

APLICAÇÃO DE MODELO DIDÁTICO PARA IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA DO SEXO EM TUCANOS COM A UTILIZAÇÃO DE ENZIMA DE RESTRIÇÃO NA ANÁLISE DE SEQUENCIAMENTO DE DNA

Mauro Osvaldo Medeiros¹
Sueli Maria Alves¹
Marcelo Teiji Kimura²

RESUMO: A utilização de tecnologias de análise molecular da variabilidade do DNA pode auxiliar na resolução de problemas importantes como o da distinção entre machos e fêmeas para a formação de casais que possam viabilizar a continuidade de espécies de aves ameaçadas que não apresentem dimorfismo sexual. Este trabalho teve como objetivo a aplicação de um modelo didático simulando uma análise genética fictícia para identificação do sexo em tucanos, destacando a utilização de enzima de restrição na ordem das sequências das bases nitrogenadas de DNA, dos cromossomos sexuais (Z/W) das aves e, assim, contribuir para o processo ensino-aprendizagem dos alunos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT. Para a realização dessa atividade foi disposto aos estudantes uma representação figural/simbólica/numérica que envolve a determinação do sexo presente em cada amostra. Para isso, simulou-se o tratamento das sequências de bases nitrogenadas de DNA com a enzima de restrição Bam HI, que é capaz de reconhecer unidades de repetições GGATCC, permitindo identificar os genes alelos: CHD-Z e CHD-W. Concluiu-se que o modelo didático apresentado causou grande motivação nos estudantes, podendo ser estrategicamente aplicado como um eixo integrador de temas que envolvam a genética e a biologia molecular, pois, os licenciandos conseguiram reconhecer a importância da utilização das enzimas de restrição, como ferramenta auxiliadora nos processos de investigações científicas e para o entendimento da existência de variações entre os tamanhos dos fragmentos que foram gerados por meio da aplicação da enzima Bam HI nas sequências das bases nitrogenadas de DNA (pb) dos machos homogaméticos (ZZ) e das fêmeas heterogaméticas (ZW) de tucanos.

Palavras-chave: Sequenciamento de DNA, Identificação sexual, PCR, CHD-Z/W, Enzima de restrição.

APPLICATION OF DIDACTIC MODEL FOR GENETIC SEX IDENTIFICATION IN TOUCANS USING RESTRICTION ENZYMES IN DNA SEQUENCING ANALYSIS

ABSTRACT: The use of molecular analysis technologies of DNA variability can help in solving important problems such as the distinction between males and females for the formation of couples that can enable the continuity of endangered bird species that do not present sexual dimorphism. The objective of this work was the application of a didactic model simulating a fictitious genetic analysis for sex identification in toucans, highlighting the use of restriction enzyme in the sequence order of the nitrogenous bases of DNA, of the sex chromosomes (Z/W) of the birds and, thus, contribute to the teaching-learning process of the students of the Degree in Biological Sciences at UFR/MT. To carry out this activity, students were given a figural/symbolic/numerical representation that involves determining the sex present in each sample. For this, the treatment of DNA nitrogenous base sequences was simulated with the restriction enzyme Bam HI, which is capable of recognizing GGATCC repeat units, allowing to identify the allele genes: CHD-Z and CHD-W. It was concluded that the didactic model presented caused great motivation in the students, and can be strategically applied as an integrating axis of themes that involve genetics and molecular biology, since the undergraduate students were able to recognize the importance of using restriction enzymes as a tool aiding in the processes of scientific investigations and for the understanding of the existence of variations between the sizes of the fragments that were generated through the application of the enzyme Bam HI in the sequences of the nitrogenous bases of DNA (pb) of the homogametic males (ZZ) and of the heterogametic females (ZW) of toucans.

Keywords: DNA sequencing, Sex identification, PCR, CHD-Z/W, Restriction enzyme.

¹Professor Associado do Dep. Biologia ICEN/CUR/UFMT: mauroosvaldo@bol.com.br;
sumalves@yahoo.com.br;

²Biólogo e bacharel da Ciência da Computação, marcelokimura99@gmail.com

INTRODUÇÃO

A disciplina de Genética encontra-se presente na matriz curricular do curso de graduação das áreas de bacharelado e de licenciatura em ciências biológicas. E muitos dos seus alunos apresentam dificuldades em criar uma imagem mental e colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos.

Diante dessa realidade, modelos didáticos vêm sendo úteis no ensino-aprendizagem de difícil entendimento como é o caso da relação da genética com a biologia molecular, buscando solidificar os conhecimentos nestas duas áreas, além de mostrar aos alunos que os conteúdos se complementam.

Para Moura et al. (2013) os alunos devem ter a capacidade de avaliar as vantagens e desvantagens das aplicações científicas e tecnológicas que são atualmente feitas com a utilização do DNA, considerando valores éticos, morais, religiosos, ecológicos e econômicos. No entanto, segundo Medeiros et al. (2021); Medeiros, Alves e Kimura (2023), muitos alunos têm dificuldade em assuntos que envolvem a participação simultânea de genética e biologia molecular, como a análise de genomas, sequenciamento das moléculas de DNA de um organismo e sua comparação no nível molecular com outros seres vivos quando isso é apresentado nos moldes tradicionais, conteudista, não sendo utilizados diferentes recursos e metodologias para a implementação das aulas.

Os autores Fabrício et al. (2006) citaram que é necessário que as aulas no Ensino Médio ou Superior possibilitem a compreensão das leis de Mendel e os mecanismos da transmissão dos caracteres hereditários, permitindo ao aluno, inserí-lo em outras disciplinas e relacioná-los a outros conteúdos. Além disso, Medeiros, Alves e Kimura (2022) mencionaram que os alunos precisam reconhecer que a genética proporciona avanços em diversos campos da sociedade, especialmente destacando a utilização de técnicas de biologia molecular na identificação do DNA.

Segundo Pierce (2016) um dos principais objetivos da Genética é auxiliar os alunos no que diz respeito, a desvendar os principais conceitos genéticos e estabelecer conexões, contribuindo para uma aprendizagem ampla e integradora. Dessa forma, uma alternativa para a aplicação prática desse referencial teórico de forma mais dinâmica, seria a aplicação de modelos didáticos que contemplassem essas matérias e dessa forma pudessem trazer uma visão mais aproximada desse mundo abstrato aos estudantes, melhorando, assim, sua compreensão sobre o conteúdo abordado.

Assim, segundo Medeiros et al. (2021) a aplicação de simulações ou modelos didáticos torna-se fundamental para explicar os processos envolvidos na hereditariedade. Especificamente, tratar das leis de Mendel e algumas de suas derivações, bem como conhecimentos que possibilitem aos alunos compreender as tecnologias ligadas à manipulação do DNA.

Modelos têm sido empregados como ferramentas auxiliares constituindo como uma estratégia de ensino eficiente que facilita o aprendizado através de representações de conceitos, permitindo que os conteúdos teóricos de diversos temas, sejam revistos nas aulas com mais interatividade e dinamismo (EICHLER & DEL PINO, 2000; BARAB et al., 2000; MEDEIROS & MEDEIROS, 2002; CAVALCANTE & SILVA, 2008; SOBRINHO & BORGES, 2010; MENDONÇA & SANTOS, 2011; MEDEIROS & RODRIGUES, 2012; DUSO, 2012; KLAUBERG, 2015; MEDEIROS et al., 2021; MEDEIROS, ALVES E KIMURA, 2022; 2023).

Assim, utilização de tecnologias de análise molecular da variabilidade do DNA podem auxiliar na resolução de problemas importantes como o da distinção entre machos e fêmeas para a formação de casais que possam viabilizar a continuidade de espécies ameaçadas, haja visto que, quase metade das aves presentes no planeta não apresentam dimorfismo sexual, ou seja, não possuem características fenotípicas que as diferenciam sexualmente, como tamanho ou

coloração das penas (POUGH & HARVEY, 1999). Assim, a sexagem destaca-se como técnica promissora pela segurança e facilidade de execução (Goldschmidt et al., 1999), de modo que, em aves, é realizada principalmente, a partir de técnicas como o PCR e a cariotipagem, que explora a diferença entre os cromossomos alossomos das aves que não apresentam o dimorfismo sexual (JUSTINO et al., 2016).

Este trabalho teve como objetivo a aplicação de um modelo didático simulando uma análise genética fictícia para identificação do sexo em tucanos, destacando a utilização de enzima de restrição na ordem das sequências das bases nitrogenadas de DNA, dos cromossomos sexuais (Z/W) das aves e, assim, contribuir para o desenvolvimento dos alunos do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta atividade foi realizada na Universidade Federal do município de Rondonópolis do Estado de Mato Grosso, utilizando-se do método quanti-qualitativo de natureza estruturada, destacando a utilização das técnicas de biologia molecular para auxiliar na distinção entre machos e fêmeas de tucanos.

Os sujeitos que participaram do estudo foram 28 (vinte e oito) alunos do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Exatas e Naturais, sendo 36,0% de sexo masculino e 64,0% de sexo feminino, com faixa etária entre 18 e 36 anos.

Para a resolução da atividade foi elaborado uma sequência didática dividida em duas aulas, de 50 minutos/cada. A atividade de investigação foi organizada em dois momentos, da seguinte forma:

A primeira aula (50 min) foi composta pela parte introdutória do tema abordado, de maneira que os alunos pudessem se contextualizar, compreender e se envolver com o tema relacionado. E nesse sentido, os alunos foram orientados com conhecimentos teóricos de hereditariedade ligada ao sexo e da aplicação de enzimas de restrição na identificação de variantes genéticas e padrões de hereditariedade, a fim de que adquirissem conhecimentos científico e tecnológico relacionados às diferenças que caracterizam os cromossomos sexuais, os alossomos Z e W.

Na segunda aula (50 min) foi aplicada uma atividade que consistiu numa simulação prática de uma análise genética de sexagem molecular de um grupo fictício de tucanos baseada na análise de amostras de segmentos de DNA. Foram usadas enzimas de restrição ou endonucleases para que as sequências se tornassem visíveis e pudessem ser detectados os genes CHD – Z e CHD – W que estão localizados nos cromossomos sexuais ou alossomos das aves. Lembrando aos alunos que o gene CHD – W, localiza-se no cromossomo W, somente nas fêmeas, e o gene CHD – Z é encontrado no cromossomo Z, ocorrendo em ambos os sexos.

Modelo didático apresentando sequências hipotéticas de DNA de tucanos

O modelo didático (Figura 1), foi elaborado associando biologia molecular e genética. Nessa atividade de caráter investigativo, foi considerado a aplicação do uso do exame de DNA em teste de identificação dos genes CHD – Z e CHD – W que constituem o par de cromossomos sexuais nos tucanos.

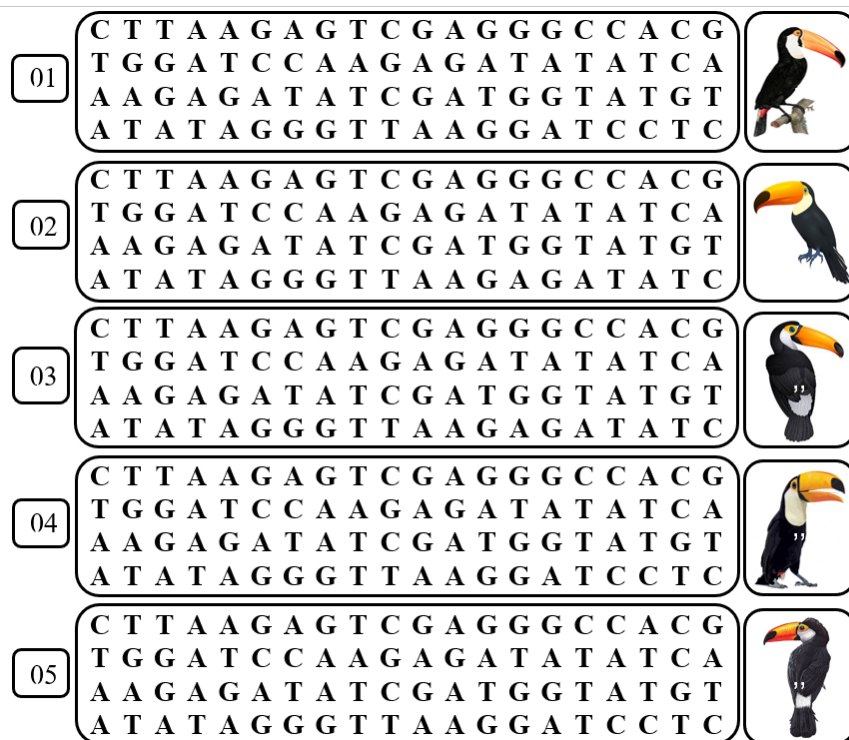


Figura 1. Modelo didático confeccionado com perspectivas de utilização no processo de ensino e aprendizagem de genética, ilustrando hipoteticamente a informação genética, do DNA que permite reconhecer genes CHD – Z e CHD – W localizados no par de cromossomos sexuais ou alossomos no grupo de tucanos. (Fonte: Os autores, 2023).

Os alunos receberam amostras que simulavam as sequências de nucleotídeos 01, 02, 03, 04 e 05, devidamente identificados por 80 letras cada. A letra A correspondia a base Adenina, a letra T a base Timina, a letra C a base Citosina e a letra G a base Guanina.

A finalidade foi analisar o DNA com a enzima de restrição *Bam* HI que é capaz de reconhecer unidades de repetições **GGATCC** ao longo da sequência de nucleotídeos, permitindo a identificação simbólica dos genes CHD – Z e CHD – W, responsáveis pelo sexo das cinco aves. Para isso, quando a sequência **GGATCC** fosse encontrada, os alunos deveriam destacar, colorindo artificialmente de cinza. E em seguida deveriam clivar entre a primeira e a segunda Guanina toda vez que encontrassem a sequência: **G~~G~~A T C C**.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A espécie *Ramphastos toco*, também conhecida como tucano-toco ou tucanuçu (Figura 2), se destaca como o maior de todos os tucanos, apresentando em média 56 cm de comprimento e 540 g de massa. Ele é encontrado no cerrado e florestas do interior do Brasil, ocorrendo em áreas semiabertas e fechadas. Possui penas pretas em grande parte de seu corpo. Na região do pescoço, as penas são brancas. Ao redor dos olhos, a pele é nua e apresenta cor laranja ou amarela. A pálpebra do tucano-toco é azul-turquesa. O bico do tucano-toco é largo, longo, com tonalidade alaranjada vibrante, estrias rubras perpendiculares ao eixo principal e uma mancha negra na extremidade.

Essa espécie de tucano se alimenta de frutos carnosos e arilos de sementes de diferentes espécies, além de ovos e filhotes de outras espécies de aves. São observados vivendo em bandos de cerca de 20 indivíduos e durante o período reprodutivo, são separados em casais.

Para nidificar, encontram cavidades em ocós de árvores e usam o bico para deixá-las do tamanho ideal. Colocam de dois a quatro ovos, os quais apresentam incubação de cerca de 16 dias. Esses tucanos são monogâmicos e vivem, em média, 40 anos.



Figura 2. Casal de *Ramphastos toco*, também conhecido popularmente como tucano-toco ou tucanuçu.

O sexo nos tucanos é determinado através dos cromossomos sexuais, também chamados heterossomos ou alossomos. Os outros cromossomos do organismo são chamados autossomos. E o cromossomo sexual comum a machos e fêmeas é o cromossomo Z, e o cromossomo sexual presente apenas em fêmeas é o cromossomo W, de forma que machos apresentam dois cromossomos Z (ZZ), sendo por isso chamados de homogaméticos, e fêmeas um cromossomo Z e um cromossomo W (ZW), sendo por isso chamadas de heterogaméticas. Desse modo, como o processo que dá origem às células sexuais é a meiose, podemos concluir que metade dos óvulos produzidos pela fêmea possuem cromossomo Z e a outra metade, o cromossomo W. Já nos machos todos os espermatozoides apresentam somente o cromossomo Z. A determinação do sexo ocorre no momento da fecundação, se o óvulo que possua o cromossomo W, for fecundado por um espermatozóide com cromossomo Z, o embrião se desenvolverá originando uma fêmea; mas se o óvulo que possua o cromossomo Z for fecundado por um espermatozóide que possua um cromossomo Z, o embrião se desenvolverá e originará um macho. Dessa forma, podemos dizer que no sistema ZW a determinação do sexo dos descendentes é feita pelo gameta feminino, pois somente ele contém o cromossomo Z ou o cromossomo W.

Assim, os cromossomos sexuais nos tucanos são iguais nos machos e diferentes nas fêmeas.

Nestas, o cromossomo do tipo W possui genes, tamanho e morfologia diferentes daqueles do cromossomo do tipo Z. Nesse caso, segundo Fridolfsson e Ellegren (2000); Ezaz et al. (2006), o cromossomo Z tem o tamanho muito uniforme para todas as espécies de aves, mas o cromossomo W varia de tamanho na maioria delas.

A Figura 3, representa, respectivamente, os cromossomos sexuais de um macho (ZZ) e de uma fêmea (ZW) de tucano. O cromossomo W está presente em todos os descendentes do sexo feminino.

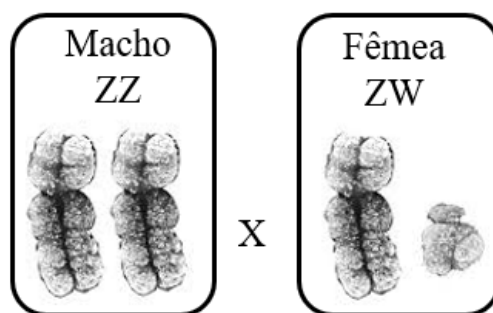


Figura 3. Esquema apresentando cromossomos alossomos duplicados constituído por dois filamentos de DNA iguais (cromátides irmãs) interligados na região do centrômero.

A Figura 4, mostra, respectivamente, as sequências de DNA 01, 02, 03, 04 e 05, com 80 letras cada, destacando o material genético dos tucanos com os sítios de restrição da enzima *Bam* HI, colorido em cinza pelos alunos, para que se tornassem visíveis as unidades de repetições GGATCC utilizada para identificação do gene sexual. Segundo Chistiakov (2005) essas sequências repetidas por serem curtas são hipervariáveis e seguem o padrão mendeliano de segregação.

Na ordem das sequências das bases nitrogenadas dos tucanos 01, 04 e 05, foram identificados dois sítios de restrições e nas dos tucanos 02 e 03, um sítio de restrição (Figura 4).

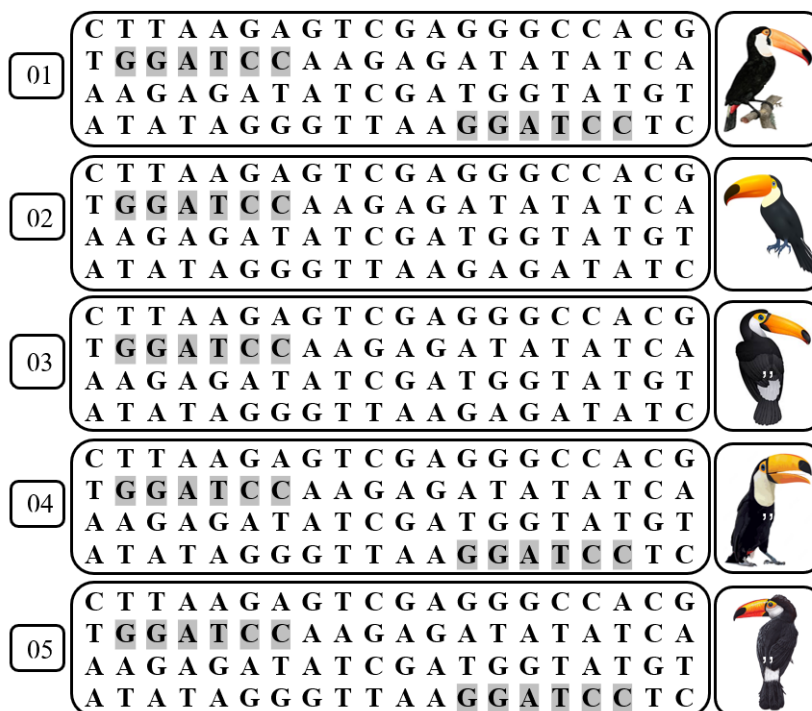


Figura 4. Segmentos hipotéticos de DNA com 80 letras cada dos Tucanos 01, 02, 03, 04 e 05, exemplificando nessa simulação os sítios de restrição com sequência GGATCC.

A Tabela 1, mostra, respectivamente, as sequências de DNA 01, 02, 03, 04 e 05, com 80 letras cada, destacando o material genético dos tucanos com os sítios de restrição da enzima *Bam* HI, coloridos em vermelho, ilustrando uma tesoura nas unidades de repetições GGATCC cortando a sequência de DNA entre a primeira e a segunda guanina quando reconhecida.


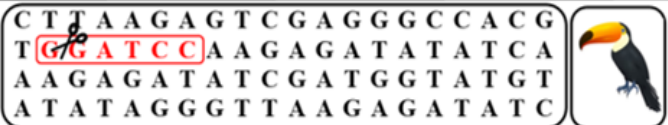
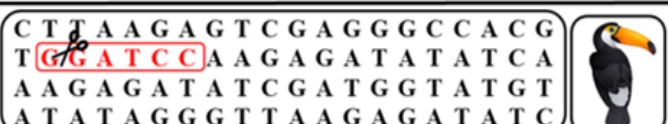
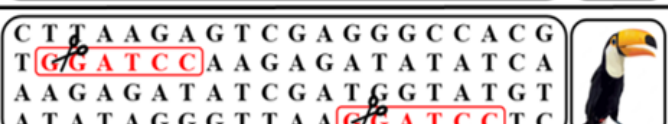
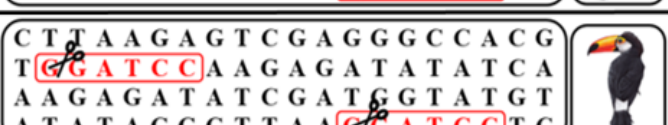
Assim, quando a sequência GG fosse encontrada, os alunos deveriam desenhar uma tesoura separando G de G. Em seguida deveriam contar o número de bases nitrogenadas de

cada fragmento e registrar os resultados. Desse modo, obtêm-se os fragmentos distintos de moléculas de DNA, pois a enzima de restrição atua como tesoura molecular, que corta o DNA em sequências específicas.

Na ordem das sequências das bases nitrogenadas dos tucanos 01, 04 e 05, foram reconhecidos dois sítios de *Bam* HI, que se encontram distantes um do outro em cerca de 51 pb e, nos tucanos 02 e 03, um sítio de restrição distante a 22 pb de uma das extremidades (Tabela 01).

Essa técnica, tem como vantagem o fato de ser de execução fácil e rápida, oferecendo muitos dados para serem analisados. A enzima de restrição *Bam* HI atuou como uma marca digital que pode ser localizada em partes do DNA dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05. Essas marcas que variaram entre as sequências de DNA dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05, são herdadas geneticamente.













Tabela 1. Sequência hipotética de DNA dos Tucanos 01, 02, 03, 04 e 05, exemplificando a tesoura separando G de G pela enzima de restrição *Bam* HI, permitindo identificar os sítios de restrição e distância em pb.

Ação da enzima de restrição <i>Bam</i> HI nas sequências do DNA Comprimento da sequência de DNA: 80 pb	Nº sítios de <i>Bam</i> HI	Distância em pb
01 	2	51 pb entre eles
02 	1	22 pb da extremidade
03 	1	22 pb da extremidade
04 	2	51 pb entre eles
05 	2	51 pb entre eles

A Tabela 2, mostra, respectivamente, as sequências de DNA 01, 02, 03, 04 e 05, com 80 letras após o DNA ser fragmentado em pedaços pela enzima de restrição *Bam* HI. Ao comparar os tamanhos dos fragmentos gerados, verificou-se que existem diferenças em número de bases nitrogenadas (pb).

Na ordem das sequências das bases nitrogenadas dos tucanos 01, 04 e 05, foram reconhecidos fragmentos com tamanhos de 7 pb, 22 pb e 51 pb e dois sítios de *Bam* HI. E na dos tucanos 02 e 03, fragmentos com tamanhos de 22 pb e 58 pb e um sítios de *Bam* HI. Por meio desses fragmentos é possível demonstrar o sexo das aves estudadas.

Tabela 2. Esquema demonstrando os diferentes tamanhos dos fragmentos (pb), gerados pela enzima de restrição *Bam* HI e que permite a identificação de variantes genéticas que diferenciam o macho da fêmea dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05.

Tucanos	Tamanhos (pb) gerados após a ação da enzima <i>Bam</i> HI
01 	<p>CTTAAGAGTCGAGGGGCCACGT ^{22 pb} </p> <p>GATCCAAGAGATATATCAAAGAGATATCGATGGTATGTATATAGGGTTAAG ^{51 pb} </p> <p>GATCC ^{7 pb} TC</p>
02 	<p>CTTAAGAGTCGAGGGGCCACGT ^{22 pb} </p> <p>GATCCAAGAGATATATCAAAGAGATATCGATGGTATGTATATAGGGTTAAGAGATATC ^{58 pb}</p>
03 	<p>CTTAAGAGTCGAGGGGCCACGT ^{22 pb} G</p> <p>GATCCAAGAGATATATCAAAGAGATATCGATGGTATGTATATAGGGTTAAGAGATATC ^{58 pb}</p>
04 	<p>CTTAAGAGTCGAGGGGCCACGT ^{22 pb} </p> <p>GATCCAAGAGATATATCAAAGAGATATCGATGGTATGTATATAGGGTTAAG ^{51 pb} </p> <p>GATCC ^{7 pb} TC</p>
05 	<p>CTTAAGAGTCGAGGGGCCACGT ^{22 pb} </p> <p>GATCCAAGAGATATATCAAAGAGATATCGATGGTATGTATATAGGGTTAAG ^{51 pb} </p> <p>GATCC ^{7 pb} TC</p>

A Figura 5, simula o processo de determinação do perfil eletroforético relativo ao sexo dos tucanos feito após as sequências de DNA 01, 02, 03, 04 e 05, serem fragmentadas em pedaços pela enzima de restrição *Bam* HI. Os fragmentos obtidos foram de quatro tipos: 7 pb, 22 pb, 51 pb e 58 pb. Esses quatro tipos de fragmentos podem ser detectados do lado esquerdo na primeira coluna do diagrama do perfil eletroforético do DNA de cada tucano, onde observa-se uma régua numerada, pelo seu tamanho relativo.

Na segunda coluna os quatro tipos de fragmentos podem ser detectados representados por bandas monomórficas (Padrão), distribuídos em faixas por ordem de tamanho coloridas artificialmente em azul e verde.

Nas colunas verticais seguintes das amostras 01, 02, 03, 04 e 05, as bandas se distribuem possuindo diferenças no seu comprimento. E assim, é possível observar que cada tucano envolvido, pode ser identificado por duas ou três imagens de bandas. Essas bandas (Padrão) são informações genéticas que são herdadas de maneira mendeliana, sendo que, cada uma delas é passada de uma geração para a outra, no momento da concepção.

Desse modo, a leitura que pode ser feita, após a observação dessas bandas (Padrão), permite a comparação do perfil genético do DNA entre todas as amostras dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05, possibilitando a confirmação e identificação do sexo dos tucanos estudados.

Quando se relaciona as interseções de alinhamentos, relativos as bandas 7 pb, 22 pb, 51 pb e 58 pb com os mesmos números na coluna vertical das amostras dos tucanos 01, 02, 03, 04

e 05, verificou-se que todas elas, possuem uma banda em comum com o mesmo peso molecular. Esta banda é um fragmento composto por aproximadamente 22 pb e está presente em 100,0% das amostras. Assim supõe-se que essa banda, artificialmente colorida em verde (Figura 4), seja a responsável pelo gene CHD – Z.

Segundo Modi & Crews (2005), as aves fêmeas têm duas cópias de um cromossomo em particular, ZZ. Portanto a banda de 22 pb é tomada como base de comparação em relação a todos as outras bandas. A sequência de bases nitrogenadas dessa banda pode ser visualizada na Tabela 2.

Também é possível através das bandas 7 pb (verde), 51 pb (azul) e 58 pb (verde) quando comparadas às bandas das amostras dos tucanos (02 e 03) com as dos tucanos (01, 04 e 05), verificar que não existe nenhuma ligação biológica identificada entre essas aves. Sendo justamente essas bandas que fazem nesse caso, os tucanos geneticamente diferentes em relação ao sexo.

Foi observado nas sequências de bases nitrogenadas das amostras dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05, que os genes CHD – Z e CHD – W podem ser discriminados pela presença ou ausência de sítios de restrição específicos por meio da enzima *Bam* HI. Assim, como os tamanhos dos fragmentos de moléculas de DNA dos alelos CHD – W e do CHD – Z são diferentes, machos e fêmeas dos tucanos podem ser facilmente identificados.

Deste modo, quando se usou a enzima de restrição, as fêmeas de tucanos (01, 04 e 05) puderam ser identificadas por três imagens de bandas: 7 pb e 51 pb (azul) e 22 pb (verde). Isso porque a enzima corta a sequência de bases nitrogenadas em duas regiões, gene CHD – Z e gene CHD – W. E os machos (02 e 03) por duas imagens de bandas: 22 pb e 58 pb (verde). Isso porque a enzima corta a sequência de bases nitrogenadas em apenas uma região, gene CHD – Z (Tabela 2 e Figura 5).

Segundo Schartl (2004) o cromossomo sexual W possui o alelo dominante em relação ao gene presente no cromossomo Z. Portanto, no caso das amostras 01, 02, 03, 04 e 05, a interpretação foi feita considerando o genótipo das amostras de DNA (01, 04 e 05) que apresentam a ocorrência de três bandas no gel de eletroforese, ou seja, manifesta-se como heterozigotas (ZW). As sequências das amostras de DNA (02 e 03) apresentam a ocorrência de duas bandas no gel de eletroforese, ou seja, manifestando-se como homozigotas (ZZ).

Segundo Vieira, Coelho e Oliveira (2011) ensaios de sexagem molecular em aves são geralmente baseados no gene CHD, localizado no cromossomo W, único para fêmeas. Seu alelo, CHD – Z, é encontrado no cromossomo Z e ocorre em ambos os sexos (ZW em fêmeas e ZZ em machos).

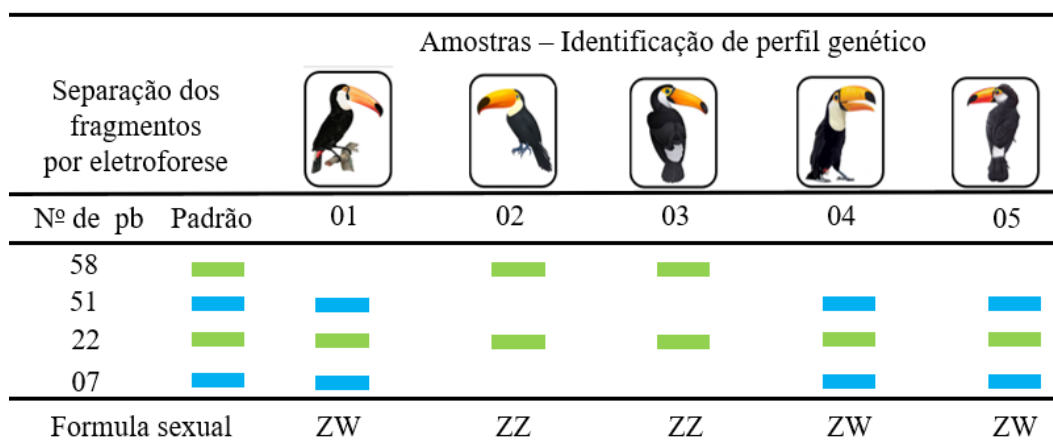


FIGURA 5. Esquema demonstrando a eletroforese de DNA. Cada padrão corado em verde e azul, também chamado de banda, representa um fragmento de DNA que permite identificar os sexos dos tucanos 01, 02, 03, 04 e 05. (Fonte: Os autores, 2023).

A Tabela 3, ilustra que o material genético na espécie de tucano *Ramphastos toco*, distribui-se em 114 cromossomos (57 pares), 112 autossomos e 2 alossomos, heterossomos ou cromossomos sexuais. Os cromossomos homólogos são os pares formados pelos 56 pares de cromossomos autossomos e 1 par de cromossomos sexuais nas células diplóides (2n).

Em cada célula somática (2n) do tucano macho e da fêmea, existem 114 cromossomos (2n = 114) e em cada gameta 57 cromossomos (n = 57). O conjunto haplóide (n) de autossomos de

uma célula é representada pela letra A. Assim, no macho a constituição cromossômica das células diplóides (2n) é representada por 112A + ZZ e a dos gametas, células haplóides (n) por ele produzidos, 56A + Z; na fêmea 112A + ZW e os gametas, 56A + Z e 56A + W. De acordo com os cromossomos sexuais, o sexo masculino é chamado de homogamético, porque gera só um tipo de gameta, enquanto o sexo feminino é chamado de heterogamético, porque gera dois tipos.

Estudos morfológicos dos cromossomos mostraram que há dois exemplares idênticos em

cada célula diplóide (2n). Portanto, nos núcleos existem pares de cromossomos que são homólogos. Denominamos (n) o número básico de cromossomos de uma espécie, portanto as células

diploides apresentarão em seu núcleo (2n) cromossomos e as haplóides (n) cromossomos (Tabela 3).

Na fecundação são 57 cromossomos que vêm do ancestral macho através dos espermatozoides e 57 vindos da ancestral fêmea, através do óvulo. Isso totaliza 114 cromossomos, que dão origem à célula ovo ou zigoto, que, por sua vez, se transformará no embrião e no feto, até o nascimento do novo tucano, transmitindo-lhe a maioria das suas características e predisposições. Assim, as fêmeas de tucanos são descritas como 112A + ZW, e os machos como 112A + ZZ. No processo da fecundação o macho transmite 56A + X para seu descendente através do espermatozoide e a fêmea, através do óvulo, transmite 56A + Z ou 56A + W e também se torna a responsável pela determinação do sexo.

No mapeamento de restrição no caso das fêmeas, a variação é manifestada pelas faixas 7 pb, 22 pb e 51 pb e no dos machos, a variação é manifestada pelas faixas 22 pb e 58 pb em verde (Tabela 3).






Tucanos (Amostras)	Variantes genéticas		Constituição cromossômica (Cariótipo)
	Gene CHD - Z (pb)	Gene CHD - W (pb)	
01 	22 pb	7 pb 51 pb	112A + ZW
02 	22 pb 58 pb	—	112A + ZZ
03 	22 pb 58 pb	—	112A + ZZ
04 	22 pb	7 pb 51 pb	112A + ZW
05 	22 pb	7 pb 51 pb	112A + ZW

Tabela 3. Valores (pb) do comprimento das sequências de DNA dos cromossomos sexuais (Alossomos) de cinco tucanos que permite identificar os cariótipos das aves estudadas na Figura 1.

O modelo didático (Figura 1) simulando uma análise genética fictícia para identificação genética do sexo em tucanos destacando a utilização de enzima de restrição na análise da ordem das sequências das bases nitrogenadas de DNA, contribuiu para facilitar e desmistificar o ensino deste assunto considerado difícil por muitos licenciandos que ainda possuíam uma visão segregada sobre o tema.

Com esta atividade, os licenciandos consolidaram conhecimentos teóricos de hereditariedade mendeliana clássica ligada ao sexo (Figura 3) e do uso de enzimas de restrição (Tabelas 1, 2 e 3) e eletroforese em gel (Figura 5) na identificação de variantes genéticas que diferenciam o macho da fêmea (Tabela 3). Além da teoria, a atividade integrou, ainda, a componente tecnológica e promoveu a aprendizagem de técnicas de biologia molecular.

Desta forma verificamos que é muito importante o desenvolvimento deste tipo de material, e de disponibilizá-lo. Pois consideramos que uma disciplina, como a de genética e biologia molecular, que apresentam conceitos complexos de difícil entendimento, não pode ser apresentada aos alunos apenas na forma teórica e sim apoiada num conjunto de atividades que contribuam para aprimorar os conhecimentos.

Segundo Medeiros, Alves e Kimura (2022; 2023), os esquemas que são produzidos pelos modelos didáticos tornam clara a relação entre o teórico e o real, complementando explicações teóricas apresentadas e, auxiliando na transformação do conhecimento abstrato em significativo.

Portanto, a aplicação deste modelo didático, pode sem dúvida auxiliar muitos licenciandos que encontravam dificuldades nos conteúdos apresentados, pois tiveram opções de atividades que puderam ser adaptadas e desenvolvidas em sala de aula (Figuras 2, 3, 4 e 5; Tabelas 1, 2 e 3).

Freire (2015) afirmou que é necessário, na formação de docentes, que o professor não fique parado no tempo, sendo imprescindível a busca por metodologias que permitam que as aulas sejam mais proativas, com materiais não convencionais e tentativas de discussão de técnicas, aguçando a curiosidade do estudante, fazendo com que ele se questione e, seja um investigador ativo.

Setúval & Bejarano (2009) relataram que após a produção de modelos didáticos para apoio pedagógico em sala de aula, foi observado aulas mais dinâmicas com fixação dos conteúdos, promovendo novas perspectivas aos discentes. Portanto, permitindo a criatividade e socialização dos conhecimentos pelos alunos, ao utilizar estas ferramentas na construção do conhecimento.

Portanto, como descrito por Guimarães & Ferreira (2006); Justina & Ferla (2006); Cavalcante e Silva (2008); Temp & Bartholomei-Santos (2013); Medeiros et al. (2021); Medeiros, Alves e Kimura (2022 e 2023), este tipo de recurso de ensino é considerado uma ferramenta valiosa de aprendizagem, tornando a aula mais diversificada, dinâmica e atrativa, ao mesmo tempo em que auxiliam o professor na execução de diferentes conteúdos em suas aulas.

CONCLUSÃO

Concluiu-se através da participação ativa dos estudantes, que a utilização desse modelo didático levou a um maior interesse pelo conteúdo, e que sem dúvida motivou e contribuiu para a melhor aprendizagem, podendo ser estrategicamente aplicado como um eixo integrador de temas que envolvem a genética e a biologia molecular.

Outra observação de grande relevância foi que os licenciandos conseguiram reconhecer a importância da utilização das enzimas de restrição, como ferramenta auxiliadora nos

processos de investigações genéticas e para o entendimento de que a existência de variações entre os tamanhos dos fragmentos que foram gerados por meio da aplicação da enzima *Bam* HI nas sequências das bases nitrogenadas de DNA (pb) foram os responsáveis pela identificação dos machos homogaméticos (ZZ) e das fêmeas heterogaméticas (ZW) de tucanos.

Este modelo didático também possibilitou aprendizagem construtivista e a socialização, promovendo o trabalho em grupo. E dessa forma, exercitou a habilidade dos licenciandos em respeitar as diferentes opiniões e tomar decisões para a construção das figuras e das tabelas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLGAYER, M.C & CZIULIK, M. Reprodução de psitacídeos em cativeiro. Captive psittacines breeding. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.31, n.3, p.344-350, jul./set.2007. Disponível em www.cbra.org.br
- BARAB, S. A.; HAY, K. E.; BARNETT, M. & KEATING, T. Virtual Solar System Project: Building Understanding through Model Building. Journal of Research in Science Teaching, 37 (7), 719 – 756. 2000.
- BRASIL. Ministério da Educação. Especialização em Tecnologias Aplicadas ao Ensino de Biologia. 2. ed. Goiânia: UFG/Ciar, 2012.
- BRASIL. Parâmetros Curriculares Nacionais – PCNs: ensino médio. Brasília: MEC/SEMTEC, 2002.
- CAVALCANTE, D.; SILVA, A. Modelos didáticos e professores: concepções de ensino aprendizagem e experimentações. In: XIV Encontro Nacional de Ensino de Química, Curitiba, UFRP. 2008.
- CHISTIYAKOV, D. A.; HELLEMANS, B.; VOLCKAERT, F. A. M. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: a review with special reference to fish genetics. Aquaculture 255: 1 – 29. 2005.
- DUSO, L. O uso de modelos no ensino de biologia. In: ENCONTRO NACIONAL DE DIDÁTICA E PRÁTICAS DE ENSINO, 16., 2012, Campinas. Anais... São Paulo: ENDIPE, 2012. p. 1-10.
- EICHLER, M. & DEL PINO, J. C. Computadores em Educação Química: estrutura atômica e tabela periódica., São Paulo: Química Nova. (2000).
- EZAZ, T.; STIGLEC, R.; VEYRUNES, F.; GRAVES, J. A. M. Relationships between vertebrate ZW and XY sex chromosome systems: Review. Curr Biol, v.16, p.R736-R743, 2006.
- FABRÍCIO, M. F. L.; JÓFILI, Z. M. S.; SEMEN, L. S. M.; LEÃO, A. M. A. C. A compreensão das leis de Mendel por alunos de biologia na educação básica e na licenciatura. Ensaio Pesquisa em Educação em Ciências. v. 8.n. 1, 2006, p. 1-21
- FREIRE, P. Pedagogia da Autonomia. Saberes necessários à prática educativa. 51ed. São Paulo: Paz e terra, 2015.
- FRIDOSFSSON, A. K.; ELLEGREN, H. A simple and universal method for molecular sexing of nonratite birds. Journal of Avian Biology, v.30, p.116-121, 1999.
- FRIDOSFSSON, A. K.; ELLEGREN, H. Molecular evolution of the avian CDH1 genes on the Z and W Sex chromosomes. Genetics, v.155. p.1903-1912, 2000
- GOLDSCHMIDT, B; MONNERAT, D. N.; PACHECO, K.; MORENO, L. S. Sexagem citogenética em passeriformes (aves). Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v. 6, n. 2, 1999.

GUIMARÃES, E. M.; FERREIRA L. B. M. O uso de modelos na formação de professores de Ciências. 2º ENCONTRO REGIONAL SUL DE ENSINO DE BIOLOGIA, 3ª JORNADA DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UFSC. Anais... Florianópolis, 2 a 4 de novembro de 2006.

JUSTINA, L. A. D.; FERLA, M. R. A utilização de modelos didáticos no Ensino de Genética: exemplo de representação de compactação do DNA eucarioto. **Arquivos 83 do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, Maringá, v.10, n.2, p.35-40, 2006.

JUSTINO, R. C.; GRUMADAS, C. E. S.; SHIQUE, D. A.; CAETANO, L. G.; DIAS, A. L.; MARTINS, M. I. M. Identificação do sexo de gansos domésticos (*anser anser*): comparação da técnica de sexagem cromossômica e a inspeção pós-anestésica da cloaca. *Ars. Veterinária*, v. 32, n. 1, p. 74 -80, 2016.

KLAUBERG, S. D. W. O Lúdico no Ensino da biologia uso de um modelo didático para ensino da divisão celular mitótica. 2015. 21 f. Monografia (Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio) - Universidade Federal do Paraná, Nova Londrina, 2015.

MEDEIROS, A.; MEDEIROS, C. F. Possibilidades e limitações das simulações computacionais em Física. *Revista Brasileira do Ensino de Física*, 24 (2), 77 - 83. (2002).

MEDEIROS, K. C. R.; RODRIGUES, F. M. Análise da eficiência do uso de um modelo didático para o ensino de citogenética. *Estudos*, Goiânia, v. 39, n. 3, 2012, p. 311-319, jul/set. 2012.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T.; SOUZA, E. A. Proposta de modelo didático como facilitador do ensino de genética de populações no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT. *Biodiversidade* - v.20, n.2, 2021a - pág. 215 – 235.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T.; SOUZA, E. A. Utilização prática de um modelo didático simulando uma técnica de bandas do DNA para estudo comparativo do vínculo genético humano aplicado aos estudantes de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT. *Revista Biodiversidade* - v.20, n.3, 2021b - pág. 49 - 71.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T.; SOUZA, E. A. O uso de modelo representativo aplicado no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT de como a seleção natural age sobre as variações genéticas do inseto após o uso de inseticida. *Revista Biodiversidade* - v.21, n.1, 2022a - pág. 182 – 207.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T. O uso de representações didáticas como suporte a aprendizagem de probabilidades aplicadas ao estudo da genética no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT. *Revista Biodiversidade* - v.21, n.2, 2022b - pág. 83 – 109.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T. Modelo didático aplicado no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT para a compreensão da interação entre a análise combinatória e o estudo genético de uma ninhada de *Athene cunicularia* (coruja-buraqueira). *Revista Biodiversidade* - v.21, n.3, 2022c - pág. 2 – 25.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T. Modelo didático aplicado no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT para o estudo de genética de populações ligado ao caso de alelismo múltiplo que envolve a cor da pelagem em coelhos - *Oryctolagus cuniculus*. Revista Biodiversidade - v.21, n.4, 2022d - pág. 2 – 23.

MEDEIROS, M. O.; ALVES, S. M.; KIMURA, M. T. Modelo didático aplicado no curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFR/MT para interpretação genotípica do tipo sanguíneo deduzido pela sequência hipotética de DNA. Revista Biodiversidade - v.22, n.1, 2023 - pág. 33 – 52.

MENDONÇA, C. O.; SANTOS, M. W. O. dos. Modelos didáticos para o ensino de ciências e biologia: aparelho reprodutor feminino da fecundação a nidação. In: V COLÓQUIO INTERNACIONAL “EDUCAÇÃO E CONTEMPORANEIDADE”, 5., São Cristovão, 2011. Anais... Sergipe, 2011.

MIYAKI et al. Sex identification of parrots, toucans, and curassows by PCR: Perspectives for wild and captive population studies. Zoo. Biology, 17:415-423 (1998).

MODI, W. S.; CREWS D. Sex chromosomes and sex determination in reptiles. Genomes and Evolution, 15:660–665 (2005).

MOURA, J.; DEUS, M. S. M.; GONÇALVES; N. M. N.; PERON, A. P. Biologia/Genética: O ensino de biologia, com enfoque a genética, das escolas públicas no Brasil – breve relato e reflexão. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 34, n. 2, p. 167-174, jul./dez. 2013.

PIERCE, B. A. Genética: um enfoque conceitual. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

POUGH, J.; HARVEY, F. A vida dos vertebrados. 2.ed. São Paulo: Atheneu, p. 798, 1999.

SCHARTL, M. Sex chromosome Evolution in non-mammalian vertebrates. Genomes and Evolution. 14:634-641, 2004.

SETÚVAL, F. A. R.; BEJARANO, N. R. R. Modelos didáticos com conteúdo de genética e a sua importância na formação inicial de professores para o ensino de ciências e biologia. In: Encontro Nacional de pesquisa em Educação em Ciências, 7, 2009, Florianópolis. Anais... Florianópolis: ABRAPEC, 2009.

SOBRINHO, M. M. S.; BORGES, A. T. Aprendizagem sobre epidemias com simulações computacionais. Revista Brasileira de Ensino de Ciências e Tecnologia, 3(1), 41 - 61. (2000).

TEMP, D. S.; BARTHOLOMEI-SANTOS, M. L. Desenvolvimento e uso de um modelo didático para facilitar a correlação genótipo-fenótipo. Revista Electrónica de Investigación em Educación en Ciencias-REIEC. V. 8 N.2. 2013

VIEIRA, J. N.; COELHO, E. G. A.; OLIVEIRA, D. A. A. Determinação sexual em aves via PCR. PUBVET, Londrina, V. 5, N. 3, Ed. 150, Art. 1011, 2011.