



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

GUILHERME RAMOS DE MENDONÇA

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO METODOLÓGICA DE
Drosophila melanogaster COMO MODELO EXPERIMENTAL E
APLICABILIDADE EM ESTUDOS RADIOECOLÓGICOS**

Recife
2026

GUILHERME RAMOS DE MENDONÇA

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO METODOLÓGICA DE
Drosophila melanogaster COMO MODELO EXPERIMENTAL E
APLICABILIDADE EM ESTUDOS RADIOECOLÓGICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Dra. Mariana Brayner
Cavalcanti Freire Bezerra

Coorientador: Msc. João Tadeu da Silva
Santana

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Mendonça, Guilherme Ramos de.

Padronização e implementação metodológica de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental e aplicabilidade em estudos radioecológicos / Guilherme Ramos de Mendonça. - Recife, 2026.

64p : il., tab.

Orientador(a): Mariana Brayner Cavalcanti Freire Bezerra

Coorientador(a): João Tadeu da Silva Santana

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2026.

Inclui referências, apêndices.

1. Bioindicadores. 2. Citogenética. 3. Radiação ionizante. 4. Genotoxicidade. 5. Monitoramento ambiental. I. Bezerra, Mariana Brayner Cavalcanti Freire. (Orientação). II. Santana, João Tadeu da Silva. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

GUILHERME RAMOS DE MENDONÇA

**PADRONIZAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO METODOLÓGICA DE
Drosophila melanogaster COMO MODELO EXPERIMENTAL E
APLICABILIDADE EM ESTUDOS RADIOECOLÓGICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como pré-
requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 18 / 06 / 2026

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dra. Mariana Brayner Cavalcanti Freire Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Energia nuclear

Prof. Dr Thiago de Salazar e Fernandes
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Biofísica e Radiobiologia

Dra. Josineide Marques do Nascimento Santos
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Energia nuclear

Dedico este trabalho à minha família,
pelo apoio e incentivo ao longo desta
jornada.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Professora Mariana e João Tadeu, expresso meu sincero agradecimento pela orientação, confiança e suporte ao longo do desenvolvimento deste trabalho. A dedicação de vocês à pesquisa acadêmica e a disponibilidade em compartilhar conhecimentos foram fundamentais para minha formação científica e para a concretização deste estudo.

Ao professor José Araújo, líder do grupo RAE, deixo um agradecimento especial pela presença constante ao longo da minha trajetória acadêmica. Mesmo não sendo meu orientador formal, contribuiu de forma significativa com sua experiência, orientação e amplo conhecimento científico, sendo uma importante referência durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor José Ferreira, expresso meu agradecimento pela disponibilidade em auxiliar no treinamento para a implantação da metodologia, contribuindo de forma relevante para a execução deste trabalho.

Ao Departamento de Energia Nuclear (DEN), ao Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) e à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), agradeço a infraestrutura disponibilizada, essencial para a execução desta pesquisa. Estendo também meu reconhecimento aos técnicos e colaboradores do laboratório, que auxiliaram nos procedimentos experimentais e contribuíram para o andamento das atividades.

Ao grupo RAE, agradeço pela oportunidade de integração como aluno de iniciação científica e pelo ambiente colaborativo que favoreceu meu desenvolvimento acadêmico.

Agradeço às agências de fomento CNPq e FACEPE pelo apoio financeiro, fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa e incentivo à formação científica.

Aos meus pais, Roberta e Zaqueu, expresso minha profunda gratidão por todo o apoio ao longo da minha trajetória. Agradeço a confiança, pelos conselhos e por sempre incentivarem meus estudos e objetivos, e à toda minha família, agradeço o incentivo e apoio contínuo.

Ao meu amigo e companheiro João Victor, agradeço a presença constante, apoio e parceria ao longo dessa jornada, tornando esse percurso mais leve e

significativo.

Aos meus amigos de vida, Daniele, Isabela, Marília, Tarcio e Marcela, agradeço a amizade e pelos momentos compartilhados, que contribuíram para tornar essa caminhada mais leve.

À família que construí na universidade, especialmente Cecília, Laura, Júlia Puama, Júlia Fernanda, Maria Eduarda e Tamyres, agradeço a parceria, apoio e convivência ao longo desses anos.

Aos meus colegas de laboratório Cauã, Cledyr, João Marcos, Juliana, Keith, Matheus e Rafaela agradeço a colaboração, aprendizado e troca de experiências no ambiente de pesquisa.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo meu sincero agradecimento.

MENDONCA, Guilherme Ramos. **Padronização e implementação metodológica de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental e aplicabilidade em estudos radioecológicos** 2026. 64p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2026.

RESUMO

A Radioecologia constitui uma área da ciência voltada ao estudo dos efeitos das radiações ionizantes (RI) sobre organismos vivos e ecossistemas, sendo fundamental o desenvolvimento de metodologias capazes de detectar alterações genéticas induzidas por agentes ambientais. Nesse contexto, *Drosophila melanogaster* destaca-se como importante organismo modelo devido ao seu curto ciclo de vida, elevada taxa reprodutiva, baixo custo de manutenção e ampla conservação genética com organismos superiores. Além disso, os cromossomos politênicos presentes nas glândulas salivares (GS) de larvas em terceiro estágio de desenvolvimento (L3) representam uma importante ferramenta citogenética para análise cromossômica e estudos de genotoxicidade. Este trabalho teve como objetivo implementar protocolos para o uso de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental no LARCA/UFPE, com foco em futuras aplicações em radioecologia e monitoramento citogenético. Para isso, foram padronizados o meio de cultivo, o tempo de oviposição, os procedimentos de dissecação das larvas L3 e as etapas de fixação e coloração das GS para preparação das lâminas citogenéticas. O cultivo foi realizado em meio alimentar à base de banana, sob condições controladas de temperatura, sendo estabelecido o período de 24 horas para oviposição, com o objetivo de garantir maior homogeneidade no desenvolvimento larval. As glândulas salivares de larvas em estágio *wandering* foram submetidas à fixação, coloração e técnica de squash para análise microscópica. Os resultados morfométricos demonstraram aumento da largura média das larvas submetidas à padronização experimental, passando de 0,371 mm no grupo controle para 0,512 mm no grupo teste, correspondendo a um incremento aproximado de 38%, indicando melhores condições de desenvolvimento e menor competição intraespecífica. Observou-se ainda que a concentração salina utilizada na solução de dissecação exerceu influência direta sobre a integridade e o espalhamento cromossômico, sendo identificada a salinização excessiva como principal fator limitante nas preparações iniciais. Após o ajuste da solução salina, verificou-se melhora significativa na preservação estrutural dos cromossomos e na visualização das bandas cromossômicas. A análise dos diferentes tempos de exposição ao ácido acético 45% demonstraram que o período de 2 minutos apresentou melhor desempenho quanto à preservação celular, nitidez cromossômica e dispersão homogênea dos cromossomos, enquanto tempos prolongados promoveram degradação estrutural e comprometimento da análise citogenética. A avaliação da reprodutibilidade experimental revelou percentual global de sucesso de 67,5% nas lâminas consideradas adequadas para análise, demonstrando consistência metodológica satisfatória. Dessa forma, conclui-se que as metodologias padronizadas constituem uma ferramenta viável para utilização de *Drosophila melanogaster* como modelo biológico, contribuindo para estudos citogenéticos, análises genotóxicas e futuras aplicações em radioecologia e monitoramento ambiental.

Palavras-chave: Bioindicadores. Citogenética. Radiação ionizante. Genotoxicidade. Monitoramento ambiental.

MENDONCA, Guilherme Ramos. **Standardization and methodological implementation of *Drosophila melanogaster* as an experimental model and applicability in radioecological studies.** 2026. 64p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2026.

ABSTRACT

Radioecology is a field of science dedicated to the study of the effects of ionizing radiation (IR) on living organisms and ecosystems, making the development of methodologies capable of detecting genetic alterations induced by environmental agents essential. In this context, *Drosophila melanogaster* stands out as an important model organism due to its short life cycle, high reproductive rate, low maintenance cost, and broad genetic conservation with higher organisms. In addition, the polytene chromosomes present in the salivary glands (SG) of third-instar larvae (L3) represent an important cytogenetic tool for chromosomal analysis and genotoxicity studies. Therefore, the present study aimed to standardize and implement methodologies for the use of *Drosophila melanogaster* as an experimental model at the Laboratory of Radioecology and Environmental Control (LARCA) of the Federal University of Pernambuco (UFPE), aiming at future applications in radioecology and cytogenetic monitoring studies. For this purpose, the culture medium, oviposition time, dissection procedures of L3 larvae, and the fixation and staining steps of the SG for cytogenetic slide preparation were standardized. The culture was carried out in a banana-based food medium under controlled temperature conditions, and a 24-hour oviposition period was established to ensure greater homogeneity in larval development. Wandering-stage larvae were used to obtain the SG, which subsequently underwent fixation in alcohol-acetic solution and 45% acetic acid, staining with 2% acetic orcein, and the squash technique for microscopic analysis. Morphometric results demonstrated an increase in the average width of larvae subjected to experimental standardization, rising from 0.371 mm in the control group to 0.512 mm in the test group, corresponding to an approximate increase of 38%, indicating better developmental conditions and lower intraspecific competition. It was also observed that the saline concentration used in the dissection solution directly influenced chromosomal integrity and spreading, with excessive salinization being identified as the main limiting factor in the initial preparations. After adjustment of the saline solution, a significant improvement was observed in the structural preservation of chromosomes and in the visualization of chromosomal bands. The analysis of the different exposure times to 45% acetic acid demonstrated that the 2-minute period showed the best performance regarding cellular preservation, chromosomal sharpness, and homogeneous chromosome dispersion, whereas prolonged exposure promoted structural degradation and impaired cytogenetic analysis. The evaluation of experimental reproducibility revealed an overall success rate of 67.5% in slides considered suitable for analysis, demonstrating satisfactory methodological consistency. Thus, it is concluded that the standardized methodologies constitute a viable tool for the use of *Drosophila melanogaster* as a biological model, contributing to cytogenetic studies, genotoxic analyses, and future applications in radioecology and environmental monitoring.

Keywords: Bioindicators. Cytogenetics. Ionizing radiation. Genotoxicity. Environmental monitoring.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – <i>Fly Room</i> : laboratório onde <i>Drosophila melanogaster</i> revolucionou a genética	18
Figura 2 - Ciclo de vida da <i>Drosophila melanogaster</i>	20
Figura 3 - Diferenciação sexual em <i>Drosophila melanogaster</i>	22
Figura 4 - Representação esquemática dos cromossomos de <i>Drosophila melanogaster</i> em fêmeas e machos	23
Figura 5 - Cromossomos politênicos de <i>Drosophila melanogaster</i>	24
Figura 6 - Estrutura da glândula salivar da larva em terceiro estágio	26
Figura 7 - Comparação entre o ciclo celular mitótico e o endociclo.....	28
Figura 8 - Micrografia eletrônica do cromossomo 3R	30
Figura 9 - Representação integrada do mapa citogenético do cromossomo politênico	31
Figura 10 - Curva de sobrevivência de <i>Drosophila melanogaster</i> exposta à radiação gama.	33
Figura 11 - Curvas de sobrevivência de machos e fêmeas de <i>Drosophila melanogaster</i> expostos a baixas doses de radiação gama	35
Figura 12 - Meio de cultivo pronto	40
Figura 13 - Procedimento de oviposição e análise morfométrica	42
Figura 14 - Esquema do passo a passo de dissecação.....	43
Figura 15 - Processo de fixação, coloração e montagem das lâminas de cromossomo politênico.....	45
Figura 16 - Comparação entre preparações citogenéticas de cromossomos politênicos de <i>Drosophila melanogaster</i>	51
Figura 17 - Cromossomos politênicos submetidos ao teste de exposição no ácido acético 45%.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação das medidas morfológicas larvais entre os grupos Controle e Teste.....	49
Tabela 2 - Avaliação da influência do tempo de exposição ao ácido acético 45% (fixador 2) na qualidade das preparações citogenéticas de <i>Drosophila melanogaster</i>	52
Tabela 3 - Reprodutibilidade entre repetições experimentais	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDK – Quinase dependente de ciclina
CDK2 – Quinase dependente de ciclina 2
cGy – Centigray
CTG – Centro de Tecnologia e Geociências
DEN – Departamento de Energia Nuclear
DNA – Ácido desoxirribonucleico
E2F1 – Fator de transcrição E2F1
FISH – Hibridização *in situ* fluorescente
G – Fase de intervalo do ciclo celular
GS – Glândulas salivares
IAEA – Agência Internacional de Energia Atômica
L1 – Larva de primeiro instar
L2 – Larva de segundo instar
L3 – Larva de terceiro instar
LARCA – Laboratório de Radioecologia e Controle Ambiental
mL – Mililitro
mm – Milímetro
pH – Potencial hidrogeniônico
pre-RCs – Complexos pré-replicativos
RI – Radiação ionizante
RNA – Ácido ribonucleico
S – Fase de síntese do DNA
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco
X – Cromossomo sexual X
Y – Cromossomo sexual Y

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1	FUNDAMENTOS DA RADIOECOLOGIA.....	13
2.1.1	Histórico E Relevância Ambiental.....	15
2.2	<i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> COMO ORGANISMO MODELO.....	16
2.2.1	Histórico Do Uso Como Modelo Biológico.....	17
2.2.2	Ciclo De Vida e Dimorfismo Sexual Da Espécie.....	19
2.2.3	Características Genéticas Da Espécie.....	22
2.3	CROMOSSOMOS POLITÊNICOS.....	23
2.3.1	Formação Dos Cromossomos Politênicos (Endociclo).....	25
2.3.2	Padrões De Bandas Cromossômicas.....	28
2.3.3	Mapas Cromossômicos E Aplicação Em Análise Genética.....	30
2.4	APLICABILIDADE DE <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> EM RADIOECOLOGIA E ESTUDOS LABORATORIAIS DE EXPOSIÇÃO A RADIAÇÃO.....	32
3	OBJETIVOS.....	38
3.1	OBJETIVO GERAL.....	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
4	METODOLOGIA.....	39
4.1	MEIO DE CULTIVO DA <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i>	39
4.2	PADRONIZAÇÃO DO TEMPO DE OVIPOSIÇÃO.....	40
4.3	DISSECAÇÃO DAS LARVAS.....	42
4.4	PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS DE CROMOSSOMO POLITÊNICO.....	43
4.4.1	Testes de Padronização das Preparações Citogenéticas.....	46
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
6	CONCLUSÃO.....	56
7	REFERÊNCIAS.....	57
	APÊNDICES.....	63
	APÊNDICE A - Tabela de medidas das larvas L3 de <i>Drosophila melanogaster</i>	

1 INTRODUÇÃO

A radioecologia constitui uma área da ciência voltada à compreensão dos efeitos das radiações ionizantes sobre organismos vivos e ecossistemas. Nesse contexto, destaca-se a importância do uso de ferramentas biológicas capazes de detectar alterações genéticas induzidas por agentes ambientais (Matarèse *et al.*, 2024; Trinca; Navascués, 2025). Entre essas ferramentas, as metodologias citogenéticas assumem papel fundamental na avaliação de danos cromossômicos.

A utilização de organismos modelo representa uma estratégia amplamente consolidada em estudos de genética e toxicologia ambiental. Dentre esses organismos, *Drosophila melanogaster* apresenta diversas vantagens experimentais, como ciclo de vida curto, elevada taxa reprodutiva, baixo custo de manutenção e genoma completamente sequenciado, o que facilita a interpretação de alterações cromossômicas e padrões de expressão gênica (Snustad; Simmons, 2008). Ademais, estima-se que aproximadamente 65% dos genes associados a doenças humanas possuem homólogos nessa espécie, o que reforça sua relevância como modelo experimental (Adams *et al.*, 2000).

Os cromossomos politênicos, encontrados nas glândulas salivares (GS) de larvas no terceiro estágio de desenvolvimento (L3), constituem uma importante ferramenta citogenética. Esses cromossomos são formados por sucessivos ciclos de replicação do DNA sem divisão celular, processo denominado endociclo, resultando em estruturas de grande dimensão. Apresentam padrões de bandas altamente definidos, permitindo a análise direta da organização cromossômica, e da ocorrência de alterações estruturais, como inversões e deleções (Zhimulev; Koryakov, 2009; Zykova *et al.*, 2018). Tais características tornam essa abordagem especialmente útil em estudos de mutagênese e toxicidade, além de possibilitar a identificação de efeitos genotóxicos decorrentes da exposição à radiação ionizante (RI) (Hofmann; Korge, 1981). Apesar de sua ampla aplicação em estudos genéticos e toxicológicos, ainda se observa carência de protocolos metodológicos padronizados direcionados a investigações radioecológicas em laboratórios brasileiros, especialmente no contexto acadêmico. Essa lacuna compromete a reprodutibilidade experimental e limita a

comparabilidade entre diferentes estudos. Nesse sentido, o presente projeto tem como objetivo estabelecer um protocolo reprodutível que viabilize a utilização desse organismo como bioindicador, ampliando as ferramentas disponíveis para o monitoramento citogenético e para a avaliação dos impactos ambientais associados à exposição a agentes radioativos (Alexandrov *et al.*, 2024; Santana, 2025; Silva, 2020).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 FUNDAMENTOS DA RADIOECOLOGIA

A Radioecologia é a área da ciência dedicada ao estudo do comportamento de radionuclídeos no ambiente, abrangendo sua dispersão, transformação e transferência entre compartimentos ambientais e interação com organismos vivos. Trata-se de um campo interdisciplinar que integra princípios da ecologia, química ambiental, física nuclear e biologia, permitindo compreender o destino e os efeitos da radiação ionizante (RI) em ecossistemas naturais e antropizados (Förstner; Wittmann, 1983; Shaw, 2007).

Os radionuclídeos presentes no ambiente podem ter origem natural, como aqueles provenientes de séries de decaimento radioativo de elementos como urânio e tório, ou origem antrópica, decorrente de atividades humanas, incluindo geração de energia nuclear, aplicações médicas e testes nucleares. Após sua liberação, esses radionuclídeos podem ser transportados por processos físicos (difusão, sedimentação), químicos (adsorção, complexação) e biológicos (absorção por organismos), influenciando sua distribuição e persistência ambiental (Friedlander *et al.*, 1981).

A mobilidade dos radionuclídeos no ambiente é controlada por fatores como propriedades físico-químicas (solubilidade, estado de oxidação), características do meio (pH, textura do solo, teor de matéria orgânica) e processos biológicos, incluindo bioacumulação e transferência trófica. Esses fatores determinam a biodisponibilidade dos radionuclídeos e, conseqüentemente, o potencial de exposição de organismos vivos (Whicker; Schultz, 1982). Nesse contexto, a radioecologia desempenha papel

essencial na avaliação de riscos ambientais associados à radiação, permitindo estimar doses absorvidas por diferentes organismos e prever possíveis efeitos biológicos. Esses estudos são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias de monitoramento ambiental e para a definição de critérios de proteção radiológica aplicados a ecossistemas (IAEA, 2010).

2.1.1 Histórico e Relevância Ambiental

A Radioecologia teve seu desenvolvimento impulsionado ao longo do século XX, especialmente após a intensificação das atividades nucleares. Os primeiros estudos sistemáticos surgiram no contexto dos testes nucleares atmosféricos, que liberaram grandes quantidades de radionuclídeos no ambiente, permitindo a investigação de sua dispersão global e deposição em diferentes ecossistemas. Esses estudos estabeleceram as bases para a compreensão dos ciclos biogeoquímicos de elementos radioativos (Matarèse *et al.*, 2024; Libby, 1955).

Eventos de grande impacto ambiental, como o *Chernobyl Disaster* e o *Fukushima Daiichi nuclear disaster*, contribuíram significativamente para o avanço da radioecologia, ao evidenciarem os efeitos de liberações acidentais de radionuclídeos em larga escala. Esses eventos permitiram a realização de estudos de longo prazo sobre a persistência da contaminação, a transferência de radionuclídeos na cadeia alimentar e os impactos ecológicos associados (Geras'kin *et al.*, 2016; Alexakhin; Korneev, 1991).

Inicialmente, a Radioecologia estava fortemente voltada para a proteção da saúde humana, considerando os ecossistemas como vias de transferência de contaminantes. Entretanto, com a evolução do conhecimento científico, ocorreu uma ampliação do foco para a proteção dos próprios ecossistemas, reconhecendo-se a importância da preservação da integridade ecológica e da biodiversidade frente à exposição à RI (Barescut *et al.*, 2011; Hinton *et al.*, 2009). Do ponto de vista conceitual, a Radioecologia envolve a análise de parâmetros como fatores de concentração, coeficientes de transferência e taxas de incorporação de radionuclídeos por organismos. Esses parâmetros permitem modelar o comportamento dos radionuclídeos no ambiente e estimar sua transferência ao longo das cadeias tróficas,

sendo fundamentais para avaliações quantitativas de risco (Baes; Sharp, 1984).

A relevância ambiental da Radioecologia é particularmente evidente em cenários de contaminação crônica, nos quais organismos podem ser expostos a baixas doses de radiação por longos períodos. Estudos indicam que essa exposição pode resultar em efeitos subletais, como alterações fisiológicas, reprodutivas e genéticas, capazes de afetar a dinâmica populacional e a estrutura das comunidades biológicas (Begon; Townsend; Harper, 2006).

Além disso, a radioecologia fornece suporte científico para a formulação de políticas públicas e regulamentações ambientais relacionadas ao uso de materiais radioativos. A aplicação desses conhecimentos é essencial para garantir a segurança ambiental em atividades nucleares e para orientar ações de remediação em áreas contaminadas. Dessa forma, a radioecologia constitui uma ferramenta fundamental para a gestão ambiental contemporânea, contribuindo para a compreensão dos impactos da RI nos ecossistemas e para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de proteção ambiental (EPA, 2012).

Neste viés, a utilização de organismos modelo como indicador biológico, como a espécie *Drosophila melanogaster*, para a análise dos efeitos da RI tem sido amplamente usado em pesquisas científicas por apresentar características que as tornam bioindicadores altamente sensível a estressores ambientais (Pereira, 2025).

2.2 *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMO ORGANISMO MODELO

A espécie *Drosophila melanogaster* caracteriza-se como um inseto amplamente distribuído em nível mundial, sendo frequentemente encontrada em ambientes associados à atividade humana, especialmente em regiões tropicais e temperadas. Também conhecida como mosca-da-fruta, constitui um dos organismos modelo mais utilizados na biologia experimental, desempenhando papel central na elucidação de mecanismos genéticos, fisiológicos, celulares e moleculares. Sua relevância decorre, principalmente, da elevada conservação evolutiva de seus genes, sendo estimado que aproximadamente 65% dos genes humanos associados a doenças possuem homólogos nessa espécie (Cotterill; Yamaguchi, 2024; Adams et

al., 2000).

Apresenta diversas vantagens experimentais, como ciclo de vida curto, elevada taxa reprodutiva, baixo custo de manutenção e genoma completamente sequenciado, o que facilita a interpretação de alterações cromossômicas e padrões de expressão gênica (Snustad; Simmons, 2008). Em estudos ambientais, *Drosophila melanogaster* pode atuar como bioindicador, permitindo a avaliação de efeitos genotóxicos causados por agentes físicos, químicos ou biológicos presentes no ambiente, como, por exemplo, as radiações ionizantes (Santana, 2025).

2.2.1 Histórico do Uso Como Modelo Biológico

Os estudos com *Drosophila melanogaster* no início do século XX foram fundamentais para o estabelecimento da genética moderna. Thomas Hunt Morgan e seu grupo de pesquisa na *Columbia University* demonstraram que os fatores mendelianos correspondiam a genes localizados em pontos específicos dos cromossomos, consolidando a teoria cromossômica da herança. A partir da observação de mutações, como a coloração branca dos olhos, foi estabelecido o conceito de herança ligada ao sexo. Adicionalmente, foram desenvolvidos os primeiros mapas genéticos, relacionando a frequência de recombinação à distância entre os genes. Esse conjunto de estudos, sistematizado na obra *The Mechanism of Mendelian Heredity*, contribuiu significativamente para a consolidação da biologia como uma ciência experimental e quantitativa, equiparando-a à física e à química (Allen, 1985; Morgan *et al.*, 1923). Em reconhecimento a essas descobertas, Morgan foi laureado com o *Nobel Prize in Physiology or Medicine* em 1933, por demonstrar o papel desempenhado pelos cromossomos na hereditariedade e por evidenciar que os genes constituem as unidades físicas da herança (Nobel Foundation, 1933).

Na década seguinte, um dos avanços mais significativos proporcionados pelo uso de *Drosophila melanogaster* foi a demonstração experimental da indução de mutações por RI. Hermann Joseph Muller, integrante do grupo de Morgan, conduziu experimentos pioneiros com a utilização de raios X, nos quais foi observado um aumento significativo na frequência de mutações em indivíduos expostos à radiação. Esses resultados constituíram a primeira evidência experimental robusta de que

agentes físicos podem induzir alterações no material genético. Foi demonstrado que a exposição aos raios X resultava na produção de mutações hereditárias, incluindo mutações letais e alterações cromossômicas, estabelecendo uma relação direta entre dose de radiação e taxa de mutação (Muller, 1928; Gelling, 2016).

Abaixo na figura 1 podemos observar o laboratório utilizado por Morgan e colaboradores para o desenvolvimento das pesquisas, onde foram estabelecidos os fundamentos da genética cromossômica moderna e consolidação da *Drosophila melanogaster* como organismo modelo para estudos de herança, mutação e mapeamento gênico.

Figura 1 - Fly Room: laboratório onde *Drosophila melanogaster* revolucionou a genética



Fonte: Adaptado de Ghazoul, 2020.

Posteriormente, estudos experimentais investigaram de forma detalhada a relação entre dose de radiação e frequência de mutações em *Drosophila melanogaster*, evidenciando que, em determinados intervalos de exposição, há uma relação aproximadamente linear entre a dose de radiação e a taxa de mutação. Experimentos com espermatogônias irradiadas demonstraram uma resposta dose-dependente linear para a indução de mutações letais recessivas, indicando que o aumento da exposição resulta em elevação proporcional na frequência de mutações (Abrahamson; Friedman, 1964; Edington, 1956).

Dessa forma, esses estudos consolidaram o conceito de mutagênese induzida por RI, demonstrando que a frequência de mutações está diretamente relacionada à exposição, ainda que modulada por fatores biológicos e experimentais. Como reconhecimento dessa contribuição fundamental, Muller foi laureado com o *Nobel Prize in Physiology or Medicine* em 1946, por demonstrar que mutações podem ser induzidas artificialmente por agentes externos, consolidando o papel de *Drosophila melanogaster* como modelo essencial para estudos de mutagênese e radiação (Nobel Foundation, 1946).

2.2.2 Ciclo De Vida e Dimorfismo Sexual Da Espécie

A espécie *Drosophila melanogaster* apresenta desenvolvimento holometábolo, caracterizado por metamorfose completa, com quatro estágios bem definidos: ovo, larva, pupa e adultos. Em condições laboratoriais ideais com temperatura em torno de 25 °C, adequada disponibilidade nutricional e controle de densidade populacional o ciclo completo de desenvolvimento ocorre, em média, entre 9 e 10 dias, podendo variar conforme fatores ambientais e genéticos (Ashburner *et al.*, 2005).

Após a oviposição, o desenvolvimento embrionário ocorre rapidamente, com duração aproximada de 24 horas, ao final das quais emerge a larva de primeiro instar. Esse processo envolve intensa atividade celular e diferenciação precoce, incluindo a formação inicial de tecidos larvais e estruturas precursoras dos órgãos adultos. Durante o estágio larval, os indivíduos passam por três instares sucessivos denominados L1, L2 e L3, separados por eventos de muda (ecdise). Os dois primeiros instares apresentam duração média de cerca de 24 horas cada, enquanto o terceiro instar se estende por aproximadamente 48 horas, sendo caracterizado por intenso crescimento somático e acúmulo de reservas energéticas. Nesse período, desenvolvem-se os discos imaginais, estruturas epiteliais que darão origem aos órgãos adultos durante a metamorfose (Hales *et al.*, 2015).

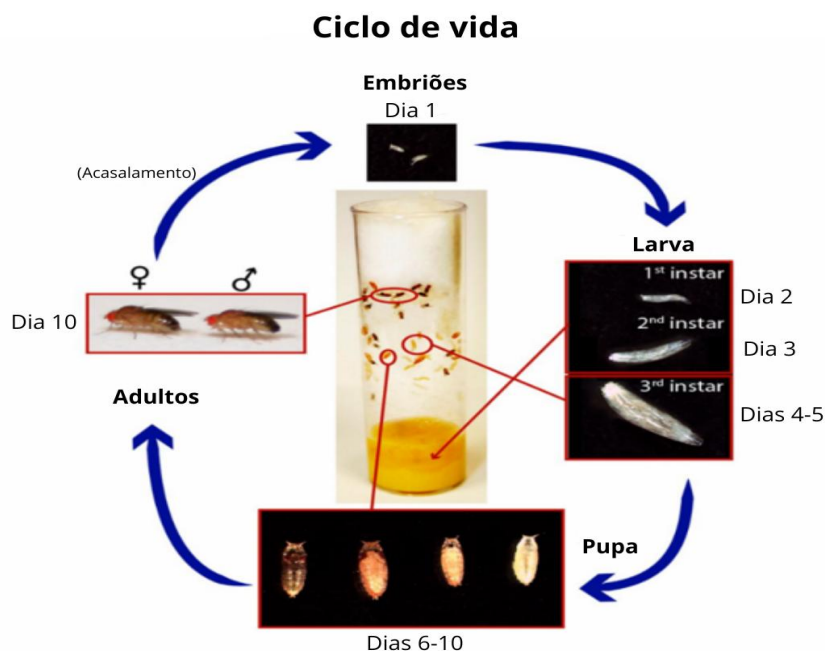
Do ponto de vista ecológico, as larvas de *Drosophila melanogaster* apresentam hábito alimentar saprófago, alimentando-se predominantemente de microrganismos, como leveduras e bactérias associadas a substratos fermentados. Essa interação com a microbiota é fundamental para o desenvolvimento larval, uma vez que contribui para

a obtenção de nutrientes essenciais e influencia parâmetros fisiológicos e metabólicos (Broderick; Lemaitre, 2012).

Ao final do terceiro instar larval, as larvas interrompem a alimentação e iniciam um comportamento migratório conhecido como fase de *wandering*, no qual abandonam o substrato alimentar e buscam um local adequado para a puparização. A fase de pupa, que dura aproximadamente 4 dias, é marcada por profunda reorganização morfológica, incluindo histólise de tecidos larvais e diferenciação dos tecidos adultos a partir dos discos imaginais, culminando na formação do organismo adulto completo (Hales *et al.*, 2015).

Após a emergência, o adulto apresenta morfologia completamente diferenciada, com asas funcionais e sistemas fisiológicos maduros. A maturidade sexual é atingida em um curto período após a eclosão, permitindo rápida reprodução e continuidade do ciclo. A taxa de desenvolvimento, sobrevivência e longevidade são fortemente influenciadas por fatores ambientais, especialmente temperatura, disponibilidade alimentar e densidade populacional, podendo resultar em variações significativas no ciclo de vida (Ashburner *et al.*, 2005; Kafle *et al.*, 2025).

Figura 2 - Ciclo de vida da *Drosophila melanogaster*



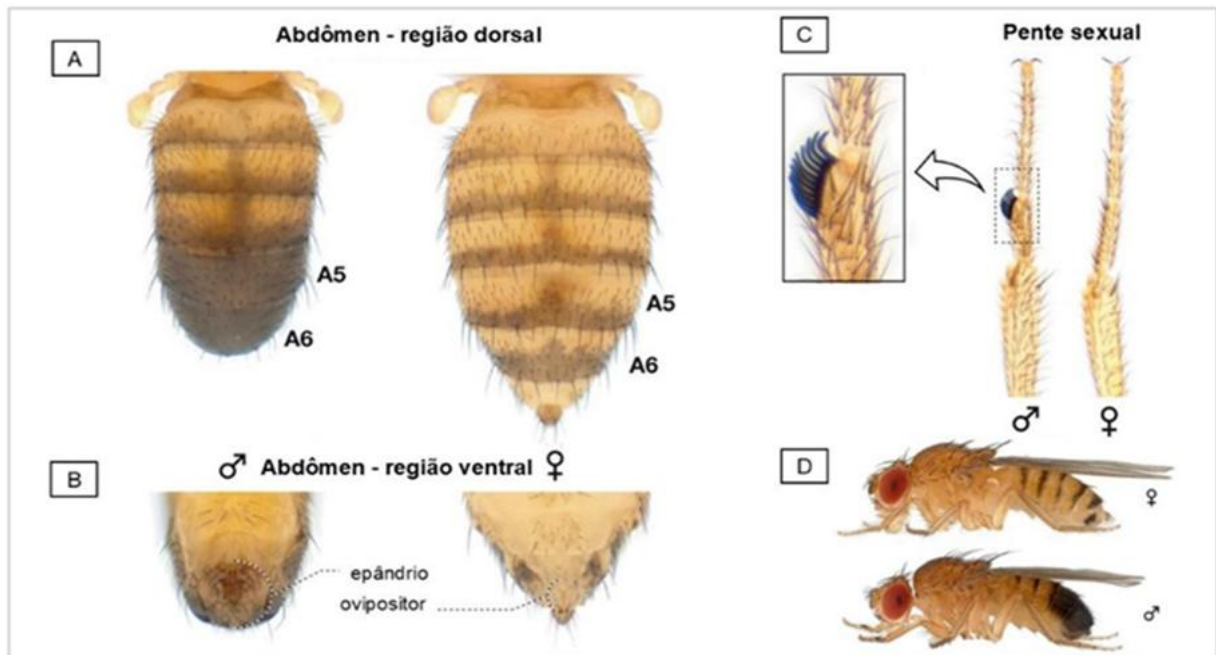
Fonte: Adaptado Hales, *et al.*, 2015.

A diferenciação sexual em *Drosophila melanogaster* é bem estabelecida e pode ser realizada com base em características morfológicas externas claramente distinguíveis entre machos e fêmeas. De modo geral, os machos apresentam menor tamanho corporal em relação às fêmeas, além de um abdômen mais curto, arredondado e intensamente pigmentado, com os últimos segmentos exibindo coloração escura uniforme. Em contraste, as fêmeas possuem abdômen mais alongado e afilado, com coloração mais clara, variando entre tons amarelados e acastanhados, e com segmentação abdominal mais evidente, refletindo padrões clássicos de dimorfismo sexual na espécie (Ingleby; Morrow, 2017; Sztepanacz; Houle, 2021).

Uma característica marcante dos machos é a presença dos chamados “pentes sexuais” (*sex combs*), estruturas formadas por fileiras de cerdas modificadas localizadas no primeiro par de patas anteriores. Essas estruturas são exclusivas dos machos e desempenham papel importante no comportamento reprodutivo, sendo amplamente utilizadas como critério confiável para diferenciação sexual em condições laboratoriais. Adicionalmente, diferenças nos órgãos genitais externos contribuem para a distinção entre os sexos. Nos machos, a extremidade abdominal apresenta uma estrutura genital arredondada e fortemente pigmentada, enquanto nas fêmeas essa região é mais pontiaguda e menos pigmentada, estando associada ao ovipositor. Essas características morfológicas permitem uma identificação rápida e precisa dos indivíduos, sendo fundamentais para a triagem e separação de machos e fêmeas em experimentos envolvendo *Drosophila melanogaster*. Essa distinção é particularmente relevante em estudos de radioecologia, nos quais diferenças sexuais podem influenciar respostas biológicas à radiação, incluindo parâmetros como sobrevivência, metabolismo e estabilidade genômica (Pereira, 2025; Singh; Harbison, 2026).

A Figura 3 ilustra as principais diferenças entre os sexos de *Drosophila melanogaster*. Em (A), observa-se a variação na forma e coloração do abdômen entre machos e fêmeas. Em (B), são apresentadas as estruturas reprodutivas externas características de cada sexo. Em (C), evidencia-se a presença dos pentes sexuais nos machos, localizados nas patas anteriores. Por fim, em (D), destaca-se a diferença no porte corporal, sendo as fêmeas, em geral, maiores que os machos.

Figura 3 – Diferenciação sexual em *Drosophila melanogaster*.



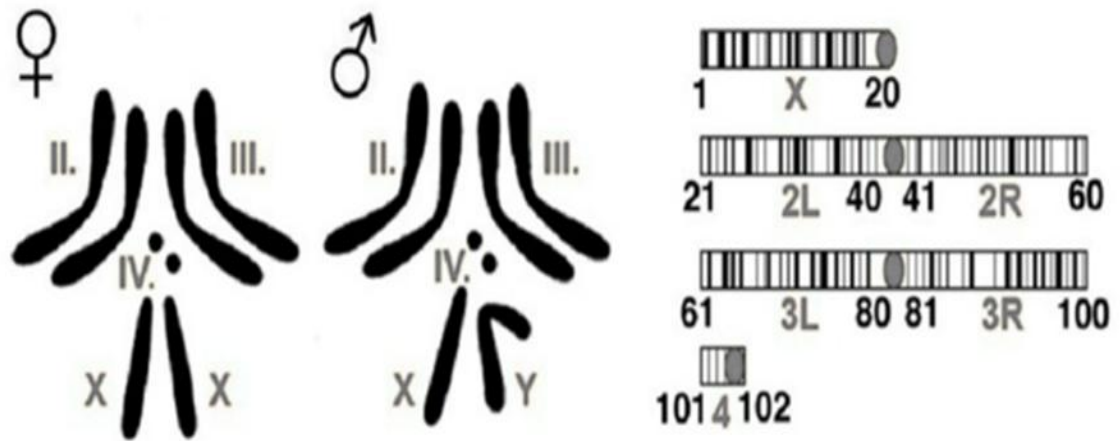
Fonte: Adaptado de Pereira, 2025.

2.2.3 Características Genéticas Da Espécie

O genoma de *Drosophila melanogaster* encontra-se completamente sequenciado e amplamente caracterizado, constituindo um dos sistemas genéticos mais bem compreendidos entre os organismos eucarióticos. Estima-se que o genoma da espécie contenha aproximadamente 14.000 a 15.000 genes, distribuídos de forma organizada em um conjunto reduzido de cromossomos, o que facilita análises genéticas, citogenéticas e funcionais (Adams *et al.*, 2000; Snustad; Simmons, 2008).

Do ponto de vista estrutural, *Drosophila melanogaster* apresenta quatro pares de cromossomos: um par sexual e três pares autossômicos. O par sexual é composto por cromossomos X e Y, sendo o sexo determinado pela razão entre cromossomos X e conjuntos autossômicos. Os autossomos correspondem aos cromossomos 2, 3 e 4, sendo os dois primeiros de maior tamanho e altamente ricos em genes, enquanto o cromossomo 4, também conhecido como “cromossomo pontual” (dot chromosome), é significativamente menor e apresenta características peculiares, como alta densidade de heterocromatina e menor taxa de recombinação (Riddle; Elgin, 2018).

Figura 4 – Representação esquemática dos cromossomos de *Drosophila melanogaster* em fêmeas e machos



Fonte: Adaptado de Lewis *et al.*, 2013.

Outro aspecto relevante é a significativa conservação evolutiva entre *Drosophila melanogaster* e organismos superiores, incluindo humanos. Aproximadamente 65% dos genes associados a doenças humanas possuem homólogos na mosca, o que torna esse modelo extremamente útil para estudos funcionais, análise de vias metabólicas e investigação de mecanismos moleculares de patologias (Reiter *et al.*, 2001; Ugur; Chen; Bellen, 2016).

Nesse contexto, o conhecimento completo do genoma da espécie também é fundamental para estudos de mutagênese e radioecologia, pois possibilita a identificação precisa de regiões genômicas afetadas por agentes físicos, como a RI, além de permitir a correlação entre danos ao DNA, alterações na expressão gênica e efeitos fenotípicos observáveis (Alexandrov *et al.*, 2023).

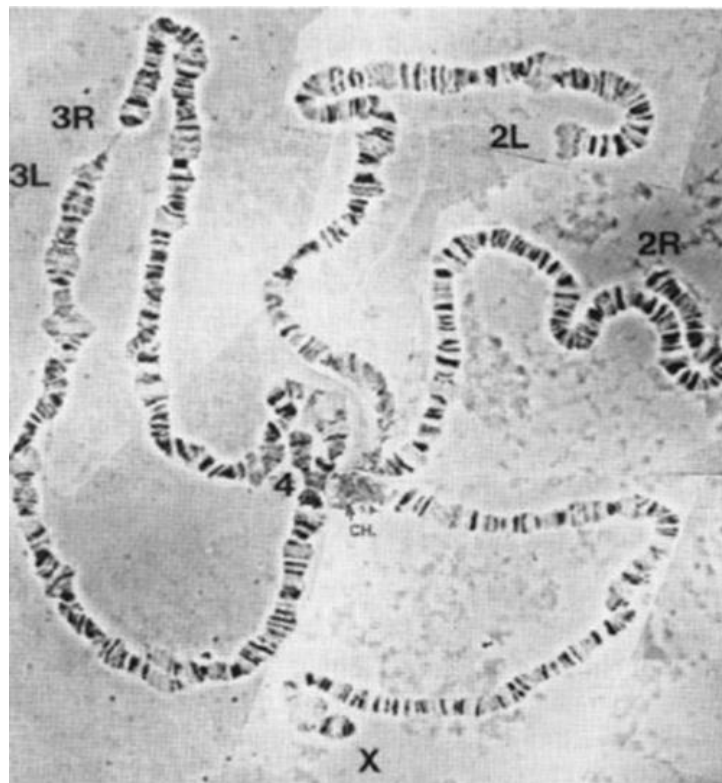
2.3 CROMOSSOMOS POLITÊNICOS

Os cromossomos politênicos representam uma das estruturas mais emblemáticas da citogenética clássica e moderna, sendo observados principalmente nas glândulas salivares (GS) de larvas de *Drosophila melanogaster*. Sua descoberta e posterior caracterização permitiu compreender, em nível morfológico e funcional, a

relação entre a estrutura cromossômica e a expressão gênica. Essas formações gigantes surgem a partir de sucessivos ciclos de endoreduplicação que são replicações do DNA sem divisão celular que resultam em múltiplas cromátides alinhadas paralelamente, conferindo aos cromossomos um aspecto estriado e altamente organizado (Edgar; Orr-Weaver, 2001; Frawley; Orr-Weaver, 2015).

A Figura 5 ilustra de forma detalhada a organização estrutural dos cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*. Nessa representação, observa-se o cromocentro, região central de convergência dos cromossomos, a partir da qual se irradiam os braços cromossômicos direito e esquerdo dos cromossomos 2 e 3, além do cromossomo X.

Figura 5 – Cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Adaptado de O'grady, 2009.

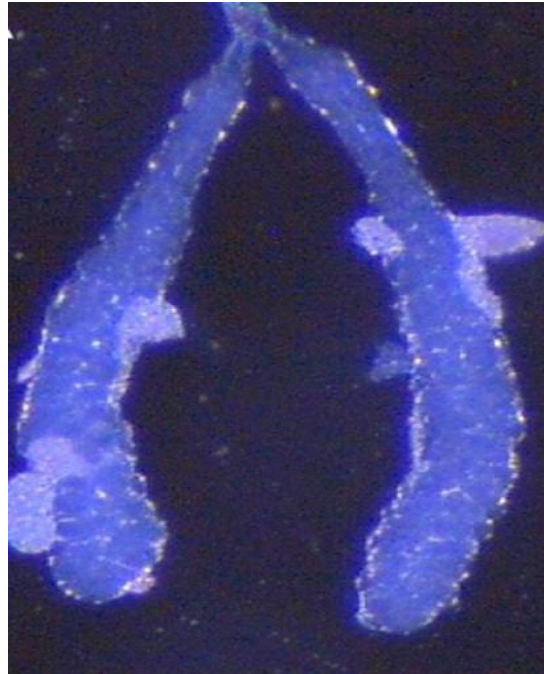
2.3.1 Formação dos Cromossomos Politênicos (Endociclo)

O endociclo consiste em uma modificação do ciclo celular convencional, na qual as células alternam entre as fases G (intervalo) e S (síntese de DNA), sem ocorrência de mitose. Esse padrão resulta em sucessivas rodadas de replicação do DNA sem divisão celular, promovendo aumento progressivo do conteúdo genômico e formação de células poliploides (Lilly; Duronio, 2005).

Em *Drosophila melanogaster*, esse processo ocorre de forma particularmente evidente nas células das GS larvais, ilustradas na Figura 6. Essas glândulas apresentam seu ápice de desenvolvimento no estágio L3, o que justifica sua retirada nesse ponto para obtenção dos cromossomos politênicos, apresentam organização relativamente simples, sendo constituídas principalmente por células secretoras e células dos ductos. As células secretoras possuem natureza epitelial, formato alongado e elevada atividade metabólica, sendo responsáveis pela síntese e secreção de grandes quantidades de proteínas, incluindo substâncias adesivas utilizadas durante a puparização. As células dos ductos, por sua vez, formam estruturas tubulares encarregadas da condução dessas secreções até a cavidade oral larval (Myat; Isaac; Andrew, 2000; Andrew; Ewald, 2010).

Durante o desenvolvimento larval, essas células deixam de sofrer divisões mitóticas adicionais e passam a aumentar de tamanho principalmente por meio do processo de poliploidia. Esse crescimento celular resulta na formação de núcleos altamente volumosos e de cromossomos politênicos bem desenvolvidos, facilmente observáveis em análises citológicas (Edgar; Orr-Weaver, 2001).

Figura 6 – Estrutura da glândula salivar da larva em terceiro estágio



Fonte: Adaptado de Kuhn *et al.*, 2020.

A regulação do endociclo é mediada por um sistema molecular altamente controlado, baseado na oscilação da atividade do complexo ciclina E–CDK2, que atua como regulador central da progressão entre as fases G e S. Nesse processo, a ativação e a posterior inativação desse complexo determinam o início e o término de cada rodada de replicação do DNA (Edgar; Zielke; Gutierrez, 2014). Inicialmente, o fator de transcrição E2F1 promove a expressão de genes essenciais para a entrada na fase S, especialmente da ciclina E. A formação do complexo ciclina E–CDK2 desencadeia a replicação do DNA, caracterizando o início da fase S. Durante essa fase, a elevada atividade desse complexo garante a duplicação eficiente do material genético.

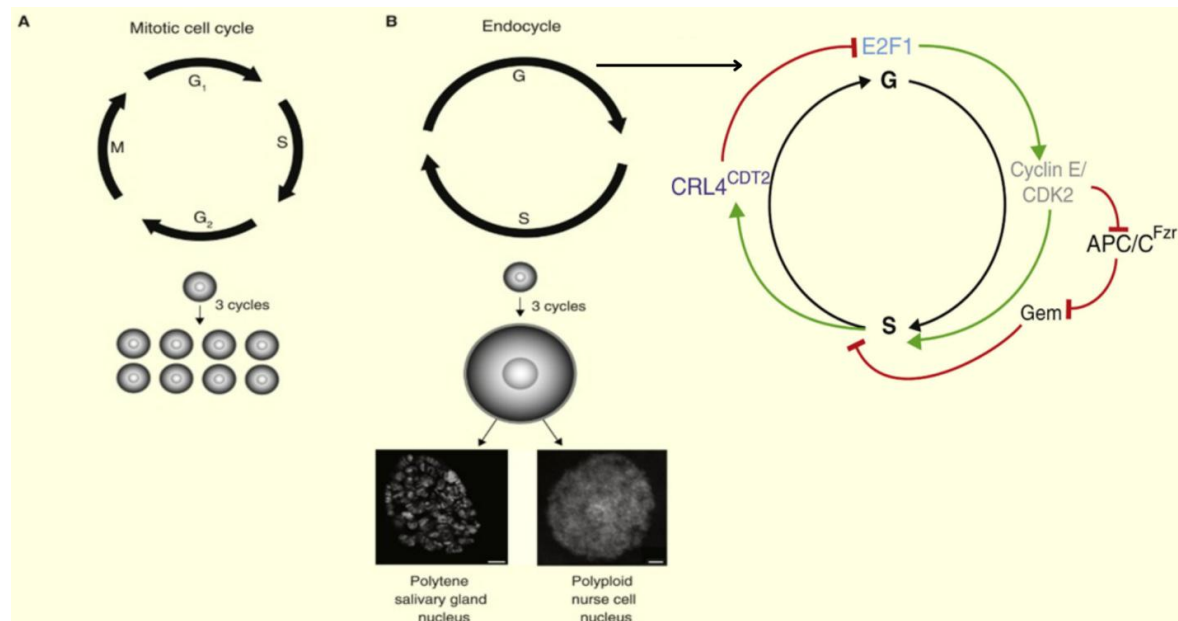
Paralelamente, mecanismos regulatórios impedem que o DNA seja replicado mais de uma vez no mesmo ciclo celular. A atividade do complexo ciclina E–CDK2 inibe a formação de novos complexos pré-replicativos e favorece o acúmulo de proteínas inibidoras, como a geminina, assegurando que cada segmento do genoma

seja duplicado apenas uma vez por ciclo. Após o início da fase S, ocorre a ativação de mecanismos de regulação negativa mediados por sistemas de degradação proteica dependentes de ubiquitina. Nesse contexto, o complexo CRL4^{CDT2} atua na degradação de reguladores associados à fase S, incluindo E2F1, contribuindo para a redução da expressão de ciclina E e para a diminuição da atividade das CDKs. Essa redução é fundamental para o retorno à fase G, permitindo a reorganização dos mecanismos de licenciamento da replicação.

Além disso, o complexo promotor da anáfase/ciclossomo associado à proteína Fzr, representado como APC/C^{Fzr}, participa da regulação do endociclo ao promover a degradação de proteínas que controlam a progressão do ciclo celular. Entre seus alvos está a geminina, cuja degradação favorece a formação de novos complexos pré-replicativos (pre-RCs), preparando o DNA para uma nova rodada de replicação (ZIELKE *et al.*, 2011). Dessa forma, a alternância entre a ativação de E2F1 e ciclina E-CDK2, responsáveis pela entrada na fase S, e a ação regulatória de CRL4^{CDT2}, APC/C^{Fzr} e geminina permite o controle cíclico entre replicação e relicenciamento do DNA.

Dessa forma, o endociclo funciona como um oscilador molecular, no qual a alternância entre alta e baixa atividade de CDKs controla a sucessão das fases G e S. A repetição contínua desse processo resulta no acúmulo progressivo de DNA, caracterizando a poliploidia celular e contribuindo diretamente para a formação dos cromossomos politênicos (Frawley; Orr-Weaver, 2015; Lee, H. O. *et al.*, 2009). Esse mecanismo é fundamental, uma vez que as sucessivas rodadas de replicação do DNA, sem ocorrência de mitose e sem segregação das cromátides irmãs, mantêm as cromátides alinhadas paralelamente, originando estruturas gigantes e altamente organizadas, características das GS de *Drosophila melanogaster* (Lilly; Duronio, 2005).

Figura 7 – Comparação entre o ciclo celular mitótico e o endociclo.



Legenda: Representação esquemática do ciclo celular mitótico e do endociclo. No ciclo mitótico, ocorrem as fases G₁, S, G₂ e M, resultando em divisão celular e formação de novas células. No endociclo, há alternância entre as fases G e S, sem ocorrência de mitose, promovendo aumento do conteúdo de DNA e formação de núcleos poliploides.

Fonte: Adaptado de Frawley, 2015.

2.3.2 Padrões de Bandas Cromossômicas

Os cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster* caracterizam-se pela presença de um padrão específico de bandas transversais, resultante da alternância entre regiões de cromatina condensada e descondensada ao longo do eixo cromossômico. Essas diferenças estruturais decorrem de distintos níveis de compactação do DNA e das proteínas associadas à cromatina, originando regiões denominadas cromômeros (Kolesnikova, 2018).

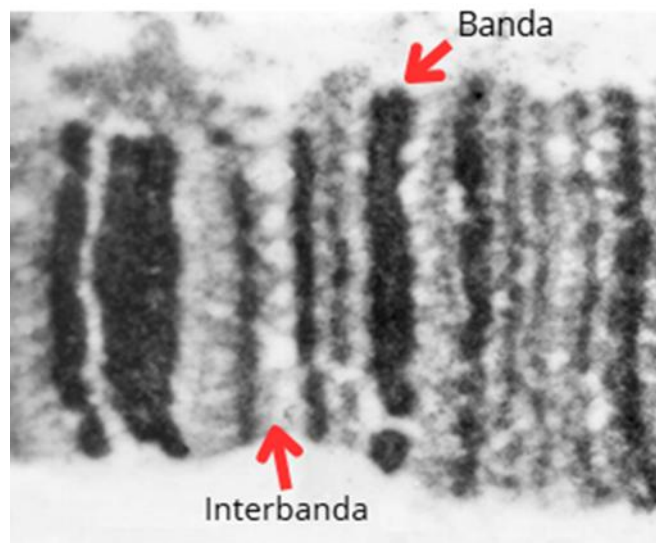
As bandas cromossômicas correspondem a regiões de elevada densidade cromatínica e maior grau de compactação estrutural, apresentando intensa coloração em análises citológicas. Essas regiões exibem elevados níveis de empacotamento da cromatina e diferentes graus de condensação, refletindo variações funcionais

associadas à atividade gênica. Enquanto as interbandas correspondem a regiões menos condensadas da cromatina, caracterizadas por menor densidade óptica e maior acessibilidade estrutural. Essas regiões encontram-se associadas à cromatina aberta, à presença de proteínas reguladoras e à atividade transcricional, estando frequentemente relacionadas a regiões promotoras e sítios de iniciação da transcrição gênica (Zhimulev *et al.*, 2014; Vatolina *et al.*, 2011).

Além das bandas compactas e interbandas clássicas, são observadas regiões intermediárias denominadas bandas cinzas (gray bands), caracterizadas por níveis intermediários de compactação cromatínica. Essas regiões apresentam propriedades estruturais distintas das bandas densamente condensadas e das interbandas totalmente descondensadas, estando associadas a diferentes níveis de atividade gênica (Zykova *et al.*, 2018).

Determinadas regiões cromossômicas podem sofrer intensa descondensação local da cromatina, originando estruturas denominadas *puffs* cromossômicos. Essas regiões apresentam aspecto difuso e encontram-se frequentemente associadas à elevada atividade transcricional e síntese de RNA, refletindo alterações funcionais da cromatina relacionadas à regulação gênica e à dinâmica estrutural dos cromossomos politênicos (Zhimulev *et al.*, 2009).

Figura 8 – Micrografia eletrônica do cromossomo 3R



Legenda: Setas evidenciando o padrão alternado de bandas e interbandas característico dos cromossomos politênicos.

Fonte: Adaptado de Zhimulev; Koryakov, 2009.

De modo geral, o padrão de bandas e interbandas dos cromossomos politênicos apresenta elevada estabilidade estrutural, permitindo a identificação de regiões cromossômicas específicas e a elaboração de mapas citogenéticos detalhados. Entretanto, alterações no grau de compactação da cromatina podem ocorrer em resposta a diferentes condições fisiológicas e ambientais, evidenciando a plasticidade funcional dessas estruturas (Zykova *et al.*, 2019).

2.3.3 Mapas Cromossômicos e Aplicação Em Análise Genética

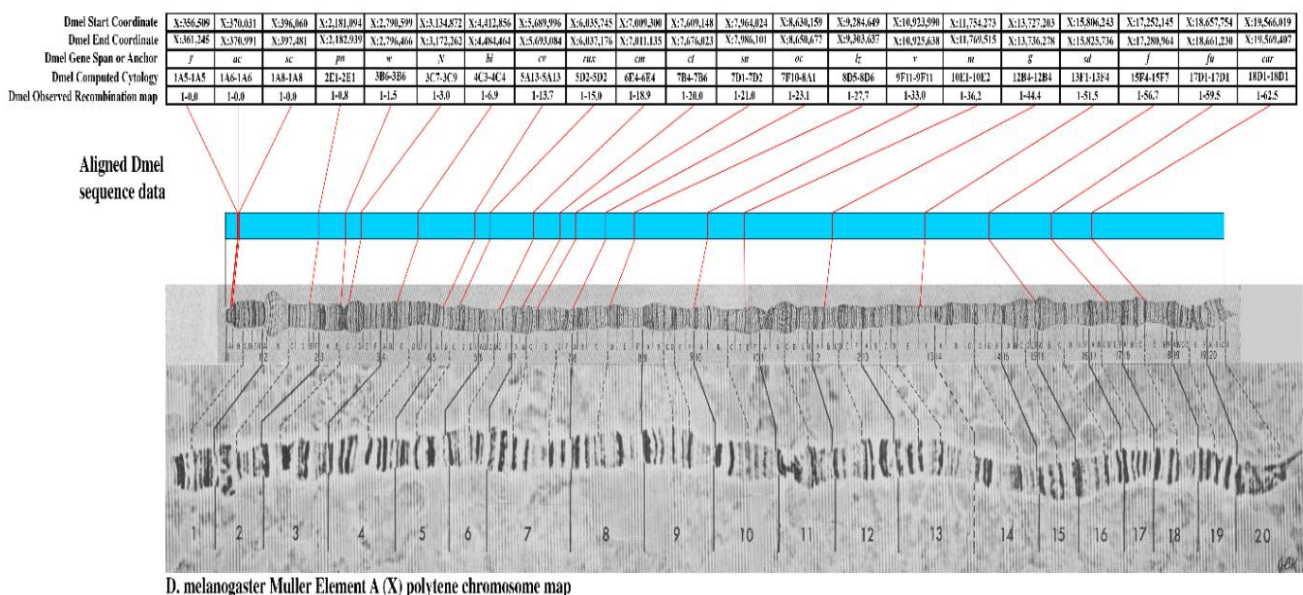
A organização altamente reprodutível dos cromossomos politênicos possibilitou o desenvolvimento de mapas citogenéticos detalhados, nos quais cada banda e interbanda apresenta posição definida ao longo dos braços cromossômicos. Esses mapas constituem ferramentas fundamentais para a análise genética em *Drosophila melanogaster*, permitindo a correlação direta entre regiões cromossômicas e loci gênicos específicos, além de viabilizar a integração entre dados citológicos e genômicos (Southern *et al.*, 1973).

A interpretação dos cromossomos politênicos baseia-se na comparação do padrão

observado com mapas citogenéticos de referência. Cada região cromossômica é numerada e subdividida em bandas e sub-bandas, formando um sistema padronizado que permite a localização precisa de alterações estruturais. Rearranjos cromossômicos, como inversões, podem ser identificados pela alteração na ordem das bandas, enquanto deleções e duplicações são detectadas pela ausência ou repetição de segmentos específicos (Schaeffer *et al.*, 2008).

A Figura 9 exemplifica esse tipo de análise, apresentando o alinhamento entre dados de sequência genômica e o mapa citológico do cromossomo politênico correspondente ao elemento de Muller A (cromossomo X) de *Drosophila melanogaster*. Observa-se a correspondência entre regiões do genoma (representadas na barra superior) e o padrão de bandas visível no cromossomo politênico (imagem inferior), permitindo a associação direta entre coordenadas moleculares e posições citológicas.

Figura 9 – Representação integrada do mapa citogenético do cromossomo politênico



Legenda: Figura correspondente ao elemento de Muller A (cromossomo X) de *Drosophila melanogaster*.

Fonte: <https://flybase.org/maps/chromosomes/maps>

Nesse contexto, marcadores genéticos e sequências conhecidas são utilizados para ancorar regiões do genoma ao padrão de bandas cromossômicas, possibilitando a construção de mapas integrados. Essa abordagem tem sido amplamente empregada na validação de montagens genômicas e na identificação de pontos de quebra associados a rearranjos cromossômicos (Schaeffer *et al.*, 2008).

Além da análise morfológica clássica, técnicas modernas como a hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e a imunofluorescência permitem a localização de sequências específicas, proteínas cromatínicas e modificações epigenéticas diretamente nos cromossomos politênicos, ampliando significativamente a resolução funcional dessas análises (Johansen *et al.*, 2009). Paralelamente, a integração com bases de dados genômicas tem ampliado a precisão do mapeamento cromossômico. A base de dados *FlyBase* constitui o principal repositório de informações genéticas e citogenéticas para espécies do gênero *Drosophila*, reunindo dados sobre posições citológicas, coordenadas genômicas, mapas de recombinação e informações funcionais de genes (Flybase Consortium, 1998).

2.4 APLICABILIDADE DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* EM RADIOECOLOGIA E ESTUDOS LABORATORIAIS DE EXPOSIÇÃO À RADIAÇÃO IONIZANTE

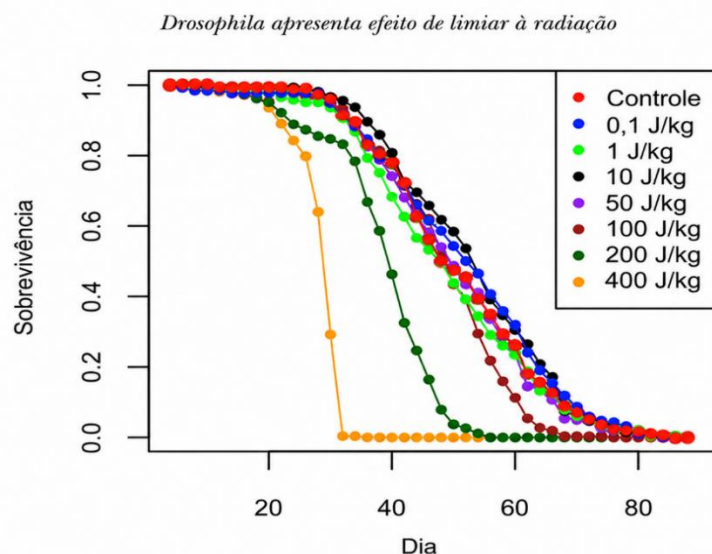
A utilização de *Drosophila melanogaster* em estudos laboratoriais envolvendo radiação ionizante permite investigar, sob condições controladas, como diferentes regimes de exposição produzem efeitos biológicos mensuráveis em organismos vivos. Essa abordagem é relevante porque os efeitos da radiação não se restringem à mortalidade imediata, podendo envolver alterações subletais, cumulativas e dependentes da dose, da taxa de dose, do tempo de exposição e do estágio de desenvolvimento do organismo. Desse modo, experimentos conduzidos em laboratório possibilitam reduzir interferências externas e estabelecer relações mais precisas entre exposição radiológica e resposta biológica, especialmente em estudos voltados à compreensão de efeitos agudos, crônicos e de baixa dose (Kim *et al.*, 2015; Trinca; Navascués, 2025).

A interação da RI com sistemas biológicos ocorre tanto por ação direta sobre biomoléculas quanto por mecanismos indiretos mediados pela formação de espécies

reativas decorrentes da radiólise da água. Esses processos podem gerar lesões no DNA, alterações oxidativas em proteínas e lipídios, modificações epigenéticas e ativação de vias celulares associadas à resposta ao dano, ao reparo, à apoptose e à adaptação ao estresse. Assim, a avaliação dos efeitos radiobiológicos exige considerar não apenas lesões genéticas imediatas, mas também respostas celulares e moleculares mais amplas, especialmente em contextos de baixa dose, baixa taxa de dose e exposições prolongadas (Belli; Tabocchini, 2020).

Antosh *et al.*, (2014) demonstraram que *Drosophila melanogaster* apresenta resposta dependente da dose à radiação, com efeitos fisiológicos e moleculares mais evidentes em níveis elevados de exposição, conforme exemplificado na Figura 9. Os autores observaram alterações na longevidade e em padrões de expressão gênica associados ao metabolismo celular, mas destacaram que, abaixo de determinados níveis de exposição, não foram detectados efeitos permanentes sobre longevidade ou expressão gênica. Esses resultados indicam a existência de um possível efeito limiar, reforçando a necessidade de avaliar diferentes faixas de dose em estudos laboratoriais de radiobiologia ambiental.

Figura 10 – Curva de sobrevivência de *Drosophila melanogaster* expostas à radiação gama.



Legenda: Curva de sobrevivência após exposição a diferentes doses de radiação, evidenciando redução da sobrevivência em doses mais elevadas e sugerindo a presença de um efeito limiar na resposta à radiação.

Fonte: Adaptado de Antosh *et al.*, 2014.

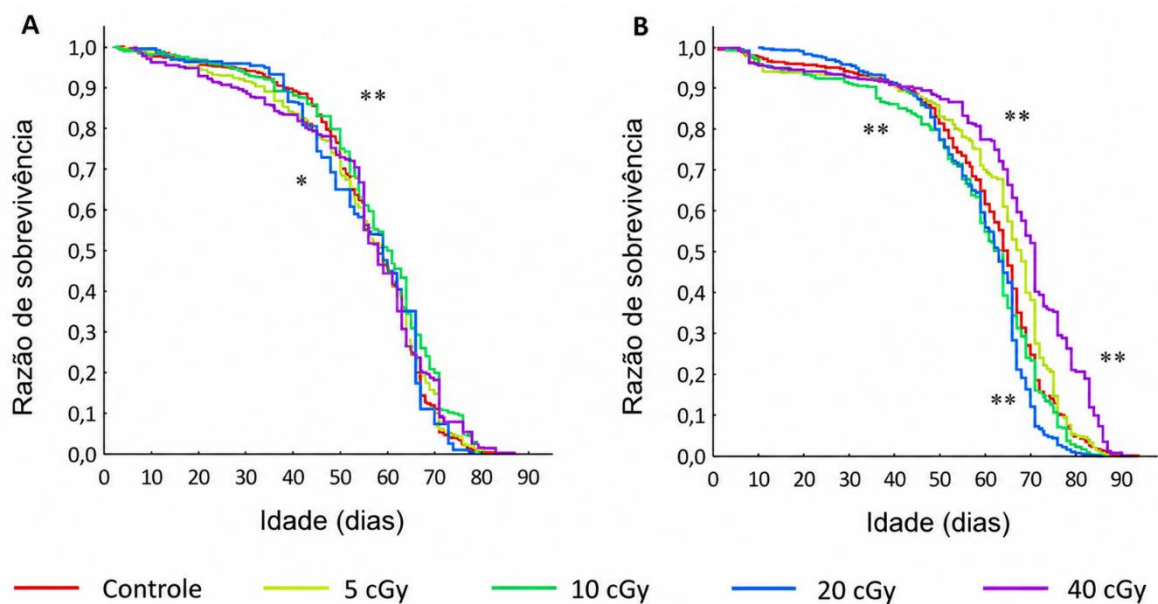
Nesse sentido, embora respostas mais lineares e diretamente mensuráveis possam ser observadas em exposições mais elevadas, especialmente quando os efeitos envolvem mortalidade, redução acentuada da viabilidade ou danos fisiológicos evidentes, a avaliação radiobiológica em *Drosophila melanogaster* não deve se limitar a esses desfechos. Em exposições de menor dose, baixa taxa de dose ou caráter crônico, os efeitos podem manifestar-se de modo mais discreto, não linear ou dependente do contexto biológico, envolvendo mecanismos epigenéticos, adaptativos e respostas celulares associadas ao reparo e à tolerância ao estresse. Assim, a compreensão dos efeitos da RI na espécie exige a análise integrada de diferentes parâmetros biológicos, capazes de evidenciar tanto danos imediatos quanto alterações subletais e tardias (Belli; Tabocchini, 2020; Tanaka, 2021).

Em *Drosophila melanogaster*, esses mecanismos podem ser avaliados por meio de desfechos como alterações cromossômicas, danos ao DNA, viabilidade, desenvolvimento, reprodução, longevidade, comportamento e expressão gênica. A integração desses parâmetros permite relacionar eventos moleculares iniciais a efeitos fisiológicos mais amplos, favorecendo a identificação de respostas que poderiam não ser detectadas apenas por critérios de mortalidade (Shrestha *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2015).

Estudos recentes demonstram que as respostas de *Drosophila melanogaster* à RI podem apresentar comportamento não linear, sobretudo em exposições de baixa dose. Ao avaliar os efeitos de baixas doses de radiação gama sobre cromossomos e DNA, Tanaka (2021) observou respostas distintas conforme a faixa de dose, incluindo hipersensibilidade em determinados níveis e radioresistência induzida em outros. De modo complementar, Zhikrevetskaya *et al.*, (2015) demonstraram que doses entre 5 e 40 cGy podem alterar parâmetros de longevidade e expressão de genes relacionados ao estresse. O estudo evidenciou que baixas doses de radiação gama em *Drosophila melanogaster* podem produzir respostas não lineares sobre a longevidade, com variações conforme a dose e o sexo dos indivíduos, incluindo efeitos compatíveis com hormese em determinadas condições e maior sensibilidade em outras. Conforme apresentado na Figura 10, as curvas de sobrevivência indicam que os diferentes grupos irradiados não seguem uma resposta proporcional simples em

relação ao controle, reforçando a necessidade de delineamentos experimentais capazes de diferenciar efeitos letais, subletais, adaptativos e possíveis limiares biológicos.

Figura 11 – Curvas de sobrevivência de machos e fêmeas de *Drosophila melanogaster* expostos a baixas doses de radiação gama



Legenda: O painel A representa os machos e o painel B representa as fêmeas. As diferenças entre os grupos irradiados e o controle indicam que a resposta à radiação não ocorre de forma estritamente linear, variando conforme a dose e o sexo dos indivíduos. Os asteriscos indicam significância estatística em relação ao controle: $p < 0,05$ (*) e $p < 0,01$ (**).

Fonte: Adaptado de Zhikrevetskaya *et al.*, 2015.

A exposição crônica também representa um aspecto central na avaliação laboratorial dos efeitos da radiação, uma vez que cenários ambientais frequentemente envolvem contato prolongado com baixas taxas de dose. Porrazzo *et al.* (2022a) demonstraram que larvas previamente expostas à radiação gama em baixa taxa de dose apresentaram menor frequência de quebras cromossômicas após uma exposição aguda subsequente, sugerindo indução de resposta adaptativa associada à estabilidade cromossômica. Em estudo complementar, observou-se que a redução

do *background* natural de radiação em ambiente subterrâneo esteve associada ao aumento da sensibilidade de neuroblastos larvais a danos cromossômicos induzidos por radiação, sugerindo que o histórico radiológico ambiental pode influenciar mecanismos basais de resposta ao dano (Porrazzo *et al.*, 2022b).

Esses resultados são particularmente relevantes para a implementação de estudos laboratoriais, pois demonstram que não apenas a dose total, mas também a taxa de dose, o histórico de exposição, o estágio de desenvolvimento e as condições ambientais podem modificar a resposta biológica. A investigação de embriões irradiados reforça essa necessidade, uma vez que a dose e a taxa de dose podem interferir no tempo de eclosão, na embriotoxicidade e em parâmetros funcionais avaliados após a exposição. Portanto, o uso de *Drosophila melanogaster* em ensaios controlados permite avaliar se a exposição produz dano direto, resposta adaptativa, sensibilização, alteração no desenvolvimento ou modificação da capacidade de reparo celular (Sangsuwan *et al.*, 2022; Porrazzo *et al.*, 2022a).

A análise genética reforça a aplicabilidade da espécie em experimentos laboratoriais, sobretudo pela possibilidade de identificar biomarcadores de exposição e de efeito. Estudos de expressão gênica em *Drosophila melanogaster* irradiada demonstraram modulação de genes relacionados ao reparo de DNA, resposta ao estresse, metabolismo celular e manutenção da homeostase. Essa abordagem permite detectar alterações que podem não ser imediatamente observáveis por parâmetros morfológicos, reprodutivos ou comportamentais, fortalecendo a interpretação dos efeitos biológicos da radiação quando associada a *endpoints* clássicos, como sobrevivência, desenvolvimento e reprodução (Landis; Shen; Tower, 2012; Shrestha *et al.*, 2017).

Desse modo, a implementação laboratorial de ensaios com *Drosophila melanogaster* justifica-se pela possibilidade de avaliar respostas radiobiológicas em múltiplos níveis, desde eventos iniciais, como dano oxidativo, alterações cromossômicas e modulação gênica, até consequências fisiológicas e funcionais, como viabilidade, desenvolvimento, reprodução, longevidade e comportamento. Essa amplitude de análise torna o modelo adequado para estudos que buscam compreender os efeitos da RI sobre organismos vivos, especialmente em condições

experimentais que simulem exposições agudas, crônicas, subletais ou de baixa taxa de dose (Belli; Tabocchini, 2020).

Portanto, a adoção de *Drosophila melanogaster* em estudos laboratoriais de radioecologia experimental não se limita à conveniência metodológica, mas se fundamenta na capacidade do organismo de expressar respostas biológicas sensíveis, mensuráveis e interpretáveis frente à RI. Ao permitir o controle rigoroso das condições de exposição e a avaliação integrada de *endpoints* moleculares, celulares, fisiológicos, comportamentais e transgeracionais, esse modelo contribui para a compreensão dos mecanismos de dano, tolerância e adaptação associados à exposição radiológica. Assim, sua utilização oferece suporte científico para investigar efeitos ambientais da radiação em organismos não humanos e para subsidiar interpretações mais precisas sobre risco biológico em contextos de exposição radioativa (Sangsuwan *et al.*, 2022; Trinca; Navascués, 2025).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Padronizar e implementar metodologias para o uso de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental no Laboratório de Radioecologia e Controle Ambiental (LARCA), do Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco visando sua aplicação em estudos futuros nas áreas de radioecologia, citogenética e monitoramento ambiental.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar o meio de cultura utilizado para manutenção das larvas, assegurando condições adequadas de crescimento e desenvolvimento.
- Padronizar o procedimento de oviposição e obtenção de larvas de terceiro instar (L3) para garantir glândulas salivares bem desenvolvidas e cromossomos politênicos de qualidade.
- Padronizar a técnica de obtenção dos cromossomos politênicos, desde a dissecação das larvas até a preparação das lâminas para análise microscópica.
- Analisar a qualidade dos padrões de bandas nos cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*.
- Verificar a reprodutibilidade do experimento, assegurando consistência nos resultados obtidos em diferentes repetições.

4 METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Laboratório de Radioecologia e Controle Ambiental (LARCA), vinculado ao Departamento de Energia Nuclear (DEN) do Centro de Tecnologia e Geociências (CTG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), utilizando exemplares de linhagem selvagem de *Drosophila melanogaster*.

4.1 MEIO DE CULTIVO DA *DROSOPHILA MELANOGASTER*

A criação de *Drosophila melanogaster* foi conduzida em meio de cultivo padrão, preparado a partir de 200 g de banana madura homogeneizada, utilizada como substrato base. A essa matriz foram adicionados 40 g de açúcar cristal, 10 g de fermento biológico, 75 g de farinha de milho, 25 g de farinha de aveia e 15 g de farinha de centeio. Os componentes foram misturados a 500 mL de água filtrada e submetidos à cocção por aproximadamente 15 minutos, visando à completa homogeneização do meio. Após o resfriamento à temperatura ambiente, foram incorporados 1,5 g de Nipagin (DINÂMICA), previamente solubilizado em 15 mL de álcool etílico absoluto (EMSURE), bem como 3 mL de ácido ortofosfórico (NEON) e 3 mL de ácido propiônico (NEON), os quais atuaram como agentes conservantes e inibidores de contaminação microbológica.

Após o preparo, o meio de cultivo foi distribuído em potes de vidro cilíndricos com capacidade total de 200 mL. Em seguida, foi inserido em cada recipiente um papel absorvente do tipo guardanapo, moldado em formato de cone, o qual atuou como reservatório de água. Adicionalmente, foi realizada a aplicação diária de fermento biológico na superfície do meio, com o objetivo de fornecer uma fonte contínua de microrganismos, especialmente leveduras, que constituem a principal base alimentar das larvas de *Drosophila melanogaster* (Ashburner; Roote, 2007). O meio de cultivo foi então mantido em condições controladas de temperatura (23 °C), sob uma bandeja com água garantindo um ambiente adequado para o desenvolvimento e a manutenção das populações de *Drosophila melanogaster*.

Figura 12 – Meio de cultivo pronto



Fonte: O autor, 2026.

4.2 PADRONIZAÇÃO DO TEMPO DE OVIPOSIÇÃO

O procedimento de oviposição foi padronizado mediante a exposição dos adultos ao meio de postura por um período de 24 horas. Essa limitação temporal foi adotada com o objetivo de controlar a densidade populacional das culturas, evitando a deposição excessiva de ovos em um mesmo recipiente e minimizando efeitos decorrentes da alta densidade larval, tais como competição intraespecífica por alimento e espaço, além de alterações nas condições do substrato de criação, fatores capazes de interferir no desenvolvimento dos indivíduos (Kuhn, 2020). Inicialmente, os adultos foram submetidos à anestesia por exposição ao éter etílico para imobilização temporária e posterior triagem. A distinção sexual foi realizada sob Estereomicroscópio Binocular LM360BZ Lumen® com base nas características morfológicas associadas ao dimorfismo sexual da espécie. Após a separação dos sexos, foram constituídos grupos contendo cinco casais por frasco de criação, proporção adotada para garantir quantidade suficiente de ovos sem promover elevada

densidade de adultos, condição que poderia comprometer o comportamento reprodutivo e a eficiência da oviposição.

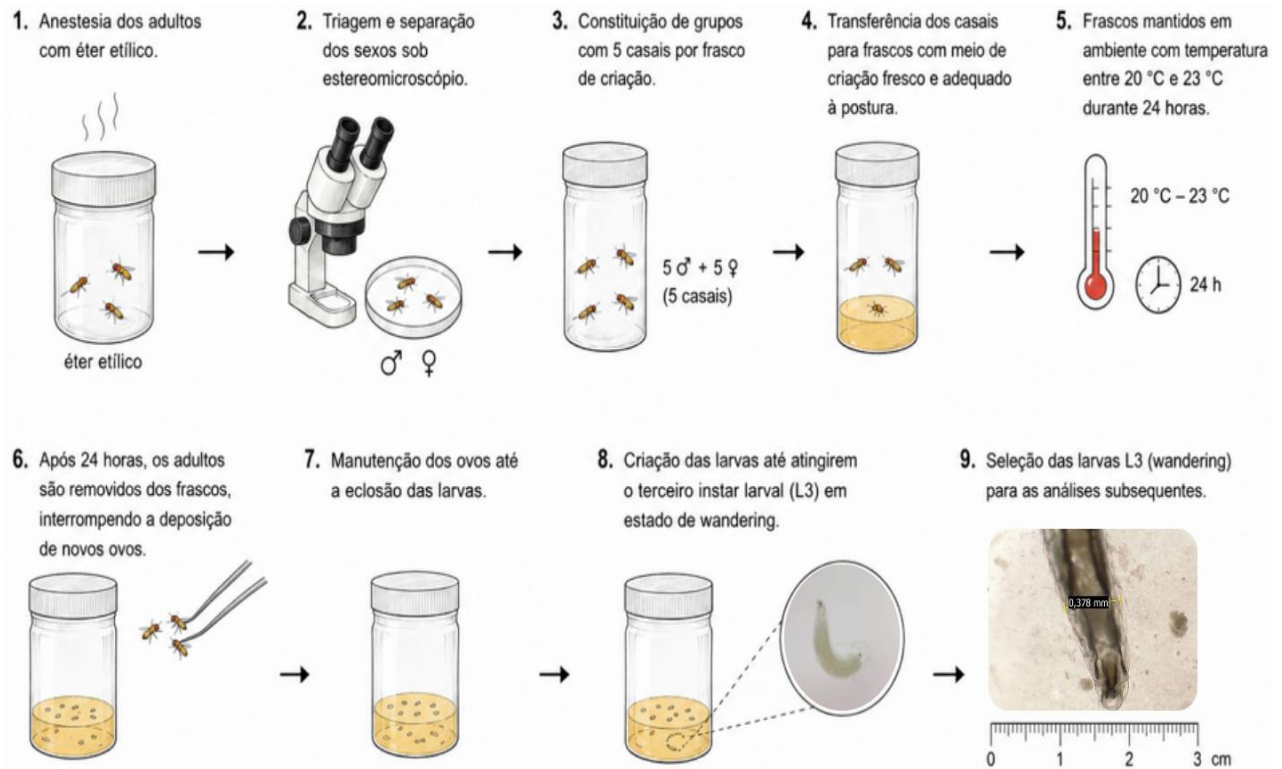
Os casais foram transferidos para frascos contendo meio de criação fresco e adequado à postura, visando fornecer condições nutricionais apropriadas e um substrato favorável à deposição dos ovos. Durante todo o período de oviposição, os recipientes permaneceram acondicionados em ambiente com temperatura entre 20 °C e 23 °C, faixa correspondente às condições rotineiramente empregadas na manutenção das colônias em laboratório. Após 24 horas, os adultos foram removidos dos frascos, interrompendo a deposição de novos ovos e preservando a densidade populacional previamente estabelecida.

Com o objetivo de avaliar a influência da padronização da oviposição sobre a obtenção das larvas utilizadas no estudo, os indivíduos provenientes desse procedimento foram comparados àqueles oriundos de uma cultura controle mantida sob as condições convencionais de criação do laboratório. Nessa cultura, não foi estabelecida restrição quanto ao período de oviposição, tampouco quanto ao número de indivíduos adultos presentes nos recipientes de criação, permitindo-se a deposição contínua de ovos e o desenvolvimento dos organismos em condições não controladas de densidade populacional. A comparação entre ambas as condições experimentais possibilitou avaliar os efeitos da padronização proposta sobre as características das larvas obtidas para as análises subsequentes. Após a eclosão, as larvas foram mantidas até atingirem estágio L3 em estado de *wandering*. Foram selecionadas exclusivamente larvas nesse estágio em razão do maior desenvolvimento das GS, condição que favorece a obtenção de cromossomos politênicos de melhor qualidade.

As análises morfométricas foram realizadas em microscópio óptico equipado com câmera calibrada modelo ICC50 E®, utilizando objetiva de 10×. A escolha dessa objetiva deveu-se ao fato de corresponder ao menor aumento disponível para o modelo de microscópio empregado, permitindo a visualização das larvas e a obtenção das mensurações morfológicas. Foram avaliados 120 indivíduos, sendo 60 provenientes da cultura padronizada e 60 provenientes da cultura controle. Para cada espécime foram obtidas medidas morfológicas, posteriormente utilizadas na comparação entre as duas condições experimentais. A partir dos dados obtidos, foram

calculadas as médias de mensuração para cada grupo, permitindo verificar possíveis diferenças morfométricas associadas à padronização da oviposição.

Figura 13 – Procedimento de oviposição e análise morfométrica.



Fonte: O autor, 2026.

4.3 DISSECAÇÃO DAS LARVAS

Inicialmente foi realizado o preparo da solução adaptada de Santos (1989) tipo ringer inseto, que foi realizado a partir da pesagem separada dos sais em balança analítica, sendo utilizados 7,5 g de cloreto de sódio (QUÍMICA MODERNA), 0,35 g de cloreto de potássio (QUÍMICA MODERNA) e 0,21 g de cloreto de cálcio (DINÂMICA). Os sais foram transferidos para um béquer, ao qual foram adicionados água destilada até o volume final de 1000 mL. A mistura foi homogeneizada com auxílio de um bastão de vidro até completa dissolução, obtendo-se assim a solução utilizada para dissecação das larvas que pode ser refrigerada e utilizada por até 2 meses.

Para a obtenção das GS, uma gota da solução de ringer foi colocada sobre um vidro de relógio limpo ou placa de petri, onde foi adicionada uma larva L3 de *Drosophila melanogaster*. A dissecação foi realizada sob Estereomicroscópio

Binocular LM360BZ Lumen® em aumento de 4x, utilizando pinças de ponta fina (modelo Sigma T5790) e agulhas. Inicialmente, foi localizado o extremo anterior da larva, identificando os ganchos bucais de coloração negra. Uma pinça foi posicionada entre o terceiro e quarto segmento da larva para fixação, enquanto a outra foi colocada atrás dos ganchos bucais. O movimento lento e em direções opostas permitiu o estiramento da larva, fazendo com que as GS permanecessem aderidas à região mandibular, geralmente acompanhadas por um corpo graxo longo e delgado. Após a extração, todos os demais órgãos e fragmentos de cutícula foram cuidadosamente removidos, deixando apenas as GS sobre a lâmina, que posteriormente foram utilizadas para a análise dos cromossomos politênicos.

Figura 14 – Esquema do passo a passo de dissecação



Fonte: O autor, 2026.

4.4 PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS DE CROMOSSOMO POLITÊNICO

As lâminas e lamínulas foram preparadas inicialmente por meio de lavagem cuidadosa com sabão neutro, com o objetivo de remover resíduos e promover a

desengorduração. Em seguida, foram enxaguadas em água corrente para a eliminação de qualquer resíduo de sabão e, posteriormente, imersas em álcool 70% por, no mínimo, 30 minutos, visando à remoção de contaminantes orgânicos. Após esse período, foram retiradas com auxílio de pinça limpa e secas com papel absorvente.

Para a fixação celular, seguindo o protocolo adaptado de Santos (1989), foi preparada uma solução álcool-acética, obtida pela adição de álcool etílico absoluto (Química Moderna) e ácido acético glacial (Química Moderna) na proporção de 3:1 em um béquer de 100 mL, seguida de homogeneização com bastão de vidro. Também foi preparada uma solução de ácido acético a 45%, composta por 5,5 mL de água destilada e 4,5 mL de ácido acético glacial, devidamente homogeneizada. Ambas as soluções fixadoras foram preparadas diariamente, imediatamente antes de sua utilização. Esse procedimento foi adotado devido à instabilidade dessas misturas após períodos prolongados de armazenamento, uma vez que alterações em sua composição química decorrentes da volatilização dos componentes podem comprometer a eficiência da fixação celular.

As GS obtidas na dissecação foram transferidas para uma lâmina, na qual foi adicionada uma gota da solução álcool-acética, permanecendo por 2 minutos para fixação celular. Em seguida, foi aplicada uma gota da solução de ácido acético a 45%, aguardando-se 5 minutos. Essa etapa teve como finalidade atuar sobre as membranas celulares e nucleares das células das GS, favorecendo a dispersão do conteúdo celular e o acesso do corante ao material nuclear/cromossômico durante a etapa de coloração. O excesso foi retirado com papel filtro e, posteriormente, foi adicionada uma gota do corante orceína acética a 2% (Êxodo Científica), permanecendo por 3 minutos para permitir a coloração adequada dos cromossomos.

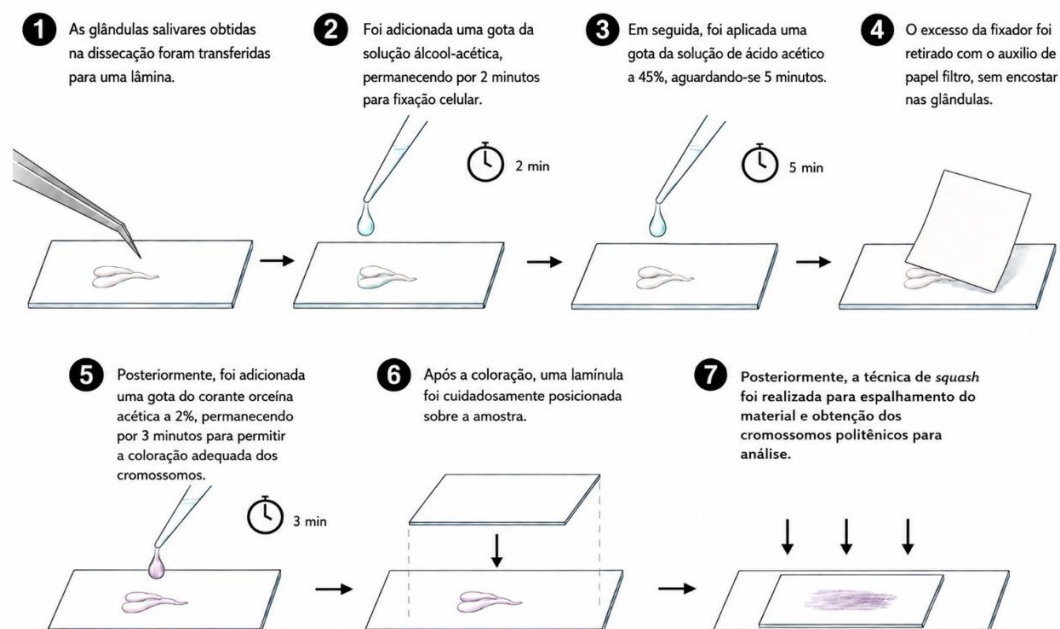
Após a coloração, a lamínula foi cuidadosamente posicionada sobre a amostra, recobrando a região da lâmina onde se encontravam as GS. O posicionamento foi realizado de forma gradual e controlada, a fim de manter o material corretamente disposto entre a lâmina e a lamínula.

Em seguida, foi realizada a técnica de *squash*, por meio da aplicação de

pressão vertical com o dedo polegar sobre a região central da lamínula, correspondente ao local de posicionamento das GS. Para isso, a lâmina foi recoberta com papel filtro, sobre o qual a pressão foi aplicada de forma firme, direta e controlada. A pressão foi mantida por aproximadamente 2 a 5 segundos, com o objetivo de promover o espalhamento do material e favorecer a exposição dos cromossomos politênicos.

Durante o procedimento, evitou-se a realização de movimentos laterais ou de arraste, sendo empregada apenas pressão direta sobre a amostra. A intensidade da força aplicada foi controlada durante a etapa de *squash*, evitando-se tanto a aplicação de força insuficiente, que poderia dificultar a dissociação do tecido glandular e o espalhamento dos cromossomos, quanto a aplicação de força excessiva, que poderia comprometer a integridade do material biológico, da lamínula ou da própria lâmina. Em seguida, as bordas da lamínula foram seladas com esmalte vermelho para evitar deslocamento e preservar a amostra.

Figura 15 – Processo de fixação, coloração e montagem das lâminas de cromossomo politênico.



Fonte: Ilustração elaborada pelo autor com auxílio de inteligência artificial generativa (OpenAI, ChatGPT modelo GPT-5.5) exclusivamente para a produção gráfica, sendo o conteúdo científico revisado e validado pelo autor, 2026.

A preparação foi observada em microscópio óptico da marca Leica Microsystems®, modelo DM500®, equipado com câmera acoplada de alto desempenho modelo ICC50 E®, utilizando-se objetivas de 40× e 100×, esta última com imersão em óleo, para identificação e análise dos cromossomos politênicos.

Nas lâminas que apresentarem boa qualidade de preparação, pode ser realizado o processo para torná-las permanentes. Esse procedimento consiste em mergulhar as lâminas em nitrogênio líquido, retirar cuidadosamente a lamínula com auxílio de bisturi, submergir a preparação em álcool 96% por 10 minutos e, em seguida, aplicar resina sintética (Entellan®) e uma nova lamínula posicionada sobre a amostra, garantindo sua preservação para análises futuras.

4.4.1 Testes de Padronização das Preparações Citogenéticas

Com o objetivo de definir as condições mais adequadas para a preparação de lâminas de cromossomos politênicos, foram realizados quatro testes metodológicos. Os testes foram conduzidos a partir do protocolo adaptado de Santos (1989), com ajustes realizados em laboratório durante a etapa de padronização, especialmente nas fases de fixação. Para avaliar a influência do tempo de permanência no ácido acético a 45% sobre a preparação das lâminas de cromossomos politênicos, foram realizados quatro testes metodológicos, correspondentes aos tempos de 2, 5, 10 e 15 minutos. A escolha desses intervalos teve como finalidade verificar, de forma progressiva, o efeito do aumento do tempo de exposição ao ácido acético sobre o material glandular e cromossômico, considerando sua função no preparo das células das GS para a coloração e para a posterior técnica de *squash*.

Cada teste foi executado sob uma condição metodológica previamente estabelecida, mantendo-se constantes as demais etapas do preparo, a fim de reduzir variações externas e permitir a comparação entre as lâminas obtidas. As GS utilizadas foram processadas conforme o procedimento descrito anteriormente, incluindo transferência para lâmina, aplicação das soluções fixadoras, coloração com orceína acética a 2%, posicionamento da lamínula e realização do *squash*.

Após a preparação, as lâminas foram observadas em microscópio óptico e

avaliadas segundo critérios previamente definidos: visualização cromossômica, preservação estrutural, espalhamento pós-squash e avaliação geral da preparação. A visualização cromossômica foi analisada considerando nitidez, contraste e possibilidade de identificação dos cromossomos politênicos. A preservação estrutural foi avaliada com base na integridade do cromossômico após o preparo. O espalhamento pós-squash considerou a distribuição do material sobre a lâmina e a presença de sobreposições que pudessem dificultar a análise. A avaliação geral integrou os critérios anteriores, permitindo verificar a adequação de cada condição testada para a obtenção de preparações citogenéticas satisfatórias.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva, utilizando-se a frequência absoluta e a frequência relativa das preparações citogenéticas classificadas como adequadas para análise. Para a síntese dos resultados, foi calculada a média aritmética simples dos percentuais de lâminas satisfatórias em cada repetição experimental.

Adicionalmente, foi realizada a mensuração morfológica das larvas, utilizando-se os valores obtidos para o cálculo das médias e dos desvios-padrão do tamanho larval, com a finalidade de avaliar a homogeneidade das amostras e possíveis variações no desenvolvimento entre os grupos estudados. Para a comparação entre os grupos Controle e Teste, foi empregado o teste t de Student para amostras independentes, considerando-se cada amostra como uma unidade experimental correspondente entre os grupos. A significância estatística foi estabelecida ao nível de 5% ($p < 0,05$).

A reprodutibilidade do protocolo foi avaliada com base na quantidade de repetições experimentais que resultaram em preparações citogenéticas satisfatórias, permitindo verificar a estabilidade do método empregado. Dessa forma, a abordagem estatística adotada possibilitou avaliar a consistência metodológica do protocolo, assegurando maior confiabilidade aos resultados obtidos e fundamentando sua aplicação em estudos futuros de radioecologia e genotoxicidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O meio de cultura empregado apresentou desempenho satisfatório durante todo o período experimental, fornecendo condições adequadas para o desenvolvimento de *Drosophila melanogaster*. Não foram observados sinais de contaminação microbiológica, ressecamento excessivo ou degradação prematura do substrato que pudessem comprometer a sobrevivência ou o desenvolvimento dos organismos. Os adultos mantiveram atividade reprodutiva normal, com deposição de ovos em todas as culturas estabelecidas, além da eclosão das larvas e progressão do desenvolvimento até o estágio larval L3, selecionado para as análises citogenéticas e morfométricas. Esses resultados indicam que o meio utilizado ofereceu suporte nutricional e condições físico-químicas adequadas para a manutenção do ciclo biológico da espécie.

A mensuração morfológica das larvas L3 evidenciou diferença entre o grupo Controle, sem restrição no tempo de oviposição e no número de indivíduos, e o grupo Teste, submetido à padronização do tempo de oviposição e à restrição do número de indivíduos. A análise comparativa das medidas larvais demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos pelo teste t de Student para amostras independentes. O grupo Teste apresentou largura média corporal superior à do Controle, com diferença média de aproximadamente 0,141 mm, correspondente a um aumento de cerca de 38,0%. O resultado estatístico indicou $p < 0,0001$, confirmando que a diferença observada não ocorreu ao acaso. Dessa forma, rejeita-se a hipótese nula de ausência de diferença entre Controle e Teste, confirmando que houve aumento significativo das medidas larvais no grupo Teste.

Tabela 1 - Comparação das medidas morfológicas larvais entre os grupos Controle e Teste

Medida	Valor
n	120
Média e DP Controle	0,371 mm $\pm$ 0,035 mm
Média e DP Teste	0,512 mm $\pm$ 0,044 mm
Diferença média, Teste – Controle	0,141 mm
Desvio-padrão das diferenças	0,053 mm
t calculado	-19.391
Graus de liberdade	112.8
p-valor, bicaudal	p < 0,0001
IC95% da diferença média	0,127 a 0,155 mm

Fonte: Elaborado no software minitab, 2026.

A maior largura média observada no grupo Teste indica que a padronização experimental favoreceu o desenvolvimento larval, possivelmente em razão da redução da competição intraespecífica por alimento e espaço. Culturas excessivamente densas tendem a produzir larvas menores e fisiologicamente mais frágeis, o que pode comprometer tanto a integridade das GS quanto a qualidade das preparações cromossômicas. Esses achados estão de acordo com Kuhn (2020) e corroboram com Edgar *et al.*, (2014), que relacionam o crescimento larval em *Drosophila melanogaster* à atividade metabólica celular e ao grau de poliploidia das células glandulares. Assim, condições adequadas de cultivo favorecem não apenas o desenvolvimento somático das larvas, mas também a obtenção de glândulas salivares mais desenvolvidas e adequadas à análise dos cromossomos politênicos.

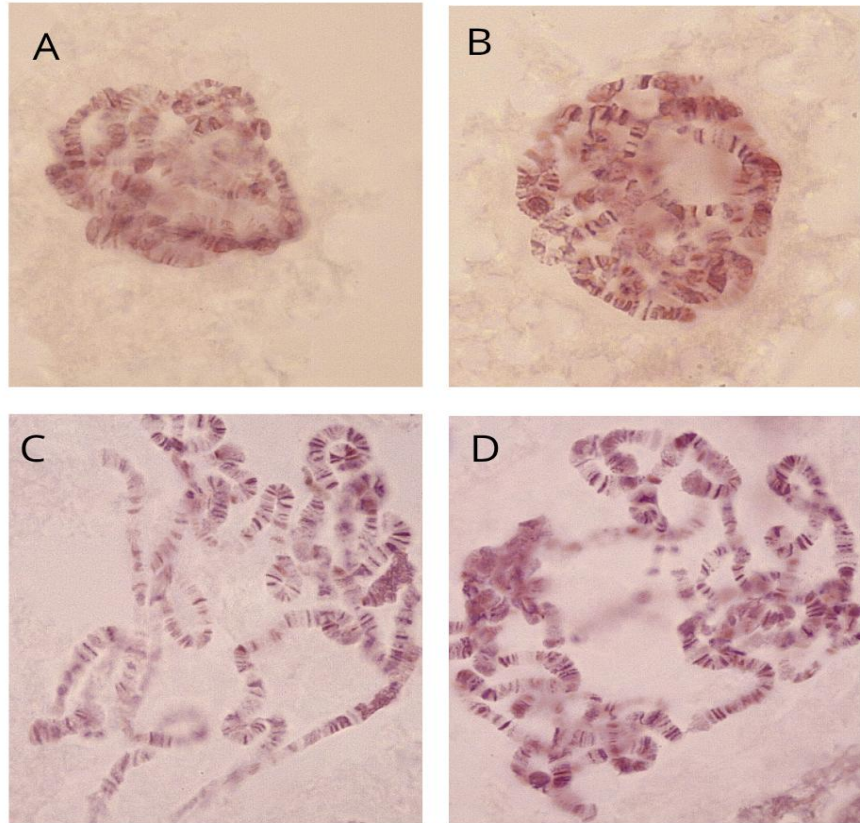
As dissecações das larvas L3 foram realizadas com êxito, permitindo a obtenção íntegra das GS. As estruturas apresentaram morfologia preservada e adequada para as etapas subsequentes de preparação e análise citogenética. A utilização da solução adaptada tipo ringer e a execução cuidadosa da técnica de

dissecação contribuíram para a manutenção da integridade dos tecidos durante o procedimento.

Nos testes iniciais para obtenção dos cromossomos politênicos, observou-se ausência de espalhamento adequado do material cromossômico após a técnica de *squash*. Durante a padronização metodológica, verificou-se que a solução salina utilizada inicialmente apresentava concentração de sais superior à recomendada por Santos (1989) para preparações citogenéticas de GS de *Drosophila melanogaster*. Essa condição foi associada à formação de cristais e precipitados durante o processamento citológico, dificultando a dispersão homogênea dos cromossomos e comprometendo a visualização das bandas politênicas.

Os primeiros testes, portanto, não resultaram em cromossomos politênicos analisáveis. Após a identificação da salinização excessiva como principal fator limitante, uma nova solução foi preparada com redução da concentração salina, visando manter o equilíbrio osmótico adequado durante a dissecação e a fixação das glândulas salivares. Após esse ajuste, observou-se melhora significativa na preservação estrutural das amostras e na qualidade das preparações cromossômicas como mostra a figura 16. Esse resultado está de acordo com Johansen et al. (2009), que destacam que pequenas alterações nas condições físico-químicas das soluções utilizadas podem interferir diretamente na integridade estrutural e no espalhamento cromossômico

Figura 16 - Comparação entre preparações citogenéticas de cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster*.



Legenda: A figura apresenta uma comparação entre cromossomos politênicos obtidos nos primeiros testes em A e B e os confeccionados após o ajuste da solução salina em C e D.

Fonte: O autor, 2026.

Além da análise morfométrica e do ajuste da solução salina, foi realizada a avaliação comparativa da qualidade das preparações citogenéticas de cromossomos politênicos submetidas a diferentes tempos de exposição ao ácido acético 45% (fixador 2). Em todos os procedimentos, o tempo de exposição ao fixador 1 (álcool-acético) foi mantido em 2 minutos, e o tempo de coloração foi mantido constante em 3 minutos conforme proposto por Santos (1989). Foram analisadas 40 lâminas distribuídas entre os 4 diferentes testes experimentais igualmente.

Tabela 2 - Avaliação da influência do tempo de exposição ao ácido acético 45% (fixador 2) na qualidade das preparações citogenéticas de *Drosophila melanogaster*.

Critério analisado	Teste 1 (2 min)	Teste 2 (5 min)	Teste 3 (10 min)	Teste 4 (15 min)
Visualização cromossômica	Alta (excelente nitidez e contraste)	Alta (boa nitidez e contraste)	Moderada (boa nitidez com início de perda de definição)	Baixa (redução perceptível do contraste)
Preservação estrutural	Excelente (estruturas íntegras e bem delimitadas)	Boa (estruturas preservadas)	Regular (alterações estruturais leves)	Moderada (degeneração parcial das estruturas)
Espalhamento Pós-squash	Ótimo (dispersão homogênea)	Bom (leve tendência à aglomeração)	Prejudicado (aglomerados e discreta sobreposição)	Ruim (sobreposição moderada e baixa dispersão)
Avaliação geral	Melhor desempenho	Bom desempenho	Desempenho insatisfatório	Desempenho insatisfatório

Fonte: O autor, 2026.

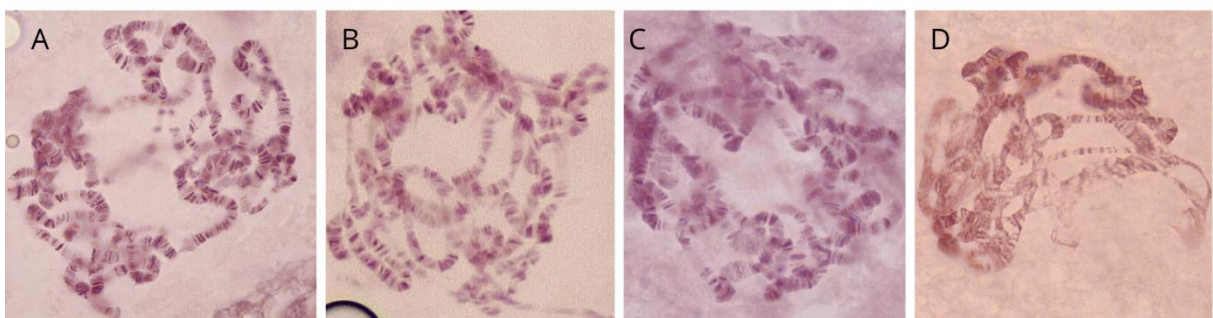
Os parâmetros avaliados incluíram visualização cromossômica, preservação estrutural das GS e qualidade do espalhamento cromossômico após a técnica de *squash*. Observou-se que o tempo de exposição de 2 minutos ao ácido acético 45% apresentaram o melhor desempenho geral entre os grupos experimentais. Nesse tratamento, a visualização cromossômica foi classificada como alta, com excelente nitidez e contraste, permitindo identificação mais precisa das bandas cromossômicas. A preservação estrutural das GS também foi considerada excelente, demonstrando manutenção adequada da integridade celular. O espalhamento pós-squash apresentou dispersão homogênea dos cromossomos, favorecendo a observação citogenética.

No teste com 5 minutos de exposição, os resultados permaneceram satisfatórios, embora já fosse perceptível leve tendência à aglomeração

cromossômica. A preservação estrutural foi classificada como boa e a visualização manteve nitidez adequada, indicando que esse tempo ainda pode ser considerado eficiente para obtenção de preparações utilizáveis.

Entretanto, os testes com 10 e 15 minutos evidenciaram redução progressiva da qualidade citológica. No tempo de 10 minutos, observou-se início de perda de definição cromossômica, presença de aglomerados e discreta sobreposição estrutural. Já no tratamento de 15 minutos ocorreram alterações mais severas, incluindo degeneração parcial das estruturas celulares, diminuição do contraste cromossômico e intensa sobreposição após o *squash*, comprometendo significativamente a análise microscópica. A figura 17 demonstra exemplares dos cromossomos politênicos avaliados no teste de permanência do fixador 2.

Figura 17 - Cromossomos politênicos submetidos ao teste de exposição no ácido acético 45%.



Legenda: A figura mostra exemplares dos testes de tempo no fixador 2, onde a letra “A” corresponde ao Teste 1, “B” Teste 2, “C” teste 3 e “D” Teste 4 respectivamente.

Fonte: O autor, 2026.

Esses resultados demonstram que o aumento excessivo do tempo de exposição ao ácido acético 45% prejudicam a integridade das células das GS e a organização dos cromossomos politênicos. Embora o ácido acético atue na desnaturação proteica e na permeabilização celular, exposições prolongadas podem intensificar a degradação estrutural, reduzindo a qualidade morfológica das preparações. Esses achados estão de acordo com Hofmann e Korge (1981), que descrevem a elevada sensibilidade dos cromossomos politênicos às condições de

fixação química, especialmente em relação à ação de agentes ácidos. Dessa forma, a preservação da organização cromatínica depende diretamente do controle rigoroso das etapas de fixação.

A análise das repetições experimentais revelou percentual global de sucesso de 67,5%, considerando o total de lâminas classificadas como adequadas para análise. Entre as quatro repetições realizadas, a terceira apresentou melhor desempenho, com 75% de sucesso, enquanto a primeira apresentou menor eficiência, com 60%.

Tabela 3 – Reprodutibilidade entre repetições experimentais

Repetição Experimental	Nº de lâminas	Adequadas	Inadequadas	Sucesso (%)
Repetição 1	20	12	8	60
Repetição 2	20	13	7	65
Repetição 3	20	15	5	75
Repetição 4	20	14	6	70
Total	80	54	26	67,5

Fonte: O autor, 2026.

Embora tenha sido observada variação entre as repetições, os resultados indicam consistência metodológica satisfatória para aplicação laboratorial. A variabilidade residual pode estar associada a fatores técnicos inerentes à técnica de *squash*, como a pressão aplicada à lâmina, o tempo de manipulação do material biológico e a uniformidade da fixação celular. Ainda assim, o percentual de sucesso obtido demonstra que o protocolo pode ser reproduzido de forma confiável quando as etapas experimentais são rigorosamente controladas.

De modo geral, a padronização das condições de cultivo, oviposição, dissecação, composição da solução salina e tempo de fixação foi determinante para a obtenção de preparações citogenéticas de melhor qualidade em *Drosophila melanogaster*. A uniformização do desenvolvimento larval favoreceu a obtenção de larvas L3 mais homogêneas e com GS mais desenvolvidas, enquanto o ajuste da

solução salina e a redução do tempo de exposição ao ácido acético 45% contribuíram para a preservação estrutural e para o espalhamento adequado dos cromossomos politênicos.

Do ponto de vista aplicado, a metodologia padronizada apresenta potencial para utilização em estudos de radioecologia e monitoramento ambiental. Os cromossomos politênicos de *Drosophila melanogaster* constituem estruturas sensíveis à detecção de alterações cromossômicas induzidas por agentes físicos e químicos, permitindo análises de genotoxicidade em ambientes submetidos à contaminação radioativa ou à exposição crônica a radionuclídeos. Nesse contexto, a metodologia desenvolvida poderá ser empregada em investigações relacionadas à contaminação ambiental decorrente de atividades mineradoras, exploração de urânio, processamento de minerais radioativos, deposição de rejeitos industriais e monitoramento de áreas impactadas por radionuclídeos naturais tecnologicamente intensificados.

Além disso, a elevada resolução estrutural dos cromossomos politênicos possibilita a identificação de alterações morfológicas associadas à instabilidade cromossômica e a distúrbios na organização da cromatina. Agentes genotóxicos, incluindo a RI, podem induzir danos ao DNA e desencadear respostas celulares relacionadas ao reparo genômico, remodelamento da cromatina e regulação do ciclo celular, conforme descrito por Jackson e Bartek (2009). Embora muitos desses processos ocorram em nível molecular, alterações em regiões cromossômicas específicas podem ser investigadas por meio da análise citológica dos cromossomos politênicos.

Portanto, os resultados obtidos consolidam a metodologia padronizada como uma ferramenta experimental robusta, reprodutível e aplicável a diferentes áreas da citogenética ambiental e da radioecologia. A implementação desse protocolo amplia as perspectivas de utilização de *Drosophila melanogaster* em estudos de mutagênese, genotoxicidade e monitoramento ambiental de áreas potencialmente impactadas por RI, contribuindo para o desenvolvimento de abordagens biológicas voltadas à avaliação de risco ambiental e à proteção radiológica de ecossistemas.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo padronizou e implementou metodologias para o uso de *Drosophila melanogaster* como modelo experimental no LARCA/DEN/UFPE, estabelecendo uma base metodológica reprodutível para aplicações em radioecologia, citogenética e monitoramento ambiental.

A padronização do meio de cultura e da oviposição favoreceu a obtenção de larvas L3 mais homogêneas e com melhor desenvolvimento das GS, refletindo na qualidade das preparações cromossômicas. Os dados morfométricos demonstraram aumento significativo da largura média larval no grupo padronizado, indicando melhores condições de desenvolvimento e menor competição intraespecífica.

Na obtenção dos cromossomos politênicos, observou-se que a composição da solução salina e o tempo de exposição ao ácido acético 45% influenciaram diretamente a qualidade das preparações citogenéticas. A menor concentração salina favoreceu o espalhamento cromossômico, enquanto a exposição por 2 minutos ao ácido acético apresentou melhor visualização, integridade e dispersão homogênea dos cromossomos, permitindo padrões de bandas adequados à análise microscópica.

A reprodutibilidade experimental apresentou 67,5% de sucesso, demonstrando consistência entre as repetições e viabilidade do protocolo para aplicação laboratorial contínua. Assim, conclui-se que as metodologias estabelecidas constituem uma ferramenta robusta e reprodutível, fortalecendo o uso de *Drosophila melanogaster* em pesquisas futuras sobre radioecologia, genotoxicidade e monitoramento dos efeitos biológicos da RI.

7 REFERÊNCIAS

- ABRAHAMSON, S.; FRIEDMAN, L. **X-ray induced mutations in spermatogonial cells of *Drosophila melanogaster* and their dose-frequency relationship.** Genetics, 1964.
- ADAMS, Mark D. *et al.*, **The genome sequence of *Drosophila melanogaster*.** Science, v. 287, n. 5461, p. 2185-2195, 2000.
- AGUIAR, C. A. **Hereditariedade e Evolução – Guia de Trabalhos Práticos.** Departamento de Biologia, Universidade do Minho, 2015. Disponível em: <<https://repositorium.uminho.pt/server/api/core/bitstreams/17c4cb0e-b289-410d-9596-7efe7c2211ac/content>>. Acesso em: 17 mar. 2026.
- ALLEN, G. E. Thomas Hunt Morgan: Materialism and experimentalism in the development of modern genetics. **Trends in Genetics**, v. 1, p. 151-154, 1985.
- ALEXAKHIN, R. M.; KORNEEV, N. A. **Agricultural radioecology.** Moscow: Kolos, 1991.
- ALEXANDROV, I. D. *et al.*, Radiation biology of structurally different *Drosophila melanogaster* genes: report 9. General regularities and locus-specific features of radiomutability of sex-linked and autosomal genes. **Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences**, v. 50, p. 3269-3277, 2023.
- ANTOSH, Michael; FOX, David; HASSELBACHER, Thomas; LANOU, Robert; NERETTI, Nicola; COOPER, Leon N. *Drosophila melanogaster* show a threshold effect in response to radiation. **Dose-Response**, v. 12, n. 3, p. 455–470, 2014.
- ASHBURNER, M.; GOLIC, K. G.; HAWLEY, R. S. ***Drosophila: a laboratory handbook*.** 2. ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005.
- BAES, C. F.; SHARP, R. D. **A proposal for estimation of soil-to-plant transfer coefficients.** Journal of Environmental Quality, 1984.
- Barescut J, Lariviere D, Stocki T, Tamponnet C. **Radioecology and Society: A mutual need. Radioprotection.** 2011;46(6):S745-S750. Disponível em:<[doi:10.1051/radiopro/20116875s](https://doi.org/10.1051/radiopro/20116875s)>. Acesso em 9 de maio 2026.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecology: from individuals to ecosystems.** 4. ed. Oxford: Blackwell, 2006.
- BELLI, M.; TABOCCHINI, M. A. Ionizing radiation-induced epigenetic modifications and their relevance to radiation protection. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 17, art. 5993, 2020.
- BRODERICK, N. A.; LEMAITRE, B. **Gut-associated microbes of *Drosophila melanogaster*.** Gut Microbes, v. 3, n. 4, p. 307-321, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.4161/gmic>>.19896. Acesso em: 11 maio 2026.

CLARK, A. M. **Genetic effects of X-rays in relation to dose-rate in *Drosophila***. Nature, v. 177, p. 787, 1956.

Cotterill S, Yamaguchi M. Role of *Drosophila* in Human Disease Research 3.0. **International Journal of Molecular Sciences**. 2024; 25(1):292.

Demakov, S.A., Yu Vatolina, T., Babenko, V.N. et al. Protein composition of interband regions in polytene and cell line chromosomes of *Drosophila melanogaster*. **BMC Genomics**, v. 12, p. 566, 2011.

EDGAR, B. A.; ORR-WEAVER, T. L. **Endoreplication cell cycles: more for less**. Cell, v. 105, n. 3, p. 297–306, 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00334-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00334-8)>. Acesso em: 02 maio 2026.

EDGAR, B.; ZIELKE, N.; GUTIERREZ, C. Endocycles: a recurrent evolutionary innovation for post-mitotic cell growth. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, p. 197–210, 2014.

EDINGTON, C. W. The induction of recessive lethals in *Drosophila melanogaster* by radiation of different ion density. **Genetics**, 1956.

EPA-UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Radiation Protection Guidance to Federal Agencies**. 2012. Disponível em: <<https://www.epa.gov>>. acesso em 9 de maio 2026.

FLYBASE CONSORTIUM. **FlyBase: a database of *Drosophila* genes and genomes**. Nucleic Acids Research, v. 26, p. 85–88, 1998. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC147222/>>. Acesso em: 3 maio 2026.

FÖRSTNER, U.; WITTMANN, G. T. W. **Metal Pollution in the Aquatic Environment**. Springer, 1983

FRAWLEY, L. E.; ORR-WEAVER, T. L. **Polyploidy**. Current Biology, v. 25, n. 9, p. R353–R358, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.03.037>>. Acesso em: 02 maio 2026.

FRIEDLANDER, G.; KENNEDY, J. W.; MACIAS, E. S.; MILLER, J. M. **Nuclear and Radiochemistry**. 3. ed. New York: Wiley, 1981.

GELLING, C. **Hermann Muller and the X-ray mutagenesis experiments**. Nature Reviews Genetics, v. 17, n. 4, p. 215, 2016. Disponível em: <[10.1534/genetics.115.186171](https://doi.org/10.1534/genetics.115.186171)>. acesso em: 2 de maio 2026.

Geras'kin, S. A., Alexakhin, R. M., & Oudalova, A. A. (2016). **Effects of Ionizing Radiation on Populations and Ecosystems**. In Genetics, Evolution and Radiation (pp. 237–250). Springer International Publishing. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-48838-7_20>. Acesso em: 9 de maio 2026.

GHAZOUL, J. **Escaping the Fly Room**. ETH Zurich, Zürich, 30 abr. 2020. Disponível em: <https://ethz.ch/en/news-and-events/eth-news/news/2020/04/blog-system-perspective-ghazoul.html>. Acesso em: 1 jun. 2026.

HALES, K. G.; KOREY, C. A.; LARRACUENTE, A. M.; ROBERTS, D. M. **Genetics on the fly: a primer on the *Drosophila* model system**. *Genetics*, v. 201, n. 3, p. 815–842, 2015. DOI: 10.1534/genetics.115.183392. Disponível em: <<https://academic.oup.com/genetics/article/201/3/815/5930114>>. Acesso em: 1 maio 2026.

HINTON, T. G.; BRECHIGNAC, F.; SHAW, G. **Radioecology, radiobiology, and radiological protection: frameworks and fractures**. *Journal of Environmental Radioactivity*, v. 100, n. 12, p. 1013–1021, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2009.06.004>>. Acesso em: 10 maio 2026.

HOFMANN, A.; KORGE, G. **Polytene Chromosomes in Mutagenesis**. In: *Advances in Mutagenesis Research*. Springer, v. 4, p. 115–149, 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-77466-9_7>. Acesso em: 15 mar. 2026.

INGLEBY, F. C.; MORROW, E. H. **Sexual dimorphism in the *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) metabolome increases throughout development**. *European Journal of Entomology*, v. 114, p. 249–256, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.14411/eje.2017.030>>. Acesso em: 11 maio 2026.

IVES, P. T. **The mutation rate in *Drosophila* after high doses of gamma radiation**. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 45, n. 2, p. 188–192, 1959. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC222533/>>. Acesso em: 1 maio 2026.

JACKSON, S. P.; BARTEK, J. **The DNA-damage response in human biology and disease**. *Nature*, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature08467>>. Acesso em: 6 de maio 2026.

JOHANSEN, K. M. et al. **Polytene chromosome squash methods for studying transcription and epigenetic chromatin modification in *Drosophila* using antibodies**. *Methods*, v. 48, n. 4, p. 387–397, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2009.02.019>>. Acesso em: 15 maio 2026.

KAFLE, T.; GRUB, M.; SAKAGIANNIS, P.; NAWROT, M. P.; ARGUELLO, J. R. **Evolution of temperature preference behaviour among *Drosophila* larvae**. *iScience*, v. 27, n. 5, p. 112809, 2025. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.isci.2025.112809>>. Acesso em: 11 maio 2026.

KIM, C. S.; SEONG, K. M.; LEE, B. S.; LEE, I. K.; YANG, K. H.; KIM, J. Y.; NAM, S. Y. Chronic low-dose γ -irradiation of *Drosophila melanogaster* larvae induces gene expression changes and enhances locomotive behavior. **Journal of Radiation Research**, Oxford, v. 56, n. 3, p. 475–484, 2015. DOI: 10.1093/jrr/rru128.

KOLESNIKOVA, T. D. Banding pattern of polytene chromosomes as a representation of universal principles of chromatin organization into topological domains. **Biochemistry (Moscow)**, v. 83, n. 4, p. 338–349, 2018.

KUHN, T. M.; LITTLE, S. C.; CAPELSON, M. Preparation of *Drosophila* polytene chromosomes, followed by immunofluorescence analysis of chromatin structure by multi-fluorescence correlations. **Bio-protocol**, v. 10, n. 13, e3673, 2020.

LANDIS, G.; SHEN, J.; TOWER, J. Gene expression changes in response to aging compared to heat stress, oxidative stress and ionizing radiation in *Drosophila melanogaster*. **Aging**, Albany, v. 4, n. 11, p. 768-789, 2012. DOI: 10.18632/aging.100499.

LEE, H. O.; DAVIDSON, J.M.; DURONIO R.J. **Endoreplication: polyploidy with purpose**. Genes & Development, v. 23, n. 21, p. 2461–2477, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/gad.1829209>>. Acesso em: 02 maio 2026.

LEWIS, Edward B.; NÜSSLEIN-VOLHARD, Christiane; WIESCHAUS, Eric F. **A rough guide to Drosophila mating**. 2013. Disponível em: <<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:50439952>>. Acesso em: 3 maio 2026.

LILLY, M. A.; DURONIO, R. J. **New insights into cell cycle control from the Drosophila endocycle**. Oncogene, v. 24, n. 17, p. 2765–2775, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208610>>. Acesso em: 02 maio 2026.

MATARÈSE, B. F. E. et al. **EGO to ECO: tracing the history of radioecology from the 1950's to the present day**. Radiation Research, v. 202, n. 2, p. 273-288, 2024. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39021078>>. Acesso em: 19 mar. 2026.

MORGAN, T. H.; STURTEVANT, A. H.; BRIDGES, C. B.; MULLER, H. J. **The Mechanism of Mendelian Heredity**. New York: Henry Holt, 1923.

MULLER, H. J. **The production of mutations by X-rays**. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 14, n. 9, p. 714 726, 1928.

MULLER, H. J. et al. A nonlinear relation between X-ray dose and lethal mutations in *Drosophila*. **Genetics**, v. 39, p. 741–749, 1954.

NOBEL FOUNDATION. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1933 – Thomas Hunt Morgan. **Nobel Prize Outreach**, 1933. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1933/morgan>>. Acesso em 20 de maio de 2026.

NOBEL FOUNDATION. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1946 – Hermann J. Muller. **Nobel Prize Outreach**, 1946. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1946/muller>>. Acesso em 20 de maio 2026.

O'GRADY, Patrick M. *Drosophila melanogaster*. In: BELL, Cedric (Ed.). **Encyclopedia of Insects**. San Diego: Academic Press, 2009. p. 889-898.

PEREIRA, Maria Gislaine. **Estudo da resistência à radiação ionizante natural e induzida em Drosophila melanogaster residentes de cidades do nordeste brasileiro com alto nível de 222Rn**. Tese (Doutorado em Biologia Animal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

PORRAZZO, A. et al. Low dose rate γ -irradiation protects fruit fly chromosomes from double strand breaks and telomere fusions by reducing the esi-RNA biogenesis factor Loquacious. **Communications Biology**, London, v. 5, art. 905, 2022^a.

PORRAZZO, A. et al. Reduced environmental dose rates are responsible for the increased susceptibility to radiation-induced DNA damage in larval neuroblasts of *Drosophila* grown inside the LNGS underground laboratory. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 23, n. 10, art. 5472, 2022b.

PRESTES, R. M.; VINCENCI, K. L. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental/Bioindicators as environmental impact assessment. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 4, p. 1473-1493, 2019.

REITER, L. T. et al. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. **Genome Research**, v. 11, n. 6, p. 1114–1125, 2001.

RIDDLE, N. C.; ELGIN, S. C. R. The *Drosophila* dot chromosome: where genes flourish amidst repeats. **Genetics**, v. 210, n. 3, p. 757–772, 2018.

SANGSUWAN, T.; MANNERVIK, M.; HAGHDOOST, S. Transgenerational effects of gamma radiation dose and dose rate on *Drosophila* flies irradiated at an early embryonal stage. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, Amsterdam, v. 881, art. 503517, 2022.

SANTANA, J. T. S. **Avaliação dos efeitos biológicos do radônio em *Drosophila melanogaster* em ambiente controlado e com altos níveis de urânio natural**. 2025. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

SANTOS, J. F. **Efeitos Citogenéticos do Selênio em *Drosophila melanogaster***. 1989. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1989.

SCHAEFFER, S. W. et al. **Polytene chromosomal maps of *Drosophila* species**. *Genetics*, v. 179, p. 1601–1655, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1534/genetics.107.086074>. Acesso em: 3 maio 2026.

SHAW, G. **Radioactivity in the Environment**. Elsevier, 2007

SHRESTHA, S.; VANASSE, A.; COOPER, L. N.; ANTOSH, M. P. Gene expression as a dosimeter in irradiated *Drosophila melanogaster*. **Journal of Computational Biology**, New York, v. 24, n. 12, p. 1265-1274, 2017.

SILVA, C. N. **Potencial efeito tóxico-genético em *Drosophila melanogaster* submetida à contaminação ambiental por metais pesados e radônio no Semiárido brasileiro**. 2020. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

SINGH, N. P.; HARBISON, S. T. **Sexual dimorphism in the cell number of the adult *Drosophila* brain**. PLOS ONE, v. 21, n. 2, e0342456, 2026. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0342456>. Acesso em: 11 maio 2026.

SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. **Fundamentos da Genética**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SOUTHERN, D. I.; PELL, P. E.; CRAIG-CAMERON, T. A. **Polytene chromosomes and cytological maps**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 67, p. 304–305, 1973.

SZTEPANACZ, J. L.; HOULE, D. Allometry constrains the evolution of sexual dimorphism in *Drosophila*. **Evolution**, v. 75, n. 5, p. 1117–1131, 2021.

TANAKA, Y. Biological effects of low-dose γ -ray irradiation on chromosomes and DNA of *Drosophila melanogaster*. **Journal of Radiation Research**, Oxford, v. 62, n. 1, p. 1-11, 2021.

TRINCA, T. M.; NAVASCUÉS, J. *Drosophila melanogaster*: an old and future ally to radiobiology. **Journal of Radiation Research**, v. 66, n. 6, p. 579-593, nov. 2025.

UGUR, B.; CHEN, K.; BELLEN, H. J. ***Drosophila* tools and assays for the study of human diseases**. **Disease Models & Mechanisms**, v. 9, n. 3, p. 235–244, 2016. Disponível em: <<https://journals.biologists.com/dmm/article/9/3/235/2633>>. Acesso em: 02 maio 2026.

WHICKER, F. W.; SCHULTZ, V. **Radioecology: Nuclear Energy and the Environment**. Boca Raton: CRC Press, 1982.

WILDEMANN, B. **Análise do desenvolvimento e estudo do polimorfismo de inversão cromossômica de *Drosophila polymorpha* (Diptera, Drosophilidae) e sua relação com genes de choque térmico (HSPs) induzidos por estresse físico/químico**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e do Desenvolvimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

ZHIKREVETSKAYA, S. et al. Effect of low doses (5-40 cGy) of gamma-irradiation on lifespan and stress-related genes expression profile in *Drosophila melanogaster*. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 8, e0133840, 2015.

ZHIMULEV, I. F.; KORYAKOV, D. E. **Polytene chromosomes**. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). Chichester: John Wiley & Sons, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001183.pub2>>. Acesso em: 28 mar. 2026.

ZHIMULEV, I. F.; ZYKOVA, T. Yu.; GONCHAROV, F. P.; KHOROSHKO, V. A.; DEMAKOVA, O. V.; et al. Genetic Organization of Interphase Chromosome Bands and Interbands in *Drosophila melanogaster*. **PLOS ONE**, v. 9, n. 7, e101631, 2014.

ZYKOVA, T. Y. et al. Polytene chromosomes: a portrait of functional organization of the *Drosophila* genome. **Current Genomics**, v. 19, n. 3, p. 179-191, abr. 2018.

ZYKOVA, T. Yu.; LEVITSKY, V. G.; ZHIMULEV, I. F. Architecture of promoters of house-keeping genes in polytene chromosome interbands of *Drosophila melanogaster*. **Doklady Biochemistry and Biophysics**, v. 485, n. 1, p. 104–109, 2019.

APÊNDICE A

Tabela de medidas das larvas L3 de *Drosophila melanogaster* em milímetros (mm)

Amostra	Controle (mm)	Teste (mm)
1	0,375	0,539
2	0,422	0,517
3	0,373	0,534
4	0,345	0,525
5	0,385	0,502
6	0,371	0,563
7	0,376	0,504
8	0,323	0,517
9	0,298	0,525
10	0,339	0,490
11	0,379	0,540
12	0,368	0,480
13	0,413	0,504
14	0,463	0,535
15	0,352	0,503
16	0,305	0,504
17	0,425	0,508
18	0,299	0,438
19	0,359	0,534
20	0,403	0,424
21	0,350	0,511
22	0,413	0,551
23	0,376	0,473
24	0,358	0,500
25	0,374	0,486
26	0,385	0,540
27	0,390	0,424
28	0,395	0,517
29	0,416	0,575
30	0,404	0,604
31	0,354	0,455
32	0,399	0,530
33	0,395	0,477
34	0,396	0,519
35	0,309	0,529
36	0,382	0,540
37	0,313	0,431
38	0,419	0,538
39	0,364	0,564
40	0,349	0,519
41	0,351	0,507
42	0,348	0,459

43	0,373	0,573
44	0,332	0,546
45	0,361	0,522
46	0,407	0,513
47	0,382	0,579
48	0,362	0,508
49	0,314	0,594
50	0,417	0,442
51	0,380	0,424
52	0,383	0,562
53	0,366	0,484
54	0,372	0,460
55	0,417	0,561
56	0,333	0,489
57	0,361	0,427
58	0,372	0,487
59	0,387	0,532
60	0,328	0,582