendo maiores na população PAG (LP = 333; PLP = 47,70%) e menores na população TUR1 (LP = 242; PLP = 34,00%). Baixos índices de diversidade genética têm sido observados em espécies de ocorrência aos

afloramentos rochosos de basalto no estado do Paraná, especialmente as de distribuição restrita, como pode ser observado na espécie ameaçada de extinção *Portulaca hatschbachii* D.Legrand (Portulacaceae) (FELICIANO et al., 2022), bem como na espécie, também ameaçada, *Zephyranthes paranaensis* Ravenna (Amaryllidaceae) (APRÍGIO, 2020).

De maneira geral, é esperado que espécies endêmicas e de distribuição restrita, como as que ocorrem em afloramentos rochosos, tenham níveis de diversidade genética menores do que espécies amplamente distribuídas, pois processos evolutivos como a deriva genética, endogamia e seleção natural tendem a exercer maiores pressões nessas (GIBSON et al., 2008; HONNAY; JACQUEMYN, 2007). Uma vez, entretanto, que a diversidade genética consiste na matéria prima que permite modificações adaptativas e, por consequência, a sobrevivência das populações e espécies (FRANKHAM et al., 2010), o fato desta ser baixa em *M. hatschbachii* acende um alerta, especialmente pelo fato da espécie já se encontrar ameaçada.

A Minimum Spanning Tree Network (Figura 2) evidenciou a prevalência de agrupamento das amostras de mesma população, exceção apenas às populações TUR1 e TUR2 que compartilharam alguns indivíduos. Na análise é possível verificar uma maior distância entre as populações MA/ TUR1 e PAG/ CAN, sendo a população CRG, aparentemente, a mais próxima das demais populações.

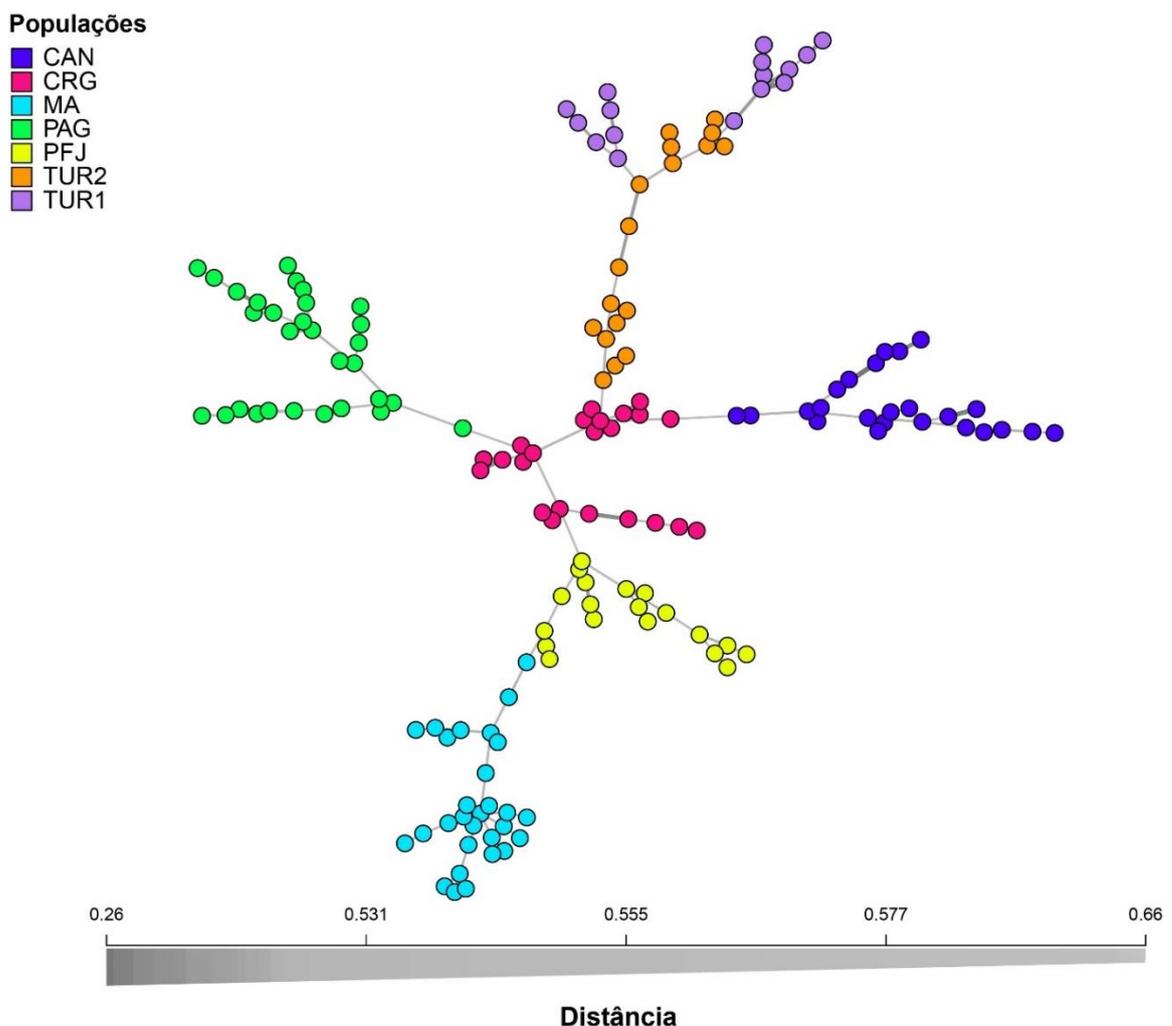


Figura 2. Minimum Spanning Tree Network de sete populações de *Mimosa hatschbachii*, construída por meio da distância de Nei-Li a partir de marcadores AFLP.

O fato de as amostras não apresentarem, de maneira geral, mistura entre populações evidencia a presença de estruturação genética populacional e sugere fluxo gênico restrito entre as mesmas. Dentre os fatores responsáveis pela estruturação genética populacional, o sistema reprodutivo tem grande influência, especialmente em espécies autógamas ou de reprodução clonal, as quais tendem a apresentar maior estruturação do que espécies alógamas. Infelizmente, dados sobre o modo de reprodução de *M. hatschbachii* não estão disponíveis, entretanto, à exceção de poucas espécies, como *Mimosa scabrella* Benth, o gênero *Mimosa* é conhecido por apresentar autoincompatibilidade (SOBIERAJSKI et al., 2006). Também a natureza dos afloramentos rochosos pode contribuir para a estruturação genética populacional, uma vez que funcionam como ilhas terrestres, limitando notavelmente o fluxo gênico entre populações de plantas. Por essa razão, espécies de ocorrência em tais afloramentos têm mostrado considerável isolamento genético (FELICIANO et al., 2022; GONÇALVES-OLIVEIRA et al., 2017; RUAS et al., 2020).

4 CONCLUSÃO

Os marcadores AFLP, gerados no presente estudo, foram eficientes em estimar os índices de diversidade genética de *M. hatschbachii*, os quais se mostram baixos e sugerem a presença de estruturação genética devido à um fluxo gênico restrito. Uma vez que a espécie já se encontra ameaçada de extinção e apresenta distribuição restrita, ações de conservação devem ser traçadas, de modo a minimizar a perda de diversidade genética e assim possibilitar a adaptação e sobrevivência da espécie a longo prazo.

REFERÊNCIAS

APRÍGIO, N.G.O. **Diversidade e estrutura genética de populações de *Zephyranthes* (*Z. paranaensis* e *Z. flavissima*) de ocorrência em afloramentos rochosos basálticos do estado do Paraná.** 2020. 47 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

BARNEBY, R.C. **Sensitivae censitae: a description of the genus *Mimosa* Linnaeus (Mimosaceae) in the new world.** New York: Memoirs of the New York Botanical Garden, v. 65, 1991. 835 p.

CNFLORA (CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA). ***Mimosa hatschbachii* Barneby, 2012.** Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/ptbr/profile/Mimosa%20hatschbachii>. Acesso em 09 jun. 2022.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.

FELICIANO, D. C.; GODOY, S. M.; SILVA, J. F. M.; GÓES, B. D.; FERRAZ, J. R.; SANTOS, P. O.; RIBEIRO, J. E. L. S.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F. Landscape genetics reveal low diversity and adaptive divergence in *Portulaca hatschbachii* (Portulacaceae): an endangered species endemic to rocky outcrops of the Atlantic Forest. **Botanical Journal of the Linnean Society**, boac006, 2022.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to conservation genetics**. Cambridge University Press, Cambridge. 2ed. 2010. 619p.

GIBSON, M. J. S.; RICE, S. A.; STUCKE, C. M. Comparison of population genetic diversity between a rare, narrowly distributed species and a common, widespread species of *Alnus* (Betulaceae). **American Journal of Botany**, v. 95, p. 588-596, 2008.

GIULIETTI, A. M.; HARLEY, R.M.; QUEIROZ, L. P.; WANDELERY, M. G.; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Mega diversidade**, v. 1, p. 52-61, 2005.

GODOY, S. M.; SILVA, J. F. M.; PAULA, G. B. N.; RUAS, P. M.; GÓES, B. D.; RUAS, C. F. Phylogenetic relationships of Brazilian *Mikania* species (Asteraceae, Eupatorieae) based on multilocus DNA markers. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 184, p. 326-346, 2017.

GONÇALVES-OLIVEIRA, R. C.; WÖHRMANN, T.; BENKO-ISEPPON, A. M.; KRAPP, F.; ALVES, M.; WANDERLEY, M. G. L.; WEISING, K. Population genetic structure of the rock outcrop species *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae): the role of pollination vs. seed dispersal and evolutionary implications. **American Journal of Botany**, v. 104, p. 868-878, 2017.

HONNAY, O.; JACQUEMYN, H. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. **Conservation Biology**, v. 21, p. 823-831, 2007.

JEONG, J. H.; KIM, E. H.; GUO, W.; YOO, K. O.; JO, D. G.; KIM, Z. S. Genetic diversity and structure of the endangered species *Megaleranthis saniculifolia* in Korea as revealed by allozyme and ISSR markers. **Plant Systematics and Evolution**, v. 289, p. 67-76, 2010.

KAMVAR, Z. N.; BROOKS, J. C.; GRÜNWARD, N.J. Novel R tools for analysis of genome-wide population genetic data with emphasis on clonality. **Frontiers in Genetics**, v. 6, 208, 2015.

KAMVAR, Z.N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWARD, N. J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, e281, 2014.

LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MacKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the world**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2005. 577p.

LOYOLA, R.; MACHADO, N.; NOVA, D.V.; MARTINS, E.; MATINELLI, G. **Áreas prioritárias para a conservação da flora endêmica do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: Graffiti Programação Visual – Instituto de Pesquisa Jardim Botânico, 2018. 60 p.

MARTINELLI, M.; MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. 1100p.

MÚNERO, J. D.; QESADA-OCAMPO, L. M.; ROJAS, A.; CHILVERS, M. I.; HAUSBECK, M. K. Population structure of *Pythium ultimum* from Greenhouse Floral Crops in Michigan. **Plant Disease**, v. 103, p. 859-867, 2019.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NEI, M.; LI, W-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 76, n. 10, p. 5269-5273, 1979.

OUBORG, N. J.; VERGEER, P.; MIX, C. The rough edges of the conservation genetics paradigm for plants. **Journal of Ecology**, v. 94, n. 6, p. 1233-1248, 2006.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing**, 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 09 jun. 2022.

RUAS, R. B.; PAGGI, G. M.; AGUIAR-MELO, C.; HIRSCH, L. D.; BERED, F. Strong genetic structure in *Dyckia excelsa* (Bromeliaceae), an endangered species found on ironstone outcrops in Pantanal, Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 192, p. 691-705, 2020.

SHARMA, I. K.; CLEMENTS, M. A.; JONES, D. L. Observations of high genetic variability in the endangered Australian terrestrial orchid *Pterostylis gibbosa* R. Br. (Orchidaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 7, p. 651-663, 2000.

SOBIERAJSKI, G. R.; KAGEYAMA, P. Y. e SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em nove populações de *Mimosa scabrella* Benth. (Leguminosaceae). **Scientia Forestalis**, v. 71, p. 37-49, 2006.

SPIELMAN, D.; BROOK, B. W.; FRANKHAM, R. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 42, p. 15261-15264, 2004.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, v.15, p.199-203, 2000.

VEKEMANS, X. AFLP-SURV version 1.0. Laboratoire de Genetique et Ecologie Vegetale. **Universite Libre de Bruxelles, Belgium**, 2002. Disponível em: <https://ebe.ulb.ac.be/ebe/AFLP-SURV.html>. Acesso em: 09 jun. 2022.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERA, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.



PREDIÇÃO *IN SILICO* DA FAMÍLIA LECRK NO GENOMA DE REFERÊNCIA DE FEIJÃO-CAUPI

RUANA CAROLINA CABRAL DA SILVA; ROBERTA LANE DE OLIVEIRA SILVA; ANA MARIA BENKO-ISEPPON

Introdução: Lectinas são moléculas bioativas presentes em diferentes organismos, que atuam em processos biológicos relevantes, incluindo atividade antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antitumoral, bem como na defesa vegetal. Estudos recentes relatam que a família de Kinases Receptoras de Lectinas do tipo L (LecRK) possui papel no desenvolvimento vegetal e na resposta a estresses ambientais, sendo diferencialmente expressas durante o crescimento vegetal e em resposta a diferentes estímulos. O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L.) é uma espécie de grande interesse social e econômico para o Brasil, que tem sido alvo de diversos estudos genéticos nas últimas décadas. No entanto, ainda se conhece pouco sobre o papel das LecRKs nesta espécie, especialmente em condições de estresses abióticos e bióticos. **Objetivo:** Este trabalho teve como objetivo realizar uma prospecção das LecRKs presentes no genoma do feijão-caupi. **Material e Métodos:** Dessa forma, foi realizada uma busca por sequências sonda no banco de dados Uniprot. A ferramenta HMMER3 foi utilizada para a análise de homologia das sequências contra o genoma de referência do feijão-caupi, depositado no banco de dados Phytozome. A busca por domínios completos foi realizada no Batch CD-search do NCBI, assim como foram preditos o ponto isoelétrico (p.I) e peso molecular (p.M) pelo JVirGel 2.0. Para a verificação da localização subcelular utilizou-se o Cell-Ploc 2.0. Adicionalmente, foi avaliada a presença de peptídeo sinal no SignalP e pontes dissulfeto no DiaNNA. **Resultados:** Foram obtidas 27 sequências candidatas que continham o domínio LecRK, com p.I variando de 3.93 a 9.05 e p.M. de 26,27 a 76,14, e todas as sequências foram localizadas no núcleo, corroborando ao verificado na literatura. Desse total, dez sequências apresentaram peptídeo sinal e 11 exibiram padrões distintos de pontes dissulfeto, indicando possíveis mudanças na estrutura tridimensional de proteínas da família LecRK. **Conclusão:** Os resultados contribuíram para a seleção de LecRKs promissoras para avaliação do perfil de expressão *in silico* em transcriptomas disponíveis no nosso grupo de pesquisa e posterior validação por PCR quantitativa em tempo real (qPCR).

Palavras-chave: Lectinas; *vigna unguiculata* l.; bioinformática..



SIMULAÇÕES MOLECULARES DA INTERAÇÃO DA REGIÃO CONSERVADA DE CISTEÍNAS DO ECTODOMÍNIO DA PROTEÍNA G DO HRSV COM O RECEPTOR CELULAR CX3CR1 DO HOSPEDEIRO

JOÃO VICTOR PILOTO; ICARO PUTINHON CARUSO

Introdução: O Vírus Sincicial Respiratório humano (hRSV) é um dos principais causadores de doenças respiratórias agudas como bronquiolite e pneumonia em crianças e idosos. Atualmente, as patologias causadas pelo hRSV não são bem entendidas e os resultados de desenvolvimento de vacinas não são satisfatórios. A infectividade do vírus está relacionada com suas proteínas de membrana e dentre elas a glicoproteína G ou proteína G, que é responsável pela ligação do vírus à célula epiteliais aéreas do hospedeiro e consequente instalação da infecção. Esta glicoproteína exerce um importante papel como antígeno de reconhecimento, sendo alvo para identificação do RSV através de anticorpos. Há evidências na literatura de que a proteína G interage com um receptor celular, conhecido como CX3CR1, porém não informações estruturais experimentais sobre essa interação. **Objetivo:** O objetivo principal é caracterizar computacionalmente através de simulações computacionais, tais como modelagem molecular, docking molecular, dinâmica molecular e cálculos de energia livre de ligação, da interação da região conservada de cisteínas do ectodomínio da proteína G do hRSV com o receptor celular CX3CR1 do hospedeiro e suas isoformas. **Metodologia:** A partir da abordagem de modelagem molecular, modelos estruturais para as quatro isoformas do receptor celular foram calculados, os quais passaram por uma etapa de 300 ns de simulação de dinâmica molecular em bicamada lipídica de POPC para avaliação de suas estabilidades estruturais. Em seguida, cálculos de docking molecular buscaram pela conformação mais provável do peptídeo da G na interação com a região N-terminal do barril de hélices alfa do CX3CR1. **Resultado:** Foram realizadas simulações de 300 ns as quais reportaram a estabilidade estrutural do modelo proposto para o complexo CX3CR1/peptídeo da G, apontando os resíduos LYS-171, GLY-177, TYR-179, GLN-184 e ARG-272 da proteína que se destacam por sua importância para a estabilização da interação com o peptídeo, uma vez que participam de ligações de hidrogênio. **Conclusão:** As informações estruturais produzidas no presente trabalho podem trazer luz ao mecanismo de interação da proteína G do hRSV com o receptor celular CX3CR1, assim como proporcionar uma visão molecular do processo de adesão do vírus à célula do hospedeiro.

Palavras-chave: Simulações computacionais, Hrsv, Proteína g, Receptor celular cx3cr1, Modelagem molecular, Dinâmica e docking molecular..



CONTRIBUIÇÕES DOS TESTES SOROLÓGICOS PARA DIAGNÓSTICO DE COVID-19 NO CONTEXTO PANDÊMICO

RICHARD TARCÍSIO DE LIMA ALVES¹, RAIANE AZEVEDO DE OLIVEIRA², ZAYNE MEDEIROS DE ARAÚJO⁴, NATÁLIA RAVENNA DANTAS VASCONCELOS⁴, BRUNA KELLY PINHEIRO LUCENA⁵

¹ – Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES)

² – Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES)

³ – Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES)

⁴ – Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES)

⁵ – Universidade Federal de Campina Grande – Centro de Educação e Saúde (UFCG/CES)

RESUMO

Introdução: O novo coronavírus é responsável por causar síndromes respiratórias graves. Diante disso, medidas como isolamento social foram adotadas para o enfrentamento ao vírus, como também adoção de testes rápidos, entre eles, os testes sorológicos. Os testes sorológicos são um dos critérios para confirmar a presença da doença em pessoas. **Objetivos:** Apresentar, de acordo com a literatura, as contribuições dos testes sorológicos para diagnósticos de infecção por COVID-19 no contexto pandêmico. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo de revisão narrativa de literatura fundamentada em artigos disponíveis nas plataformas de dados PubMed, Scielo e Google Acadêmico. Para a busca dos trabalhos utilizou-se os seguintes strings de busca: “Testes sorológicos”, “IgG e IgM”, e “Covid-19”, interligados pelo operador booleano “AND”. Critérios de inclusão: artigos com estruturação completa, disponíveis de forma gratuita, escritos nos idiomas português ou inglês, entre o recorte de tempo de 2020 a 2022. **Resultados e Discussão:** Os resultados da pesquisa indicam que os testes sorológicos constituem uma ferramenta valiosa, contribuindo para triagem e manejo de pacientes clínicos, em especial aqueles com teste de RNA negativo, para triagem de pessoas que voltaram de viagem e aquelas que retornarão aos estudos ou ao trabalho, estudos epidemiológicos, estudos de prevalência em determinadas regiões, prever gravidade da doença e diagnosticar infecção pelo SARS-CoV-2, juntamente com o método PCR em tempo real, dessa forma eles se complementam. **Conclusão:** Assim, os testes sorológicos são confiáveis para serem usados como critério de diagnóstico, e deve ser usado juntamente com o PCR em tempo real para uma maior confiabilidade.

Palavras-chave: Doença; Anticorpos; Infecção.

1 INTRODUÇÃO

O novo coronavírus foi descrito pela primeira vez em 2019, em Wuhan, China. A partir daí, o mundo começou a lidar com um vírus que pode causar síndromes respiratórias graves, denominada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de COVID-19 (LIMA,

2020). O número de casos de infectados possui grande variação de país a país, isso depende das medidas adotadas pelos governos, medidas de enfrentamento, distanciamento social e testes que ofereçam rápido diagnóstico da infecção por SARS-CoV-2 (WHO, 2020).

Os testes disponíveis para a detecção de infecção pelo coronavírus são: o molecular e imunológico (sorológico). Os testes que envolvem a presença de antígenos, os sorológicos, devem ser utilizados na fase aguda da doença, do 2 a 7 dia após o início dos sintomas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). O Ministério da Saúde brasileiro, considera os testes sorológicos como um dos critérios usados para a confirmação da doença por COVID-19 se os pacientes apresentarem presença de IgM ou IgG (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Diante disso, este trabalho objetiva apresentar, de acordo com a literatura, as contribuições dos testes sorológicos para diagnóstico de infecção por COVID-19 no contexto pandêmico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de revisão narrativa realizada em Abril de 2022 a partir de estudos científicos indexados as plataformas de dados PubMed, Scielo e Google Acadêmico. Para a busca dos artigos utilizou-se os seguintes strings de busca: “Testes sorológicos”, “IgG e IgM” e “Covid-19”, interconectados pelo operador booleano “AND”.

Para a seleção dos artigos, os seguintes critérios de inclusão foram utilizados: artigos com estruturação completa, disponíveis gratuitamente, escritos nos idiomas português ou inglês, entre o recorte de 2020 a 2022, período referente a pandemia causada pelo COVID-19. Os critérios de exclusão foram: resumos simples, resumos expandidos, trabalhos completos disponíveis em anais de eventos científicos, monografias de mestrado e teses de doutorados, bem como artigos em um período de tempo diferente do proposto.

A busca dos artigos nas plataformas gerou um resultado de 802 trabalhos, dos quais, após um refinamento, que se baseou na leitura dos resumos e posteriormente do trabalho completo, foram selecionados 8 artigos para fundamentação dos resultados e discussão. Além disso, foram utilizados 3 trabalhos científicos, bem como informações oficiais retiradas de sites especializados para introduzir o tema proposto.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes sorológicos utilizam amostras de sangue total, soro e plasma para detectar a presença de anticorpos. Os registros dos testes alertam que o resultado não deve ser usado isoladamente para o diagnóstico, é necessário também a avaliação médica, tendo em vista que podem existir falsos negativos, em razão de níveis baixos de anticorpos na amostra (PACHITO et al., 2020). Segundo IDROVO; MORENO-MONTOYA e PINZÓN-FLÓRES (2020) os testes rápidos de anticorpos tem um papel no processo de diagnóstico da infecção e devem passar por uma avaliação que leve em consideração o momento da epidemia, o tipo de teste adquirido e as populações de risco.

Algumas das potenciais aplicações da sorologia podem ser: triagem e manejo de pacientes clínicos, especialmente aqueles com teste de RNA negativo, triagem de pessoas que voltaram de viagens e aquelas que retornarão à escola ou ao trabalho, efetuar um inquérito sorológico de base populacional, afim de entender a prevalência e patogenicidade da infecção por SARS-Cov-2 em diferentes regiões e populações (SIDIQ et al., 2020)

A pesquisa realizada por Xie et al., (2020) demonstrou que os testes para anticorpos específicos para vírus, IgM e IgG, teve uma taxa de resultados positivos significativamente maior do que o teste de ácido nucleico, o PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Mas, a combinação do teste sorológico e do PCR é o método ideal para diagnosticar a infecção por SARS-CoV-2. Corroborando com Aoki et al., (2021) que também testifica que o ensaio com IgG melhora a robustez do diagnóstico laboratorial compensando as limitações de cada

método. O SARS-Cov-2 induz uma resposta aguda típica de anticorpos duramente a infecção. O teste de sorologia fornece um complemento importante para o teste de RNA nos estágios posteriores da doença (LOU et al., 2020). Os anticorpos, se medidos no início da doença, podem prever adequadamente a gravidade da doença. A IgG claramente tem um papel na confirmação de casos de COVID-19, e também é uma boa opção disponível comercialmente (OZTURK et al., 2020).

Os ensaios sorológicos de IgG parecem ser uma ferramenta confiável para levantamentos sorológicos epidemiológicos e para diagnóstico retrospectivo de infecção pelo coronavírus. Além disso, destaca-se o potencial dos testes para melhorar o controle epidemiológico e o manejo clínico de COVID-19 (CHIEREGHIN et al., 2021).

4 CONCLUSÃO

Os testes sorológicos contribuem para estudos epidemiológicos, controle de infecção em populações e possuem confiabilidade para diagnóstico individual de SARS-CoV-2. É importante destacar que para uma maior confiabilidade do diagnóstico, os testes sorológicos devem ser efetuados juntamente com o teste PCR em tempo real, como também deve haver acompanhamento de profissionais de saúde.

REFERÊNCIAS

AOKI, K.; et al. Combination of a SARS-CoV-2 IgG Assay and RT-PCR for improved COVID-19 diagnosis. **Ann Lab Med.** v. 41, n. 6, p. 568-576, nov. 2020.

CHIEREGHIN, A.; et al. Recent Advances in the Evaluation of Serological Assays for the Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection and COVID-19. **Frontiers in Public Health.** v. 8, p. 1-9, feb. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.620222>

IDROVO, A. J.; MORENO-MONTOYA, J.; PINZÓN-FLÓREZ, C. E. **Biomedica**, v. 40, p. 139-147, 2020. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.5829>.

LIMA, C. M. A. O. Informações sobre o novo coronavírus (COVID-19). **Radiol Bras.** v. 53, n. 2, p. 5-6, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/0100-3984.2020.53COVI>

LOU, B.;. Serology characteristics of SARS-COV-2 infection after exposure and post-symptom onset. **European Respiratory Journal.** v. 56, p. 1-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.00763.-2020>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus (2019-nCov)**. Brasília - DF, 2020. Disponível em:

<<https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/biblioteca/protocolo-de-manejo-clinico-para-o-novo-coronavirus2019-ncov/>>. Acesso em 08, Abr. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/publicacoes-tecnicas/guias-e-planos/guia-de-vigilancia-epidemiologica-covid-19/view>>. Acesso em 08, Abr. 2022.

OZTURK, T.; et al. Cross-sectional IgM and IgG profiles in SARS-CoV-2 infection. **MedRxiv.** p. 1-21, may. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.05.10.20097535>

PACHITO, D. V.; et al. **Testes diagnósticos para Covid-19. Síntese de evidência.** 2020. Disponível em: <<https://oxfordbrazilebm.com/index.php/2020/03/27/testes-diagnosticos-covid-19/>>. Acesso em 08, Abr. 2022.

SIDIQ, Z.; HANIF, M.; DWIVEDI, K. K.; CHOPRA, K. K. Benefits and limitations of serological assays in COVID-19 infection. **Indian J. Tuberc.** v. 67, n. 4, p. 163-166, Aug. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2020.07.030>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard.Published.** 2020. Disponível em: <https://www.covid19.who.int/>. Acesso em 26, abr. 2020.

XIE, J.; et al. Characteristics of patients with coronavirus disease (COVID-19) confirmed using an IgM-IgG antibody test. **J Med Virol.** p. 1-7, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/jmv.25930>



IMPORTÂNCIA DA MICROSCOPIA E PRESENÇA DA BIOTECNOLOGIA: NO ENSINO DE CIÊNCIAS EM ESCOLAS PÚBLICAS

FILIPE TEIXEIRA PINHEIRO DE SOUZA

Introdução: Visualização microscópica de seres, sendo eles de qualquer espécime, é de suma importância para compreensão, da formação e reorganização, do pensamento sobre tudo que nesse vasto mundo e até mesmo, fora dele habita. E juntamente, a biotecnologia carrega consigo o estudo e desenvolvimento de organismos geneticamente modificados e suas utilizações para fins produtivos.

Objetivo: relatar a experiência com alunos de escola pública em contato com os métodos experimentais de microscopia, inflando a curiosidade e a busca por conhecer e entender, facilitando o aprendizado para se tornar mais palpável e real o que era visto apenas nos livros, bem como práticas de vivência para questionarem a realidade de como os fenômenos de mudança, criação ou renovação acontecem e como elas estão presentes em seus meios de diversas formas, como pela biotecnologia, sendo ela, de grande importância, não somente, mas para a área da saúde e permitindo que os estudantes possam se reconhecer como membros de uma comunidade e sejam capazes de tomar decisões fundamentadas em conceitos cientificamente atualizados. **Material e Métodos:** trata-se de um relato de experiência com uma abordagem prática em meio escolar, onde foi aplicado a manipulação do microscópio e a elaboração de lâminas simples de plantas. **Resultados:** a análise mostrou que após mostrar aos estudantes algo novo e diferente, não visível sem auxílio do microscópio, o interesse pelas práticas laboratoriais, exclusivamente a microscopia, aplicada naquele momento, se nota um aumento em relação à realidade anterior. **Conclusões:** se pode concluir, que pode-se fazer um esforço maior nas escolas ou para com que se mantenha essas práticas, inclusivas de laboratórios ou meios simples de reconhecimento e aprendizado da visualização microscópica, pois com isso, nossos pequenos estudantes possam sempre questionar “por quê” e “como” os levando a cada vez mais ser um ser crítico científico e rico em conhecimento e em vontade de aprender mais, assim superando suas barreiras.

Palavras-chave: Biotecnologia, Laboratórios, Microscopia.



ALTERAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DOS FIBROBLASTOS ASSOCIADOS AO QUELÓIDE POR EXPOSIÇÃO À TOXINA BOTULÍNICA TIPO A

FELLIPE DANEZI FELIN; GIULLIANO DANEZI FELIN; GIANCARLO DANEZI FELIN;
CAROLLINA DANEZI FELIN; IZABELLA PAZ DANEZI FELIN

Introdução: O quelóide é caracterizado pela invasão de fibroblastos para além dos limites da cicatriz operatória. A toxina botulínica tipo A é uma neurotoxina útil no tratamento de várias condições médicas e estéticas. **Objetivos:** Identificar as alterações genéticas responsáveis pelo crescimento invasivo de fibroblastos no quelóide e a intervenção baseada no uso de toxina botulínica tipo A. **Metodologia:** Revisão de literatura através de pesquisa de artigos realizada na base de dados MEDLINE, via PubMed, utilizando-se os seguintes termos: “Keloid” [AND] “Fibroblast” [AND] “Toxins Botulinum Type A”. Aplicado filtro “10 anos” foram encontrados 4 resultados. Após utilização dos critérios de inclusão (adequação ao tema, últimos 10 anos) e exclusão (fora dos critérios de inclusão e ou duplicados), foram selecionados 3 artigos para compor essa revisão. Realizada a extração dos dados e análise para redação. **Resultados:** A etiopatogenia do quelóide ainda seja pouco conhecida, o mecanismo de ação da utilização de BoNT-A em cicatriz queloidiana tem mostrado uma intervenção satisfatória em relação ação dos fibroblastos e conseqüentemente, também na síntese do colágeno e na tensão da ferida operatória, além da associação à inibição da invasão dos fibroblastos além da cicatriz característica do quelóide. Embora o mecanismo de atuação da BoNT-A já esteja mais claro, os mecanismos genéticos e moleculares desse processo ainda estão sendo desvendados. Estudos recentes demonstraram que a exposição dos fibroblastos do quelóide à BoNT-A é capaz de alterar a expressão dos genes S100A4, TGF- β 1, VEGF, MMP-1 e PDGFA, onde S100A4 foi regulado positivamente e os demais foram regulados negativamente. Esses achados são muito importantes, pois já existiam informações na literatura estabelecendo relações entre esses genes e a cicatrização das feridas. As MMP são responsáveis pela remodelação do colágeno, como BoNT-A é capaz de regular negativamente o gene da MMP, também é capaz de reduzir a remodelagem, levando a maior deposição de colágeno. **Conclusão:** Os resultados de estudos utilizados nesta revisão de literatura sobre a temática proposta, apontam para que a utilização da BoNT-A possa ser uma provável alternativa interessante no tratamento desfiador do quelóide, tendo um valor relevante na cirurgia plástica.

Palavras-chave: Cicatrização;, Cirurgia plástica;, Fibroblastos;, Quelóide..



GENÉTICA MOLECULAR DOS GLIOMAS CEREBRAIS: IMPORTÂNCIA NA CLASSIFICAÇÃO, SOBREVIDA E TRATAMENTO

CAROLLINA DANEZI FELIN; GIULLIANO DANEZI FELIN; GIANCARLLO DANEZI FELIN;
FELLIPE DANEZI FELIN; IZABELLA PAZ DANEZI FELIN

Introdução: No Brasil os gliomas representam 42% dos tumores cerebrais. Originam-se do parênquima cerebral e tem comportamento variado. Os de alto grau são agressivos e tem sobrevida média global de 15 meses. Os de baixo grau tem sobrevida de 2-5 anos, podem recidivar ou progredir para piores graus. **Objetivos:** Identificar a genética molecular dos gliomas e sua importância na classificação, sobrevida e tratamento desses tumores. **Metodologia:** Revisão de literatura através de pesquisa na base de dados MEDLINE, via PubMed, utilizando os termos: “glioma” [and] “molecular genetics” [and] “therapy”. Aplicados os filtros de busca: “textos completos gratuitos”, “dados associados” e “últimos 5 anos”. Foram encontrados 22 resultados e incluídos 6 para esse estudo. Os critérios de elegibilidade foram todos os artigos coincidentes com tema proposto conforme os filtros e termos de busca. Excluiu-se 16 artigos por não contemplarem os critérios elegíveis. Realizada extração de dados, análise dos resultados e redação dessa revisão. **Resultados:** No contexto do glioma estão os seguintes tumores: astrocitoma, oligodendroglioma, glioblastoma multiforme e ependimoma. Há marcadores genéticos específicos que caracterizam os astrocitomas de acordo com os graus de I até IV. Os glioblastomas secundários apresentam mutações nos genes *IDH1* ou *IDH2* diferentemente da apresentação primária. Os astrocitomas e os oligodendrogliomas podem expressar mutações dos genes *IDH1* ou *IDH2*. Os oligodendrogliomas frequentemente tem mutação *IDH1/2* e codeleção 1p/19q, enquanto que os astrocitomas tem mutação dos genes *ATRX*, *pTP53* e *IDH1/2*, sem a codeleção 1p/19q. A codeleção 1p/19q é característica dos tumores oligodendrogliais, útil no diagnóstico e também como preditor de melhor sobrevida e melhor resposta à radioterapia e à quimioterapia. A presença da mutação *IDH1/2* relaciona o tumor a um melhor prognóstico e melhor resposta à quimioterapia. Existem quatro graus do ependimoma e nove subtipos moleculares distintos, determinado variabilidade genotípica e fenotípica, determinando tratamento e prognóstico diversos. **Conclusão:** Foi possível identificar que o perfil genético molecular dos gliomas é determinante tanto para subclassificar quanto para prever sobrevida e tratamento, pois a genética molecular heterogênea dos gliomas mostrou caracterizar doenças com fenótipos distintos. O conhecimento da genética molecular pode abrir novas oportunidades de tratamento indicando estratégias mais específicas de tratamento.

Palavras-chave: Glioma;, Perfil genético;, Prognóstico;, Sobrevida..



GENÉTICA MOLECULAR, UM ALVO TERAPÊUTICO NO CÂNCER COLORRETAL AVANÇADO: PESQUISA DE INSTABILIDADE DE MICROSATÉLITE E MUTAÇÃO NO ONCOGENE KRAS

GIULLIANO DANEZI FELIN; GIANCARLLO DANEZI FELIN; CAROLLINA DANEZI FELIN;
FELLIPE DANEZI FELIN; IZABELLA PAZ DANEZI FELIN

Introdução: Conhecimentos da genética molecular (GM) do câncer colorretal (CCR) estabeleceram novas terapias alvo específicas (TAE) que impactaram no prognóstico e sobrevida dos doentes. É muito relevante a identificação das alterações da GM do CCR que possam determinar TAE e assim modificar o curso clínico dessa doença altamente incidente e letal no mundo todo. **Objetivos:** Identificar a genética molecular do CCR avançado e sua implicação como alvo terapêutico. **Metodologia:** Revisão de literatura através de pesquisa realizada na base de dados MEDLINE, via PubMed, utilizando-se os seguintes termos DeCS/ MeSH: “colorectal cancer” [and] “microsatellite instability” [and] “kras mutation” [and] “treatment”. Aplicados o filtro de busca “últimos 5 anos” foram encontrados 15 resultados e incluídos 6 para esse estudo. Os critérios de elegibilidade foram todos os artigos coincidentes com tema proposto, conforme o filtros e termos de busca. Excluiu-se 9 artigos por não contemplarem os critérios elegíveis. Realizada extração de dados, análise dos resultados e redação dessa revisão. **Resultados:** O CCR avançado tem genótipo heterogêneo, portanto seu tratamento é desafiador. A TAE tem demonstrado ser capaz de revolucinar esse panorama, pois justamente tem como alvo as alterações GM, individualizando o tratamento. A instabilidade de microsatélite (IMM) evidenciada pela perda da expressão de proteínas de reparo do DNA, detectada por imunohistoquímica (IMH), indica imunoterapia (IMT). Os CCR com IMM tem melhor sobrevida porque respondem à IMT. Alguns CCR respondem ao tratamento anti receptor de fator de crescimento epidérmico (anti-EGFR), exceto os que tem mutação BRAF. Aproximadamente 40% dos pacientes com CCR tem associação da mutação BRAF e IMM, mas ainda não há evidências concretas que isso estabeleça pior prognóstico. **Conclusão:** Essa revisão permitiu identificar que a GM do CCR avançado é um determinante importante para TAE, pois a IMM seleciona pacientes para imunoterapia, enquanto a mutação Kras contraindica a TAM anti-EGFR. A identificação da GM do CCR metastático deve ser realizada antecipadamente para que se possa adequar o tratamento sistêmico quando possível, no momento adequado.

Palavras-chave: Imunoterapia;, Instabilidade de microssatélite;, Neoplasias colorretais;, Reparo do dna;, Terapia de alvo molecular..



GENÉTICA MOLECULAR DO CÂNCER DE MAMA: IMPLICAÇÕES NA CLASSIFICAÇÃO MOLECULAR E NO ALVO TERAPÊUTICO

GIANCARLLO DANEZI FELIN; GIULLIANO DANEZI FELIN; CAROLLINA DANEZI FELIN;
FELLIPE DANEZI FELIN; IZABELLA PAZ DANEZI FELIN

Introdução: Antigamente a classificação do câncer de mama (CM) era estabelecida exclusivamente através de critérios histopatológicos e seu tratamento direcionado pelo estadiamento. Atualmente foi incorporada uma classificação molecular o que determinou novas possibilidades antineoplásicas. Nesse sentido, o estudo da genética molecular do CM é altamente relevante, pois além de direcionar sua classificação e tratamento, relaciona-se à neoplasia mais incidente nas mulheres no mundo todo. **Objetivos:** Identificar a genética molecular do câncer de mama e sua implicação na classificação e no alvo terapêutico. **Metodologia:** Revisão de literatura através de pesquisa na base de dados MEDLINE, via PubMed, utilizando-se os termos DeCS/ MeHS: "breast cancer" [and] "molecular classification" [and] "targeted therapy". Aplicados filtros de busca: "textos completos gratuitos" e "últimos 5 anos". Encontrados 10 resultados e incluídos 3 nesse estudo. Os critérios de elegibilidade foram todos os artigos coincidentes com tema proposto, conforme os filtros e termos de busca. Excluiu-se 7 artigos por não contemplarem os critérios elegíveis. Realizada extração de dados, análise dos resultados e redação dessa revisão. **Resultados:** A genética molecular do CM é heterogênea, o que permite classificá-lo conforme alterações da expressão gênica dos receptores hormonais (RH), do receptor de fator de crescimento epidérmico tipo 2 (HER2) e do índice de proliferação celular Ki67/MIB-1, nos subtipos: luminal A (LA), luminal B (LB), HER2 e triplo negativo (TN). Os LA e parte dos LB superexpressam RH, mas não o HER2. Nos LA o Ki67/MIB-1 é menor que 14%, enquanto nos LB é igual ou superior a 14%. Os LA e LB que hiperexpressam RH, mas não expressam HER2, independente do Ki67, devem receber bloqueio hormonal (BH), mas a terapia alvo molecular (TAM) é contraindicada. Alguns LB são triplo positivos porque hiperexpressam RH e HER2, esses tem indicação combinada de BH e TAM. O subtipo HER2 usa exclusivamente TAM, enquanto que o TN não responde a nenhuma dessas terapias de BH e TAM. Felizmente, estudos recentes demonstraram que 25% dos TN respondem à imunoterapia (IMT). **Conclusão:** Foi possível identificar a genética molecular do câncer de mama e sua importante implicação na determinação da classificação molecular e no direcionamento do alvo terapêutico.

Palavras-chave: Imunoterapia;, Neoplasias da mama;, Terapia alvo molecular ..



GENÉTICA MOLECULAR DO MELANOMA MALÍGNICO: UM ALVO TERAPÊUTICO

MARIANA LINHARES SACHETT; GIANCARLO DANEZI FELIN; GIULLIANO DANEZI FELIN; CAROLLINA DANEZI FELIN; FELLIPE DANEZI FELIN

Introdução: O melanoma maligno corresponde a 4% das neoplasias malignas da pele e é responsável por 90% dos óbitos por câncer nesse sítio primário. A alta mortalidade torna seu estudo altamente relevante. Até por volta de 2011, as estratégias antineoplásicas disponíveis para o melanoma avançado eram limitadas. **Objetivos:** Elucidar a importância da genética molecular na escolha do tratamento antineoplásico do melanoma maligno. **Metodologia:** Revisão de literatura através de pesquisa de artigos realizada na base de dados MEDLINE, via PubMed, utilizando-se os seguintes termos DeCS/MeHS: "melanoma" [AND] "molecular targeted therapy" [AND] "immunotherapy". Ao usar os filtros "textos completos" e "1 ano" foram encontrados 36 resultados. Após aplicados os critérios de inclusão (texto completo, 1 ano e adequação a temática proposta) e de exclusão (todos que não atendessem aos critérios de inclusão e artigos duplicados), foram selecionados 9 artigos para compor essa revisão. Realizada a extração dos dados e análise para redação da revisão. **Resultados:** Aproximadamente 50% dos melanomas malignos exibem mutação BRAF, enquanto que 20% apresentam mutação NRAS e mais raramente, mutação cKit. A identificação do tipo de mutação associada ao melanoma é de extremo valor, pois é capaz de direcionar para uma forma distinta de terapia alvo molecular (TAM) e ou imunoterapia (IMT), em especial nos casos avançados. Melanomas metastáticos com mutação BRAF tem indicação terapêutica do uso de TAM combinada com utilização de inibidores BRAF e inibidores MEK, devendo ainda ser associada a IMT através dos inibidores do checkpoint imunológico (anti-PD-1 e anti-CTLA-4). **Conclusão:** Através dessa revisão de literatura foi possível identificar que as bases genéticas e moleculares que compõem o genótipo maligno do melanoma, determinam novas promissoras terapias adjuvantes, o que inclui a TAM e a IMT para casos avançados. Portanto, foi possível elucidar a importância da genética molecular do melanoma para o seu tratamento oncológico adequado. Adicionalmente, foi possível reconhecer que a TAM e a IMT são indicações limitadas ao melanoma metastático com mutação BRAF detectada, permanecendo as incertezas em relação aos casos que não são avançados e que exibem mutações detectadas.

Palavras-chave: Imunoterapia;, Melanoma;, Terapia alvo molecular..



AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE POR MEDICAMENTOS ANTI-HIPERTENSIVOS

DANIELE DE ARAÚJO MOYSES; NATASHA COSTA DA ROCHA GALUCIO; VALDINEIA SANTOS VALE; VALDICLEY VIEIRA VALE; REGIANNE MACIEL DOS SANTOS CORREA

Introdução: A indução de genotoxicidade por medicamentos sintéticos pode ocasionar vários riscos à saúde da população. Quanto à segurança biológica de fármacos, é de extrema importância verificar se estes apresentam alguma ação que possam causar danos ao organismo humano e celular, como lesões que provoquem patologias nos indivíduos que fazem o uso contínuo destes medicamentos. Existem uma variedade de testes utilizados como parâmetros avaliativos úteis na determinação de genotoxicidade para o organismo, além de investigar mecanismos celulares para indução de danos no material genético, assegurando deste modo a disponibilização de medicamentos com o menor risco de toxicidade aos pacientes. **Objetivos:** Desta forma, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a indução de genotoxicidade por medicamentos sintéticos anti-hipertensivos. **Metodologia:** Este estudo foi realizado por meio de Revisão Integrativa da Literatura de caráter exploratório na Base de Dados PubMed/Medline no período de 2012 a 2022, nos idiomas português e inglês. Para compor a revisão, foram incluídos na pesquisa 8 artigos. **Resultados:** Os resultados desta pesquisa mostraram que os anti-hipertensivos enalapril, pindolol, carvedilol e hidroclorotiazida, apresentaram, por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo*, lesão ao DNA podendo induzir morte celular ou processos mitóticos variáveis, desencadeando processo oncogênico. Para avaliação desses danos foi observado que os ensaios do cometa e micronúcleo foram os mais utilizados por pesquisadores em seus estudos de genotoxicidade. **Conclusão:** A avaliação dos efeitos genotóxicos de anti-hipertensivos visa à prevenção e controle no uso destes medicamentos, como observado através da literatura, e recomendamos que são necessários estudos futuros para evitar os possíveis riscos e danos causados pelo uso destes anti-hipertensivos.

Palavras-chave: Anti-hipertensivos, Danos ao dna, Genotoxicidade.



AVANÇOS NA PESQUISA MOLECULAR DO CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO: UMA BREVE DESCRIÇÃO DA LITERATURA

ANA GABRIELLY DE MELO MATOS; ELDEVAN DA SILVA BARBOSA; LARISSA RODRIGUES DE SOUSA; WESLIANY EVERTON DUARTE; JAQUELINE DINIZ PINHO

Introdução: Grande parte dos casos de câncer de cabeça e pescoço (CCP), são originários das células escamosas e inclui tumores que surgem no epitélio da cavidade nasal e oral, seios paranasais, faringe e laringe. O tratamento para essa neoplasia é considerado um desafio, devido sua heterogeneidade intratumoral e os vários subsítios anatômicos. O conhecimento de alterações epigenéticas envolvidas na tumorigênese se expandiu nos últimos anos, o qual possibilitou novos insights sobre a biologia e etiologia do CCP, bem como ofereceu novas ferramentas de diagnóstico e marcadores prognósticos. **Objetivo:** Diante deste contexto, este trabalho tem como objetivo analisar as informações descritas na literatura a respeito dos avanços na pesquisa molecular do CCP. **Metodologia:** Foram selecionados 83 artigos, que fornecem uma visão abrangente sobre os avanços na pesquisa molecular do CCP, cuja fonte de pesquisa foi o PubMed e Science Direct, foram excluídos artigos duplicados e/ou que não se enquadraram na temática escolhida. **Resultados:** Recentes avanços em pesquisas acerca das modificações de histonas, metilação do DNA e expressão de RNAs não codificantes de proteínas demonstram que esses processos estão associados com a carcinogênese e progressão tumoral, reconhecidos como reguladores epigenéticos. Genes epigenéticos que são alvos de mutações somáticas, podem atuar como genes supressores de tumor ou oncogenes. Identificamos que alterações no supressor de tumor p53 estão associadas a menor sobrevida de pacientes com CCP, já o oncogene SKA3 em altos níveis, está intimamente associado à progressão maligna e prognóstico ruim. Verificamos ainda que vias de sinalização podem ser alteradas, a exemplo da via PI3K/AKT/mTOR, a qual tem sido observada frequentemente alterada em CCP, e está associada ao processo de proliferação celular, invasão e metástase. **Conclusão:** Conforme a literatura, a validação de biomarcadores e assinaturas epigenéticas é necessária, tendo em vista que a elucidação dos mecanismos genéticos e epigenéticos associados à carcinogênese possuem relevante papel na progressão e resposta ao tratamento. Portanto, os avanços na pesquisa molecular no CCP são essenciais para medicina de precisão, pois contribuem para terapias personalizadas e direcionadas aos pacientes.

Palavras-chave: Biomarcadores; carcinogênese; epigenética.



QUESTIONAMENTOS ÉTICOS LEVANTADOS EM DECORRÊNCIA DOS AVANÇOS DA GENÉTICA HUMANA DURANTE O SÉCULO XXI.

LUCAS DOS SANTOS SA; LUANA SOUZA SANTOS; KEVIN DE JESUS FERREIRA

Introdução; A genética molecular é a área da genética Humana que busca entender a estrutura e função dos genes, compreendendo assim o mecanismo envolvidos nos processos de replicação do DNA e como a informação presente nele e repassado aos descendentes(hereditariedade) , assim como os processos de transcrição, tradução. Dessa forma genética molecular se tornou o Pilar da engenharia genética, propiciando assim O Surgimento de tratamentos e remédios que proporcionam inúmeros benefícios para a área da saúde. **Objetivos;** O presente trabalho busca Explica os benefícios que podem ser alcançados através da genética molecular. Explica implicações éticas, morais, sociais, econômicas que podem ser geradas a partir do uso inadequado da engenharia genética. **Metodologia;** O trabalho foi realizado por meio de uma revisão bibliográfica, o material analisado foi obtido a partir de diferentes sítios eletrônicos. **Os Resultados;** com os avanços da genética molecular ocorreu o surgimento das técnicas de manipulação genética, como por exemplo, CRISPR- CAS9, que possibilitou o desenvolvimento de estratégias empregadas no tratamento de pacientes com patologias genéticas como câncer, anemia falciforme, fibrose cística, dentre outras , como por exemplo o vírus HIV. Em contra partida, são levantadas muitos debates de uma perspectiva ética com relação ao avanço dessa tecnologia, devido as consequências geradas pelo o seu uso inadequado, leis de biossegurança já sobre vigência limitam as aplicações que podem ser feitas. **Conclusão:** Com base nos dados levantados , consta-se que a ampla gama de aplicações da engenharia genética pode propiciar uma vasta quantidade de privilégios. Que promoveram o avanço dos seres humanos contribuindo para o tratamento de uma grande quantiatidade de doenças, porém visto que quando manuseada de modo inapropriado ira gerar efeitos negativas Para a sociedade , por isso se vê a necessidade de estabelecer barreiras éticas e morais A bioética é o campo de estudo responsável por estabelecer os princípios éticos e morais que devem ser impostos sobre a ciência, quando ela esta ameaçando ou colocando em perigo a vida humana. Com isso a bioética deve esta presente para impedir que a engenharia genética ultrapasse determinados limites.

Palavras-chave: Bioética, Biossegurança, Genética.



OS AVANÇOS DA TERAPIA GÊNICA NO TRATAMENTO DE PESSOAS COM CÂNCER

Fernanda Tokuhashi Toledo¹, Anna Ellen Marques de Lima¹, Luanna Paula Garcez de Carvalho Feitoza¹, Samia Walid Ali Saleh¹, Ydrielly Veras Teles¹

¹ – Centro Universitário Fametro

RESUMO

Introdução: O câncer é um conjunto de doenças e manifestações sistêmicas diferentes conforme o tipo celular do qual foi originado. Contudo, a nível molecular, cada tipo de câncer apresenta características em comum que os agrupam em uma classe abrangente de doença. Todos os cânceres apresentam dois pontos fundamentais: a proliferação celular descontrolada, caracterizada por crescimento e divisão celulares anormais, e as metástases. As terapêuticas convencionais utilizadas no tratamento dessa patologia, como as radioterapias, quimioterapias e aumentam a expectativa de vida desses pacientes, por outro lado, estas mesmas terapêuticas, diminuem a qualidade de vida devido aos efeitos colaterais negativos causados pela toxicidade do tratamento. Com o avançar da tecnologia na área médica tem-se buscado tratamentos menos invasivos, que atrelado a sua eficácia não causem tantos efeitos adversos, sendo então a terapia gênica um dos tratamentos promissores na remissão de células oncolíticas. **Objetivo:** averiguar na literatura científica evidências disponíveis sobre os avanços da terapia gênica no tratamento de pacientes com câncer. **Material e métodos:** o presente estudo consiste em uma Revisão Integrativa da Literatura coletada nas bases de dados Scielo, PubMed e Springer, de 2016 a 2022. A análise dos dados incluiu a pré análise, tratamentos dos dados e interpretação dos resultados, utilizando-se o acrônimo PICO e a seguinte pergunta norteadora: Quais os avanços da terapia gênica no tratamento de pessoas com câncer? **Resultados:** Os estudos levantados dentro das bases de dados citadas, mostraram que 15 artigos explanaram sobre o uso da terapia gênica e o sucesso da aplicação no tratamento do câncer, elucidando em cada um deles, a capacidade de otimização do tratamento e do aumento da qualidade de vida do paciente, assim como também mostra o lado da necessidade de algumas melhorias no tratamento, frente aos efeitos colaterais encontrados nessas novas ferramentas. **Conclusão:** Foi possível observar a consolidação da terapia gênica no tratamento de cânceres humanos, bem como a combinação dela, atrelada a quimioterapia, radioterapia e imunoterapia levando a aumentos na taxa de remissão de células oncolíticas. Contudo, é importante ressaltar que, por ser uma tecnologia relativamente nova, seus estudos a aplicações devem ser cuidadosamente planejados e revisados.

Palavras-chave: Manipulação gênica; terapêuticas; oncolítico.

1 INTRODUÇÃO

O câncer consiste em uma enfermidade crônica, caracterizada pelo crescimento celular desordenado, o qual é resultante de alterações no código genético (INUMARU; SILVEIRA; NAVES, 2011). De acordo com Lehninger *et al* (2014), os autores salientam que a divisão celular é controlada por inúmeros fatores de crescimento extracelulares que ocasionam um equilíbrio onde a sua ruptura, devido a falhas em proteínas de regulação, acarreta na formação de tumores. Em sua maioria, o erro ocorre em virtude de um problema genético de falha na regulação dessas proteínas, mas pode ocorrer também por mutações relacionadas à exposição ambiental a agentes carcinogênicos, como compostos tóxicos e radiações, caracterizando a existência dos fatores epigenéticos bem como da ação teratogênica (AMORIM *et al*, 2011). Por essa razão, começou a se pensar na possibilidade de manipulação da terapia gênica para o tratamento de câncer.

A terapia gênica começou a ser manuseada para o tratamento de doenças no ano de 1972, obtendo-se resultados abonados, somente, no ano de 1989. Esse manejo genético abrange alterações moleculares, as quais são capazes de bloquear os oncogenes. E o que temos observado nos últimos anos são pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de unidades celulares do sistema imunológico, capazes de serem utilizadas como mecanismos otimizadores de combate ao câncer, através de ferramentas das tecnologias de DNA recombinante, modificação genética e uso de inteligência artificial aplicadas as análises e observações de resultados de exames de imagem e interpretação de dados, por meio de algoritmos e deep learning, para que desta maneira se torne possível o fechamento preciso de diagnósticos e tratamentos (BANERJEE *et al* 2021).

Dentro deste contexto a terapia gênica abrange o uso de mecanismos tais como a *CAR-T* que visa a implementação de receptores moleculares aptos a terem maior sensibilidade na detecção de células cancerosas, sendo ela uma modalidade de imunoterapia, mudando assim o paradigma em oncologia. No entanto esta tecnologia ainda necessita de ajustes e aperfeiçoamentos, uma vez que apresenta como uma das quimeras gênicas a capacidade de promover a neurotoxicidade associadas a células efectoras imunes, pensando nisso, criou-se o monitoramento dos pacientes via compilação de dados e algoritmos de aprendizado de máquinas, que possibilitem o acompanhamento destes pacientes em tempo real, diminuindo assim as chances de haver problemas referentes a tecnologia *CAR-T* e aumentando sua acessibilidade (BANERJEE *et al* 2021).

A necessidade de encontrar tratamentos ou cura para tal doença é de cunho urgente, o qual já vem sendo realizada a muitos anos, por meio dos avanços tecnológicos dentro da medicina. Desta forma, este trabalho objetiva analisar acerca dos avanços da terapia genética no tratamento para o cânceres humanos, por meio de artigos recém publicados e de ferramentas desenvolvidas para tal fim.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo consiste em uma Revisão Integrativa da Literatura sobre os avanços da terapia gênica no tratamento de pacientes com câncer. Esse método realiza uma análise de estudos relevantes, congrega o conhecimento produzido e leva ao desenvolvimento de conclusões a respeito da temática abordada. A pesquisa foi orientada pelo estratégia PICO, a qual representa um acrônimo para Paciente, Intervenção, Comparação e “Outcomes” (desfecho) sendo que esta estratégia orienta a construção da pergunta de pesquisa e da busca bibliográfica permitindo que o pesquisador ao ter uma dúvida ou questionamento, localize de modo mais acurado e célere a melhor informação científica disponível. Ademais, nesta pesquisa utilizou-se como pergunta norteadora: Quais os avanços da terapia gênica no tratamento de pessoas com câncer?

Foram aplicados os seguintes critérios para elegibilidade de materiais científicos: artigos disponíveis em meio eletrônico, livros e textos completos inseridos nas bases de dados Scielo, PubMed, e Springer tanto na língua portuguesa como inglesa entre os anos de 2016 a 2022, e como critérios de exclusão: reflexões, resumos de anais, "Preprints", teses acadêmicas, estudos fora do período de interesse e que não atendessem a temática proposta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após buscas dos dados foram encontrados 14 periódicos, sendo 10 na base de dados PubMed; 1 Springer; 3 SciELO, os quais serão utilizados como material de discussão para esta revisão.

Neste trabalho daremos destaque somente a técnica CAR T-cell, visto que recentemente em 2017 a *Food and Drug Administration (FDA)* autorizou pela primeira vez o uso desta terapia para o tratamento nos Estados Unidos sendo liberada posteriormente na União Europeia em 2018 *pela European Medicines Agency*, no Japão em 2019, *pela Pharmaceuticals and Medical Devices Agency* e no Brasil em 2022 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A terapia com células CAR-T é uma forma de imunoterapia adotiva na qual as células T do próprio paciente (autólogas) ou de um doador (alogênicas) são geneticamente modificadas *in vitro* para expressar um receptor recombinante que redireciona a especificidade das células T manipuladas para um tumor (FIORENZA;TURTLE, 2021). O processo citado pode ser demonstrado na figura 1.

A CAR T-cell utiliza moléculas denominadas de *CAR*, as quais são proteínas de fusão compostas por uma porção extracelular que geralmente é derivada de um anticorpo e módulos de sinalização intracelular derivados de proteínas de sinalização de células T. (JUNE et al., 2018). Ademais, esse procedimento envolve modificações no fragmento variável de cadeia única (scFv), o que melhora o reconhecimento do epítipo antigênico, juntamente com a assimilação de co-receptores, como o CD28, CD134 e CD137, que estimulam ainda mais uma resposta imunológica contra o câncer (GONÇALVES; PAIVA, 2017). Além disso, por meio de ensaios clínicos foi observado que um fator fundamental para o sucesso da terapia com CAR-T cells é evitar ou retardar a exaustão das células T, visto que a expansão das CAR-T cell, persistência e um fenótipo de memória estão associados com a resposta a terapia (LARSON; MAUS, 2021). A Forte ativação de células CAR-T levam à exaustão, ajustes na sinalização CAR foram feitos para aliviar esse processo beneficiando a resposta antitumoral.

Apesar dos avanços significativos, a *Car T-cell* apresenta alguns eventos adversos que merecem notoriedade. LEI et al., 2021 realizaram uma revisão sistemática e meta-análise expondo estes eventos. Segundo o compilado, a terapia com células *CAR-T* possui um conjunto único de toxicidades relacionadas à ativação do sistema imune, como por exemplo a síndrome de liberação de citocinas, e neurotoxicidade relacionada às células *CAR-T* (SIDDIQUI; MUHAMMAD, 2021).

Ademais, outro método revolucionário foi descrito, dessa vez, por Straathof (2005), a saber, o mecanismo de ação das Caspases 9 indutíveis (iCasp9) para a terapia gênica do câncer. O gene suicida iCasp9 tem sido utilizado como um meio apoptótico de células tumorais, tendo em vista que, diferentemente da tecnologia CAR-T cells, a imunogenicidade é evitada, contendo uma maior eficácia e especificidade. Esse mecanismo é baseado no sequenciamento da Caspase 9 humana, o qual codifica a proteína ligante da AP20187 ou da AP1903, sendo estas duas últimas dimerizadores sintéticos que atuam na ativação da morte celular via iCasp9. Quando ativado, o iCasp9 age sinalizando para a via da Caspase 3, promovendo, efetivamente, a apoptose das células cancerígenas (YUAN *et al.*, 2022).

Outrossim, foi publicado um estudo realizado por Rossignoli *et al.* (2018) a respeito desse método de dimerização associado a Células-Tronco Mesenquimais (CTM), em que

conseguiu-se a indução de 80% da morte de células tumorais em 24h, por meio de um poderoso fator anti-câncer, isto é, *TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)*. Ainda que os resultados sejam promissores, há algumas preocupações que devem ser levadas em consideração para que essa metodologia seja deferida, tal como uma dimerização sem induções medicamentosas, ou seja, uma dimerização espontânea, a qual pode acarretar na geração de uma apoptose inesperada ou inoportuna. Para mais, efeitos reguladores da via apoptótica, também, podem interferir nos resultados desejados, uma vez que proteínas antiapoptóticas conseguem promover uma resistência aos medicamentos indutores de iCasp9.

Todavia, tal regulação foi observada e, por obter uma participação tardia no processo de apoptose, a via da Caspase 9 torna possível um contorno dessas interferências antiapoptóticas, evidenciando-se o fato das células tumorais sobreviventes à primeira aplicação do dimerizador não exporem resistência a aplicação subsequente do medicamento. Destaca-se que esse método ainda está em fases iniciais de estudos e, por conseguinte, exige-se cautela e maiores quantidades de ensaios, para haver a possibilidade de descarte e/ou controle dos fatores de risco para o paciente.

Gerando assim, os avanços moleculares em torno da terapia gênica voltada ao câncer, a busca incessante por tratamentos alternativos é progressiva e, também, com o avanço tecnológico foi possível aprofundar em outros mecanismos que envolvem a terapia gênica no combate à patologia. Alguns pesquisadores constataram diversos mecanismos bioquímicos de tratamento para o câncer por meio dessa técnica com resultados pioneiros positivos, os quais poderão auxiliar no progresso da terapêutica envolvendo a terapia gênica e o câncer.

Hao et al. (2018) desenvolveu um estudo que aborda a terapia gênica suicida causada pelo vírus da herpes simplex timidina quinase (HSV-TK), a qual quando associada com genes imunes apresenta uma resposta positiva no tratamento do câncer, visto que se comparada com métodos tradicionais de combate a patologia é muito mais direcionada devido a tratar com fatores tumorais bioquímicos específicos, o que conseqüentemente acarreta com menos efeitos colaterais ao paciente.

Além disso, existem estudos dirigidos por Basuony e Hamed (2020) acerca dos miRNAs no carcinoma de células escamosas orais, os quais podem atuar como genes supressores. A terapia gênica baseada em miRNA é uma tática que visa corrigir a expressão disfuncional de miRNA oncogênico, esse enfoque visa inibir os miRNAs expresso demasiadamente em células cancerígenas pela introdução de oligonucleotídeos antimRNA (AMOs) e repercute seu efeito de anulação em genes alvo de miRNA. Assim, levando ao

restabelecimento genético de supressão de tumores que estavam ausentes. Dessa maneira, recuperando os mecanismos celulares de reparação oncogênica.

Tamura et al. (2018), concomitantemente, avaliou a aplicação de vetores adenovirais que codificam um gene tumoral e os transformam em um gene funcional no tratamento de câncer de próstata utilizando o gene p53. Entretanto, para esse tratamento mostrou-se mais eficaz o uso combinado à quimioterapia e à radioterapia devido ao direcionamento mais eficaz para a atuação do gene.

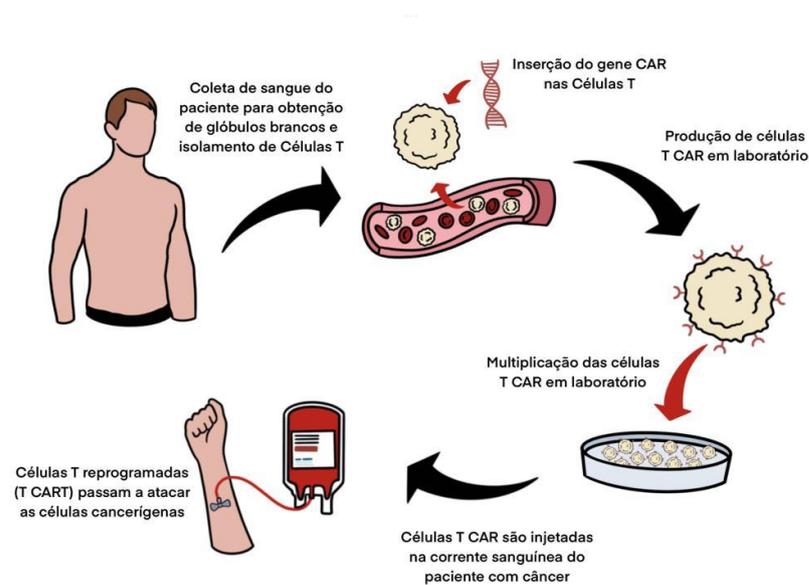


Fig. 1| Terapia com células CAR-T.

Fonte: Acervo pessoal, 2022.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que a terapia gênica no tratamento contra o câncer, cada dia mais, vem tornando-se uma ferramenta eficaz para a medicina e, por conseguinte, para a qualidade de vida da humanidade. Com isso, seja por metodologias já vigentes, como a CAR-T cells, seja por metodologias ainda em fases de estudo, como a utilização de genes suicidas (HSV-TK ou iCasp9), miRNAs ou as combinações entre o gene p53 com radioterapias e quimioterapias, a comunidade científica objetiva especificidade no ataque às células cancerígenas, melhores respostas imunológicas, bem como a supressão ou redução dos efeitos colaterais ocasionados por tais tratamentos. Logo, a manipulação gênica aliada à tecnologia do DNA recombinante sugere grandes passos para a oncologia, visto que aproxima-se da cura, lidando com menores prejuízos ao paciente e maior eficácia terapêutica, em detrimento dos métodos convencionais hodiernos.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, G. L. C. C *et al.* Aspectos moleculares do câncer de bexiga. **Einstein**, São Paulo, ano Jan-Mar 2011, v. 9, p. 95-99, 2011. DOI 10.1590/S1679-45082011RB1593. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/Mz9rKsBhxn3Mkgx4XCN8bmq/?lang=en>. Acesso em: 26 jun. 2022.
- BASUONY, S. A. H. A. E; HAMED, R. S. Anti-Micro RNA-221 a Terapia Genética Promissora do Carcinoma de Células Escamosas Orais (SCC - 2 5). **Revista Brasileira de Odontologia**, [s. l.], v. 31, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440202003350>. Acesso em: 26 jun. 2022.
- BANERJEE, R *et al.* Next-Generation Implementation of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy Using Digital Health. **JCO clinical cancer informatics**. 2021. v. 5, p. 668-678. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34110929/>. Acesso em: 30 jun. 2022.
- FIORENZA, S; TURTLE, C.J. CAR-T Cell Therapy for Acute Myeloid Leukemia: Preclinical Rationale, Current Clinical Progress, and Barriers to Success. **BioDrugs**. v. 35, p. 281–302. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40259-021-00477-8#citeas>. Acesso em: 1 jul. 2022.
- GONÇALVES, G. A. R; PAIVA, R. M. A. Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein** : Revendo Ciências Básicas, São Paulo, ano Jul-Sep 2017, v. 15, n. 3, p. 369-375, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/cPw3g6fGY8srqk5hs83dDKR/?lang=en>. Acesso em: 3 jul. 2022.
- HAO, S *et al.* Targeted gene therapy of the HSV-TK/hIL-12 fusion gene controlled by the hSLPI gene promoter of human non-small cell lung cancer in vitro. **Oncology Letters**, [s. l.], v. 15, ed. 5, p. 6503-6512, 2018. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2018.8148>. Acesso em: 26 jun. 2022.
- INUMARU, L. E; SILVEIRA, E. A; NAVES, M. M. V. Fatores de risco e de proteção para câncer de mama: uma revisão sistemática. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, ano Jul 2011, v. 27, n. 7, p. 1259-1270, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/ZbRRyNH4HRLXSbFNMms6RgM/?lang=pt>. Acesso em: 3 jul. 2022.
- LARSON, R.C; MAUS, M.V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. **Nat Rev Cancer**. jan 2021. v. 21, p. 145–161. Acesso em: <https://www.nature.com/articles/s41568-020-00323-z#citeas>. Acesso em: 28 jun. 2022.
- LEI, W *et al.* Treatment-Related Adverse Events of Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR T) in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cancers** v. 13, n. 15, p. 3912. Aug. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34359816/>. Acesso em: 29 jun. 2022.
- NELSON, D. L; COX, M. M. Oncogenes, genes supressores tumorais e morte celular programada. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. rev. Porto Alegre: Artmed, 2014. cap. Biossinalização, p. 488-489.

SIDDIQUI, R.S; MUHAMMAD, S. A Systematic Review of the Role of Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T) Cell Therapy in the Treatment of Solid Tumors. **Cureus**. v. 13, n. 4 e14494. 15 Apr. 2021. Disponível em: doi:10.7759/cureus.14494. Acesso em: 26 jun. 2022.

ROSSIGNOLI, F *et al.* Inducible Caspase9-mediated suicide gene for MSC-based cancer gene therapy. **Cancer Gene Therapy**, [S.L.], v. 26, n. 1-2, p. 11-16, 29 jun. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41417-018-0034-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41417-018-0034-1.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2022.

STRAATHOF, K. C *et al.* An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy. *Blood*, [S.L.], v. 105, n. 11, p. 4247-4254, 1 jun. 2005. American **Society of Hematology**. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-11-4564>. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/105/11/4247/19497/An-inducible-caspase-9-safety-switch-for-T-cell>. Acesso em: 25 jun. 2022.

TAMURA, R. E *et al.* Melhorando vetores adenovirais e estratégias para terapia gênica de câncer de próstata. **CLINICS JOURNAL**, [s. l.], 2018. Disponível em: <https://www.clinicsjournal.com/article/improving-adenoviral-vectors-and-strategies-for-prostate-cancer-gene-therapy/>. Acesso em: 26 jun. 2022.



A IMPORTÂNCIA DA GENÉTICA NA PERÍCIA FORENSE

AMANDA SOUSA TORRES RAFAEL

Introdução: A genética forense ou DNA forense é a área que trata da utilização de conhecimentos da genética e biologia molecular no auxílio à justiça. **Objetivo:** Este resumo visa como objetivo discorrer a, aplicação forense da genética e a sua importância na perícia. **Metodologia:** Para o estudo foi incluído análises de materiais especializados no assunto entre os anos 2000 e 2020. **Resultados:** Na perícia, o DNA é uma prova importante e incontestável nos tribunais, possibilitando estabelecer uma ligação entre o suspeito e a cena do crime, também sendo possível inclusive a identificação de cadáveres em estado avançado de decomposição ou mortos a dezenas de anos utilizando o DNA obtido de ossos e da arcada dentária. Hoje são inúmeros os espécimes biológicos do qual o DNA pode ser extraído, como pequenas amostras de sangue, cabelo, unha, sêmen, urina e entre outros fluidos, uma vez sendo feita uma análise cuidadosa desse material é possível identificar o criminoso. Após a lei 12.654/2012 ter sido modificada, permitindo a criação de um banco nacional de perfis genéticos (BNPG) de criminosos propiciando a comparação entre o material genético do suspeito com o coletado da cena do crime. Tal comparação é feita manuseando marcadores moleculares para identificar o DNA amostral investigado, assim identificado o suspeito, é confirmado a sua participação no crime. Confirmada sua atuação na infração criminal, o juiz responsável pelo caso possui provas e argumentos cabíveis para sentenciar uma condenação. **Conclusão:** Diante do exposto, é notório que a genética tem um papel importante e um tanto fundamental nas investigações o que pode fortalecer e qualificar ainda mais o processo de elucidação de casos hediondos pela justiça.

Palavras-chave: Criminoso, Dna forense, Genética, Perícia, Biologia molecular.



ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA ATRAVÉS DA LINHA DO TEMPO DE PESQUISAS FEITAS SOBRE O PROJETO GENOMA HUMANO

VIERLEN MENDES RODRIGUES

Introdução: O Projeto Genoma Humano (PGH), tendo como seu principal objetivo o sequenciamento das bases nitrogenadas presentes no DNA humano, tornou-se a esperança de pacientes com doenças de cunho genético. A grande meta desse sequenciamento é compreender a imensa gama de genes presentes no DNA, fazendo assim com que haja melhor solução em desenvolvimento para tratamentos de doenças hereditárias. Quando lançado em 1985, o Projeto gerou grande debate entre especialistas que achavam impossível o sequenciamento devido às tecnologias da época, a sua importância requeria técnicas mais rápidas. O primeiro mapa de genes de todo o genoma humano só é publicado em 1992, porém um ano antes já havia ocorrido o primeiro transplante de genes em humanos, uma garota de 4 anos com uma doença genética fatal. **Objetivo:** Este trabalho tem como objetivo a análise de informações referentes as pesquisas sobre o sequenciamento do DNA desde seu início em 1985 até os dias atuais e seus principais acontecimentos. **Metodologia:** Foi realizada pesquisa exploratória com levantamento bibliográfico, tendo como preocupação fundamental a necessidade de fazer uma cronologia dos principais fatos que ocorreram desde o início da pesquisa científica referente ao genoma humano. **Resultados:** Mesmo sendo um tema ainda pouco discutido fora da comunidade acadêmica, há registros da utilização desse sequenciamento em tratamentos de pessoas com câncer, apesar de ainda ser um exame fora da realidade de pessoas de baixa renda. “Seu genoma por mil dólares” traz à tona a necessidade de uma maior acessibilidade a algo tão necessário. Atualmente, o valor de um sequenciamento completo gira em torno de R\$ 30.000,00. **Conclusão:** Com a evolução do projeto, damos início a uma nova era biotecnológica que traz respostas a diversas incógnitas nas áreas de ciências e da saúde, tendo assim a rápida detecção de doenças, utilização da terapia genética em tratamentos e muito mais.

Palavras-chave: Biotecnologia, Genoma humano, Pesquisa genética..



A UTILIZAÇÃO DE HÍBRIDOS NA PRODUÇÃO DE HORTALIÇAS

CARLOS ROBERTO SILVA DE OLIVEIRA¹, FRANCISMARY BARROS DA SILVA¹,
DANILO ALVES PEREIRA¹, EZILDO FRANCISCO FELINTO FILHO², MATHEUS
LIMA OLIVEIRA²

¹ - Doutorando em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: carlos.robertooliveira@ufrpe.br; francismarybarrosdasilva@gmail.com; danilo.alves@ifsertao-pe.edu.br

² - Mestrando em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: ezildoff@gmail.com; mateus.limaoliveira@ufrpe.br

RESUMO

Introdução: Visando suprir a demanda nacional de hortaliças diversas em quantidade, regularidade e qualidade, tornou-se necessário o uso de cultivares híbridas nos diferentes sistemas de cultivo. Os híbridos apresentam como vantagens: maior produtividade quando comparada a sementes crioulas, adaptação a diferentes sistemas de cultivo e tolerância/resistência às principais doenças que acometem a cultura. **Objetivo:** Esse trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre a utilização de híbridos na produção de hortaliças, relatando os principais métodos e desafios para sua obtenção. **Material e métodos:** A coleta de dados a respeito do tema foi realizada através das plataformas Google Acadêmico, Portal de periódicos da CAPES e SciELO, além de sites, catálogos de empresas e contato com representantes técnicos. **Resultados:** As informações referentes aos últimos quinze anos, indicaram que apenas com a chegada de empresas multinacionais o mercado de hortaliças passou a apresentar uma maior diversidade de espécies híbridas. Os programas de melhoramento de hortaliças, passaram a ser mais flexíveis para poder realizar ajustes de acordo com as exigências organolépticas do consumidor final. As etapas de um programa de melhoramento de hortaliças consistem na seleção de linhagens ou parentais geneticamente estáveis, o estabelecimento e exposição da variabilidade genética a partir das combinações contrastantes, identificação e seleção de progênies com atributos superiores, liberação e distribuição de comercialização. Todas as etapas anteriores à distribuição, devem ser realizadas em estruturas protegidas para que ocorra o aumento da eficiência e da qualidade genética da semente híbrida. O tempo para obtenção de hortaliças híbridas pode variar entre 6 e 10 anos para serem dependendo do ciclo reprodutivo da espécie. Recentemente, técnicas de edição gênica mediada por CRISPR/Cas9 estão sendo utilizadas para geração de variabilidade genética em hortaliças. **Conclusão:** Diferentes métodos de obtenção de sementes híbridas podem ser empregados, na maior parte das vezes, a escolha

está relacionada ao mecanismo de reprodução da espécie. Apesar de elevar o custo de produção e o aumento do preço da hortalíça por causa do investimento em sementes híbridas, sua utilização é benéfica em toda cadeia de comercialização.

Palavras-chave: Olerícolas, melhoramento vegetal, sementes híbridas.

ABSTRACT

Introduction: To supply the national demand for different vegetables in quantity, regularity and quality, the use of hybrid cultivars became necessary in different cultivation systems. Hybrid cultivars present advantages like higher productivity when compared to landraces, adaptability to different production systems, and tolerance/resistance to main diseases. **Objective:** This work consists of a literature review on the use of hybrids in vegetable production, reporting the main methods and challenges to obtain hybrids vegetables. **Material and methods:** Data collection was carried out through Google Scholar platforms, CAPES and SciELO journals portal, as well as websites, company catalogs and contact with representatives. **Results:** The information referring to the last fifteen years, indicated that only with the arrival of companies the vegetable market started having a great diversity of hybrid species. Vegetable breeding programs has presented a great flexibility to be able to adjust according to requirements of the consumer. The breeding program steps consist in the correct line or parental selection, the establishment and exposure of variation from different crosses, identification and selection of attractive progenies, release, and distribution. All stages before the distribution must be carried out in protection systems to increase efficiency. The time for cultivar release can vary between 6 and 10 years, it depends on the reproductive cycle of the specie. Recently, CRISPR/Cas9-mediated gene editing techniques are being used to generate genetic variability in vegetables. **Conclusion:** Different methods of obtaining hybrid seeds can be used, most of the time, the choice is related to the reproduction mechanism of the species. Despite raising the cost of production and the increase in the of vegetable value caused by the investment in hybrid seeds, its use is guaranteed throughout the production chain.

Key Words: Olericulture, crop breeding, hybrid seeds.

1 INTRODUÇÃO

A variedade híbrida é obtida a partir do um cruzamento entre dois genitores geneticamente contrastantes. Esses genitores podem ser variedades de polinização aberta, linhagens endogâmicas ou clones. Por causa da diferença genética entre os genitores, o híbrido apresentará muitos loci em heterozigose, podendo apresentar heterose. Independente da cultura agrícola, cultivares híbridas apresentam algumas vantagens sobre as demais, como: alto potencial produtivo (rendimento e qualidade); maior adaptação aos sistemas de cultivo; produção de frutos de maior peso médio e resistência às principais doenças da cultura (Silva, Nunes e Alves, 2019).

Até a década de 70 a produção de hortalíças preocupava-se apenas com o ataque de pragas e doenças, pois eram utilizadas variedades e cultivares com baixo valor agregado às sementes. Com o passar do tempo a produção, importação e utilização de sementes híbridas tornaram-se importantes na cadeia produtiva de algumas hortalíças, como por exemplo, o tomate. Isso ocorreu a partir da preocupação dos produtores em obter mudas de melhor qualidade, maior uniformidade, facilidade no manuseio, melhor controle fitossanitário e

consequentemente menor gasto com sementes (Goto e Silva, 2018). Aliado a isso, pacotes tecnológicos com viveiros especializados, sistemas de produção protegidos, sistemas de irrigação e fertirrigação também passaram a ser demandados.

O professor Marcilio de Souza Dias do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” foi um dos pioneiros no melhoramento genético de hortaliças no Brasil, trazendo uma importante evolução para o setor de produção de sementes de hortaliças adaptadas às condições tropicais (Hortaliças Tropicalizadas). Grande parte de seus estudos foi utilizando cultivares importadas de outros países, como, os Estados Unidos. Ao mesmo tempo, empresas privadas de sementes evoluíram, na busca de oferecerem produtos de melhor qualidade, com a introdução de híbridos no nosso mercado, melhorando a produtividade, praticidade e rentabilidade de toda cadeia produtiva.

Da década de 90 até os dias atuais, o mercado consumidor tornou-se cada vez mais exigente em relação ao fornecimento de produtos de melhor qualidade. Isso fez com que todo o setor envolvido na produção de hortaliças sentisse a necessidade de se modernizar. Investimentos significativos em pesquisa e tecnologia são realizados até hoje, principalmente na obtenção de novos híbridos com resistência às principais doenças e com capacidade de produção superiores às cultivares existentes no mercado. Dessa forma, o objetivo dessa revisão foi abordar como a utilização de híbridos na produção de hortaliças, relatando os principais métodos e desafios para sua obtenção.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Esse trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre a utilização de híbridos na produção de hortaliças no Brasil. A coleta de dados a respeito do tema foi realizada entre abril e maio/2022 através das plataformas Google Acadêmico, Portal de periódicos da CAPES e SciELO. Sites, catálogos de empresas e contato com representantes técnicos foram consultados. Foram selecionados artigos, livros e informações que abordassem utilização de híbridos na produção de hortaliças no cenário nacional dos últimos quinze anos, contextualizando a partir de um breve histórico até o momento atual. As expressões de busca utilizadas foram: ‘obtenção de híbridos’, ‘hortaliças F1’, ‘produção de hortaliças no Brasil’, ‘sementes híbridas’, ‘comercialização de hortaliças’, ‘variedade híbrida’, ‘cultivar híbrida’, ‘mercado de hortaliças’, em português e inglês.

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento e o emprego de cultivares híbridas (F1), produzidos em larga escala por empresas privadas, têm revolucionado a produção de hortaliças em todo o mundo. Em países que lideram a produção de hortaliças sob cultivo protegido, como Chile, Israel, Espanha e Holanda, 100% das sementes utilizadas são híbridas. Países desenvolvidos, líderes na produção de hortaliças em condições de campo, como os Estados Unidos, Holanda, Canadá e França, também é predominante o uso de cultivares híbridas na produção de cebola, tomate, pimentão, berinjela, pepino, melão, melancia, repolho, couve-flor, brócolos e milho-doce (Melo, 2009).

No Brasil, com a chegada de diversas empresas sementeiras que possuem em seu portfólio híbridos de hortaliças de várias espécies, fez com que a utilização de hortaliças híbridas não fosse mais restrita apenas às culturas do repolho, couve-flor, cebola, berinjela, pepino e abóbora. Cultivares de polinização aberta apresentando diversas características em culturas como tomate, melão, melancia, pepino, brócolis, cenoura, beterraba, abobrinha e

pimentão passaram a ser desenvolvidas e comercializadas no país. Diversos fatores contribuem para o sucesso dos híbridos no país, uma vez que as empresas apresentam maior controle da qualidade dos lotes comercializados. A qualidade da semente é representada pela soma dos atributos genético, fisiológico, físico e sanitário, sendo todos esses aspectos importantes para se alcançar o sucesso na produção de hortaliças.

O programa de melhoramento de hortaliças que visa a produção de híbridos deve apresentar uma estrutura flexível para que consiga realizar ajustes e respostas rápidas de acordo com as exigências do mercado. Por causa disso, o conhecimento amplo e detalhado do mercado consumidor é essencial para antecipação de demandas futuras na determinação das características desejadas, além da produtividade. Recentemente a tendência do mercado requer que a nova geração de híbridos de hortaliças agregue características gustativas superiores em relação ao que se encontra hoje no mercado. Em adição, a incorporação de características funcionais que têm ação antioxidante comprovada (por exemplo, maior conteúdo de licopeno em tomate e melancia e de betacaroteno em cenoura e abóboras), além de constituir real agregação de valor, trará grande benefício para os consumidores. Atualmente diversas empresas apresentam em seu portfólio vários híbridos de hortaliças. As principais empresas presentes no Brasil são: Sakata, KWS, Hortec, Hortivale, DuPont, Topseed, Feltrin, Syngenta, Isla e Takii. Em uma busca rápida, a empresa Sakata apresenta híbridos de brássicas (brócolis, couve-flor, repolho), folhosas (alface e chicória), solanáceas (berinjela, pimenta, pimentão e tomate), cucurbitáceas (abóbora, abobrinha, melancia, melão e pepino), bulbos (cebola, beterraba e cenoura), além de outras 12 espécies de hortaliças. O preço das sementes híbridas varia de acordo com a espécie, no qual 1000 sementes de tomate híbrido de mesa Justyne da empresa Takii seed custa R\$ 406,00, enquanto a mesma quantidade de sementes do porta-enxerto híbrido de pimentão Fortaleza custa R\$ 610,00 (Comercial Freitas, 2021). Vale ressaltar que desde o início as empresas utilizam germoplasma de domínio público ou cultivares de polinização aberta de empresas concorrentes para selecionar novas cultivares (Melo, Melo e Aragão, 2016)

O desenvolvimento de um novo híbrido requer um intenso trabalho de pesquisa. Uma das primeiras etapas é a seleção das linhagens ou parentais que são geneticamente uniformes e que apresentem a melhor combinação genética para aumentar as chances de obtenção do biótipo desejado. Sendo assim, três etapas devem ser seguidas, sendo a primeira o estabelecimento e geração da variabilidade genética, a identificação e seleção de recombinantes com atributos superiores (realização dos testes de Capacidade Geral de Combinação - CGC e Capacidade Específica de Combinação - CGE) e por último a liberação, distribuição de comercialização desse material genético (Nascimento, 2011). Por causa do longo período para conclusão dessas etapas e o alto investimento financeiro empregado, o preço das sementes híbridas de hortaliças é muito superior ao das cultivares comuns.

O cultivo de hortaliças visando a produção de sementes híbridas, como por exemplo em solanáceas (tomate, beringela e pimentão) utilizando a polinização manual, necessita de mão-de-obra qualificada para que as etapas de emasculação, coleta de pólen, polinização e marcação das flores sejam realizadas de forma correta. Tudo isso deve ser realizado em estruturas protegidas para que ocorra o aumento da eficiência e da qualidade genética da semente híbrida. As etapas de colheita dos frutos, extração de sementes, secagem, embalagem e armazenamento também devem ser realizadas com muita atenção, pois essas interferem diretamente na qualidade das sementes.

Os materiais F1 (híbridos) levam entre 6 e 10 anos para serem desenvolvidos

dependendo da espécie, no qual após a determinação do valor de cultivo e uso (VCU) ocorrerá o registro no Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), para que o híbrido obtenha o registro no Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento (MAPA). Para preservar a pureza genética da semente híbrida, empresas produtoras de sementes dispõem de programas de manutenção e multiplicação de estoques básicos de sementes das linhagens parentais (Nascimento, 2011).

Apesar do alto valor agregado ao produto por causa do alto investimento, os benefícios das sementes híbridas compensam os gastos realizados pelo produtor, por causa do ciclo precoce, estande mais uniforme, maior rendimento comerciável, melhor padronização e qualidade, estabilidade de desempenho e maior resistência a doenças proporcionam-lhe vantagens competitivas no momento da comercialização.

Diferentes métodos de obtenção de sementes híbridas podem ser empregados, na maior parte das vezes, a escolha está relacionada ao mecanismo de reprodução da espécie. Os métodos mais utilizados são: macho esterilidade citoplasmática (cenoura, cebola, brássicas), auto-incompatibilidade (brássicas), emasculação e polinização manual (solanáceas), utilização de linhagens ginóicas ou monóicas com aplicação hormonal para reversão de sexo (pepino), utilização de tetraplóides para produção de triploides (melancia), eliminação/catação de flores masculinas (abóbora) ou despendoamento (milho-doce) (Nascimento e Pereira, 2007).

Além dos métodos citados anteriormente, algumas estratégias biotecnológicas podem ser utilizadas na produção de sementes híbridas de hortaliças. A seleção assistida por marcadores (SAM) pode ser utilizada para aumentar a frequência de alelos de interesse, como a incorporação de diversos genes de resistência a doenças em linhagens e/ou incorporação de fatores de macho-esterilidade em linhagens parentais de híbridos. Os marcadores também estão sendo amplamente utilizados para construção de mapas genéticos em sistemas de “fingerprinting” de cultivares híbridas na estimativa de distâncias genéticas e variabilidade de bancos de germoplasma (Nascimento, 2011).

Recentemente a técnica de edição gênica mediada por CRISPR estão sendo utilizadas para geração de variabilidade genética, sem que ocorra a inserção de DNA exógeno (Pereira, 2016). Essas pequenas inserções ou deleções (indels) ou substituições geradas por CRISPR nos sítios-alvos cromossômicos são indistinguíveis de variações genéticas que ocorrem de forma natural. Quando essa nova técnica conseguir vencer as barreiras impostas pela legislação de diversos países, essas variedades ou linhagens poderão ser utilizadas na produção de sementes híbridas utilizando parentais divergentes. Essa técnica está sendo utilizada em alguns países para conferir resistência genética a diversas doenças em hortaliças, uma vez que a resistência genética é considerada a mais econômica e tecnicamente mais prática, principalmente quando se observam os custos, o risco potencial de resíduos químicos nos frutos e a resistência do patógeno aos produtos químicos utilizados (Bertier et al., 2019; Nguyen et al., 2021)

4 CONCLUSÃO

O método de obtenção de sementes híbridas está relacionado ao mecanismo de reprodução da espécie, sendo o mais conhecido a macho esterilidade e a polinização manual. Novas ferramentas, como a edição gênica estão sendo utilizadas para obtenção de hortaliças híbridas, visando obter cultivares resistentes a pragas e doenças. Apesar do longo

tempo para obtenção de cultivares híbridas e o maior valor agregado das sementes, a maior produtividade, padronização, qualidade e resistência a doenças proporcionam ganhos econômicos favoráveis tanto para o produtor quanto para o consumidor final.

REFERÊNCIAS

BERTIER, L. D.; RON, M.; HUO, H.; BRADFORD, K. J.; BRITT, A. B.; MICHELMORE, R. W. (2018). High-resolution analysis of the efficiency, heritability, and editing outcomes of CRISPR/Cas9-induced modifications of NCED4 in lettuce (*Lactuca sativa*). *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 8(5), 1513-1521.

COMERCIAL FREITAS (2021) Disponível em: <<https://www.comercialfreitas.com>> Acessado em: 09 de outubro de 2021.

GOTO, R.; SILVA, E.S. (2018) Produção de mudas de tomateiro, pimenteiro e pepineiro. In: BRANDÃO FILHO, J.U.T.; FREITAS, P.S.L.; BERIAN, L.O.S.;and GOTO, R.; comps.

Hortaliças-fruto [online]. Maringá: EDUEM, 2018, pp. 387-400.

NASCIMENTO, W. M. (2011). Hortaliças: tecnologia de produção de sementes. Embrapa Hortaliças. 316p.

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. S. (2007) Controle de qualidade de sementes de hortaliças. Retrieved May, 10, 2018.

NGUYEN, C. D.; LI, J.; MOU, B.; GONG, H.; HUO, H. (2021) A case study of using an efficient CRISPR/Cas9 system to develop variegated lettuce. *Vegetable Research*, 1(1), 1-10. MELO, P. C. T. (2009) A qualidade das sementes e o desempenho superior demonstrado pelas cultivares híbridas têm contribuído para a melhoria no perfil da olericultura nacional.

Revista Cultivar HF, fevereiro-março 2009, Ano VIII, Nº 54, p.31.

MELO, P. C. T.; MELO, A. M. T.; ARAGÃO, F. A. S. (2016) Melhoramento de Hortaliças no Brasil. In Nick, C., & Borem, A. (2016) Melhoramento de hortaliças. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 427 p.

PEREIRA, C. T. (2016) Introdução à técnica de CRISPR. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 250 p.

SILVA, I. F.; NUNES, A. B.; ALVES, G. A. R. (2019) Híbridos de pimentão – A aposta certa. Disponível em: <<https://revistacampoenegocios.com.br/hibridos-de-pimentao-a-aposta-certa/>>. Acessado em: 09 de outubro de 2021.



IMPLANTAÇÃO DO TESTE DE SEXAGEM FETAL A PARTIR DA OITAVA SEMANA DE GESTAÇÃO PELA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL NO SISTEMA TAQMAN

GABRIELA QUEVEDO CUNHA; ALVARO LARGURA; ANGÉLICA REGINA CAPPELLARI;
DIOGO MULLER LACERDA; MARCO ANTÔNIO LARGURA

Introdução: A análise do DNA fetal livre de células (cffDNA), encontrado circulante no sangue materno, é uma técnica não invasiva, que pode ser utilizada para determinação do sexo fetal em estágios iniciais da gravidez. O método baseia-se na análise da expressão de fragmentos genéticos associados ao cromossomo Y (DYS14 – alvo específico) pela técnica do PCR em tempo real. A amplificação desse gene exclusivamente caracteriza um fenótipo masculino e a não amplificação, um fenótipo feminino. **Objetivo:** Implantação da técnica de detecção do sexo fetal a partir da oitava semana de gestação em amostras de sangue total materno através da técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) em tempo real no sistema Taqman. **Material e Método:** Foi aplicado um questionário a 47 gestantes referentes aos critérios de inclusão ou exclusão, assim como um Termo de Consentimento para a autorização do teste. As amostras de plasma foram então submetidas à extração de DNA e subsequente análise do material genético pelo método de PCR em tempo real no sistema Taqman, utilizando as sondas para os alvos DYS14, para identificação do cromossomo Y e da beta-globina (HBB) como controle interno e validação do protocolo. **Resultados:** Das 47 gestantes, foram identificados 21 fetos com o sexo feminino e 26 masculinos. Todas as amostras foram enviadas para um laboratório externo de referência para validação dos resultados onde foi obtido 100% de assertividade. **Conclusão:** A aplicação dessa nova metodologia traz agilidade e confiabilidade para a detecção do sexo fetal em idades gestacionais precoces, atreladas a uma metodologia não invasiva.

Palavras-chave: Cromossomo y, Dys14, Pcr, Taqman.



DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA A ESPÉCIE DOURADO (SALMINUS BRASILIENSIS)

ISADORA SILVA CORRÊA REIS; MARÍLIA DANYELLE NUNES RODRIGUES; CAIO VITOR DA CONCEIÇÃO COSTA; ÁDRIA DIVA DOS SANTOS PEREIRA; REGIANNE MACIEL DOS SANTOS CORREA

Introdução: nos últimos anos, espécies nativas têm sido alvo de pesquisas para implemento produtivo no Brasil, dada sua diversidade e potencial de crescimento. O dourado (*Salminus brasiliensis*) é uma espécie de alto valor na ictiofauna brasileira como recurso pesqueiro. Esse, também, possui potencial de cultivo devido seu rápido desenvolvimento, qualidade de carne e elevado preço de mercado. Diante disso, é necessária a obtenção de informações de cunho genético da espécie nativa para possibilitar maior conhecimento acerca da mesma. **Objetivo:** Portanto, o presente estudo visou desenvolver marcadores microssatélites para elucidação de *Salminus brasiliensis*. **Metodologia:** a partir de amostras de tecido de *Salminus Brasiliensis*, obteve-se DNA de alto parâmetro de qualidade, posteriormente, submetido ao sequenciamento de nova geração, pela plataforma Illumina, utilizando os sistemas MiSeq™ e HiSeq™. A qualidade das reads geradas foi avaliada pelo software FastQc para seguinte submissão à montagem de novo utilizando o programa SPAdes. Para a identificação de microssatélites, utilizou-se o programa MISA, com os parâmetros de seleção de 1 a 6 motifs de repetição (mono a hexanucleotídeos), sendo o número mínimo de repetições correspondendo a (1/10) (2/5) (3/4) (4/3) (5/2) (6/2). **Resultados:** foram obtidas 4119946 reads, com comprimento de 36 a 100 bp e 38% de conteúdo GC. Ao todo foram encontrados 56893 microssatélites, com abundância relativa de 1461.55 SSR/Mb e densidade relativa de 7730.17 bp/Mb. Microssatélites pentanucleotídeos foram os mais distribuídos ao longo do genoma, sendo os motivos de maior comprimento: TACCT, TGTAT, TTCTC, TTGAT, TTGCT, TTGGA. **Conclusão:** conclui-se, portanto, que a metodologia utilizada para desenvolvimento de marcadores microssatélites de *Salminus brasiliensis* é eficaz. Podendo contribuir como ferramenta para avanços em pesquisas da espécie.

Palavras-chave: Espécie nativa; marcadores microssatélites; *salminus brasiliensis*.



IDENTIFICAÇÃO DO SARS-COV-2 A PARTIR DE AMOSTRA DE SALIVA POR RT-PCR EM TEMPO REAL

LAURA CAMILA WAGNER RODIO; ANGÉLICA REGINA CAPPELLARI; DIOGO MULLER LACERDA; MARCO ANTÔNIO LARGUNA; ALVARO LARGUNA

Introdução: O RT-PCR (reação em cadeia da polimerase dependente de transcriptase reversa) é considerado o padrão ouro entre os protocolos aplicados para a identificação do novo coronavírus. Visto a necessidade de diagnóstico urgente e ágil do SARS-CoV-2, novas metodologias estão sendo padronizadas, destacando-se entre elas a detecção por saliva, considerada uma técnica não invasiva e de grande efetividade quando comparada aos critérios estabelecidos pela OMS (Organização Mundial da Saúde) por swab de naso e orofaringe. **Objetivos:** Padronizar a coleta de saliva para identificação do SARS-CoV-2 aplicado a técnica de RNA por PCR em tempo real. **Material e métodos:** A coleta de saliva foi realizada após o consentimento de 21 pacientes, de forma pareada com a coleta de naso e orofaringe para fins de comparação dos resultados e estabelecimento do percentual de efetividade da detecção. A extração de RNA e a reação de PCR foram realizadas conforme as instruções do fabricante do kit TaqCheck, da Thermo Fisher Scientifics. As amostras de naso e orofaringe foram encaminhadas para a rotina de diagnóstico laboratorial por RT-PCR. **Resultados:** Os resultados demonstram divergência em 1 amostra dos 21 testes realizados. Esse dado pode ser justificado pelo valor limítrofe do Ct atribuído a baixa carga viral, dificultando assim a identificação pela saliva. Isso acontece pela fluidez da saliva favorecer a diluição do material genético contido no coletado. **Conclusão:** Dentre ao exposto, podemos concluir que a identificação do SARS-CoV-2 pela metodologia apresentada a partir da saliva possui uma efetividade de 95,24%, quando comparada ao teste realizado por swab de naso e orofaringe. Por fim, para contornar o viés de uma possível carga viral, indica-se que a coleta de saliva seja realizada em pacientes sintomáticos a partir do quinto dia de início dos sintomas.

Palavras-chave: Sars-cov-2, Pcr, Saliva.



ANÁLISE GENÉTICA E IMUNOLÓGICA DA ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Regiany Calazans Lameira¹, Elizeth Miyashiro Alexandre Marques¹, Wilma Lúcia Marques Stival Pina¹, Thomas Antônio Machado dos Santos¹, Iklezia Henrique Pereira Martins Marinho¹

¹ – Universidade de Gurupi (UNIRG), Departamento de Medicina, Gurupi, Tocantins, Brasil.

RESUMO

Introdução: A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa que gera fraqueza e atrofia muscular por comprometimento dos neurônios motores. Apresenta-se de forma hereditária ou esporádica com incidência rara de 2/100.000 pessoas ao ano. A maioria das pessoas acometidas pela doença possuem mais de 50 anos, com média de sobrevida de 2 a 5 anos. Seu mecanismo fisiopatológico se dá por um conjunto de alterações bioquímicas e celulares que induzem a degeneração dos motoneurônios. O diagnóstico baseia-se na anamnese do paciente, exames neurofisiológicos de imagem, laboratoriais e genéticos. Não há cura para a doença, por isso, o tratamento é sintomatológico e visa melhorar a qualidade de vida do paciente. **Objetivo:** Compreender a etiopatogenia em relação aos aspectos genéticos e imunológicos que desencadeiam a Esclerose Lateral Amiotrófica. **Métodos:** A pesquisa foi realizada por meio de revisão bibliográfica de artigos sobre a ELA encontrados nas plataformas digitais Google Acadêmico, Scielo e pelo Sistema de informação do Ministério da Saúde. **Resultados:** A ELA esporádica possui um mecanismo etiopatogênico multifatorial, destacando-se, a excitotoxicidade do neurotransmissor glutamato. Já a ELA familiar segue um padrão de herança autossômica dominante, identificando mutações em 16 locus, sendo os mais comuns nos genes C9orf72 e SOD1. O gene SOD1 codifica a enzima superóxido dismutase podendo ser correlacionada a autoimunidade, assim como, sua participação na ELA pode ocorrer através de uma ação tóxica pelo acúmulo intracelular devido ao recrudescimento da ligação com a proteína ubiquitina, pela alteração de proteassomos, efeito amiloide e ocorrência de lesão secundária nas mitocôndrias. Portanto, estima-se que o sistema imunológico esteja ligado a doença, uma vez que vários autoanticorpos são encontrados na ELA, nos quais são direcionados, por exemplo, contra canais de cálcio e neurofilamentos. **Conclusão:** Assim, a ELA é uma doença neurodegenerativa relacionada a um fator genético, o qual sua expressão clínica relaciona-se com algum fator de exposição dessa pessoa, como um gatilho para o desenvolvimento degenerativo do motoneurônio. Além disso, tem causa multifatorial e apresenta expressiva visibilidade da mídia, do público, que acaba promovendo novos estudos.

Palavras-chave: Doença de Charcot; Doença de Lou Gehrig; Doença do neurônio motor; ELA.

1 INTRODUÇÃO

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença cujo o significado vem contido no próprio nome, ou seja, o acometimento acontece pelo endurecimento das raízes laterais da medula espinhal que acarretam à fraqueza e atrofia muscular. Possui incidência rara de 2/100mil pessoas ao ano, sendo definida como uma degeneração progressiva dos neurônios motores, responsáveis pelos movimentos de contração e relaxamento muscular (MITNE-NETO, 2011).

Apesar de não ser uma doença com alta incidência, ela afeta a vida biopsicossocial dos indivíduos acometidos por essa doença. Sabe-se que há um comprometimento neuronal de rápida progressão que pode afetar tanto o sistema nervoso central como o periférico, onde os neurônios motores começam a se degenerar tanto no corno anterior da medula, quanto no tronco encefálico, dificultando os núcleos motores e as contrações voluntárias. A musculatura é afetada sucessivamente, até o comprometimento total dos músculos da respiração, levando a morte. Dessa forma, a etiologia da ELA ainda é pouco conhecida, com isso tem menor entendimento sobre sua fisiopatologia (OLIVEIRA, 2013; SOUZA et al., 2015).

É considerada uma doença multifatorial, sendo assim, tem relação com fatores exógenos como infecções virais, fatores ambientais e imunológicos, que levam a excitotoxicidade por glutamato, neuroinflamação, agregação proteica e estresse oxidativo. Há também os fatores genéticos, fazendo com que o organismo sofra mutação em genes específicos como SOD1, FUS, ANG, ALS2 E SETX, entre outros. Ambos os fatores vão levar uma degeneração do neurônio motor. Além disso, existem fatores de risco como sexo (homens), idade (acima de 50 anos), pouca atividade física, tabagismo que recrudescem as chances de desenvolver a ELA em indivíduos predispostos (CERVANTES-ARAGON, 2019; OLIVEIRA, 2020).

Atualmente, o diagnóstico da ELA é dado pela identificação de características presentes no critério El escorial, junto com avaliação eletroneuromiográfica. Para fechar o diagnóstico, é necessário realizar a exclusão de outras doenças que comprometem também a função do neurônio motor, no entanto, demora muito para um diagnóstico preciso (ROWLAND; SHNEIDER, 2001; ORSINI, 2009).

A degeneração provocada pela ELA é irreversível, na maioria das vezes rápida (3 a 5 anos após diagnóstico) e devida à falência respiratória. Atualmente, não existe biomarcador ou qualquer elemento que possa diagnosticar indivíduos em fase pré sintomática. O único medicamento aprovado pra tratamento é o riluzol que atua em uma das vias do glutamato, mas com efeito limitado, portanto, o tratamento é paliativo (CRUZ; BESSA, 2021).

Diante do exposto, cogita-se que o Brasil não oferece assistência médica e reabilitação para os portadores de doenças raras como a ELA, com garantia de atenção igualitária em todas as regiões do país (REGIS et al., 2018). Dito isso, torna-se importante as pesquisas na área da genética para promover ferramentas para a detecção e o tratamento dessa doença. Por isso, o artigo tem por objetivo compreender a etiopatogenia em relação aos aspectos genéticos e imunológicos que desencadeiam a esclerose lateral amiotrófica, com o intuito de desvendar a origem da doença e descobrir métodos de diagnóstico precoce e tratamento que promova uma maior sobrevida aos pacientes acometidos pela esclerose lateral amiotrófica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada foi baseada em revisão bibliográfica de artigos sobre ELA encontrados nas plataformas digitais Google Acadêmico, Scielo e Sistema de informação do Ministério da Saúde, além de repositórios científicos de acesso aberto de universidades nacionais e estrangeiras. Foram encontrados 43 artigos, destes 18 foram utilizados na construção deste trabalho. Teve-se como critério de inclusão artigos publicados entre 2000 a 2021, sendo eles em português, espanhol e inglês. Em contrapartida, teve-se como critério de exclusão artigos publicados fora do período e idioma pretendidos, além dos artigos que não

abordam os aspectos genéticos e imunológicos da doença. Os descritores utilizados foram: Genética da ELA; Imunologia da ELA; Doença de Charcot e Doença de Lou Gehrig.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, em relação aos aspectos genéticos da ELA, verificou-se mutações em vários genes como: SOD1, TDP43 (proteína de ligação ao DNA-TAR), FUS (translocados em lipossarcoma), UBQLN, IPTN, VCP e C9orf72. Porém, as mutações no gene superóxido dismutase, ou, SOD1 é o mais descrito por ser o responsáveis por proteger contra danos mediados pelos radicais livres derivados do oxigênio. Dessa forma, os efeitos tóxicos causados pela mutação da SOD1 levam: a inclusão de agregação anormal de proteínas, a desorganização dos filamentos intermediários, a mudança de transporte axonal anterógrada e retrógrada, a ativação microglial, a excitotoxicidade mediada pelo glutamato e as anormalidades na regulação do cálcio intracelular são os principais fatores da patogênese (BERTAZZI, 2017).

São vários genes associados a ELA e cada um vai agir em uma via desregulando-a. Por ser descoberta primeiro, observa-se que a proteína SOD1 é bastante comentada e estudada em todos os artigos. Nesse viés, várias mutações foram identificadas na SOD1, as quais estão relacionadas a ELA familiar. A maioria dessas mutações leva a substituição de 1 aminoácido na proteína, outras levam a deleções, inserções, trunicações e alterações na janela de leitura no momento da tradução. O interessante é o fato de que diferentes mutações, localizadas em diferentes regiões da enzima, levam o desenvolvimento da ELA.

As características da SOD1 mutada que leva a morte seletiva de neurônios motores é pouco esclarecida. O conhecimento atual da neurodegeneração na ELA sugere uma complexa relação entre múltiplos fatores. Mas, independentemente dos mecanismos iniciais, a etapa final da morte envolve a ativação das caspases, culminando em apoptose. Cientistas dizem que algumas características peculiares dos neurônios motores podem torná-los mais susceptíveis à toxicidade mediada por estas enzimas.

Quando se observa um neurônio acometido por alguma doença degenerativa, como a esclerose lateral amiotrófica, acontece várias interações que, de forma molecular, pode acelerar ou retardar esse processo de degeneração. Sendo assim, a enzima SOD funciona como um importante mecanismo de defesa contra as espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas. Portanto, alterações na expressão e/ou atividade dessa enzima causa prejuízos no sistema nervoso. Dessa forma, os autores acreditam que os efeitos da produção de radicais livres sejam cumulativos em neurônios motores (por terem taxa de divisão baixa), uma vez que o SNC de pacientes post mortem apresentaram indicadores aumentados de lesões oxidativas como proteínas e lipídeos oxidados. Algumas proteínas importantes para a função do neurônio motor são sensíveis a oxidação, como os neurofilamentos, receptores de fatores neurotróficos e o transportador de glutamato, acarretando injúria nas células afetadas (OLIVEIRA, 2020).

Outro fator é que os componentes celulares sintetizados no corpo celular devem ser levados para o axônio, e uma das vias é o transporte anterógrado. As SODm parecem prejudicar este transporte. A agregação das SODs mutadas pode ser tóxica para o neurônio motor ao comprometer o funcionamento de outras proteínas englobadas nos agregados. Diante disso, presume-se que haja inibição do proteossomo, redução da atividade de chaperonas, desregulação do funcionamento de organelas como o complexo de golgi, retículo

endoplasmático e mitocôndria. Dessa forma, grandes agregados podem constituir uma barreira física ao transporte anterógrado dos componentes celulares destinados ao axônio.

Esse caminho do corpo celular ao axônio é longo e necessita de elevadas demandas energéticas, ou seja, maior atividade mitocondrial. Estudos revelam que os agregados constituídos de SODm se acumulam na matriz mitocondrial de neurônios e inibem a cadeia respiratória, diminuindo a produção de ATP. Isso promove a morte seletiva do neurônio motor, devido a necessidade de altas taxas energéticas (vulneráveis ao déficit energético). O déficit energético causado pela disfunção mitocondrial pode comprometer o neurônio motor por diminuir o potencial de membrana e isso pode levar a falha no receptor glutamato. Esse excesso de glutamato diminui a recaptação do aminoácido no cérebro e medula favorecendo a excitotoxicidade dos neurônios (CAVACO, 2016).

Vale lembrar que as pesquisas sugeriram inúmeras causas possíveis da patologia, incluindo o estresse oxidativo, a excitotoxicidade do glutamato, disfunção mitocondrial e agregação anormal proteica. As mutações SOD1/G93A, apresentaram vulnerabilidade das mitocôndrias ao estresse oxidativo, vacuolização e inchaço. Por conseguinte, as enzimas que transportam os elétrons são modificadas por conta dessa mutação, sendo que, *in vitro*, ocorre a perda de potencial de membrana e o aumento do cálcio citosólico, acarretando na depleção de ATP, e isso podem ativar o sistema imunológico. Cabe salientar ainda que a doença é desencadeada pela combinação de diversos fatores e não isoladamente (CAVACO, 2016).

Além disso, cogita-se que a expressão de SOD mutante nos neurônios motores e nos astrócitos promova o desenvolvimento da ELA. Dessa forma, evidências apontam para um papel dos astrócitos no desenvolvimento da ELA, uma vez que, no tecido nervoso post mortem de pacientes, verificou-se a ativação de células da glia que circundam os neurônios motores, sugerindo a participação de mediadores inflamatórios no dano a estes neurônios. Nesse viés, o sistema imune não funciona corretamente e causa ao organismo um distúrbio, onde ele ataca algo que é próprio e age de maneira exagerada (PRADO, 2018).

O que acontece na ELA é que células micróglia reconhece antígenos presentes nos 11 neurônios ativando linfócitos TCD4+ que podem provocar uma diferenciação linfócitos B levando a produção de imunoglobulinas específicas contra o antígeno. Dessa forma, os linfócitos T reconhecem células próprias do organismo (por APCs ou pelo próprio tecido que expressa receptor). Com isso linfócitos T secretam citocinas e induz reação inflamatória e regeneração tecidual. Assim, na ELA os linfócitos TCD4+ reconhecem antígenos na bainha de mielina e esses linfócitos começam a recrutar macrófagos que destroem a bainha de mielina.

Portanto, após as análises imunogenéticas da doença, discorre-se que, tanto o fator genético quanto o fator imunológico influenciam no desenvolvimento e na progressão da esclerose lateral amiotrófica. Além disso, a falta de estudos sobre o desencadeamento da ELA e seus mecanismos etiopatológicos dificulta o processo de diagnóstico precoce e tratamento, deixando de propiciar a sistematização holística aos indivíduos acometidos pela ELA.

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, ressalta-se que os indivíduos geneticamente predispostos estão mais propensos a gerarem uma hiperatividade imunológica que altera a barreira hematoencefálica e propicia processos inflamatórios, o que facilita a passagem dos linfócitos T pela barreira,

promovendo a desmielinização do neurônio. Assim, com base nos artigos analisados, fica claro que a Esclerose Lateral Amiotrófica é uma doença neurodegenerativa relacionada a um fator genético onde sua expressão clínica está diretamente relacionada com a exposição deste indivíduo a algum fator que funcionaria como gatilho para o desencadeamento do processo de degeneração do motoneurônio. Ademais, possui causa multifatorial, apresentando expressiva visibilidade midiática, o que acaba promovendo novos estudos que propiciem o desencadeamento de uma série de avanços imunogenéticos para determinar diferentes elementos patológicos, ou seja, há a necessidade de mais pesquisas para identificar marcadores diagnósticos que detectam a doença no período pré sintomático, assim como, informações sobre a atuação da expressão gênica no desencadeamento da ELA.

REFERÊNCIAS

ARAE LA - Asociación Aragonesa de Esclerosis Lateral Amiotrófica. Estrés Oxidativo y Patología en la Esclerosis Lateral Amiotrófica. **Servicio de Neurología H. Clínico Universitario Lozano-Blesa**. Zaragoza. Disponível em: <https://www.araela.org/la-ela/estres-oxidativo-y-patologa-en-la-esclerosis-lateral-amiotrofica/> . Acesso em: 5 mai. 2022.

ASSOCIAÇÃO PRÓ-CURA DA ELA. **Tipos de ELA**. Disponível em: <https://procuradaela.org.br/tipos-de-ela/> . Acesso em: 5 mai.2022.

ATG MEDICAL - Centro de estudos genéticos. **Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)**, ¿Qué es? Disponível em: <https://www.atgmedical.es/diagnostico/neurologia/ela>. Acesso em: 5 mai.2022.

BERTAZZI, R.N.; MARTINS, F.R.; SAADE, S.Z.Z.; GUEDES, V.R. Esclerose Lateral Amiotrófica. 2017. **Revista de Patologia do Tocantins**,4(3):54-65. Universidade Federal do Tocantins, 2017. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/patologia/article/view/3518/11598>. Acesso em: 5.mai.2022.

CAVACO, S.G. Esclerose Lateral Amiotrófica: fisiopatologia e novas abordagens farmacológicas. Dissertação de mestrado. Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências e Tecnologia. **Universidade do Algarve**, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.1/9933>. Acesso em: 5. mai. 2022.

CERVANTES-ARAGÓN, Iván et al. Aproximación genética en la esclerosis lateral amiotrófica. **Gaceta Médica de México**, v. 155, n. 5, p. 513-521, 2019.

CRUZ, M.E.D.; BESSA, L.L.C. Tratamento e manejo da Esclerose Lateral Amiotrófica: uma revisão narrativa. **Bionorte**, v. 10, n. S2, 2021. Disponível em: <http://revistas2.funorte.edu.br/revistas/index.php/bionorte/article/view/335> . Acesso em: 5.mai.2022.

GARD - Genetic and rare diseases information center. **Esclerosis lateral amiotrófica**. 2017. Disponível em: <https://rarediseases.info.nih.gov/espanol/12374/esclerosis-lateral-amiotrofica>. Acesso em: 5 mai.2022.

INFOBAE. Esclerosis lateral amiotrófica: la importancia de la prueba genética para detectarla a tempo. **America Inhouse**, 24 dez. 2021. Disponível em: <https://www.infobae.com/america/inhouse/2021/12/24/esclerosis-lateral-amiotrofica-la-importancia-de-la-prueba-genetica-para-detectarla-a-tiempo/>. Acesso em: 5 mai.2022.

MITNE NETO, M. Análise em vitro da esclerose lateral amiotrófica tipo 8 e Estudo genético da paraplegia espástica 4. 2011. 115 p. Tese (Doutorado) - **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo - USP**, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-24052011-112414/pt-br.php>. Acesso em: 20 abr. 2022.

OLIVEIRA, A. *et al.* ELA – Esclerose Lateral Amiotrófica. **Associação Brasileira de Esclerose Lateral Amiotrófica**. [S. l.], p. 1-48, 2013. Disponível em: https://www.abrela.org.br/wp-content/uploads/2018/05/AbrELA_LIVRETO_web.pdf. Acesso em: 20 abr. 2022.

OLIVEIRA, D.F. Estudos genéticos e funcionais sobre os genes VAPB e VRK1 em duas famílias portadoras de Esclerose Lateral Amiotrófica. 2020. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41131/tde-15122020-143559/en.php>. Acesso em: 5.mai.2022.

ORSINI, M. *et al.* Medidas de avaliação na esclerose lateral amiotrófica. **Revista Neurociências**, v. 16, n. 2, p. 144-151, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.34024/rnc.2008.v16.8652>. Acesso em: 5.Mai.2022.

PRADO, L.G. *et al.* Neuroinflamação na esclerose lateral amiotrófica. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 54, n. 3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.46979/rbn.v54i3.21101>. Acesso em 1.mai.2022.

REGIS, A. H. P.; GONÇALVES, J. R.; SIQUEIRA, M. V. B. Da necessidade de políticas públicas brasileiras efetivas para os pacientes com esclerose lateral amiotrófica - ELA. **Revista JRG De Estudos Acadêmicos**, 1(2), 54–68, 2018. Disponível em: <http://www.revistajrg.com/index.php/jrg/article/view/20>. Acesso em: 1.mai.2022.

ROWLAND, L. P.; SHNEIDER, N.A. Amyotrophic lateral sclerosis. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 22, p. 1688-1700, 2001. Disponível em: 10.1056/NEJM200105313442207. Acesso em: 1.mai.2022.

SOUZA, P.V.S. *et al.* Bases clínicas e genéticas da esclerose lateral amiotrófica familiar. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. 73 (12). dez 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0004-282X20150161>. Acesso em: 5.mai.2022.



ANÁLISE DE PRESENÇA E ATIVIDADE DO GENE TERT DA TELOMERASE EM CROMOSSOMOS B DE PSALIDODON PARANAE (TELEOSTEI, CHARACIDAE)

PAMELA CRISTINA FERREIRA DE NADAI; MATEUS ROSSETTO VIDAL; LUCAS FORTINO LASMAR; CLAUDIO OLIVEIRA; FAUSTO FORESTI

Introdução: Diversos organismos eucariotos possuem elementos genômicos extras, conhecidos como cromossomo B. Esses elementos são em geral heterocromáticos e compostos principalmente por sequências repetitivas de DNA, além de também possuírem genes ativamente transcritos. Os telômeros são estruturas cuja a função é manter a integridade estrutural dos cromossomos, e são constituídos por sequências não codificantes e repetitivas de DNA (TTAGGG). Neste sentido, a enzima telomerase, codificada pelo gene *tert* (*telomerase RNA reverse transcriptase*), desempenha um papel importante, atuando diretamente no alongamento dos telômeros. Considerando que os cromossomos B são elementos extras no genoma, pode-se supor que, por um mecanismo de compensação, uma maior atividade do gene *tert* seja induzida pela presença destes cromossomos. **Objetivo:** Deste modo, nosso objetivo foi analisar a presença do gene *tert* em cromossomo B de indivíduos *Psalidodon paranae*, tal como analisar se há expressão diferencial desse gene associado a presença do cromossomo B entre indivíduos 0B e B+. **Metodologia:** Para isso, foram coletados espécimes de *P. paranae* do ribeirão Cascatinha em Botucatu-SP (22°53'30"S 48°28'36"W), sendo 3 indivíduos B+ e 3 indivíduos 0B. Para análise da presença e da expressão do gene *tert* nesses indivíduos, foram utilizadas leituras curtas de alto rendimento de bibliotecas de DNA e RNA, obtidas através do sequenciamento Illumina. Em seguida, foi realizado o mapeamento das leituras usando o software SSAHA2 tendo a sequência codificadora do gene *tert* como referência. Foram usados *scripts* customizados para contabilizar o número de leituras mapeados e gerar os gráficos de cobertura. As análises bioinformáticas em bibliotecas de DNA e RNA não apresentaram diferença de cobertura entre as bibliotecas B+ e 0B, indicando ausência do gene *tert* no cromossomo B e ausência de expressão diferencial. **Resultados:** Nossos resultados indicam que os cromossomos B não exercem nenhuma influência na maquinaria de regulação telomérica. Pode-se especular, portanto, que estes elementos poderiam levar, em longo prazo, a efeitos deletérios. No entanto, para melhor elucidação desta hipótese estudos futuros comparando expressão gênica entre adultos e juvenis são necessários. **Conclusão:** Ainda, considerando que *P. paranae* possui no máximo dois cromossomos B, em um cenário similar estes efeitos poderiam ser intensificados em organismos com maiores números de cromossomos B.

Palavras-chave: Astyanax, Genômica, Reparo de dna.



IMPLANTAÇÃO DO TESTE GENÉTICO DE INTOLERÂNCIA À LACTOSE: RASTREAMENTO DO POLIMORFISMO 13910 C/T E 22018 G/A POR GENOTIPAGEM

VITÓRIA CAROLINE TOMACHESKI SCHULTZ BERTOL; ALVARO LARGURA; ANGÉLICA REGINA CAPPELLARI; DIOGO MULLER LACERDA; MARCO ANTÔNIO LARGURA

Introdução: A intolerância à lactose é classificada como uma intolerância alimentar, experienciada por muitas pessoas ao redor do mundo e apresenta uma variedade de sintomas que incluem dor abdominal, flatulência, inchaço e diarreia. Se apresenta em três formas: a congênita, a hipolactasia primária e a hipolactasia secundária. Existe atualmente inúmeras formas de diagnosticar essa patologia, no entanto, são metodologias invasivas, desconfortáveis e muitas vezes onerosas para o paciente. **Objetivo:** O objetivo desse trabalho é apresentar a técnica de identificação da intolerância a lactose pelo método de PCR em tempo real por identificação de SNP (do inglês single nucleotide polymorphism – polimorfismo de um único nucleotídeo) por genotipagem como uma alternativa mais acessível e mais rápida para diagnosticar o problema, sendo este, ainda, um método não invasivo. **Material e Métodos:** Pacientes com sintomas suspeitos de intolerância a lactose foram encaminhados ao laboratório para coleta de amostras de sangue total. Os mesmos preencheram um formulário consentindo a análise de seu material genético para investigação. Onde uma amostra foi encaminhada para o rastreamento dos polimorfismos por genotipagem aplicado ao PCR em tempo real e a outra, encaminhada para sequenciamento genômico em laboratório de referência para confirmação dos resultados obtidos. **Resultados:** Foram avaliados 20 pacientes, destes 50% apresentaram perfil genético associado a intolerância à lactose. Todos os resultados foram comprovados pelo sequenciamento genético apresentando 100% de assertividade. **Conclusão:** O teste de genotipagem por SNP aplicado ao PCR em tempo real constitui uma ferramenta mais rápida, confiável e menos invasiva no diagnóstico da intolerância a lactose.

Palavras-chave: Intolerância a lactose, Genotipagem, Pcr.



FERRAMENTA CRISPR/CAS9 NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

CARLOS ROBERTO SILVA DE OLIVEIRA¹, FRANCISMARY BARROS DA SILVA¹, EZILDO FRANCISCO FELINTO FILHO², VITÓRIA RAMOS CRUZ DA SILVA³, MARILÚCIA RIBEIRO AMORIM³

¹ - Doutorando em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: carlos.robertooliveira@ufrpe.br; francismarybarrosdasilva@gmail.com;

² - Mestrando em Agronomia – Melhoramento Genético de Plantas, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: ezildoff@gmail.com

³ – Graduanda em Biologia – Universidade de Pernambuco – UPE. E-mail: vitoria.ramoss@upe.br; mariluciar261@gmail.com

RESUMO

Introdução: A ferramenta de edição gênica CRISPR (Repetições Palindrômicas Pequenas Regularmente Espaçadas e Agrupadas) possibilita a inserção, deleção ou substituição de bases em sequências alvos. O diferencial dessa tecnologia é a alta precisão, baixo custo e possibilidade de intervir em diversas bases simultaneamente. Essas vantagens permitem a obtenção de cultivares superiores em um curto prazo de tempo, além da economia em recursos humanos e financeiro. **Objetivo:** Relatar sobre o que é e informar os ganhos de algumas aplicações da ferramenta CRISPR/Cas9 na edição genética de plantas. **Material e Método:** Esse trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre a tecnologia de edição gênica CRISPR/Cas9. Foram selecionados apenas artigos e livros, em diferentes bases de indexação, todos publicados nos últimos dez anos (2012 – 2022), com relatos de edição gênica de plantas mediadas pela proteína Cas9 associada ao sistema CRISPR. As expressões de busca utilizadas foram: ‘edição gênica de plantas’, ‘CRISPR/Cas9’, ‘Sistema CRISPR’, ‘técnica CRISPR’, ‘ferramenta CRISPR/Cas9’, em português e inglês. **Resultados:** A característica definidora dos loci CRISPR é uma série de repetições diretas (20-50 pares de bases) separadas por sequências espaçadoras exclusivas de comprimento semelhante. A proteína Cas9 é um grande aminoácido de DNA multifuncional que usa uma sequência guia dentro de um duplex de RNA. A partir da utilização da tecnologia CRISPR/Cas9 diversas culturas vegetais de alto valor econômico adquiriram resistência a estresses bióticos e abióticos, como por exemplo, tolerância a viroses e altas temperaturas. Essa ferramenta permite a obtenção de plantas com novos traços úteis, sem a presença de eventos transgênicos. **Conclusão:** A edição genética direcionada mediada pelo sistema CRISPR/Cas9 permite o aceleração dos ganhos genéticos em características quantitativas

e qualitativas em programas de melhoramento vegetal.

Palavras-chave: Edição gênica; ganho genético; características fenotípicas.

ABSTRACT

Introduction: The gene editing tool CRISPR (Small Regularly Spaced and Clustered Palindromic Repeats) allows the insertion, deletion, or substitution of bases in target sequences. The differential of this technology is its high precision, low cost, and the possibility of intervening in several bases simultaneously. These advantages allow obtaining superior cultivars in a short period of time, in addition to saving human and financial resources. **Objective:** To report on what it is and to inform the gains of some applications of the CRISPR/Cas9 tool in the genetic editing of plants. **Material and Method:** This work consists of a literature review on CRISPR/Cas9 gene editing technology. Only articles and books were selected, in different index bases, all published in the last ten years (2012 – 2022), with reports of gene editing in plants mediated by protein nine (Cas9) associated with the CRISPR system. The search expressions used were: 'plant gene editing', 'CRISPR/Cas9', 'CRISPR system', 'CRISPR technique', 'CRISPR/Cas9 tool', in Portuguese and English. **Results:** The defining feature of CRISPR loci is a series of forward repeats (20-50 base pairs) separated by unique spacer sequences of similar length. The Cas9 protein is a large multifunctional DNA amino acid that uses a guide sequence within an RNA duplex. Using CRISPR/Cas9 technology, several high economic value vegetable crops have acquired resistance to biotic and abiotic stresses, such as tolerance to viruses and high temperatures. This tool allows obtaining plants with new useful traits, without the presence of transgenic events. **Conclusion:** Targeted gene editing mediated by the CRISPR/Cas9 system allows the acceleration of genetic gains in quantitative and qualitative traits in plant breeding programs.

Key Words: Gene editing; genetic gain; phenotypic traits.

1 INTRODUÇÃO

CRISPR é uma tecnologia recentemente desenvolvida por duas cientistas, Emmanuelle Charpentier, da França, e Jennifer Doudna, dos EUA, que resultou no Prêmio Nobel de Química em 2020. Em termos técnicos, o significado da sigla CRISPR é Repetições Palindrômicas Pequenas Regularmente Espaçadas e Agrupadas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Essas repetições foram previamente descritas em 1987 por pesquisadores japoneses como uma série de repetições diretas curtas intercaladas com sequências curtas no genoma de *Escherichia coli* (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014).

Em 2012 com a descoberta e o desenvolvimento do sistema CRISPR como nucleases específicas de sequência, trouxe uma mudança de paradigma na biologia (SUKEGAWA; SAIKA; TOKI, 2021). Tudo isso devido a possibilidade de transformação do genoma com alta precisão, facilidade de design, capacidade de multiplexação e baixo custo. Inicialmente, a ferramenta CRISPR foi aplicada na mutagênese direcionada para nocautear um gene alvo (LYZENGA; POZNIAK; KAGALE, 2021).

Posteriormente em 2016 e 2017, os avanços das tecnologias de edição de genoma

usando CRISPR se desenvolveram rapidamente, com sistemas de edição de base para substituição de transição usando uma combinação de Cas9 nickase e citidina ou adenosina desaminase. Entretanto, os grandes avanços surgiram a partir de 2021 com os relatos de substituição de transversão, usando a Cas9 nickase, citidina desaminase e uracil (SUKEGAWA; SAIKA; TOKI, 2021).

No melhoramento genético vegetal a integração da edição de genes baseada em CRISPR/Cas9 pretende avançar a domesticação e refinar variedades de culturas consanguíneas para várias aplicações em ambientes de crescimento diferentes. Além de fixar variantes alélicas desejáveis, gerar novos alelos, quebrar ligações genéticas deletérias, apoiar a pré-reprodução para introgressão de loci favoráveis em linhagens elite (LYZENGA; POZNIAK; KAGALE, 2021).

CRISPR/Cas9 é útil como uma nuclease específica de sequência (SSN) para edição do genoma em muitos organismos, apresentando facilidade de construção de vetor, alta frequência de indução de quebras de fita dupla de DNA (DSBs), ampla aplicabilidade e menor custo em comparação com outras ferramentas de edição de genes (LYZENGA; POZNIAK; KAGALE, 2021; SUKEGAWA; SAIKA; TOKI, 2021). Sendo assim, o objetivo desta revisão foi informar sobre o que é relatar ganhos genéticos mediados pelo uso da ferramenta CRISPR/Cas9 na edição genética de plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho consiste em uma revisão bibliográfica sobre as diversas aplicações da ferramenta de edição gênica CRISPR/Cas9 no melhoramento genético de plantas. A coleta de dados a respeito do tema foi realizada através das plataformas Google Acadêmico, Portal de periódicos da CAPES e SciELO. Foram selecionados apenas artigos e livros publicados nos últimos dez anos (2012 – 2022) que realizaram a edição de genes em plantas mediadas pela proteína nove (Cas9) associada ao sistema CRISPR. As expressões de busca utilizadas foram: ‘edição gênica de plantas’, ‘CRISPR/Cas9’, ‘Sistema CRISPR’, ‘técnica CRISPR’, ‘ferramenta CRISPR/Cas9’, em português e inglês.

2 RESULTADOS

Os sistemas CRISPR/Cas são compostos de genes *cas* organizados em operon (s) e array (s), enquanto o CRISPR consiste em sequências de direcionamento de genoma (chamadas espaçadores) intercaladas com repetições idênticas (JINEK *et al.*, 2012). A característica definidora dos loci CRISPR é uma série de repetições diretas (aproximadamente 20-50 pares de bases) separadas por sequências espaçadoras exclusivas de comprimento semelhante (WIEDENHEFT; STERNBERG; DOUDNA, 2012).

Tradicionalmente, os sistemas CRISPR/Cas compreendem uma nuclease com domínios RuvC e HNH (*Sp* Cas9; *Streptococcus pyogenes*) e um RNA guia programável (gRNA) com homologia com a sequência genômica alvo (JINEK *et al.*, 2012; LYZENGA; POZNIAK; KAGALE, 2021). Dessa forma, os sistemas CRISPR/Cas é caracterizado como um sofisticado sistema adaptativo, guiado por RNAs codificados pelo locus CRISPR e pelas proteínas Cas capaz de editar mais de um gene por vez através da inserção, deleção ou substituição de base (JIANG;DOUDNA, 2017; MOLINARI *et al.*, 2020).

A proteína Cas9 é um grande aminoácidos de DNA multifuncional que usa uma

sequência guia dentro de um duplex de RNA, tracrRNA: crRNA, para formar pares de bases com sequências alvo de DNA, permitindo que Cas9 introduza uma quebra de fita dupla específica no DNA (JIANG; DOUDNA, 2017). O tracrRNA duplo: crRNA foi projetado como um único RNA guia (sgRNA) que retém duas características críticas: uma sequência no lado 5' que determina o sítio alvo do DNA e uma estrutura de RNA duplex no 3' lado que seliga ao Cas9 (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014).

As estruturas moleculares de Cas9 determinadas por microscopia eletrônica e cristalografia de raios-X mostram que a proteína sofre um grande rearranjo conformacional após a ligação ao RNA guia, com uma alteração adicional após associação com um DNA de fita dupla alvo (dsDNA) (DOUDNA; CHARPENTIER, 2014). Cas9 requer uma sequência de motivo adjacente de protoespaçador (PAM) na extremidade 3' da sequência alvo de DNA para reconhecer e clivar o DNA alvo. Portanto a edição de genes baseada em CRISPR/Cas corta dsDNA 3 bp a montante do PAM por meio de seus dois domínios de nuclease distintos: um domínio de nuclease semelhante a HNH que cliva a fita de DNA complementar à sequência de RNA guia fita alvo e um domínio de nuclease semelhante a RuvC responsável por clivar o DNA fita oposta à fita complementar fita não-alvo (JIANG; DOUDNA, 2017).

Dependendo da natureza da quebra de DNA e de como ela é reparada, várias oportunidades de edição genômica são criadas. No caso de SpCas9, a sequência PAM, 5'-NGG-3', deve seguir a fita complementar do DNA alvo ao qual o RNA guia (gRNA) seliga. Este requisito para uma sequência PAM específica é um fator importante que restringe a seleção de sequências alvo (JINEK *et al.*, 2012; SUKEGAWA; SAIKA; TOKI, 2021).

Desde a primeira demonstração de seu potencial para engenharia de genoma (JINEK *et al.*, 2012), o sistema CRISPR/Cas9 foi rapidamente implementado como uma ferramenta extremamente poderosa para a manipulação do genoma em um amplo espectro de organismos (JIANG; DOUDNA, 2017). Desde então essa tecnologia passou ser incorporada na edição genomas das plantas, principalmente para adquirir resistência a diversos estresses abióticos e bióticos.

WANG *et al.* (2014) usando a tecnologia CRISPR/Cas9 conseguiram direcionar os genes do loci de resistência ao oídio em trigo obtendo assim plantas resistentes ao oídio. Na cultura do tomate, foi realizada a edição gênica para obtenção de frutos partenocárpicos sob condições de estresse térmico por meio de mutação do gene *SIAGL6* (KLAP *et al.*, 2017). Também utilizando essa ferramenta, foi possível desenvolver genótipos de tomate resistentes ao estresse por calor por meio da mutação do gene *SIMAPK3* (Yu *et al.*, 2019). A edição multiplex do gene *SIHyPRP1* mediada por CRISPR/Cas9 conseguiu realizar deleções precisas no sítio funcional desse gene, resultando em eventos tolerantes ao estresse salino em tomate (TRAN *et al.*, 2021).

Esses trabalhos referentes mutações multiplex mediadas por CRISPR/Cas9 resultaram em ganhos qualitativos e/ou quantitativos em diversas culturas, como por exemplo, o trigo hexaplóide (GIL-HUMANES *et al.*, 2017), safras poliploides: trigo, camelina, canola, batata, algodão, amendoim, cana-de-açúcar e cítricos (WEEKS, 2017), milho polipoliploide (CHAR *et al.*, 2017) e arroz (WANG, M. *et al.*, 2020). Em soja, essa tecnologia foi utilizada com sucesso para criar mutações somáticas não hereditárias (Du *et al.*, 2016; Jacobs *et al.*, 2015). Esse sistema de edição genômica também está sendo utilizado na fitorremediação de poluentes perigosos em plantas (SARMA *et al.*, 2021). A criação de plantas e produtos vegetais com novos traços úteis, sem que o resultado final

seja uma planta transgênica, é considerado uma das principais aplicações CRISPR/Cas9 (SUKEGAWA; SAIKA; TOKI, 2021).

3 CONCLUSÃO

A edição genômica mediada por CRISPR/Cas9 tem seu caráter revolucionário no melhoramento genético de plantas, sobretudo pela sua especificidade, universalidade e relativa simplicidade. A utilização dessa ferramenta possibilita a obtenção de cultivares resistentes a diversos fatores bióticos e abióticos, além de possibilitar maiores rendimentos em diversos componentes de produção. Sua utilização possibilita avançar diversas etapas em programas de melhoramento, com a obtenção de plantas superiores livre de transgênia.

4 REFERÊNCIAS

- CHAR, S. N. et al. An Agrobacterium-delivered CRISPR/Cas9 system for high-frequency targeted mutagenesis in maize. **Plant biotechnology journal**, v. 15, n. 2, p. 257-268, 2017.
- DOUDNA, J. A.; CHARPENTIER, E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, p. 1258096, 2014.
- GIL-HUMANES, Javier et al. High-efficiency gene targeting in hexaploid wheat using DNA replicons and CRISPR/Cas9. **The Plant Journal**, v. 89, n. 6, p. 1251-1262, 2017.
- JIANG, F.; DOUDNA, J. A. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. **Annu Rev Biophys**, v. 46, n. 1, p. 505-529, 2017.
- JINEK, M. et al. A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. **Science**, v. 337, n. 6096, p. 816–821, 2012.
- KLAP, C. et al. Tomato facultative parthenocarpy results from Sl AGAMOUS-LIKE6 loss of function. **Plant Biotechnology Journal**, v. 15, n. 5, p. 634–647, 2017.
- LYZENGA, W. J.; POZNIAK, C. J.; KAGALE, S. Advanced domestication: harnessing the precision of gene editing in crop breeding. **Plant Biotechnology Journal**, v. 19, n. 4, p. 660– 670, 2021.
- MOLINARI, H. B. C. et al. **Tecnologia CRISPR na edição genômica de plantas: biotecnologia aplicada à agricultura**. Embrapa Agroenergia. Livro científico (ALICE), 2020.
- MOON, Su Bin et al. Recent advances in the CRISPR genome editing tool set. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 51, n. 11, p. 1–11, 2019.
- SARMA, H. et al. Enhancing phytoremediation of hazardous metal(loid)s using genome engineering CRISPR–Cas9 technology. **Journal of Hazardous Materials**, v. 414, p.125493, 2021.
- SUKEGAWA, S.; SAIKA, H.; TOKI, S. Plant genome editing: ever more precise and wide

reaching. **The Plant Journal**, v. 106, n. 5, p. 1208-1218, 2021.

TRAN, M. T. et al. CRISPR/Cas9-based precise excision of SlHyPRP1 domain(s) to obtain salt stress-tolerant tomato. **Plant Cell Reports**, v. 40, n. 6, p. 999–1011, 2021.

WANG, M. et al. Targeted base editing in rice with CRISPR/ScCas9 system. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 8, p. 1645–1647, 2020.

WANG, Y. et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid breadwheat confers heritable resistance to powdery mildew. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 9, p. 947– 951, 2014.

WEEKS, D. P. Gene editing in polyploid crops: wheat, camelina, canola, potato, cotton, peanut, sugar cane, and citrus. **Progress in molecular biology and translational science**, v. 149, p. 65-80, 2017.

WIEDENHEFT, B.; STERNBERG, S. H.; DOUDNA, J. A. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. **Nature**, v. 482, n. 7385, p. 331–338, 2012.



EXPOSIÇÃO AO GLIFOSATO E OCORRÊNCIA DE ANOMALIAS CONGÊNITAS: UMA DÉCADA DE ESTUDOS EM ANIMAIS

IRIS MOREIRA DA SILVA; FLAVIA IMBROISI VALLE ERRERA

Introdução: As anomalias congênitas (AC) são uma das principais causas de mortalidade infantil e contribuem para problemas de saúde ao longo da vida. Fatores genéticos e ambientais contribuem para o desenvolvimento de AC. Dentre os fatores ambientais, a exposição a agrotóxicos pode causar inúmeros efeitos adversos para o meio ambiente, seres vivos e especialmente para a saúde dos seres humanos. Tanto antes quanto durante a gravidez, a exposição a agrotóxicos está associada à AC. Um dos agrotóxicos mais utilizados é o Glifosato, um herbicida cujas vendas e o uso aumentaram desde a introdução de novas variedades de culturas geneticamente modificadas. A associação entre a exposição ao Glifosato e a ocorrência de AC em humanos é pouco conhecida, mas vem sendo investigada, principalmente em animais e revelando não só desfechos metabólicos e reprodutivos negativos para adultos quanto também AC. Uma revisão desses achados em animais pode auxiliar nas pesquisas com seres humanos. **Objetivo:** realizar uma revisão sobre a associação entre a exposição ao Glifosato/Roundup e a ocorrência de anomalias congênitas. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão integrativa da literatura. Foram selecionados artigos realizados em animais e escritos em Inglês, que foram publicados nos últimos 10 anos, como textos completos e livres. Os termos de busca utilizados foram: “congenital anomalies” OR “birth defects” OR “malformations” AND “pesticides” and Glyphosate. **Resultados:** Foram identificados 18 artigos, dos quais dois foram excluídos pela leitura do título e dois após a leitura do resumo. Ao final, 14 foram selecionados para análise nesta revisão. A maioria (13) dos artigos eram relacionados a animais, sendo apenas quatro com abordagem em humanos. Foram observados: um artigo sobre Truta, seis artigos em anuros, dois artigos com carpas, três com Danio rerio (Zebrafish), dois com ratos e apenas em coelhos. Um artigo abordou mais de uma espécie citada acima. Dentre as AC encontradas, as principais foram anormalidades cardíacas (4), craniofaciais (3), bucais (2) e associados à coluna vertebral/notocorda (2), bem como intestinais. **Conclusão:** Estudos em animais, embora menos escassos que em humanos mostram que a o Glifosato é associado à ocorrência de AC, indicando a importância de conhecer essa associação em humanos.

Palavras-chave: Anomalias congênitas. glifosato. malformações. pesticidas.



ASSOCIAÇÃO ENTRE O USO DE ANTIEPILEPTICOS NA GESTAÇÃO E ANOMALIAS CONGÊNITAS: UMA REVISÃO

MAYLA CRISTINE FORTUNATA SILVA; FLAVIA IMBROISI VALLE ERRERA

Introdução: A epilepsia é uma condição neurológica, definida pela hiperatividade neuronal levando a descargas elétricas excessivas involuntárias que podem ser causadas por diversos fatores. A doença atinge entre 0,5% e 1% da população geral e suas crises podem ser classificadas quanto a etiologia, idade do início ou tipo de crises, sendo a classificação por tipo de crise a mais utilizada para diagnóstico. Pode ser classificada em motora ou não motora. Para tratamento são utilizados fármacos antiepilépticos específicos para cada tipo de crise epiléptica, sendo fenobarbital, valproato e carbamazepina os mais comuns. Visto que a epilepsia é comum na população geral e é vista de forma ativa geralmente em mulheres a partir dos 21 anos, a doença pode afetar gestantes também. Durante a gestação, os medicamentos podem apresentar riscos para a gestante e para o feto, incluindo o risco de anomalias congênitas (AC). Atualizar conhecimentos sobre a associação entre AC e exposição a anticonvulsivantes é crucial para revisar a regulamentação da prescrição desses fármacos na gestação.

Objetivo: Realizar uma revisão sobre a prevalência da epilepsia na gestação, medicamentos utilizados no tratamento de epilepsia e a associação com o risco de anomalias congênitas. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão de literatura no pubmed, analisando artigos publicados nos últimos 10 anos (2012-2022), utilizando os termos: Congenital anomalies, malformations, birth defects, antiepileptics e o nome dos principais medicamentos. **Resultados:** Após a busca, foram selecionados um total de 143 artigos. A prevalência nacional de epilepsia em gestantes é em torno de 0,3% a 0,5%. Os fármacos antiepilépticos mais utilizados por gestantes são o fenobarbital, a carbamazepina, valproato, gabapentina e lamotrigina. Foi observado que esses medicamentos estão associados a diversas AC em recém-nascidos das mães epilépticas. Lamotrigina e fenobarbital foram relacionados à AC do tubo neural, o valproato e a carbamazepina estão associados à malformações do desenvolvimento cortical. Observou-se também a correlação entre doenças cardíacas e antiepilépticos no geral. **Conclusão:** É importante controlar a epilepsia durante a gestação, no entanto, devido ao risco de AC e outros desfechos negativos, vários órgãos sugerem a melhoria da regulamentação e prescrição mais rigorosa dos fármacos antiepilépticos.

Palavras-chave: Antiepilépticos, Gestação, Anomalias congênitas.



GENES RELACIONADOS AO CÂNCER DE MAMA: UM ESTUDO ACERCA DOS ONCOGENES

STEPHANIE FREIRE SOARES DE FARIAS; GRAZIELA GAMA DA CONCEIÇÃO GOMES;
BIATRIZ COSTA DINIZ; CAIO DE BRITO MATOS; MARCOS VINÍCIUS SOUZA DE
ALMEIDA

Introdução: O câncer de mama é uma patologia relacionada a mutações genéticas, como alterações patológicas em genes como: BRCA 1 e BRCA 2. De acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer, no ano de 2022, é estimado 68.280 novos casos, número que representa uma incidência de 43,74 casos por 100 mil indivíduos do sexo feminino. **Objetivo:** entender a relação dos genes com o desenvolvimento do câncer de mama. **Materiais e Métodos:** foi realizado um levantamento bibliográfico nos bancos de dados online NCBI, Scielo e Lilacs, durante o mês de junho de 2022, utilizando as palavras-chaves, isoladas e combinadas na língua portuguesa: câncer de mama, oncogenes e genes. Os artigos selecionados atendem ao período de 2017 a 2022, abordando a relação de genes com o câncer de mama. **Resultados e Discussões:** Foram identificados 32 artigos, dos quais 5 foram selecionados. Observou-se que a incidência do câncer de mama em portadores da mutação nos genes BRCA 1 e BRCA 2 são maiores que em vítimas do câncer de mama esporádico. Além disso, apesar de raro, a hereditariedade se configura como fator de risco para o desenvolvimento desse tipo de câncer, pois mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2 podem estar presentes nas células germinativas. Tais genes são designados genes supressores tumorais e se encontram associados à atividade celular, por exemplo o reparo de danos ao DNA, o ajuste da expressão gênica e o comando do ciclo celular. Assim, esses genes têm correspondência e ação essencial no câncer de mama genético, já que mutações nesses genes exprimem 85% dos sucedidos de câncer de mama. Ademais, visto que os genes BRCA1 e BRCA2 estão descritos como genes supressores de tumor, são encarregados pela regulação a proliferação celular de forma negativa e atuam na apoptose, ou seja, uma imperfeição ou outra variação em algum desses genes contribui para o acréscimo da predisposição ao câncer de mama. **Conclusão:** o câncer de mama é acometido em pacientes com mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2, sendo fundamental aprofundar pesquisas para melhor entender a atuação desses genes na fisiopatologia do câncer de mama.

Palavras-chave: Câncer de mama, Oncogenes, Genes.



PSORÍASE E ANTICORPOS MONOCLONAIS: PERSPECTIVAS DE NOVAS TERAPÊUTICAS

VITÓRIA DE MELO PONTES; PEDRO HENRRIQUE SALES DE OLIVEIRA

Introdução: A psoríase é uma doença inflamatória e crônica de pele, não contagiosa. Sua etiologia exata ainda é desconhecida, porém estudos contemporâneos associam a doença a fortes predisposições genéticas associadas a elevada carga psicológica que podem levar a doença referida. Os recentes avanços na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos da doença permitiram o progresso de novas terapêuticas, em especial pelo desenvolvimento de anticorpos monoclonais, graças a multiplicidade dos alvos terapêuticos, como as interleucinas 17, interleucina 12 e interleucina 23, que são alvos dos mediadores implicados na cascata inflamatória envolvida na psoríase mesmo não sendo agentes biológicos, mas sim sintéticos. **Objetivos:** Buscar na literatura atualizações e evidências de possíveis novas terapêuticas sobre o tratamento da psoríase por meio de anticorpos monoclonais. **Métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica por meio das plataformas de pesquisa Google Acadêmico e Lilacs, o recorte temporal foi de 2015 a 2022, foram utilizados como descritores em saúde: anticorpos monoclonais, psoríase e terapêutica. Foram pesquisados artigos nacionais e internacionais publicados em português e inglês, foram excluídas cartas ao editor, trabalhos de conclusão de curso e outras revisões. **Resultados:** Foram selecionados 12 artigos. Foi evidenciado o uso de três anticorpos monoclonais sendo eles: Ustequinumabe, que revelou causar hemofilia adquirida nos pacientes com a doença, sendo uma das propostas de recurso mais seguros, a mudança de posologia de três em três meses e diminui a frequência de administração por via subcutânea, já o Ixekizumabe foi considerado o imunobiológico mais eficiente no tratamento a curto prazo para psoríase, todavia não há garantia de sua segurança em um longo período de tempo, em última análise a Secukinumabe é o imunobiológico que obteve mais respostas a longo prazo que age como anti interleucina 17 obtendo uma eficácia superior do que agindo nas outras interleucinas, entretanto seu uso deprecia o sistema de defesa e propicia a disseminação de fungos. **Conclusão:** O uso de anticorpos monoclonais está sendo cada vez mais utilizado para o tratamento e mediação da psoríase, constatando-se que Ustequinumabe, Ixekizumabe, Secukinumabe são os de primeira escolha, porém ainda necessitam de estudos para elucidar melhor seus efeitos a longo prazo.

Palavras-chave: Anticorpos monoclonais, Doença autoimune, Psoríase.



REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A DOENÇA DO ALZHEIMER: HIPERFOSFORILAÇÃO DA PROTEÍNA TAU E DEPOSIÇÃO DO PEPTÍDEO β -AMILOSE.

JOSÉ BRUNO DA SILVA AZEVEDO

Introdução: A doença de Alzheimer é multifatorial ou poligênica e corresponde a cerca de 50 a 75 % de casos de demência nos seres humanos. A proteína TAU é importante na patogênese da demência frontotemporal e para o citoesqueleto neuronal. Essa proteína consegue interagir com a α - e β globulina para estabilizar os microtúbulos que são essenciais no transporte axonal, na plasticidade sináptica e na manutenção da estrutura neural. **Objetivos:** Esse trabalho teve como objetivo conhecer as proteínas e os genes promotores no desenvolvimento da doença de Alzheimer. **Metodologia:** Foi realizada uma busca simples nos bancos de dados da SciELO, PubMed e Periódicos Capes, por meio de palavras-chave: “doença de Alzheimer”, “proteína TAU” e “demência frontotemporal”. Foram revisados artigos publicados nos anos de 2009 à 2021. **Resultados:** A proteína TAU é encontrada montada na doença de Alzheimer e os MNFs possuem filamentos emparelhados nos FHA. Os fatores de risco são: a presença do alelo $\epsilon 4$ do gene da apolipoproteína E APOE, do gene da proteína APP no cromossomo 21 e dos genes Presenilinas 1 e 2 nos cromossomos 14 e 1. A TAU faz sua própria polimerização e inibe a despolimerização rápida da tubulina, esse processo é regulado pelo estado de fosforilação da proteína TAU, que compreende aproximadamente 79 sítios de fosforilação em resíduos de serina e treonina. O equilíbrio entre fosforilação e desfosforilação dos epítomos promove alterações que influenciam como a proteína TAU interage com a α - e β -tubulina que estabilizam os microtúbulos nos neurônios. Várias proteínas quinases e fosfatases estão envolvidas na regulação da fosforilação da TAU, sendo a enzima glicogênio sintase quinase 3β GSK3 β a mais importante TAU quinase nos neurônios. A redução da expressão de certas fosfatases também é identificada nos tecidos cerebrais de pacientes com Alzheimer. **Conclusão:** A TAU hiperfosforilada intraneural pode ser encontrada no cérebro de indivíduos com demência muito leve, não acompanhada de patologia β -amiloide. A hiperfosforilação de TAU pode ser um evento precoce na fisiopatologia do Alzheimer, enquanto outros mecanismos patológicos, incluindo superprodução da A β e ativação de cascatas inflamatórias e estresse oxidativo, podem ser secundários à disfunção geral na homeostase neuronal.

Palavras-chave: Demência frontal; doença de Alzheimer (da); fisiopatologia; peptídeo beta amiloide; proteína tau..



APRENDIZADO DE MÁQUINA APLICADO À ANÁLISE GENÔMICA HUMANA EM PESQUISA COLABORATIVA MULTICÊNTRICA: OPORTUNIDADES E DESAFIOS

MILENA DE LIMA KANASHIRO; CHRISTIANE NISHIBE; FERNANDO DOMINGUES PENTEADO; GERALDO PEREIRA ROCHA FILHO

INTRODUÇÃO: Nas últimas décadas, houve um avanço significativo e um declínio exponencial, tanto no custo das técnicas de sequenciamento de próxima geração (NGS) como nas aplicações de aprendizado de máquina (ML) na área de saúde humana. Com isso foram ampliadas as iniciativas multicêntricas de pesquisa genômica, que se tornaram grandes promessas no avanço da medicina de precisão, favorecendo a combinação entre dados genômicos, dados de registros de saúde e de exames laboratoriais de pacientes. Desta forma, os médicos passaram a oferecer tratamento personalizado, para o paciente certo, no momento mais adequado. No entanto, compartilhar dados genômicos apresenta uma coleção de ameaças relacionadas à privacidade desses indivíduos, ao mesmo tempo, que apresenta desafios e oportunidades, no diagnóstico, prognóstico e tratamento de doenças. **OBJETIVOS:** Esta revisão de escopo visa identificar e analisar estudos primários que tenham aplicado métodos de aprendizado de máquina distribuído (DML), em análise de dados genômicos humanos, a fim de avaliar os aspectos de segurança aplicados, no compartilhamento desses dados, com o propósito de preservar e manter seguros os dados dos participantes dos estudos. **METODOLOGIA:** Todas as publicações relevantes até 14 de maio de 2022, foram extraídas das seguintes bases de dados: *ACM Digital Library*, *IEEE Xplore*, *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*. O software *JabRef* foi utilizado para documentar, catalogar e gerenciar as referências bibliográficas. **RESULTADOS:** Um total de 7 trabalhos originados em 6 países, entre os anos de 2016 e 2022, foram selecionados. A maioria dos estudos aplicou ML para pesquisa básica em análise genômica (29%), diagnóstico de doenças (28%) ou prognóstico (43%). Além disso, apenas um estudo utilizou DML, para segurança no compartilhamento de dados e, nesse caso, optou-se pelo uso de aprendizado federado (FedML). **CONCLUSÃO:** Esta revisão de escopo apresenta uma visão geral dos desafios e oportunidades acerca do compartilhamento de dados genômicos humanos entre Centros de Pesquisa e justifica a necessidade de ampliar a aplicação de técnicas de inteligência artificial e DML, no compartilhamento desses dados, com a intenção de preservar a privacidade e segurança dos pacientes e mitigar riscos, promovendo uma pesquisa científica responsável.

Palavras-chave: Aprendizado de máquina, Bioinformática, Compartilhamento de dados, Genética humana, Genômica.



IMPORTÂNCIA DO CONHECIMENTO E DO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO ANGIOEDEMA HEREDITÁRIO NA QUALIDADE DE VIDA DO PACIENTE

ESAÚ LIMA BRASILINO DE FREITAS; ANTONIA ELOISA DE OLIVEIRA BARROZO;
FRANCISCO ADRIANO BRITO AGUIAR JUNIOR; GUILHERME NOBRE NOGUEIRA; MARIA
DO SOCORRO QUEIROZ ALVES DE SOUZA

INTRODUÇÃO: O Angioedema Hereditário (AEH) é uma afecção de caráter autossômico dominante, com prevalência de 1:10.000 a 1:150.000. Resulta principalmente de diferentes mutações no gene *SERPING1* e, eventualmente, pode associar-se a mutações no gene *F12* que codifica o Fator XII da coagulação. Caracteriza-se pelo extravasamento exagerado de fluidos plasmáticos para os interstícios corporais. Seu diagnóstico custo-efetivo é a medida laboratorial de C4 e do inibidor C1 esterase plasmático. O decurso da doença não tratada adequadamente pode levar a uma deterioração da qualidade de vida do paciente. **OBJETIVO:** Mostrar a importância do conhecimento prévio, do diagnóstico precoce e do tratamento na melhora da qualidade de vida de pacientes com AEH, a partir da descrição e análise de um caso de AEH tipo 1 com controle do angioedema de laringe e tratamento adequado após diagnóstico. Antes da execução do estudo foi assinado o Termo de Consentimento pela paciente. **RELATO DE EXPERIÊNCIA:** Paciente do sexo feminino, 47 anos, natural de Ibaretama-Ceará, parda, freira, iniciou o quadro com inchaço gengival recorrente e língua edemaciada averiguados por seu dentista. Posteriormente, evoluiu com edema em diversas regiões do corpo, crises emergenciais e má cicatrização de feridas que a levaram a realizar várias consultas sem êxito diagnóstico. Em 2015, com queixa principal de edemas repetidos e febre diária, procurou assistência médica. Após uma série de exames, apresentou valor do inibidor de C1 esterase igual a 19mg/dL (referência: 23 a 41mg/dL). Encaminhada ao alergologista, recebeu diagnóstico de AEH tipo 1. Em decorrência do diagnóstico tardio, a paciente teve risco de morte ao desenvolver o edema de laringe. **DISCUSSÃO:** Após ser diagnosticada e com acompanhamento adequado, aprendeu a reconhecer o início das crises e a evitar fatores desencadeantes. Após 7 anos, conseguiu interromper tratamentos a longo prazo e seu acompanhamento médico passou de mensal para semestral/annual. Relata não ter prejuízo em suas atividades intelectuais. **CONCLUSÃO:** A qualidade de vida de pacientes acometidos pela AEH pode ser desconfortável, contudo, o diagnóstico precoce e o conhecimento da afecção pelo médico generalista, bem como a educação do paciente quanto à sua condição, podem culminar com uma melhor evolução da enfermidade.

Palavras-chave: Angioedema hereditário, Diagnóstico precoce, Angioedema de laringe, Qualidade de vida, Tratamento adequado.



O USO DE GENES IMUNOLÓGICOS QUE PASSARAM POR VARIABILIDADE GENÉTICA APÓS CONTATO COM ANTÍGENOS DA PESTE NEGRA NO COMBATE A DOENÇAS INFECCIOSAS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

THIAGO DE MENDONÇA NONATO OLIVEIRA; ANA KAROLINA MORAIS CARBONE;
LUCAS DE LIMA MAGALHÃES; JOSHUA WERNER BICALHO DA ROCHA

INTRODUÇÃO: A Peste Negra (PN), também conhecida por peste bubônica, causada pela bactéria *Yersinia pestis* (plasmídeo pPCP1), é considerada a doença mais letal da história, matando cerca de 30 a 50% da população Afro-Eurásia. Durante o primeiro surto de PN, no século 14, em seu período de alta incidência epidemiológica, os indivíduos submetidos à infecção provavelmente sofreriam um processo de seleção genética, possibilitando uma evolução imunológica em comparação aos surtos posteriores e à outras doenças de padrão infeccioso. O gene *ERAP2* produz uma aminopeptidase que atua sinergicamente peptídeos para a apresentação às células TCD8, através de células MHC Classe I. Ao ter suas vias transcricionais alteradas no contato com a bactéria *Yersinia pestis*, havia indução de uma seleção natural dentre as células do sistema imune sobreviventes à infecção. **OBJETIVO:** Relacionar a seleção natural sofrida pelos genes do sistema imune após o contato com o antígeno bactéria *Y. pestis*, através do detalhamento do principal gene responsável na via imunológica e a sua reflexão nas doenças infecciosas dos próximos anos. **METODOLOGIA:** Realizou-se uma revisão bibliográfica, com pesquisas em bases de dados PubMed e Bireme, sendo selecionados textos completos, revisões sistemáticas, relatos de caso, pesquisas de campo e publicações realizadas dentre os anos de 2005 e 2022, totalizando 17 artigos, todos na língua inglesa. Resumos foram excluídos da revisão. **RESULTADOS:** Notou-se que, nos surtos posteriores ao primeiro surto de PN da história, as taxas de mortalidade gradualmente diminuíram, ligando-se esse potencial de redução à adaptação genética humana sobre a *Yersinia pestis*, sendo o *ERAP2* o principal gene a sofrer esta adaptação. Este gene, ao entrar em contato com a bactéria *Y. pestis*, sofreu mudanças na frequência de seus alelos (rs2248374 x rs2549794), promovendo vias de respostas por citocinas como diferenciação de células mieloides e ativação da via inflamatória caspase-1/NLRP3. Esta mudança proporcionou não só melhorias na defesa imunológica contra a PN nos próximos séculos, mas também contra doenças infecciosas que assolam a humanidade até a atualidade. **CONCLUSÃO:** Através do estudo genético da pandemia de Peste Negra e da ação modificada dos alelos imunológicos, é possível atribuir benefícios diante de um cenário infeccioso.

Palavras-chave: Black plague, Natural selection, Susceptibility to autoimmune diseases, Infectious diseases, Erap2.



SÍNDROME DO X FRÁGIL E TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA: DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL E IMPORTÂNCIA CLÍNICA

FRANCISCO ADRIANO BRITO AGUIAR JUNIOR; GUILHERME NOBRE NOGUEIRA; ESAÚ LIMO BRASILINO DE FREITAS; ANTÔNIA ELOÍSA DE OLIVEIRA BARROZO; MARIA DO SOCORRO QUEIROZ ALVES DE SOUZA

INTRODUÇÃO: A Síndrome do X Frágil (SXF) é clinicamente relacionada a casos de Transtorno do Espectro Autista (TEA) pelo comportamento característico de seus pacientes. A SXF é uma condição monogênica, ligada ao cromossomo X, com maior prevalência em homens e tem como importante anormalidade clínica, o distúrbio do neurodesenvolvimento. A expansão de trincas CGG leva a um processo de metilação do gene *FMRI*, com expressão inadequada da proteína codificada, o que afeta sinapses no sistema nervoso. **OBJETIVO:** Analisar a relação entre TEA e SXF, destacando o diagnóstico diferencial e cuidados direcionados a eles. **MÉTODO:** Revisão de literatura para investigar a relação entre TEA e SXF. Foram utilizados os descritores DeCS/MeSH “Fragile X Syndrome” e “Autism” com o operador booleano “AND” nas bases de dados Medline. Os critérios de inclusão foram publicações realizadas entre 2018 e 2022, disponíveis na íntegra, nos idiomas português, inglês e espanhol. Foram selecionados seis artigos para esse resumo. **RESULTADOS:** O TEA é uma condição multifatorial, dependente da alteração de inúmeros genes e resultante de outras condições clínicas. A SXF é a principal condição genética que acarreta um diagnóstico de TEA (2% dos casos de TEA são atribuíveis à SXF). Essa inter-relação é um fator a ser atentado pelo médico, visto que, apesar de compartilharem sintomas psiquiátricos, pacientes com essas alterações não respondem com a mesma eficácia aos tratamentos específicos, haja vista a origem divergente dos mesmos sintomas. Nesse sentido, o diagnóstico diferencial pode ser obtido a partir de métodos como cariótipo, reação em cadeia da polimerase (PCR) e Southern Blot. Esse diagnóstico é importante para além do próprio paciente, já que, se confirmada a SFX, é necessário realizar um aconselhamento genético adequado sobre o risco de afecções em familiares subsequentes e precedentes, haja vista que mesmo as pré-mutações podem causar insuficiência ovariana primária e síndrome do tremor e ataxia associada ao X frágil. **CONCLUSÃO:** Apesar de a SXF ser a principal causa genética do TEA, é necessário ressaltar a importância do diagnóstico diferencial entre essas alterações, precocemente, em crianças com distúrbios comportamentais, a fim de realizar o aconselhamento genético familiar e identificar os cuidados necessários.

Palavras-chave: Diagnóstico diferencial, Síndrome do x frágil, Transtorno do espectro autista, Aconselhamento genético, Distúrbios comportamentais.



TERAPIA GÊNICA: UMA NOVA PERSPECTIVA PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA FALCIFORME

ISABELLA MUNIZ BIANCARDI

INTRODUÇÃO: A doença falciforme (DF), refere-se a um grupo de condições genéticas que resultam da mutação co-herdada de genes anormais da hemoglobina, o que ocasiona a redução da produção normal de beta globina, e conseqüentemente, gera uma série de sintomas. **OBJETIVOS:** Elucidar o papel importante da terapia gênica no contexto de tratamento da doença falciforme. **METODOLOGIA:** Trata-se de uma revisão de literatura, construída a partir do levantamento bibliográfico nas bases de dados: UptoDate e MEDLINE, por meio da utilização dos seguintes Descritores em Ciências da Saúde (DeCS):doença falciforme, terapia gênica e tratamento. Foram incluídos 5 artigos publicados entre 2018 e 2022, disponíveis de forma completa. Foram excluídos os artigos que não apresentaram nenhum dos descritores. **RESULTADOS:** O manejo da DF é multidisciplinar. Sendo assim, é importante ressaltar os avanços relacionados ao tratamento da DF; a hidroxiureia e o tratamento a longo prazo com transfusões de sangue são as únicas terapias modificadoras da doença que previnem e tratam complicações agudas e crônicas na DF. O transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) é a única cura, e a terapia gênica está sendo investigada como uma potencial estratégia curativa. Nesse sentido, nota-se que a terapia gênica (introdução de um novo gene) e a edição gênica (alteração da sequência de um gene endógeno) têm o potencial de curar a DF, pois vem se destacando de maneira promissora para o futuro do tratamento médico, ao contrário do TCTH alogênico, tendo em vista que essas abordagens modificam as próprias HSCs da pessoa e as preocupações com a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) não se aplicam. **CONCLUSÃO:** É notório os avanços que permeiam o tratamento da doença falciforme e suas complicações, sendo importante destacar a terapia gênica como boa opção a ser utilizada, já que considera a inserção de um gene com propriedades corretivas, podendo vir a se tornar uma terapia mais efetiva a longo prazo do que as atuais, como a TCTH.

Palavras-chave: Doença, Falciforme, Genética, Transplante, Tratamento.



UMA BREVE HISTÓRIA DOS MICRORNAS APLICANOS NA CLÍNICA: UMA NOVA TERAPIA PARA O CÂNCER

GUILHERME NOBRE NOGUEIRA; FRANCISCO ADRIANO BRITO JÚNIOR; ESAÚ LIMA BRASILINO DE FREITAS; MARIA DO SOCORRO QUEIROZ ALVES DE SOUZA

RESUMO

INTRODUÇÃO: A capacidade de modular a expressão e a atividade do microRNA (miRNA) *in vivo*, através de mímicas de miRNAs ou de antimiRNAs fornece uma oportunidade para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas para o câncer. Nesse sentido, esse tratamento desponta como uma das estratégias que estão atualmente em desenvolvimento pré-clínico para um melhor prognóstico nos casos de neoplasias malignas, por meio da reposição dos miRNAs supressores de tumores (usando moléculas que mimetizam o miRNA) ou da supressão de oncomiRNAs (usando antimiRNAs). Diante dessas evidências, são apresentados alguns avanços científicos relativos ao papel dos miRNAs e sua relevância para o tratamento e prognóstico do câncer. **OBJETIVO:** Trazer informações atualizadas sobre os miRNAs, evidenciando seu potencial aproveitamento para avanços no acompanhamento e tratamento das neoplasias malignas. **MÉTODO:** Foram revisados oito artigos científicos provenientes da plataforma “PUBMED” para corroborar as ideias expostas no presente trabalho. **RESULTADOS:** O miRNA se liga por meio do reconhecimento de mRNAs-alvo, de acordo com a complementariedade de sequências, alterando o padrão de tradução em proteínas, influenciando tanto na diminuição da agressividade do câncer, quanto na diminuição da expressão celular de características neoplásicas malignas, por intermédio da supressão de oncogenes e da reativação de supressores de tumores. Um exemplo dessa potencialidade refere-se a moléculas que imitam o comportamento do miR-34, devido a seu potencial na terapêutica anticancerígena, como demonstrado em modelos de alguns tumores malignos testados em ratos no laboratório. **CONCLUSÃO:** À luz dessas considerações, nota-se a importância de estudos mais aprofundados e urgentes sobre a terapia para o câncer, envolvendo a atuação dos microRNAs, com o intuito de desenvolver medicamentos seguros e eficazes que melhorem o prognóstico dos pacientes acometidos por essa afecção.

Palavras-chave: Micornas; Câncer; Oncogenes; Supressores Tumorais; Tratamento.

1 INTRODUÇÃO

MicroRNAs são pequenas moléculas de RNA que regulam a expressão gênica e a síntese proteica nas células. Ao se utilizar microRNAs circulantes como marcadores biológicos, foram percebidas algumas vantagens como, a alta estabilidade dessas moléculas, a ampla disponibilidade de amostras e o elevado potencial para utilização em uma medicina personalizada¹. Com isso, notou-se não só a influência como também a importância terapêutica e prognóstica dessas moléculas no câncer, haja vista que alguns grupos dessas doenças podem

ser decorrentes da inativação de genes supressores de tumores, da ativação de oncogenes e de processos epigenéticos³, dentre eles destacando-se os miRNAs, os quais estão envolvidos no processo de carcinogênese. Nesse artigo, procura-se descrever os progressos recentes dos miRNAs no câncer e em outras doenças e apresentar uma visão geral da terapêutica atual do miRNAs na clínica.

2 MÉTODO

Revisão de literatura que investigou a relação entre os MicroRNAs e os mecanismos gênicos e celulares responsáveis pelo aparecimento de neoplasias malignas. Foram utilizados os descritores DeCS/MeSH “MicroRNAs”, “Câncer” e “Therapy” intercruzados com o operador booleano “AND”, para a busca nas bases de dados da plataforma “PUBMED”. Os critérios de inclusão foram publicações realizadas entre 2007 e 2022, disponíveis na íntegra, no idioma português ou inglês. Foram selecionados oito artigos para compor o presente resumo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para cumprir sua função, o miRNA se liga por meio do reconhecimento de mRNAs-alvo, a partir da complementariedade de sequências de bases nitrogenadas, fazendo que seja alterado o padrão de tradução em proteínas desses mRNAs. Esse pareamento tanto pode ser total quanto parcial, e à medida que cresce a complementariedade das sequências, mais resistente e longa tende a ser essa interação. Os miRNAs são considerados importantes reguladores da expressão gênica, além disso, seu mecanismo é dinâmico e influenciado não só pela localização em que se encontram, mas também pelos mecanismos de interação com seu alvo.

Adicionalmente, cada mRNA pode ser alvo de mais de um miRNA, e, quando se pretende entender os efeitos de um miRNA determinado, é necessário ponderar a interação entre o mRNA-alvo e outros miRNAs, uma vez que o resultado fisiológico pode ser dependente da confluência de efeitos dos diversos dos miRNAs expressos na mesma célula. Assim, é possível afirmar que um determinado miRNA pode regular processos opostos em distintos tipos celulares, como, por exemplo, aumentar a proliferação celular e da taxa de apoptose, ainda que níveis semelhantes de um miRNA específico podem não ter o mesmo efeito biológico, uma vez que dependem tanto dos alvos quanto da interação com outras moléculas em um determinado tipo celular.

As mudanças na expressão de miRNAs observadas nas células cancerosas demonstram a importância dessas moléculas não só no surgimento como também na progressão do câncer. Nessa perspectiva, a formação de metástase com altas as taxas de morte celular, podem ser relacionadas com essa alteração da atividade dos miRNAs, conseqüentemente, afetando o prognóstico do paciente. A desregulação na expressão de miRNAs observada em tumores malignos que progridem ou metastizam justifica a tentativa de compreensão dessas moléculas como potencial alvo terapêutico para neoplasias em estado avançado. Além disso, a definição do perfil de expressão de miRNAs pode auxiliar na identificação e no diagnóstico de subtipos tumorais, podendo auxiliar a rever o prognóstico dos pacientes oncológicos, caracterizando como uma importante ferramenta não só para aumentar a chance de recuperação como também melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

De fato, hoje sabe-se que mais da metade dos genes que codificam miRNAs em humanos estão localizados em regiões genômicas que foram descritas como desreguladas no câncer, evidenciando a importância desse mecanismo celular para a melhoria do tratamento do câncer.

Nessa perspectiva, várias terapêuticas atuando com miRNAs alvo atingiram o desenvolvimento clínico, incluindo uma cópia do supressor de tumores miRNA-34⁵, que chegou à fase I de ensaios clínicos para o tratamento do câncer, e anti-miRs alvo de miR-122, que chegou à fase II de ensaios para o tratamento da hepatite. Sendo assim, os miR-34 cópias, encapsuladas em nano-lipídicos, são a terapêutica mais avançada do miRNAs para câncer e estão atualmente sendo testados em fase I, sendo que vários dos ensaios clínicos vêm se demonstrando serem sólidos. Vários estudos⁶ pré-clínicos usando miR-34 cópias têm demonstrado seu potencial como terapêutica anticancerígena por exemplo, os lipídios cópias encapsulados em nanopartículas miR-34 mostraram promissora atividade em modelos de fígado de rato, próstata e câncer de pulmão. Em ambos os casos, foi observada uma inibição significativa do crescimento do tumor, e os tumores expressaram níveis mais baixos de proteínas que são regulamentados pela miR-34, como o MET e BCL-2⁷. Além disso, não havia evidência de efeitos adversos causada pela estimulação imunológica mediada por portadores.

4 CONCLUSÃO

Os miRNAs são importantes moléculas no processo de carcinogênese, por isso, variações no perfil de expressão dessas moléculas podem ser utilizadas como marcadores de identificação e diagnóstico do câncer e, ainda, exploradas como potenciais alvos terapêuticos. Adicionalmente, a liberação de miRNAs para o espaço extracelular e a circulação observada nos fluidos biológicos apontam a importância dessas moléculas na comunicação intercelular, sugerindo que podem ter um papel durante a progressão e a disseminação do câncer⁸. As características intrínsecas dos miRNAs, junto da facilidade de obtenção de amostra de fluidos corporais, destacam os miRNAs circulantes como biomarcadores para o acompanhamento da evolução e da resposta terapêutica de patologias como o câncer. No entanto, devido à complexidade de interação com os alvos e a dependência com as características celulares, ainda são necessários mais estudos para poder utilizar essas moléculas na prática clínica, de forma confiável e garantida.

REFERÊNCIAS

JORGE, Ariany, *MicroRNAs: understanding their role in gene expression. And câncer*. Einstein (São Paulo), São Paulo, v 19, eRB5996, jul. 2021. https://doi.org-10.31744/einstein_journal/2021RB5996

Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res*. 2018;47(D1):D155-D62.

Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2017 Mar;16(3):203-222. doi: 10.1038/nrd.2016.246. Epub 2017 Feb 17. PMID: 28209991.

Thorsen SB, Obad S, Jensen NF, Stenvang J, Kauppinen S. The therapeutic potential of microRNAs in cancer. *Cancer J*. 2012 May-Jun;18(3):275-84. doi: 10.1097/PPO.0b013e318258b5d6. PMID: 22647365.

Valihrach L, Androvic P, Kubista M. Circulating miRNA analysis for cancer diagnostics and therapy. *Mol Aspects Med*. 2020;72:100825.

Van Roosbroeck K, Calin GA. Cancer Hallmarks and MicroRNAs: the therapeutic

connection. *Adv Cancer Res.* 2017;135:119-49. Review

Wiggins, J. F. et al. Development of a lung cancer therapeutic based on the tumor suppressor microRNA-34. *Cancer Res.* 70, 5923–5930 (2010).

Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol.* 2007;302(1):1-12. Review.