

MANUAL DE EXPERIMENTAÇÃO COM *Drosophila melanogaster*

Esthéfani Lettnin Soares

Elen Zamberlan Seccon

Diogo Ritta Bianchetti

Nicole Cabral Rodrigues Batista

Ana Zilda Ceolin Colpo





MANUAL DE EXPERIMENTAÇÃO COM
Drosophila melanogaster

Esthéfani Lettnin Soares
Elen Zamberlan Seccon
Diogo Ritta Bianchetti
Nicole Cabral Rodrigues Batista
Ana Zilda Ceolin Colpo



Editora do Centro Universitário da Região da Campanha

Av. Tupy Silveira, 2099 CEP 96400-110 - Bagé - RS - Brasil

Telefone: (53) 3242-8244

E-mail:

ediurcamp@urcamp.edu.br

Site: www.urcamp.edu.br

FAT - Fundação Áttila Taborda

Presidente:

Mônica L. Palomino de los Santos

URCAMP – Centro Universitário da Região da Campanha

Reitor:

Guilherme Cassão Marques Bragança

Pró-Reitor de Inovação, Pesquisa, Extensão e Pós-Graduação

Guilherme Araújo Collares da Silva

Pró-Reitor de Ensino

Rafael Bueno da Rosa Moreira

Pró-Reitora Adjunta de Ensino

Marília Pereira de A. Barbosa

Editor(a) chefe: Ana Cláudia Kalil Huber

Assessora Técnica: Maritza Silveira Martins

CONSELHO EDITORIAL

Ana Cláudia Kalil Huber, Dra. URCAMP

Ana Zilda Ceolin Colpo, Dra. URCAMP

Guilherme Cassão M. Bragança, Dr. URCAMP

Guilherme Araújo Collares da Silva, Dr. Urcamp

Marília Pereira de A. Barbosa, Me URCAMP

Mônica L. Palomino de los Santos, Dra. URCAMP

Sandro Moreira Tuerlinckx, Dr. URCAMP

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M294 Manual de experimentação com *Drosophila melanogaster*. / Esthéfani Lettnin Soares, Elen Zamberlan Seccon, Diogo Ritta Bianchetti, Nicole Cabral Rodrigues Batista e Ana Zilda Ceoli Colpo. - Bagé: Ediurcamp, 2025. 37p.

ISBN: 978-65-86471-52-6

1. *Drosophila melanogaster*. 2. Fruit fly. I. Soares, Esthéfani Lettnin. II. Seccon, Elen Zamberlan. III. Bianchetti, Diogo Ritta. IV. Batista, Nicole Cabral Rodrigues. V. Colpo, Ana Zilda Ceolin. VI. Título.

CDD: 570.72

Catalogação elaborada pelo Sistema de Bibliotecas FAT / Urcamp
Bibliotecária Responsável: Maritza Silveira Martins CRB10/1741

APRESENTAÇÃO

Há alguns anos o Laboratório Escola de Análises Clínicas do Centro Universitário da Região da Campanha tem sido local de desenvolvimento de pesquisas envolvendo o modelo experimental *Drosophila melanogaster*. Devido a isso, realizou-se a construção de um e-book que aborda de forma prática a experiência encontrada durante os estudos, para possibilitar a iniciação à pesquisa para quaisquer estudantes interessados. Portanto, nas páginas seguintes encontram-se informações teóricas e práticas para conduzir pesquisas com *Drosophila melanogaster*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Drosophila melanogaster</i> macho (esquerda) e fêmea (direita).....	10
Figura 2: Ciclo de desenvolvimento da DM.....	11
Figura 3: Balança analítica.....	13
Figura 4: Balança semi-analítica.....	13
Figura 5: Chapa de aquecimento.....	14
Figura 6: Panela.....	14
Figura 7: Caneca de plástico.....	14
Figura 8: Espátula.....	14
Figura 9: Espátula pequena com micro colher.....	15
Figura 10: Espátula de silicone.....	15
Figura 11: Becker graduado de vidro.....	15
Figura 12: Jarra graduada de vidro.....	15
Figura 13: Proveta de vidro.....	15
Figura 14: Vidro de relógio.....	16
Figura 15: Recipiente de bico fino.....	16
Figura 16: Falcon de plástico.....	16
Figura 17: Funil adaptado.....	16
Figura 18: Tapete emborrachado.....	16
Figura 19: Vidro de conserva.....	17
Figura 20: Compressa de gaze.....	17
Figura 21: Tecido de algodão.....	17
Figura 22: Pinça.....	17
Figura 23: Jarra de vidro contendo água.....	19
Figura 24: Panela com água sob aquecimento da chapa.....	19
Figura 25: Pesagem de fermento.....	19
Figura 26: Pesagem de açúcar.....	20
Figura 27: Açúcar sobre fermento.....	20
Figura 28: Mistura líquida do açúcar com o fermento.....	20
Figura 29: Pesagem de nipagim.....	21
Figura 30: Pesagem de ágar.....	21
Figura 31: Adição de nipagim e ágar à mistura de açúcar e fermento.....	22
Figura 32: Ingredientes misturados.....	22

Figura 33: Pesagem de farinha de milho.....	22
Figura 34: Pipetador automático.....	23
Figura 35: Ponteira de plástico.....	23
Figura 36: Dieta padrão pronta.....	23
Figura 37: Dieta pronta transferida para os vidros de conserva.....	23
Figura 38: Vidros de conserva em processo de resfriamento.....	24
Figura 39: Dieta resfriada e solidificada.....	24
Figura 40: Utensílios para separação das moscas segundo o sexo.....	27
Figura 41: Utensílio para sedar as moscas.....	27
Figura 42: Moscas separadas entre machos (abaixo) e fêmeas (acima).....	28
Figura 43: Características que distinguem machos (abaixo) e fêmeas (acima).....	29
Figura 44: Dietas contaminadas por fungos.....	29
Figura 45: A esquerda contaminação por bactérias e fungos. A direita contaminação por bactérias.....	30

SUMÁRIO

1 <i>Drosophila melanogaster</i>	9
1.1 HISTÓRIA E CONTEXTUALIZAÇÃO	9
1.2 CARACTERÍSTICAS E DESENVOLVIMENTO DA MOSCA DA FRUTA	10
1.3 SIMILARIDADE GENÉTICA	11
2 PRÁTICA EXPERIMENTAL	13
2.1 MATERIAIS GERAIS	13
2.2 MANUTENÇÃO BÁSICA	17
2.2.1 Meio de cultura	18
2.2.2 Procedimento padrão para o meio de cultura	18
3 PROTOCOLOS ROTINEIROS	25
3.1 SOLUÇÃO ÁCIDA (ULBRA S/D, COM MODIFICAÇÃO)	25
3.2 PAPEL ANTIFÚNGICO (ULBRA s/d)	25
3.3 PREPARO DA PASTA DE FERMENTO	25
3.4 DESCARTE DAS MOSCAS.....	26
3.5 ESTERILIZAÇÃO DOS VIDROS	26
3.6 SEPARAÇÃO SEGUNDO O SEXO.....	26
3.7 MANEJO DA CONTAMINAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA.....	29
4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	31
4.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA	31
4.1.1 Superóxido Dismutase	31
4.1.2 Catalase	32
4.2 MEIO DE OVOPOSIÇÃO.....	33
4.2.1 Ágar	33
4.2.2 Meio de Cultura	33
4.2.2.1 Preparo.....	33
4.3 JEJUM INTERMITENTE	33
4.4 RESISTÊNCIA AO ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO	34
4.5 TRIGLICERÍDEOS E GLICOSE	34
4.6 DPPH.....	34

4.7 GEOTAXIA NEGATIVA.....	35
4.8 CAMPO ABERTO	35
4.9 LONGEVIDADE	36
4.10 SOLUÇÃO TRIS.....	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

1 *Drosophila melanogaster*

1.1 HISTÓRIA E CONTEXTUALIZAÇÃO

Há muitos séculos cientistas procuram evidências que expliquem sobre a existência, comportamento e evolução humana. Entre eles, Thomas Hunt Morgan, no ano de 1910 passou a produzir experimentos sobre as Teorias Mendelianas com as *Drosophila melanogaster* (DM) (Morgan, 1910). Ao constatar que havia uma mosca macho com os olhos em cor branca, diferentemente das demais que possuíam olhos vermelhos, passou a fazer cruzamentos para elucidar quais fatores implicaram nesse acontecimento (Morgan, 1910).

A partir desse estudo, Morgan e sua equipe passaram mais de 20 anos explorando as teorias cromossômicas (Martins, 1998). A DM, também conhecida como mosca-da-fruta ou mosca-do-vinagre, mostrou-se uma espécie versátil que desde então vem sendo amplamente utilizada como modelo experimental por conta de suas características.

De acordo com Freire-Maia e Pavan (1949) as moscas são ótimas para estudar citologia, genética e evolução. São fáceis de manipular devido ao tamanho, sua manutenção e alimentação são de baixo custo e a diferenciação de sexo é simples. Os autores destacam também que possuem rápido ciclo reprodutivo, gerando numerosos descendentes.

As moscas são artrópodes da classe dos insetos e a DM possui uma genética simplificada, podendo, nas condições adequadas, produzir 25 gerações em um ano. Outra característica é a poliembrionia, cada fecundação pode resultar na oviposição de até 100 ovos. A proporção de novas moscas macho e fêmea é aproximadamente de 50:50 (Triplehorn; Johnson, 2016).

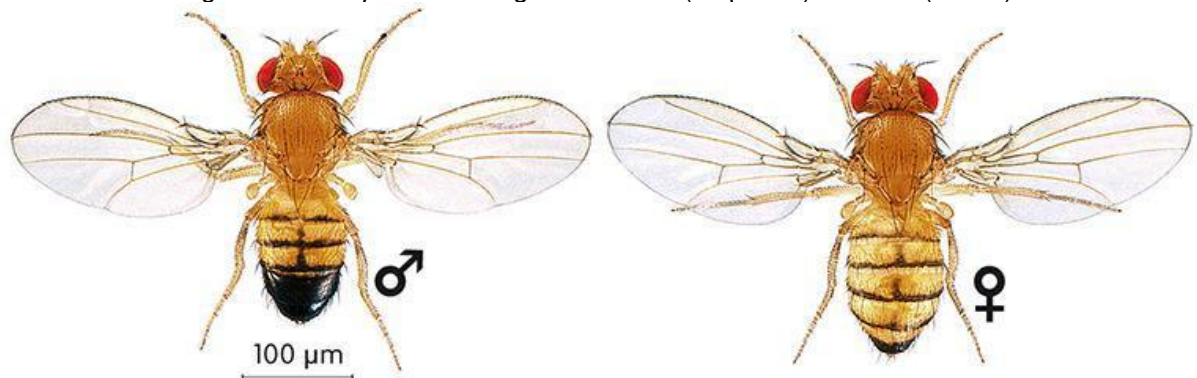
Sua conexão com o nome mosca-da-fruta deve-se a sua alimentação de frutos em decomposição. Elas possuem microbiota dominada por leveduras, capazes de fermentar os açúcares transformando-os em álcool. Além disso, produzem enzimas capazes de decompor o etanol, o que as torna altamente tolerantes ao álcool (Begon; Townsend, 2023)

Importante ressaltar que elas não são vetores de doenças nem pragas, ou seja, não apresentam riscos diretos para a sociedade, ademais, são facilmente encontradas em residências. Contudo para a realização adequada de experimentos deve-se conhecer a sua origem, podendo escolher entre a linhagem selvagem ou alguma linhagem mutante de acordo com o objetivo da pesquisa (Chaudhary *et al.*, 2021).

1.2 CARACTERÍSTICAS E DESENVOLVIMENTO DA MOSCA DA FRUTA

A DM do tipo selvagem tem de 2 a 4 mm de comprimento e pesa cerca de 1 mg, tem olhos vermelhos, corpo amarelo/castanho e listras pretas no abdômen. Possuem três segmentos corporais: cabeça, tórax e abdômen; além de um par de asas e três pares de pernas. As fêmeas são maiores que os machos e apresentam o “desenho” das listras um pouco diferentes, além de diferirem também no formato do abdômen (JoVE, 2023), conforme a figura 1 demonstra:

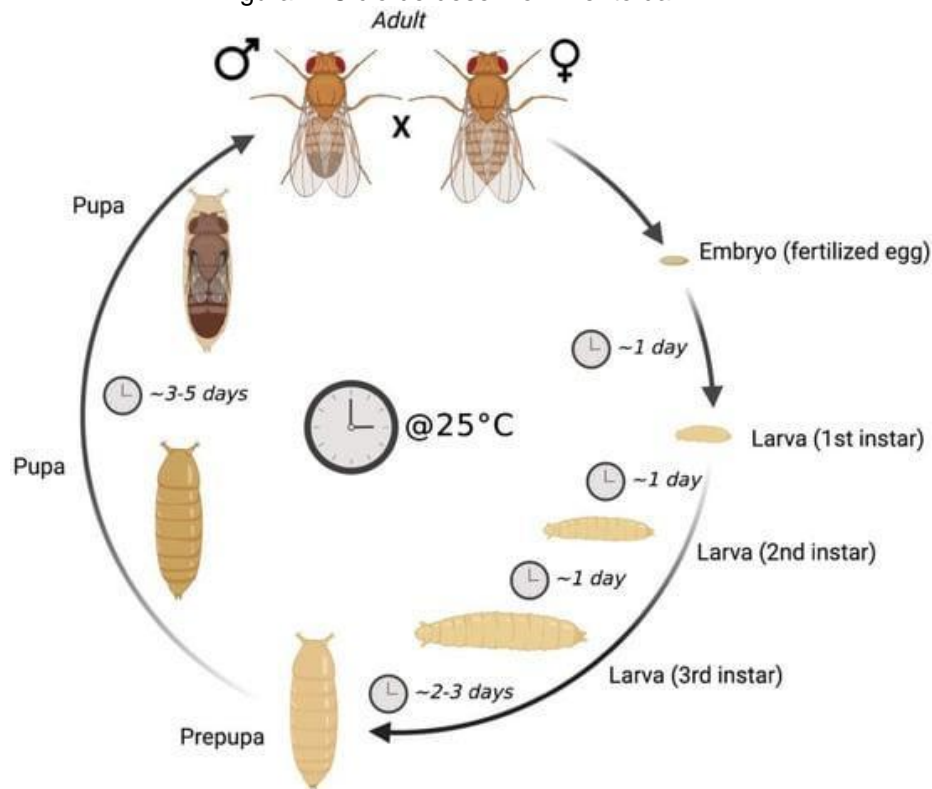
Figura 1: *Drosophila melanogaster* macho (esquerda) e fêmea (direita).



Fonte: Cabia, García e Arterós (2012).

O ciclo de vida desse inseto possui 4 estágios: ovo, larva, pupa e adulto. A primeira fase é do momento da fertilização até a fase seguinte e leva cerca de 24h. Após a eclosão do ovo inicia a fase larval, que dura cerca de 3-4 dias, na qual ocorre alimentação, movimentação e alterações de cutículas conforme o desenvolvimento da DM, até ela estar pronta para a fase de pupa. Nesta fase ela passa a ficar imóvel, e forma suas estruturas para a fase adulta (Aguiar, 2015), onde pode viver de 70 a 80 dias, aproximadamente (Chaudhary *et al.*, 2021).

Figura 2: Ciclo de desenvolvimento da DM.



Fonte: Brischigliaro, Fernandez-Vizarra, Viscomi (2023).

Conforme a figura 2 acima, o tempo de geração da DM desde o embrião até a fase adulta leva cerca de 10 dias. Por ser de clima tropical, seu melhor desenvolvimento é na temperatura de 25°C com umidade de 60% (Arya; Trivedi, 2021). Em temperaturas amenas ela pode precisar de mais dias para completar o ciclo e emergir adulta (Alpatov; Pearl, 1949 apud Chiang; Hodson, 1950). Ademais, experimentos com *Drosophila melanogaster* não necessitam da aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA (CONCEA, 2016).

1.3 SIMILARIDADE GENÉTICA

A partir de todas as informações supracitadas, compreende-se a caracterização da DM como uma boa opção de organismo-modelo. De modo geral, essa designação refere-se ao estudo de certos problemas em uma espécie onde o resultado pode-se atribuir a diversas outras, sendo possível ainda, uma descoberta de cunho universal, padrão de todas as espécies (Sepel; Loreto, 2010).

O autor Rubin, já no ano de 1988, questionou o quanto as respostas obtidas num organismo de média complexidade como a DM poderiam ser relevantes para os humanos. Levando em consideração o surgimento da vida e a evolução das espécies,

considera-se que uma grande quantidade de moléculas fundamentais são homólogas em organismos multicelulares, devido à época de sua origem, tornando similares os mecanismos básicos para o desenvolvimento entre diferentes espécies (Rubin, 1988; Aquadro; DuMont; Reed, 2001).

Entre as principais vias moleculares supracitadas estão a padronização dos eixos corporais primários, organogênese, sistema nervoso e proliferação celular (Reiter et al., 2001). Desse modo, a alta complexidade dos organismos pode ser alcançada por conta da adaptação e reiteração de processos evolutivos comuns e antigos (Rubin, 1988). Portanto, apesar da fisiologia de insetos e mamíferos serem distintas, alguns genes e vias de sinalização são muito conservados.

Os demais estudos realizados em DM reforçam tais conceitos, muito por conta da genética. No ano de 2000, o genoma da mosca foi decodificado em maior quantidade, demonstrando a presença de mais de 13 mil genes (Adams et al., 2000). Além disso, ele foi comparado ao genoma humano e a correspondência indicou que a DM é um organismo adequado à pesquisa dos mecanismos de doenças que envolvem replicação, reparo e tradução gênica (Adams et al., 2000).

Dentro do estudo genético, as doenças humanas têm genes homólogos com genes de DM já identificados (Reiter et al., 2001; Jeibmann; Paulus, 2009). Especificamente, 75% dos genes de doenças humanas apresentam sequências relacionadas às DM, de acordo com o estudo de Bier (2005).

Desse modo, é possível conduzir diversos estudos com DM, sobre aprendizado, comportamento, envelhecimento, e em diferentes áreas, incluindo genética, nutrição, metabolismo e doenças crônicas. Além de possibilitar análises envolvendo a patogênese das doenças, a fim de identificar novos modelos terapêuticos (Lloyd; Taylor, 2010; Cheng, Baonza; Grifoni, 2018; Baenas; Wagner, 2022; Miao et al., 2022; Musachio et al., 2022).

2 PRÁTICA EXPERIMENTAL

Conforme citado anteriormente, há diversos benefícios, vantagens e campos de estudo envolvendo a DM. A partir deste capítulo serão abordados os materiais e métodos para conduzir os experimentos.

2.1 MATERIAIS GERAIS

Para a manutenção básica da DM alguns equipamentos e materiais são constantemente utilizados, conforme demonstrado a seguir. Contudo, para alguns experimentos específicos pode-se optar por utilizar outros equipamentos e/ou aparatos, de acordo com cada necessidade.

Entre os equipamentos, a balança analítica, apresentada na figura 3, é um instrumento de alta precisão utilizado para medir a massa de substâncias em laboratórios. Possibilita detectar pequenas variações de peso e possui uma cúpula de vidro para minimizar o impacto de correntes de ar e de vibrações externas. Já a balança semi-analítica (figura 4) apesar de também ter a função de medir a massa de substâncias, apresenta uma menor precisão, sendo utilizado para situações que não exigem alta sensibilidade ou quando é requerido medir um maior peso.

Figura 3: Balança analítica. Figura 4: Balança semi-analítica.



Fonte: Acervo próprio (2025).

A figura 5 apresenta uma chapa de aquecimento que é utilizada para aquecer soluções, reagentes ou outros materiais de forma controlada. A exemplo do uso na rotina com a DM, ela é utilizada para o cozimento da dieta padrão feita em uma panela (figura 6).

Figura 5: Chapa de aquecimento.



Figura 6: Panela.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Dentre os materiais rotineiros, a caneca de plástico (figura 7) junto da espátula (figura 8) são usados para misturar o fermento no açúcar, conforme demonstrado na metodologia do capítulo 2.2.2. A escolha pelo plástico deve-se ao procedimento que exige movimentos expressivos.

Figura 7: Caneca de plástico



Figura 8: Espátula.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Outros modelos de espátulas também são úteis em diferentes partes do processo, como a pequena com micro colher (figura 9) e a de silicone (figura 10).

Figura 9: Espátula pequena com micro colher.



Figura 10: Espátula de silicone.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Para realizar medições de líquidos de forma visual pode-se utilizar becker de vidro (figura 11), jarra graduada de vidro (figura 12) e proveta de vidro (figura 13).

Figura 11: Becker graduado de vidro.



Figura 12: Jarra graduada de vidro.



Figura 13: Proveta de vidro.



Fonte: Acervo próprio (2025).

O vidro de relógio (figura 14) é utilizado para tarefas simples que não requerem equipamentos mais complexos, como superfície para pesar sólidos em balança analítica e semi-analítica. Já o recipiente de bico fino (figura 15) é muito útil para dispor a pasta nutritiva na dieta pronta, conforme descrito posteriormente. Pode ser encontrado em lugares que vendem utensílios para confeitaria.

Figura 14: Vidro de relógio.



Figura 15: Recipiente de bico fino.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Para a transferência das moscas de um recipiente para outro utiliza-se o falcon de plástico de 15 mL (figura 16) encaixado em um funil (figura 17) sem sobra de espaço no encaixe deles, para isso pode-se usar fita crepe ao redor do funil, conforme a imagem mostra. O tapete emborrachado (figura 18) auxilia no processo de transferência, amortecendo os materiais.

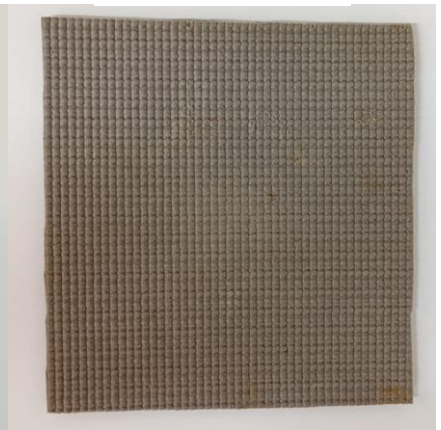
Figura 16: Falcon de plástico.



Figura 17: Funil adaptado.



Figura 18: Tapete emborrachado.



Fonte: Acervo próprio (2025).

As moscas são acondicionadas em vidros de conserva (figura 19) e, para tampar os recipientes, utiliza-se compressa de gaze (figura 20) sobreposta por um tecido de algodão (figura 21), o qual é fixado por um elástico de borracha.

Figura 19: Vidro de conserva.

Figura 20: Compressa de gaze.

Figura 21: Tecido de algodão.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Ao final da produção da dieta padrão, limpa-se o interior dos vidros de conserva, devido a umidade decorrente da temperatura da dieta. Dessa forma, as moscas não correm risco de se grudarem e ficarem presas. Para isso, utiliza-se uma pinça comprida (figura 22) enrolada em papel comum. Ademais, a mesma pinça pode ser utilizada para remover moscas mortas que estejam dentro dos vidros, a fim de evitar contaminação da dieta.

Figura 22: Pinça.



Fonte: Acervo próprio (2025).

2.2 MANUTENÇÃO BÁSICA

Para poder realizar pesquisas com este modelo experimental, é necessário ter estoque deste animal. O estoque refere-se ao quantitativo de moscas disponíveis para os estudos. Um dos modos de reprodução é através do meio de cultura. Para tanto, faz-se a dieta continuamente, seguindo a lógica:

1. Faz-se a dieta padrão;
2. Coloca-se as moscas nessa dieta durante 3 dias para que possam copular e ovipositar;
3. Após esse tempo, faz-se nova dieta e transfere-se as moscas para a nova dieta para que possam realizar o processo anterior;
4. Na dieta contendo ovos, insere-se um papel antifúngico e uma pasta nutritiva para desenvolvimento das larvas e posteriormente da pupa;
5. Em cerca de 2 semanas haverá moscas adultas nessa dieta;
6. Realiza-se esse ciclo até garantir que há número suficiente de moscas para iniciar o estudo desejado.

2.2.1 Meio de cultura

O meio de cultura da DM é chamada de Dieta Padrão que possui os componentes, medidas e rendimentos de acordo com o quadro 1:

Quadro 1: componentes, medidas e rendimentos do meio de cultura.

Componentes	1x	2x	3x
Água	350 mL	700 mL	1050 mL
Fermento Biológico	15 g	30 g	45 g
Açúcar cristal	26 g	52 g	78 g
Nipagim	0,43 g	0,86 g	1,29 g
Ágar	2 g	4 g	6 g
Farinha de milho	40 g	80 g	120 g
Solução ácida	1500 uL	3000 uL	4500 uL
Rendimento	3 vidros	6 vidros	9 vidros

Fonte: Desenvolvido pelos autores (2025).

2.2.2 Procedimento padrão para o meio de cultura

O passo a passo da correta execução do meio de cultura está descrito a seguir:

1. Na jarra de vidro, medir 350 mL de água.

Figura 23: Jarra de vidro contendo água.



Fonte: Acervo próprio (2025).

2. Transferir a água à panela e submeter ao aquecimento na chapa.

Figura 24: Panela com água sob aquecimento da chapa.



Fonte: Acervo próprio (2025).

3. Na caneca de plástico, pesar 15 g de fermento na balança semi-analítica.

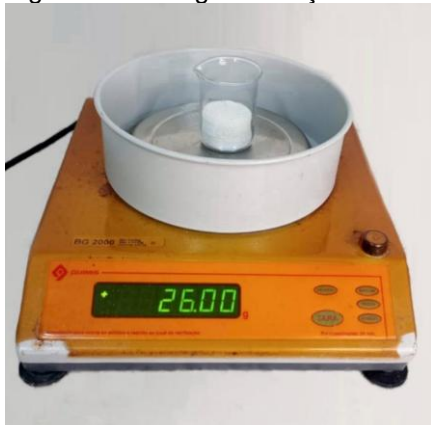
Figura 25: Pesagem de fermento.



Fonte: Acervo próprio (2025).

4. No becker de 25 mL, pesar 26 g de açúcar cristal na balança semi-analítica.

Figura 26: Pesagem de açúcar.

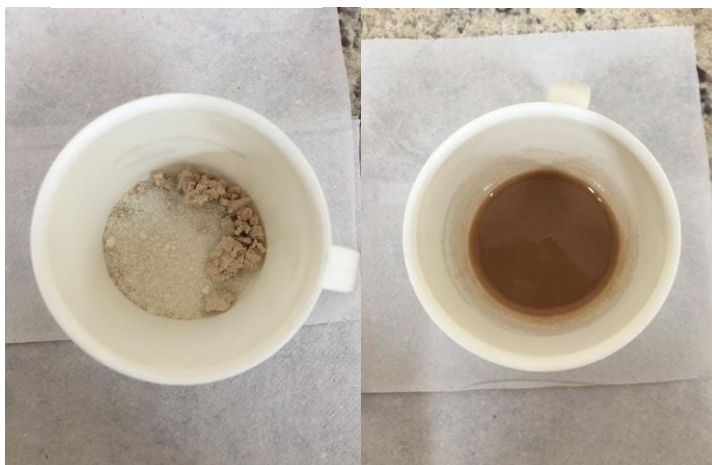


Fonte: Acervo próprio (2025).

5. Transferir o açúcar para a caneca e misturar até dissolver o açúcar.

Figura 27: Açúcar sobre fermento.

Figura 28: Mistura líquida do açúcar com o fermento.



Fonte: Acervo próprio (2025).

6. No vidro de relógio, pesar 0,43 g de nipagim na balança analítica.

Figura 29: Pesagem de nipagim.



Fonte: Acervo próprio (2025).

7. Em outro becker de 25 mL, pesar 2 g de ágar.

Figura 30: Pesagem de ágar.



Fonte: Acervo próprio (2025).

- Transferir tanto o nipagim quanto o ágar para a caneca onde o açúcar já está homogeneizado com o fermento, e misturar tudo.

Figura 31: Adição de nipagim e ágar à mistura de açúcar e fermento.



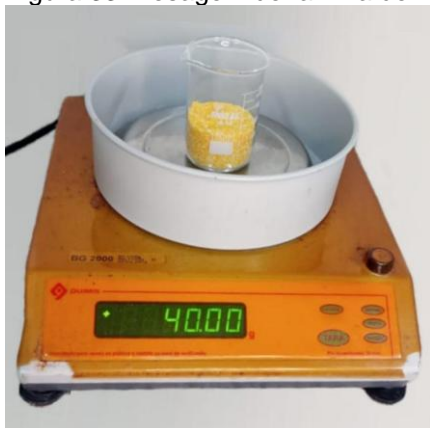
Figura 32: Ingredientes misturados.



Fonte: Acervo próprio (2025).

- No becker de 50 mL, pesar 40 g de farinha de milho e reservar.

Figura 33: Pesagem de farinha de milho.



Fonte: Acervo próprio (2025).

10. Pipetar 1000 uL da solução ácida em um dos pipetadores automáticos e, em outro, pipetar 500 uL e reservar.

Figura 34: Pipetador automático.

Figura 35: Ponteira de plástico.



Fonte: Acervo próprio (2025).

11. Quando a água começar a borbulhar, transferir a mistura contida na caneca para a panela.
12. Misturar o conteúdo da panela e aguardar voltar a borbulhar, então verter a farinha de milho aos poucos sem parar de mexer.
13. Ao perceber que a mistura presente na panela engrossou, deve-se desligar a chapa, adicionar a solução ácida que foi pipetada e verter o conteúdo proporcionalmente nos vidros de conserva. Essa parte do procedimento é muito rápida, deve-se ter atenção e agilidade.

Figura 36: Dieta padrão pronta.

Figura 37: Dieta pronta transferida para os vidros de conserva.



Fonte: Acervo próprio (2025).

14. Colocar os vidros com a dieta em um recipiente com água e placas de gelo para que ela esfrie e endureça. Confere-se se ela endureceu ao inclinar o vidro e perceber que a dieta solidificou.

Figura 38: Vidros de conserva em processo de resfriamento.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Figura 39: Dieta resfriada e solidificada.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Após esse processo pode-se proceder à transferência das moscas para os vidros com as dietas recém preparadas. Os vidros são tapados com gaze e um tecido de algodão e fixados com um elástico de borracha para permitir a entrada de oxigênio. Após deixar as moscas ovipositando na dieta padrão por 3 dias, retirá-las, colocar a pasta de fermento em toda borda do vidro utilizando uma bisnaga. Posteriormente, com auxílio de uma espátula, colocar uma fita de papel antifúngico dentro do vidro, fincando a fita no meio da dieta padrão até o fundo do vidro. As culturas devem ser mantidas a 25°C e longe da luz solar.

3 PROTOCOLOS ROTINEIROS

Os protocolos elencados a seguir são utilizados constantemente para a manutenção básica dos estoques de DM.

3.1 SOLUÇÃO ÁCIDA (ULBRA S/D, COM MODIFICAÇÃO)

Para preparar a solução ácida utilizada na dieta padrão mistura-se os seguintes reagentes:

Ácido Fosfórico.....10 ml
Ácido Acético..... 100 ml

Após pronto, deve-se guardar em frasco âmbar com rotulagem adequada.

3.2 PAPEL ANTIFÚNGICO (ULBRA s/d)

Para preparar o papel antifúngico, utilizado na dieta padrão após 3 dias, mistura-se os seguintes reagentes:

Nipagim (metilparabeno).....10 g
Álcool Etilíco 96°GL.....q.s.p. 1 L

Após pronto, deve-se guardar em frasco âmbar com rotulagem adequada. Utiliza-se papel *kraft* recortado em tiras de cerca de 2 X 20 cm, colocadas em uma forma retangular de forma justaposta. Verter a solução alcoólica de nipagim utilizando pipeta de 5mL até que todos estejam molhados. Aguardar secar em local protegido e guardar em pote fechado.

3.3 PREPARO DA PASTA DE FERMENTO

Para preparar a pasta de fermento que é adicionada à dieta padrão após três dias de oviposição, deve-se misturar fermento biológico fresco com pequenas quantidades de água, aos poucos, até o fermento desmanchar e ficar com uma consistência pastosa. A proporção aproximada é de 3g de fermento para 1mL de água.

3.4 DESCARTE DAS MOSCAS

Congelar o vidro com a dieta padrão e as *Drosophila melanogaster* ou tubo Falcon somente com as moscas, durante pelo menos 24h, antes de descartar no lixo orgânico. Atenção para o uso de substâncias tóxicas ou contaminantes na dieta, neste caso descartar em local adequado.

3.5 ESTERILIZAÇÃO DOS VIDROS

Os vidros utilizados nos meios de cultura devem ser higienizados e colocados em estufa a 170°C por uma hora e meia.

Nunca apresse ou diminua o tempo de esterilização, pois há riscos dos materiais não esterilizarem corretamente. Este procedimento é responsável por reduzir a possibilidade de contaminação por microrganismos. Depois de finalizado o processo, espere os vidros esfriarem antes de retirá-los da estufa.

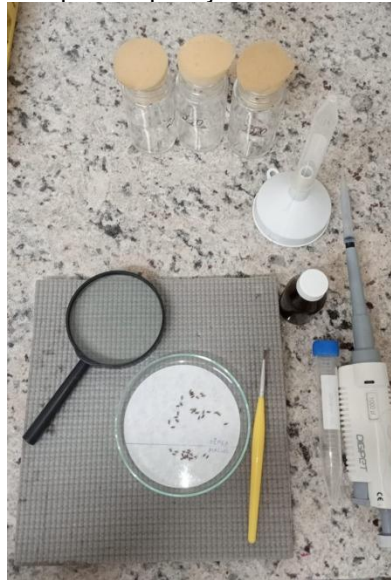
3.6 SEPARAÇÃO SEGUNDO O SEXO

A espécie *Drosophila melanogaster* apresenta dimorfismo sexual, de forma que as DM macho e fêmea podem ser distinguidas a partir de suas características físicas (Chaudhary et al., 2021). Para a separação dos animais segundo o sexo, são necessários os seguintes materiais:

- Placa de Petri;
- Éter etílico;
- Pipetador automático;
- Papel filtro redondo de diâmetro aproximado ao da placa de Petri;
- Pincel macio;
- Lupa;
- Frasco de vidro com tampa plástica;
- Compressa de gaze;
- Algodão;
- Elástico.

Para esta operação, escolher uma bancada com iluminação adequada. Primeiro, deve-se colocar a placa de Petri sobre o papel filtro, o qual possui a função de facilitar a visualização das moscas (figura 40).

Figura 40: Utensílios para separação das moscas segundo o sexo.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Após, posicionar o algodão na tampa plástica do frasco, cobri-lo com a compressa de gaze e afixá-la com auxílio do elástico. Sobre a gaze, pipetar 1000 uL do éter etílico (figura 41).

Figura 41: Utensílio para sedar as moscas.

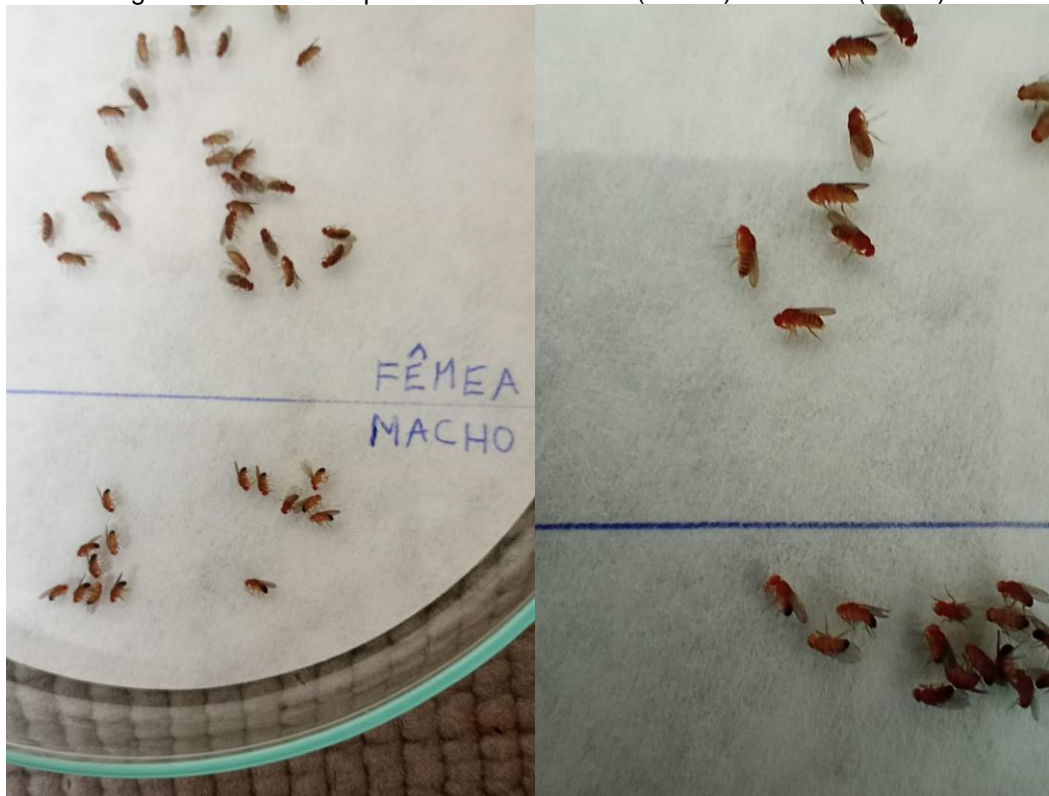


Fonte: Acervo próprio (2025).

Transferir as moscas para o frasco de vidro, cobri-lo com a tampa contendo éter etílico e aguardar até que todas estejam imóveis. O processo de anestesia leva cerca de 1 minuto e 30 segundos.

Então, dispor as moscas sobre a placa de Petri e, com auxílio de um pincel macio, manipulá-las para analisar o corpo a partir de diferentes ângulos, com o auxílio da lupa (figura 42). Tenha cuidado para não danificar as moscas durante esse processo.

Figura 42: Moscas separadas entre machos (abaixo) e fêmeas (acima).



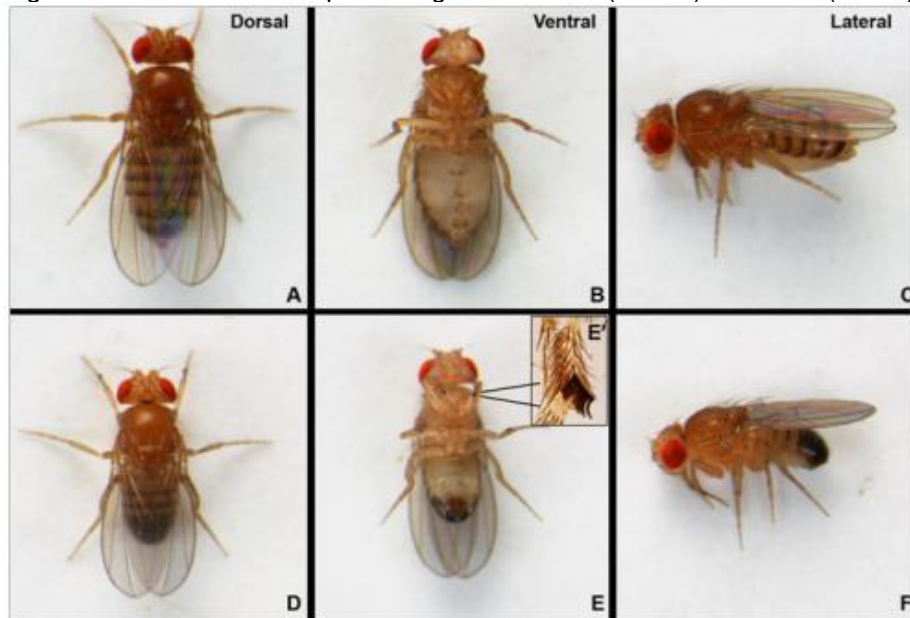
Fonte: Acervo próprio (2025).

Observe o tamanho do corpo, pois os machos são, tipicamente, menores do que as fêmeas. A extremidade do abdômen é mais alongada nas fêmeas, enquanto que nos machos é arredondada. Após ser fecundada, a fêmea apresenta abdômen distendido por causa dos ovos (Chaudhary et al., 2021).

O abdômen das fêmeas apresenta oito segmentos, sendo possível visualizar sete deles, os quais apresentam a aparência de listras. Por outro lado, os machos apresentam apenas cinco segmentos visivelmente distinguíveis, pois os últimos três apresentam-se fundidos. Dessa forma, pode-se notar que a extremidade do abdômen dos machos é mais escura em comparação às fêmeas (Chaudhary et al., 2021).

Também pode ser visualizada, com o auxílio de microscópio, uma estrutura pilosa denominada “pente sexual”, localizada no primeiro segmento tarsal do primeiro par de pernas, a qual está presente apenas nas moscas macho, conforme demonstra a figura 43E (Chaudhary et al., 2021).

Figura 43: Características que distinguem machos (abaixo) e fêmeas (acima).



Fonte: Chaudhary et al. (2021).

3.7 MANEJO DA CONTAMINAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura devem ser observados a fim de identificar possíveis sinais de contaminação por microorganismos. Manchas de coloração esverdeada, marrom ou preta nas dietas demonstram uma provável presença de fungos (figura 44).

Figura 44: Dietas contaminadas por fungos.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Por outro lado, meios de cultura excessivamente úmidos nas laterais ou com espaço vazio abaixo da dieta solidificada, demonstrando produção de gás, podem indicar contaminação bacteriana (figura 45).

Figura 45: A esquerda contaminação por bactérias e fungos. A direita contaminação por bactérias.



Fonte: Acervo próprio (2025).

Os frascos contaminados devem ser congelados por ao menos 24h e o seu conteúdo, descartado. As moscas criadas nesses meios de cultura devem ser também descartadas, pois sua transferência a uma nova dieta pode provocar a proliferação dos microorganismos.

Quando ocorre a contaminação dos meios de cultura, é necessário identificar a ocorrência de falhas na higienização e esterilização dos frascos. Deve-se investigar, também, se estão sendo cumpridas as Boas Práticas Laboratoriais, visto que a falta do uso de EPIs e a incorreta limpeza dos ambientes e utensílios de trabalho podem gerar contaminação microbiana.

Por fim, deve-se observar a data de validade de todos os ingredientes utilizados para o meio de cultura, a fim de evitar que se tornem veículos para a transmissão de microorganismos e garantir que os conservantes adicionados apresentem ação eficaz.

4 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Os protocolos elencados a seguir são utilizados de acordo com o desenho experimental e quais variáveis deseja-se pesquisar.

4.1 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

4.1.1 Superóxido Dismutase

A atividade da superóxido-dismutase é determinada a 480nm, pela medida da inibição da formação de adrenocromo. Uma unidade será definida como a quantidade de enzima que inibe em 50% a formação de adenocromo por grama de proteína (Misra; Fridovich, 1972).

Amostra:

- Homogeneizar os tecidos em Tris/HCl 50mM pH 7,4;
- Centrifugar os tecidos por 10 minutos, a 3000 rpm;
- Congelar uma alíquota do sobrenadante ou dosar a atividade da enzima no dia.

Procedimento:

- No dia do experimento, diluir as amostras;
- Ligar o Espectro e selecionar o programa 11;
- As leituras deverão ser realizadas em $\lambda = 480 \text{ nm}$;
- Colocar uma cubeta com água destilada no leitor de trás;
- Pipetar na cubeta de leitura: 1 mL de Tampão Glicina, 20, 40 ou 60 μL de tecido e dar um auto zero. Após isso adicionar 17 μL de epinefrina e dar um START.

Obs.: Depois de pipetar a Epinefrina, iniciar a leitura imediatamente (START).

Deve ser feito 1 basal p/ cada 2 amostras.

Para deslocar a curva p/ esquerda, adicionar NaOH.

As amostras e a Epinefrina devem permanecer no gelo durante as dosagens, o tampão não.

Reagentes:

- Epinefrina 60 mM PM = 333,3

Solubilizar em uma solução HCl/H₂O pH 2,0 (HCl sobre a H₂O até atingir o pH certo).

Dica de preparo: 1 mL de HCl 1M + 9mL de H₂O
Pesar 0,2 g de Epinefrina e acrescentar a solução HCl/H₂O no escuro e no gelo.

A Epinefrina deve ser guardada no congelador e protegida da luz, em alíquotas.

- Tampão Glicina 50 mM pH 10,6 PM = 75,07

Pesar o pó do Ácido Aminoacético (Glicina), solubilizar em Água Milli-Q e ajustar o pH com NaOH. Pode ser feito 1 dia antes do experimento.

4.1.2 Catalase

A atividade máxima da CAT é avaliada pelo consumo de peróxido de hidrogênio acompanhado espectrofotometricamente a 240nm, utilizando tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e peróxido de hidrogênio 10 mM (Beers; Sizer, 1952). A reação será iniciada pela adição da amostra e acompanhada por 4 minutos a 25° C.

Amostra:

- Homogeneizar o tecido em Tris/HCl 50 mM, pH 7,4;
- Centrifugar o homogeneizado por 10 min a 3000 rpm e guardar o sobrenadante ou fazer no dia.

Procedimento:

Programa_____ do Espectrofotômetro. A leitura é feita em 240 nm.

Basal: 1910 µL (2 x 950 µL) de TFK 50 mM pH 7,0 → AUTO ZERO
70 µL de H₂O₂ → START

Amostra: 1910 µL (2 x 950 µL) de TFK 50 mM pH 7,0
20 µL de Amostra → AUTO ZERO
70 µL de H₂O₂ → START

Obs.: O Basal tem que ser constante: deixar o H₂O₂ em tubo escuro e sempre fechado.

Reagentes:

- TFK 50 mM pH 7,0
Fosfato de Potássio Monobásico – 0,680 g – 100 mL
Fosfato de Potássio Dibásico – 0,870 g – 100 mL
Misturar o mono sobre o di até atingir o pH 7,0.
- H₂O₂ 0,3 M
200 µL de H₂O₂ + 9,8 mL de H₂O (porque é novo, senão, seria: 300 µL de H₂O₂ + 9,7 mL de H₂O)

$$\text{Cálculo: } \frac{\frac{\text{Abs} \times 4,6}{\text{Ptn} / 10 \times 0,02}}{2}$$

4.2 MEIO DE OVOPOSIÇÃO

4.2.1 Ágar

Ágar.....	7,5 g
Água.....	300 ml

4.2.2 Meio de Cultura

Fermento Biológico em barra.....	500 g
Açúcar.....	4 colheres de sopa
Água.....	400 ml

4.2.2.1 Preparo

Em um becker de vidro, colocar o ágar, acrescentar a água e mexer. Levar ao microondas, mexendo de vez em quando, até que a mistura ferva duas vezes, distribuir nos vidros e submeter à ventilação. Após a solidificação do ágar, prosseguir com a preparação.

Dividir a barra de fermento biológico em 4 partes, esfregar com as mãos cada uma em um becker e adicionar 1 colher de açúcar após cada parte, e por fim adicionar água. Colocar no banho maria em temperatura entre 65 e 80°C, mexer algumas vezes para fazer com que a mistura desça, até atingir uma consistência que permita ser derramada (nem muito líquida, nem muito sólida). Distribuir nos vidros com o ágar e bater sobre a bancada por diversas vezes para diminuir o volume.

4.3 JEJUM INTERMITENTE

O grupo dietético exposto ao jejum intermitente deve ter comida disponibilizada durante 12h, período no qual ficam com luzes acesas. Nas demais 12h ficam sem acesso à alimentação e são transferidas para vidros com papel *Kraft* de 9 cm² umedecido com 1mL de água e as luzes ficam apagadas. Os papéis de cada vidro

devem ser umedecidos novamente com 0,1mL quando necessário. O jejum intermitente é mantido durante 7 dias, conforme metodologia adaptada de Salgado-Canales et al. (2023).

4.4 RESISTÊNCIA AO ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO

A resistência ao estresse oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio, foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Peng (2009) e modificada por Colpo (2017). 20 moscas de cada grupo, foram mantidas 2h sem acesso a nenhum alimento, posteriormente foram transferidas para novos frascos contendo papel pardo umedecido com 0,5 mL de H₂O₂ na concentração de 30% diluído em glicose na concentração de 6%. As moscas mortas foram contadas em intervalos de 4-6h até não restarem moscas vivas.

4.5 TRIGLICERÍDEOS E GLICOSE

Para a análise de triglicerídeos e glicose a metodologia é baseada no estudo de Colpo (2017) e de Bortolini (2021). Foram separadas 20 moscas de cada grupo para homogeneizar e centrifugar a 3000 xg durante 10 min. O sobrenadante foi dividido em alíquotas. Os triglicerídeos foram medidos através da reação da enzima lipase, gliceroquinase, 1-P-glicerol oxidase e peroxidase. Foi utilizado o kit Triglicerídeo Liquidform-Labtest®. Enquanto a glicose foi realizada em equipamento semi-automático (Bioplus 2000) com o kit GOD-Trinder, Labtest- Brasil. Ambos os resultados estão expressos em mg/dL de tecido.

4.6 DPPH

Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-dimetil-1-picrilhidrazil (DPPH). O método foi inicialmente descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com pequenas modificações.

Adicionar 30 µl de cada amostra a 0,2 ml de solução de DPPH. A cor muda de DPPH de púrpura para amarelo na presença de antioxidantes. Monitorar a diminuição da absorbância a 517 nm, utilizando espectrofotômetro visível. Fazer os testes em triplicata.

Utilizar ácido ascórbico como controle positivo para determinar a diminuição máxima na absorbância DPPH.

Os valores são expressos em porcentagem de inibição de DPPH em relação aos valores de controle sem extratos (para ácido ascórbico a inibição máxima foi considerada 100% de inibição). Realizar os cálculos usando a fórmula:

$$\text{Inhibition percentage \%} = \frac{\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}} * 100$$

Quadro 2: Protocolo experimental para avaliação da capacidade antioxidante por meio do método DPPH.

	H₂O	AMOSTRA	DPPH
Branco	700	—	200
Extrato	670	30	200
Controle	870	30	0

Fonte: Desenvolvido pelos autores (2025).

4.7 GEOTAXIA NEGATIVA

Para avaliar a habilidade de escalada, o protocolo foi adaptado a partir do estudo de Xiao (2021). Após o período do Jejum Intermitente as moscas foram transferidas para tubo falcon vazio e limpo, onde ficaram durante 15 min em adaptação.

Para o teste o falcon foi marcado 8 cm, referente a altura de avaliação. O tubo foi suavemente de modo a conduzir todas as moscas para o fundo do frasco. Após 10 s contou-se quantas moscas conseguiram escalar até a marca. O teste foi gravado para melhor controle.

4.8 CAMPO ABERTO

O teste de campo aberto avalia a motricidade e movimentação das moscas. Adaptado de Hirth (2010), uma mosca foi colocada dentro de uma placa de Petri, de modo que tenha espaço para ela se locomover sem voar. Abaixo da placa havia um papel quadriculado de 1 cm². Foram contados quantos quadrados ela percorreu durante 60 s. No total avaliou-se 5 moscas de cada grupo dietético. Para melhor observação, o teste foi gravado com o mesmo equipamento supracitado.

4.9 LONGEVIDADE

(Adaptado de Peng, 2012)

1. Fazer 6 vidros da dieta padrão com 0,01% de colesterol sintético
2. Adicionar moscas e deixar por 72 horas, retirar as moscas após esse período e fazer o procedimento de colocar o fermento e papel antifúngico
3. Acompanhar diretamente até o nascimento das moscas e anotar o dia do início do nascimento
4. Determinação de Sobrevivência: sincronizar os frascos dois dias antes do início do experimento, ou seja, retirar todas as moscas, deixando somente ovos, larvas e pupas, para que todas apresentem idade semelhante ao início do protocolo experimental Das moscas que nascerem, manter uma amostra de 30 machos cada frasco de cultura (vidros pequenos de tampa vermelha) contendo a mesma dieta. Nos potes com tratamento colocar o papel filtro cortado umedecido com o extrato a ser utilizado. A cada 72 horas trocar o meio e contar os indivíduos.
5. Avaliação do Peso: a cada 3 dias de tratamento, quando for trocado o meio, pesar e contar as moscas sobreviventes.

4.10 SOLUÇÃO TRIS

Para 50mL de tampão TRIS/HCl 50mM pH 7,4 apresentando TRIS PM = 121,14: Pesar 0,3028g e em um béquer colocar 400mL de H₂O deionizada, ajustar pH com HCl concentrado de até 7,4 e completar o volume de 500 mL com água deionizada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do exposto pode-se iniciar a pesquisa experimental com a DM. Deve-se levar em consideração que a literatura não foi exaurida e que a ciência progride constantemente. Logo, pode-se nortear-se por este e-book, porém a pesquisa em busca de novidades deve ser constante.

REFERÊNCIAS

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. Minho: Universidade do Minho, 2015. Disponível em: <https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/53653/1/Guia%20Trabalhos%20Pr%C3%A1ticos%20Hereditariedade%20e%20Evolu%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2023.

AQUADRO, C. F.; DUMONT, V. B.; REED, F. A. Genome-wide variation in the human and fruitfly: a comparison. **Current Opinion in Genetics and Development**, v. 11, n. 6, p. 627-634, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11682305/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

ARYA, H.; TRIVEDI, D. Illustrated anatomy of *Drosophila melanogaster*. In: LAKHOTIA, S. C.; RANGANATH, H. A. **Experiments with *Drosophila* for Biology Courses**. Bengaluru: Indian Academy of Sciences, 2021. Disponível em: https://ftp.flybase.org/flybase/associated_files/Experiments_with_Drosophila_for_Biology_Courses.pdf. Acesso em: 10 jul. 2024.

BAENAS, N.; WAGNER, A. A. *Drosophila melanogaster* as a model organism for obesity and type-2 diabetes mellitus by applying high-sugar and high-fat diets. **Biomolecules**, v. 12, n. 2, p. 307-320, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/2/307>. Acesso em: 09 jul. 2024.

BEERS, R. F.; SIZER, I. W. A. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 195, n. 1, p. 133-149, 1952.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R. **Ecologia**: de indivíduos a ecossistemas. Porto Alegre: Grupo A, 2023. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786558821083/>. Acesso em: 08 nov. 2023.

BIER, E. *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, n. 1, p. 9-23, 2005.

BORTOLINI, V. M. de S. et al. Efeito da farinha de chia (*Salvia hispanica* L.) sobre as taxas glicêmicas de *Drosophila melanogaster*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 8164-8169, 2021.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERST, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRISCHIGLIARO, M.; FERNANDEZ-VIZARRA, E.; VISCOMI, C. Mitochondrial neurodegeneration: lessons from *Drosophila melanogaster* models. **Biomolecules**,

v. 13, n. 2, p. 378-390, 2023. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36830747/>. Acesso em: 08 nov. 2023.

CABIA, B.; GARCÍA, A.; ARTERÓS, R. Moscas humanizadas. **Mètode Universitat de València**, Valência, 03 abr. 2012. Disponível em:

<https://www.jove.com/v/5082/drosophila-melanogaster-fruit-fly-as-a-model-organism>.

Acesso em: 08 nov. 2023.

CHAUDHARY, G. R. et al. Rearing and handling of *Drosophila* – A primer for laboratory experiments. In: LAKHOTIA, S. C.; RANGANATH, H. A. **Experiments with *Drosophila* for Biology Courses**. Bengaluru: Indian Academy of Sciences, 2021. Disponível em:

https://ftp.flybase.org/flybase/associated_files/Experiments_with_Drosophila_for_Biology_Courses.pdf. Acesso em: 10 jul. 2024.

CHENG, L.; BAONZA, A.; GRIFONI, D. *Drosophila* Models of Human Disease.

BioMed Research International, v. 2018, p. 1-2, 2018. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6136514/>. Acesso em: 08 nov. 2023.

CHIANG, H. C.; HODSON, A. C. An analytical study of population growth in *Drosophila melanogaster*. **Ecological monographs**, v. 20, n. 3, p. 173-206, 1950.

COLPO, A. C. et al. *Ilex paraguariensis* extracts extend the lifespan of *Drosophila melanogaster* fed a high-fat diet. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 2, p.1-11, 2017.

CONCEA – CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Normativas do CONCEA para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica**. 3. ed. Brasília:

CONCEA, 2016. Disponível em: <https://www.ceua.ufv.br/wp-content/uploads/2018/08/NORMATIVAS-DO-CONCEA-3%C2%AA-EDI%C3%87%C3%83O2.pdf>. Acesso em: 08 jul. 2024.

FREIRE-MAIA, Newton; PAVAN, Crodowaldo. Introdução ao estudo da drosófila. **Revista Cultus**, v. 1, n. 5, p. 3-61, 1949.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets**, v. 9, n. 4, p. 504-523, 2010.

JEIBMANN, A.; PAULUS, W. *Drosophila melanogaster* as a model organism of brain diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 2, p. 407-440, 2009.

JoVE Science. Uma Introdução a *Drosophila melanogaster*. Education Database. **Biology I: *Drosophila* and *C. elegans***. JoVE, Cambridge, 2023. Disponível em:<

<https://www.jove.com/v/5082/drosophila-melanogaster-fruit-fly-as-a-model-organism?language=Portuguese>>. Acesso em: 08 nov. 2023.

LLOYD, T. E.; TAYLOR, J. P. Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1184, n. 1, p. E1-E20, 2010.

MARTINS, L. A-C P. Thomas Hunt Morgan e a teoria cromossômica: de crítico a defensor. *Episteme*, v. 3, n. 6, p. 100-126, 1998.

MIAO, Y. et al. *Drosophila melanogaster* diabetes models and its usage in the research of anti-diabetes management with traditional Chinese medicines. **Frontiers in Medicine**, v. 9, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2022.953490/full>. Acesso em: 20 mar. 2024.

MISRA, H.P; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MORGAN, T. H.. Sex limited inheritance in *Drosophila*. **Science**, v. 32, n. 812, p. 120-122, 1910.

MUSACHIO, E. A. S. et al. Bisphenol A exposure during the embryonic period: Insights into dopamine relationship and behavioral disorders in *Drosophila melanogaster*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 157, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34461193/>. Acesso em: 08 jul. 2024.

PENG, C. et al. Black tea theaflavins extend the lifespan of fruit flies. **Experimental gerontology**, v. 44, n. 12, p. 773-783, 2009.

PENG, C.; ZUO, Y.; KWAN, K. M.; LIANG, Y.; MA, K. Y.; CHAN, H. Y. E. C.; HUANG, Y.; YU, H.; CHEN, Z. Y. Blueberry extract prolongs lifespan of *Drosophila melanogaster*. **Experimental Gerontology**, v. 47, n. 2, p. 170-178, 2012.

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.

RUBIN, G. M. *Drosophila melanogaster* as an experimental organism. **Science**, Nova Iorque, v. 240, n. 4858, p. 1453-1459, 1988. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3131880/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

SALGADO-CANALES, D. et al. Effect of time-restricted feeding on high-fat diet-induced metabolic dysfunction in *Drosophila melanogaster*. **Biochimica et Biophysica Acta**, p. 166749, 2023.

SEPEL, L. M. N.; LORETO, É. L. S. 2010: um século de *Drosophila* na genética. **Genética na escola**, Santa Maria, p. 42-47, 2010.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Estudo dos Insetos**: Tradução da 7ª edição de Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects - 2ª edição brasileira. São Paulo: Cengage Learning Brasil, 2016.

XIAO, G. Methods to assay the behavior of *Drosophila melanogaster* for toxicity study. In: **Environmental Toxicology and Toxicogenomics: Principles, Methods, and Applications**. New York, NY: Springer US. p. 47-54, 2021.



MISSÃO

Produzir e socializar o conhecimento para a formação de sujeitos socialmente responsáveis que contribuam para o desenvolvimento global.

