

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CONSERVAÇÃO E
MANEJO DE RECURSOS NATURAIS – NÍVEL MESTRADO

AMANDA JANAINA GONSATTI FEITOSA

Potencial Biotecnológico de *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (MYRTACEAE):
Perfil Fitoquímico, Atividades Biológicas e Aplicações na Biossíntese Verde de
Nanopartículas de Óxido de Cobre

CASCVEL-PR

Fevereiro/2025

AMANDA JANAINA GONSATTI FEITOSA

Potencial Biotecnológico de *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (MYRTACEAE):
Perfil Fitoquímico, Atividades Biológicas e Aplicações na Biossíntese Verde de
Nanopartículas de Óxido de Cobre

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais – Nível Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais

Área de Concentração: Ciências Ambientais

Orientadora: Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto

Co-orientadora: Dra. Shirley Martins Silva

CASCADEL-PR

Fevereiro/2025

Gonsatti Feitosa, Amanda Janaina

Potencial Biotecnológico de *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (MYRTACEAE): Perfil Fitoquímico, Atividades Biológicas e Aplicações na Biossíntese Verde de Nanopartículas de Óxido de Cobre / Amanda Janaina Gonsatti Feitosa; orientadora Fabiana Gisele da Silva Pinto; coorientadora Shirley Martins Silva. -- Cascavel, 2025. 100 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, 2025.

1. *Myrcia glomerata*. 2. nanopartículas de óxido de cobre. 3. extração assistida por ultrassom. 4. atividades biológicas . I. da Silva Pinto, Fabiana Gisele, orient. II. Martins Silva, Shirley, coorient. III. Título.

AMANDA JANAINA GONSATTI FEITOSA

Potencial Biotecnológico de *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (MYRTACEAE):
Perfil Fitoquímico, Atividades Biológicas e Aplicações na Biossíntese Verde de
Nanopartículas de Óxido de Cobre

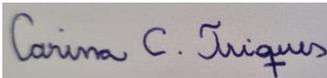
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação stricto sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais-Nível de Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, pela comissão Examinadora composta pelos membros:



Fabiana Gisele da Silva Pinto

Orientadora: Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto

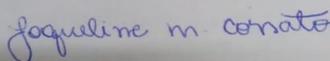
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Carina C. Triques

Dra. Carina Contini Triques

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus de Toledo (UNIOESTE)



Joqueline M. Corsato

Dra. Jaqueline Malagutti Corsato

Laboratório de Análises de Qualidade – A3Q

Aprovada em: 21.02.2025

Local da Defesa: Plataforma Microsoft Teams (online)

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, por ter me abençoado, iluminado e guiado ao longo destes dois anos de mestrado.

Agradeço aos meus pais Vania e Renaldo, que não me deixaram desanimar em nenhum momento, por terem me incentivado e apoiado tanto, não medindo esforços para me ajudar a ir atrás dos meus sonhos.

A minha orientadora, Professora Fabiana, que me proporcionou essa oportunidade de estar fazendo mestrado no LAMIBI, em uma área da pesquisa que descobri ter muito amor e carinho. Obrigada Prof. pela oportunidade, por ter acreditado no meu potencial mesmo vindo de uma área da pesquisa totalmente diferente da microbiologia, por todos os conselhos e incentivos, obrigada por tanto carinho, obrigada por tudo, de coração, você faz parte da minha trajetória e sempre serei grata por ter tido a oportunidade de ser sua aluna de mestrado, você foi e sempre vai ser muito especial para mim!

A Professora Andréa e a Carina, obrigada por tudo! por me ajudarem tanto nos experimentos e discussões sobre alelopatia e antioxidantes, por sempre estarem dispostas a me ajudarem no que fosse necessário, lendo as minhas discussões, adaptações de metodologias, obrigada por tudo. Carina, você foi fundamental na minha caminhada nesses dois anos, além de me ajudar com as extrações, ainda me buscava e levava para a rodoviária sempre que eu precisava ir para Toledo, você é uma pessoa muito especial para mim, obrigada por tudo e tanto. Prof. Andréa, sem palavras, só posso agradecer o quanto você foi e continua sendo fundamental na minha caminhada na pesquisa, desde a graduação junto comigo, incentivando, cobrando e me aconselhando, sou muito grata por ter você sempre comigo, obrigada por tudo. Prof. Jaque nosso tempo juntas na lida dos experimentos foi curto, mas sem dúvidas muito importante e significativo para mim, sempre me ajudando nos testes e estatísticas da alelopatia, sempre disposta a me ajudar e ensinar, obrigada por tudo Prof.

E como eu poderia finalizar sem agradecer as meninas do LAMIBI! Todas tiveram seu papel fundamental na minha trajetória, TODAS, sempre me ajudando, me ensinando, cobrando, sempre dispostas a me ajudarem no que fosse necessário, hoje eu encerro esse “capítulo” do mestrado não tendo apenas colegas de profissão, mas sim amigas! Sou extremamente grata por ter vocês na minha vida, foram tantas risadas, desabafos, tanto carinho, que eu só posso agradecer sempre por ter vocês, obrigada por tudo LAMIBER's!

SUMÁRIO

Resumo Geral.....	10
Abstract.....	11
Introdução Geral.....	12
Referências bibliográficas.....	14
CAPÍTULO 1 (QUALIFICAÇÃO). POTENCIAL BIOATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE <i>Myrcia glomerata</i> : CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICA.....	18
Resumo.....	19
Introdução.....	20
Materiais e Métodos.....	23
<i>Local da realização dos experimentos</i>	23
<i>Coleta, identificação e obtenção do material vegetal das folhas de Myrcia glomerata</i>	23
<i>Extração assistida por ultrassom (UAE)</i>	24
<i>Prospecção fitoquímica</i>	25
<i>Microrganismos utilizados e preparação do inóculo</i>	25
<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)</i>	26
<i>Determinação da atividade antioxidante</i>	27
<i>DPPH</i>	27
<i>ABTS</i>	28
<i>Determinação dos compostos fenólicos totais (TPC)</i>	28
<i>Teste de potencial alelopático (germinação)</i>	29
<i>Desenvolvimento inicial</i>	30
<i>Análise estatística utilizada nos testes de germinação e desenvolvimento inicial</i>	31
Resultados e Discussão.....	32
<i>Rendimento do extrato etanólico via extração assistida por ultrassom (UAE)</i>	32
<i>Prospecção fitoquímica</i>	33
<i>Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais</i>	34
<i>Atividade antimicrobiana</i>	37
<i>Potencial alelopático (germinação)</i>	39

<i>Desenvolvimento inicial</i>	46
Conclusão.....	48
Referências.....	49
Supplementary Material (Capítulo 1 – Qualificação).....	61
CAPÍTULO 2 (DEFESA). BIOSÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE (NPsCuO) A PARTIR DO EXTRATO DE FOLHAS DE <i>Myrcia glomerata</i> G.P.BURTON & E.LUCAS (MYRTACEAE).....	66
Resumo.....	67
Abstract.....	67
Introdução.....	68
Materiais e Métodos.....	69
<i>Coleta, identificação e obtenção do material vegetal das folhas de Myrcia glomerata</i> ...	69
<i>Obtenção do extrato etanólico</i>	69
<i>Biossíntese e caracterização das nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO)</i>	70
<i>Microrganismos avaliados e preparação do inóculo</i>	70
<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)</i>	70
<i>Determinação da atividade antioxidante</i>	71
<i>DPPH</i>	72
<i>ABTS</i>	72
<i>Determinação dos compostos fenólicos totais (TPC)</i>	72
<i>Ensaio de efeito alelopático (germinação) sobre alface, capim-amargoso e milho</i>	72
<i>Desenvolvimento inicial</i>	73
<i>Análise estatística utilizada nos testes de germinação e desenvolvimento inicial</i>	74
Resultados e Discussão.....	74
<i>Caracterização das nanopartículas</i>	74
<i>Atividade antioxidante e determinação dos compostos fenólicos totais (TPC)</i>	75
<i>Atividade antimicrobiana</i>	77
<i>Efeito alelopático (germinação)</i>	79
<i>Desenvolvimento inicial</i>	83
Conclusão.....	85
Referências bibliográficas.....	85

Anexo I: Normas para submissão do Capítulo 1 na revista “Academia Brasileira de Ciências”	91
Anexo II: Normas para submissão do Capítulo 2 na revista “Scientia Plena”	98

RESUMO

A espécie *Myrcia glomerata* (Myrtaceae) foi investigada em dois estudos distintos, visando explorar suas propriedades biológicas e potenciais aplicações. No primeiro estudo (Capítulo 1), o extrato etanólico das folhas foi obtido por extração assistida por ultrassom, uma técnica sustentável. A análise fitoquímica revelou a presença de diversos compostos bioativos, como esteroides, triterpenoides, alcaloides, fenóis, taninos, flavonoides e xantonas. O extrato demonstrou atividade antimicrobiana significativa, além de potencial antioxidante e efeito alelopático negativo sobre a alface, sem impacto relevante no capim-amargoso e no milho. Esses resultados indicam seu potencial para o desenvolvimento de produtos naturais com aplicações antimicrobianas e antioxidantes, embora estudos adicionais sejam necessários para esclarecer seu efeito alelopático. No segundo estudo (Capítulo 2), o extrato aquoso de *M. glomerata* foi utilizado na síntese verde de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO), visando aplicações sustentáveis em saúde e agricultura. As NPsCuO de *M. glomerata* apresentaram tamanho hidrodinâmico de 212,4 nm, potencial zeta de -20,8 mV e índice de polidispersividade (PDI) de 0,15. No entanto, os ensaios de atividade antioxidante, antimicrobiana e alelopática não demonstraram resultados expressivos, sugerindo a necessidade de investigações mais aprofundadas para melhor compreender seu potencial biotecnológico. Em síntese, a espécie *M. glomerata* se destaca por suas propriedades bioativas promissoras, especialmente no extrato etanólico, com elevada atividade antimicrobiana e antioxidante. As NPsCuO sintetizadas a partir dessa espécie também demonstraram efeitos biológicos relevantes, ainda que com desempenho mais discreto nas condições avaliadas, indicando caminhos promissores para otimizações futuras. Ambos os estudos ressaltam a importância de futuras pesquisas para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis e inovadoras a partir dessa espécie vegetal.

Palavras-chave: *Myrcia glomerata*, nanopartículas de óxido de cobre, extração assistida por ultrassom, atividade antioxidante, atividade antimicrobiana, alelopatia.

ABSTRACT

The species *Myrcia glomerata* (Myrtaceae) was investigated in two separate studies, aiming to explore its biological properties and potential applications. In the first study (Chapter 1), the ethanolic extract of the leaves was obtained by ultrasound-assisted extraction, a sustainable technique. Phytochemical analysis revealed the presence of several bioactive compounds, such as steroids, triterpenoids, alkaloids, phenols, tannins, flavonoids and xanthenes. The extract demonstrated significant antimicrobial activity, in addition to antioxidant potential and a negative allelopathic effect on lettuce, with no relevant impact on sourgrass and corn. These results indicate its potential for the development of natural products with antimicrobial and antioxidant applications, although additional studies are needed to clarify its allelopathic effect. In the second study (Chapter 2), the aqueous extract of *M. glomerata* was used in the green synthesis of copper oxide nanoparticles (CuONPs), aiming at sustainable applications in health and agriculture. The CuONPs from *M. glomerata* showed a hydrodynamic size of 212.4 nm, zeta potential of -20.8 mV and polydispersity index (PDI) of 0.15. However, the antioxidant, antimicrobial and allelopathic activity assays did not show significant results, suggesting the need for further investigations to better understand their biotechnological potential. In summary, the species *M. glomerata* stands out for its promising bioactive properties, especially in the ethanolic extract, with high antimicrobial and antioxidant activity. The CuONPs synthesized from this species also demonstrated relevant biological effects, albeit with more modest performance under the evaluated conditions, indicating promising pathways for future optimizations. Both studies highlight the importance of future research for the development of sustainable and innovative alternatives from this plant species.

Keywords: *Myrcia glomerata*, copper oxide nanoparticles, ultrasound-assisted extraction, antioxidant activity, antimicrobial activity, allelopathy.

INTRODUÇÃO

A busca por plantas e vegetais com propriedades medicinais, visando alívio e cura de doenças, pode ser considerada uma das primeiras formas de utilização de produtos naturais. Destaca-se, que as civilizações Chinesa, Greco-romana e Egípcia se sobressaíram no uso desses recursos na medicina, bem como em mecanismos de defesa e controle de pragas (Viegas JR et al., 2006; Piccirillo & Amaral, 2018).

Os compostos provenientes do metabolismo secundários das plantas, podem ser conhecidos como compostos bioativos ou aleloquímicos. Quando liberados no meio, apresentam a capacidade de promover interferências em outros organismos e microrganismos, que estão no seu entorno, tais interferências, podem ser observadas nas fases de germinação e desenvolvimento inicial das plantas, quando esses compostos são liberados no solo (alelopatia) (Brass, 2009; Hüller & Schock, 2011). De tal modo, os compostos bioativos presentes nas plantas, também possuem capacidade antimicrobiana e antioxidante, tendo destaque os fenólicos, carotenoides e flavonoides (Silva et al., 2010).

Os antioxidantes, auxiliam na proteção e manutenção da saúde, gerando benefícios na restauração do equilíbrio fisiológico e modulação das vias biológicas (Smeriglio et al., 2019). Antioxidantes endógenos, tem funções no equilíbrio da produção de antioxidantes e sua manutenção, por serem proteínas que protegem os tecidos contra danos provenientes do estresse oxidativo (Singh et al., 2019; Jawed et al., 2019). Já na indústria, a oxidação lipídica é um dos problemas mais enfrentados, uma vez que, provoca nos produtos odores e sabores ruins (Santos et al., 2020). Dessa forma, a busca por alternativas que substituam a utilização de antioxidantes sintéticos na indústria é necessária, além de produtos naturais como fonte de antioxidantes para a saúde humana e animal.

Já os antimicrobianos, estão relacionados principalmente, a resistência bacteriana, que são resultado, de cepas de microrganismos, com capacidade de multiplicação em altas concentrações de antimicrobianos, tal capacidade, é decorrente do uso excessivo e sem o devido controle, dos agentes antimicrobianos (Wannmacher, 2004). Sendo assim, a busca por antimicrobianos de origem natural, que possam inibir o crescimento de microrganismos com resistência aos antimicrobianos é de extrema importância.

Mediante ao panorama apresentado até o momento, a disseminação de estudos voltados para os nanomateriais vem recebendo destaque, por apresentarem, dentro das suas variadas capacidades, a de interação com os extratos vegetais através da síntese verde. De

tal forma, os nanomateriais apresentam dimensões na escala de nanômetro (nm), com tamanho de 0,1 e 100 nanômetros (Mohanraj & Chen 2006) e sua síntese em laboratório, pode ser dividida em dois métodos, sendo eles, químicos e físicos. Os métodos químicos (*bottom up*), tem o envolvimento de espécies moleculares em reações químicas, resultando no crescimento de aglomerados, como exemplos, síntese eletroquímica, uso de elementos biológicos, hidrotermal e solvotermal, já os físicos (*top down*), fazem utilização de processos físicos, com fotolitografia, moagem e têmpera, irradiação, difusão e outros (Ju-Nam & Lead, 2008; Carvalho, 2013).

Dentro da ampla quantidade de tipos de nanopartículas, se tem as metálicas, como zinco e a prata, que possuem alta atividade antimicrobiana, já sendo utilizadas pela indústria em geral e indústria de alimentos (Nano & Me, 2011). As nanopartículas de prata apresentam atividade antimicrobiana, por conta de terem grande área superficial, proporcionando um contato melhor com os microrganismos (Morones et al., 2005; Song et al., 2006). Outro exemplo, são as nanopartículas de cobre, que por sua vez são micronutrientes de grande valia para as plantas (Ahamed et al., 2014), podem atuar como inibidoras ou estimuladoras nas plantas, de acordo com a concentração escolhida para aplicação nas mesmas (hormese) (Anderson et al., 2018; Wang et al., 2019; Vanti et al., 2020; Juárez-Maldonado et al., 2021).

Entretanto, a elevada demanda de nanopartículas pela indústria, acende um alerta quanto a preocupações voltadas ao meio ambiente, fazendo com que se busque, síntese de nanopartículas e desenvolvimento de métodos mais sustentáveis, dando destaque assim, para a síntese verde de nanopartículas, que substitui o uso de reagentes convencionais, por extratos vegetais, não gerando resíduos tóxicos (Sharma et al., 2010). Os compostos presentes na totalidade da planta, com exemplos, enzimas, flavonóides e aminoácidos, apresentam ação redutora e estabilizadora, tornando a síntese verde, um método de baixo custo de produção e alto rendimento (Mittal et al., 2013).

A família Myrtaceae, tem cerca de 132 gêneros e 5.950 espécies, sendo distribuída em regiões tropicais e subtropicais do planeta (Farang et al., 2018). Seus óleos essenciais e extratos vegetais, recebem destaque quanto as suas propriedades aromáticas e medicinais (Bida et al., 2019), tendo suas atividades biológicas descritas com frequência, como exemplo: ação antibacteriana e anticâncer (Dias et al., 2019), antioxidante (Maggio et al., 2019; Santana et al., 2022), antimicrobiana (Santana et al., 2022), antiparasitária (Gevú et al., 2019), entre outras.

Nativa do Brasil, a espécie *Myrcia glomerata* (Cambess.) G.P.Burton & E.Lucas que é estudada no presente trabalho, tem presença no domínio fitogeográfico de Mata Atlântica,

forma de vida arbórea, caule com crescimento simpodial, folha adaxial com nervura-central completamente canelado, aplanado, com formato da folha elíptica, ovada, espatulada e oblonga (Santos et al., 2023).

Existem poucos estudos sobre a espécie em questão, mas devido, as diversas atividades biológicas expressadas pela família Myrtaceae e pelo gênero *Myrcia*, deter diversas propriedades terapêuticas, tais como a presença de atividade antioxidante, antiinflamatória, citotóxica (Stefanello et al., 2011) e o uso para controle de diabetes, pela medicina popular, de espécies como a *Myrcia salcifolia*, *Myrcia multiflora* e *Myrcia shaerocarpa* (Russo et al., 1990), a espécie, a ser estudada, se destaca para o desenvolvimento de pesquisas voltadas para a compreensão e entendimento de suas atividades biológicas.

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial biotecnológico do extrato etanólico e da biossíntese verde de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) da espécie *Myrcia glomerata*, destacando seu perfil fitoquímico, potencial antioxidante, antimicrobiano e alelopático, visando possíveis aplicações sustentáveis com a espécie.

Referências Bibliográficas

AHAMED, M. *et al.* Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. **Journal of Nanomaterials**. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/637858>.

ANDERSON, A. J. *et al.* CuO and ZnO nanoparticles modify interkingdom cell signaling processes relevant to crop production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.66, p.6513–6524, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01302>.

BIDA, M. R. *et al.* Essential oil compounds from the leaf of *Eugenia samanensis* Alain (Myrtaceae), a species endemic to the Samaná Peninsula, Dominican Republic. **Journal of Essential Oil Research**. v.31, n.2, p.154-159, 2019. DOI: 10.1080/10412905.2018.1518275.

BRASS, F. E. B. Análise de atividade alelopática de extrato aquoso de falsa-murta sobre a germinação de picão-preto e caruru. **Centro Científico Conhecer – Enciclopédia Biosfera**. Goiânia, v.5, n.8, 2009.

CARVALHO, C. N. Caracterização de nanopartículas de prata coloidais dispersas em solos. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2013.

DIAS, A. L. B. *et al.* Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtoides* O. Berg (Myrtaceae).

Natural Product Research. v.33, n.17, p.2566-2570, 2019. DOI: 10.1080/14786419.2018.1457664.

FARAG, N. F. *et al.* Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. **Industrial Crops and Products.** v.124, p.870-877, 2018. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.07.066.

GEVÚ, K. V. *et al.* Chemical Composition and Anti-Candida and Anti-Trypanosoma cruzi Activities of Essential Oils from the Rhizomes and Leaves of Brazilian Species of Renealmia L. fil. **Records of natural products.** v.13, n.3, p.268-280, 2019. DOI: 10.25135/rnp.105.18.08.125.

HÜLLER, A.; SCHOCK, A. A. Avaliação do potencial alelopático de três espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) sobre o processo germinativo de *Lactuca sativa* L. **Revista de Ciências Ambientais.** Canoas, v.5, n.1, p.25-37, 2011.

JAWED, H. *et al.* Antioxidative activity of clove (*syzygium aromaticum*) oil administration in Middle cerebral artery occlusion (mcao) Models of acute focal cerebral ischemia. **Pakistan Journal of Neurological Sciences (PJNS).** v.14, n.1, p.10-15, 2019.

JÚAREZ-MALDONADO, A.; TORTELLA, G.; RUBILAR, O.; FINCHEIRA, P.; BENAVIDES-MENDOZA, A. Biostimulation and toxicity: the magnitude of the impact of nanomaterials in microorganisms and plants. **Journal Advanced Research.** 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.12.011>.

JU-NAM, Y.; LEAD, J. R. Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry interactions and potential environmental implications. **Science of The Total Environment.** v.400, p.396–414, 2008.

MAGGIO, A. *et al.* Comparative chemical composition and bioactivity of leaves essential oils from nine Sicilian accessions of *Myrtus communis* L. **Journal of Essential Oil Research.** p.1-10, 2019. DOI: 10.1080/10412905.2019.1610089.

MITTAL, A. K.; CHRISTI, Y.; BANERJEE, U. C. **Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts.** 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975013000050>.

MOHANRAJ, V. J.; CHEN, Y. Nanoparticles – A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research.** v.5, p.561-573, 2006.

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology.** Bristol, v.16, p.2346-2353, 2005.

NANO & ME. **Nano in packaging.** 2011. Disponível em: <http://www.nanoandme.org/nano-products/packaging/safety-issues/>.

PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova.** v. 41, n. 6, p. 662-677, 2018.

RUSSO, E. M. K.; REICHEL, A. A. J.; SÁ, J. R.; FURLANETTO, R. P.; MOISES, R. C. S.; KASAMATSU, T. S.; CHACRA, A. R. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.23, n.1, p.11–20, 1990.

SANTANA, C. B.; SOUZA, J. G.L.; TOLEDO, A. G.; ALVES, L. F. A.; ALVES, D. S.; CORRÊA, J. M.; PINTO, F. G. S. Antimicrobial and insecticidal effects of essential oil and plant extracts of *Myrcia oblongata* DC in pathogenic bacteria and *Alphitobius diaperinus*. **Brazilian Journal of Biology**. v 82, e233425, ISSN 1678-4375, 2022.DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.233425>.

SANTOS, J. R. N.; TELES, A. M.; FERREIRA, C. G.; MOUCHREK, A. N. Avaliação da atividade bactericida e antioxidante do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de orégano (*Origanum vulgare*). **Research Society and Development**. v.9, n.10, e7829108410, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsdv9i10.8410>.

SANTOS, M. F.; AMORIM, B. S.; BURTON, G. P.; FERNANDES, T.; GAEM, P. H.; LOURENÇO, A. R. L.; LIMA, D. F.; ROSA, P. O.; SANTOS, L. L. D.; STAGGEMEIER, V. G.; VASCONCELOS, T. N. C.; LUCAS, E. J. *Myrcia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2023. Disponível em: Acesso em: 05 jul. 2024.

SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. **Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities**. Chemistry Department, Florida Institute of Technology, 150 West University Boulevard, Melbourne, Florida 32901, USA, v.154, p.83–96, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/316621049_Silver_nanoparticles_green_synthesis_approaches.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; DOS SANTOS SANTANA, A.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**. v.31, n.3, p.669-681, 2010.

SINGH, A.; KUKRETI, R.; SASO, L.; KUKRETI, S. Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. **Molecules**. v.24, n.8, p.1583, 2019.

SMERIGLIO, A. *et al.* Feijoa Fruit Peel: Micro-morphological Features, Evaluation of Phytochemical Profile, and Biological Properties of Its Essential Oil. **Antioxidants**. v.8, n.8, p.320, 2019. DOI: 10.3390/antiox8080320.

SONG, H. Y. *et al.*, Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. **European Cells and Materials**. v. 11, p. 58, 2006.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**. v.8, n.1, p.73–94, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000098>.

VANTI, G. L.; MASAPHY, S.; KURJOGI, M.; CHAKRASALI, S.; NARGUND, V.B. Synthesis and application of chitosan-copper nanoparticles on damping off causing plant pathogenic fungi. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.156, p.1387–1395, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.179>.

VIEGAS, J. R. C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**. v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WANG, Y.; JIANG, F.; MA, C.; RUI, Y.; TSANG, D. C. W.; XING, B. Effect of metal oxide nanoparticles on amino acids in wheat grains (*Triticum aestivum*) in a life cycle study. **Journal of Environmental Management**. v.241, p.319–327, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.041>.

WANNMACHER, L. **Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida?**. Brasília, v.1. n.4, março de 2004, ISSN 1810-0791. Disponível em: https://www.sausedireta.com.br/docsupload/1340027024opas_1_uso_indiscriminado.pdf. Acesso em: 24 de ago de 2023.

CAPÍTULO 1

POTENCIAL BIOATIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Myrcia glomerata*:
CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA,
ANTIOXIDANTE E ALELOPÁTICA

Potencial Bioativo do Extrato Etanólico de *Myrcia glomerata*: Caracterização Fitoquímica, Atividade Antimicrobiana, Antioxidante e Alelopática

A. J. G. Feitosa^{1*}; J. M. Corsato²; A. M. T. Fortes²; C. C. Triques³; M. L. Fiorese³; C. V. Santos⁴; F. G. S. Pinto^{1,4}

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais; Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia - LAMIBI. Rua Universitária, nº 2069, Cep: 85819-110, Cascavel – Paraná, Brasil.

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Laboratório de Fisiologia Vegetal - LAFEV. Rua Universitária, nº 2069, Cep: 85819-110, Cascavel – Paraná, Brasil.

³Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Centro de Engenharias e Ciências Exatas; Laboratório de Engenharias Sustentáveis. Rua da Faculdade – Jardim La Salle, nº 645, Cep: 85903-000, Toledo – Paraná, Brasil.

⁴Universidade Estadual do Oeste do Paraná; Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola; Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia – LAMIBI. Rua Universitária, nº 2069, Cep: 85819-110, Cascavel – Paraná, Brasil.

*amanda00gonzatti@hotmail.com

RESUMO

A família Myrtaceae apresenta diversas atividades biológicas descritas na literatura, mas a espécie *Myrcia glomerata* é escassa em estudos. Dessa forma, o objetivo do estudo foi determinar a composição química do extrato etanólico de folhas de *M. glomerata* e avaliar seu potencial antioxidante, antimicrobiano e alelopático, explorando as potencialidades desta planta. As folhas foram submetidas à extração assistida por ultrassom, uma técnica considerada verde, utilizando etanol como solvente. Foi determinada, então, a composição fitoquímica do extrato e avaliado o potencial antimicrobiano pela técnica de microdiluição em caldo, potencial antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, determinação dos compostos fenólicos totais e potencial alelopático. A prospecção fitoquímica revelou a presença de esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres, alcalóides, fenóis, taninos pirogálicos, flavonóides, flavonas e xantonas. O extrato apresentou atividade antimicrobiana elevada para todas as cepas bacterianas testadas, atividade antioxidante, presença de compostos fenólicos e efeito alelopático negativo sobre a alface e não significativo no capim-amargoso e milho. Os resultados indicam características promissoras para o desenvolvimento de produtos naturais, que possam atuar como controle de microrganismos resistentes e como alternativa de antioxidante natural, sendo necessários estudos futuros mais detalhados sobre o efeito alelopático da espécie.

Palavras-chave: Atividades biológicas, extrato etanólico, *Myrcia glomerata*.

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas com propriedades medicinais para benefícios a saúde humana e como mecanismo de defesa e controle de pragas na agricultura, ultrapassa gerações ao longo das civilizações (Viegas JR et al. 2006; Piccirillo & Amaral 2018). Atualmente, há um crescente avanço em relação a pesquisas que visam descobrir espécies de plantas nativas com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e alelopáticas, para se solucionar problemas quanto a substituição de produtos sintéticos e práticas sustentáveis na área da agricultura e saúde. Tais propriedades, como antioxidantes e antimicrobianas, são desempenhadas pelos compostos bioativos, que estão presentes nas plantas como fenilpropanoides, alcaloides, isoprenoides, compostos fenólicos, carotenoides e flavonoides (Iriti et al. 2010; Silva et al. 2010; Mishra et al. 2018).

Os compostos bioativos, conhecidos também por aleloquímicos, atuam de formas diversificadas nos organismos e a sua eficácia é influenciada por fatores como interações com a microbiota humana, além da biodisponibilidade e da forma de extração para o isolamento dos compostos, que também gera influência sobre seu rendimento e potencial (Mercado-Mercado et al. 2019; Stéphane et al. 2022).

Dentre as atividades expressadas pelos compostos bioativos, tem-se a atividade antioxidante que é sua capacidade de atuar na defesa do organismo contra o estresse oxidativo, resultado da produção elevada de radicais livres e de fatores exógenos, que resultam em problemas na homeostase do organismo (Rahaman et al. 2023). Os radicais livres geram danos celulares, ocasionando o aparecimento de doenças como câncer e envelhecimento precoce (Jawed et al. 2019; Singh et al. 2019; Nair et al. 2022). Além disso, na indústria, a oxidação lipídica ocasiona odores e sabores ruins aos produtos (Santos et al. 2021).

Neste sentido, antioxidantes naturais se sobressaem aos sintéticos, visto a crescente preocupação quanto aos efeitos adversos dos sintéticos e seus potenciais efeitos nocivos à saúde (Bisht 2018; Santos et al. 2020; Shahzad et al. 2021). Tendo em vista tais problemas, se reforça a busca por antioxidantes naturais, que é impulsionada pela necessidade de alternativas mais seguras e eficazes para a promoção da saúde humana (Bisht 2018; Shahzad et al. 2021).

Além disso, os antimicrobianos convencionais que atuam na inibição do crescimento e/ou morte de microrganismos têm sua eficácia cada vez mais comprometida devido às bactérias terem desenvolvido mecanismos para suportar o efeito dos medicamentos, gerando a resistência antimicrobiana (Micoli et al. 2021; Varela et al. 2021). O uso indiscriminado e inadequado de medicamentos, formação de biofilme, entre outros, são alguns dos fatores que têm resultado no aparecimento de cepas bacterianas mais resistentes, comprometendo assim a eficácia dos tratamentos e gerando demanda por novas abordagens terapêuticas (Wannmacher 2004; Rao et al. 2018; Varela et al. 2021; Lai et al. 2022).

Algumas formas das bactérias adquirirem tal resistência são por meio de mutações ou por obtenção de genes de resistência de outras bactérias, podendo causar resistência imediata aos medicamentos e sendo impulsionada também por competição entre espécies bacterianas e interações hospedeiro-patógeno (Moravej et al. 2018; Lai et al. 2022). Dessa forma, plantas nativas que apresentem propriedades antimicrobianas, devido aos seus compostos bioativos, são soluções promissoras para se solucionar tal problema, contribuindo no controle de infecções e inibindo o crescimento de microrganismos patogênicos (Micoli et al. 2021).

Já no âmbito ambiental, os compostos bioativos quando liberados pelas plantas no meio onde estão inseridas, podem promover interferências positivas ou negativas aos microrganismos e organismos presentes no seu entorno, tal interferência, é denominada de

‘alelopatia’ e pode ser observada em fases como as de germinação e desenvolvimento inicial de plantas (Brass 2009; Huller & Schock 2011). Os compostos bioativos com potencial alelopático, são de grande valia quando se trata de buscar por métodos e alternativas naturais para o controle de espécies invasoras, reduzindo-se a utilização de herbicidas e promovendo sustentabilidade.

Mediante ao panorama apresentado, a espécie *Myrcia glomerata* (Cambess.) G.P.Burton & E.Lucas, conhecida popularmente por guamirim enfeitado, é o objeto de estudo do presente trabalho, nativa do Brasil, tem forma de vida arbórea, está presente no domínio fitogeográfico de Mata Atlântica e é pertencente à família Myrtaceae, que apresenta cerca de 132 gêneros e 5.950 espécies (Frag et al. 2018; Santos et al. 2024). A família Myrtaceae e o gênero *Myrcia* apresentam diversas atividades biológicas descritas na literatura, como atividade antimicrobiana (Santana et al. 2022), anticâncer (Dias et al. 2019), antioxidante (Maggio et al. 2019), citotóxica, antiinflamatória e controle de diabetes (Russo et al. 1990; Stefanello et al. 2011) além de efeito fitotóxico e citotóxico sobre alface e cebola (Vasconcelos et al. 2022), mas a espécie em questão, *Myrcia glomerata*, é escassa em estudos.

Além disso, ressalta-se que a escolha do método e do solvente utilizado na extração de plantas é essencial para preservar e isolar os compostos bioativos. Neste contexto, o uso da extração assistida por ultrassom se mostra vantajosa em termos de tempo, custo e simplicidade (Wang & Weller, 2006; Grosso et al. 2015). Ainda, a escolha do etanol como solvente também se destaca por sua característica polar e apolar, além de ser seguro, atóxico e renovável (Cabana et al. 2013; Fernández-Agulló et al. 2013).

Dessa forma, a busca por plantas nativas com propriedades biológicas contribui para o avanço no desenvolvimento de produtos naturais e práticas agrícolas sustentáveis, promovendo soluções mais ecológicas nos setores agrícola, alimentício e farmacêutico.

Sendo assim, o presente trabalho tem por objetivo contribuir no sentido de explorar as potencialidades do extrato etanólico de folhas de *Myrcia glomerata*, que poderiam levar à substituição de compostos antimicrobianos, antioxidantes e alelopáticos nos mais variados setores, como agrícola, alimentício e farmacêutico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local da realização dos experimentos

Os experimentos foram realizados no período de março de 2023 a junho de 2024 no Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI), Laboratório de Fisiologia Vegetal (LAFEV) e Laboratório de Processos de Separação da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus de Cascavel e Toledo – PR.

2.2 Coleta, identificação e obtenção do material vegetal das folhas de *Myrcia glomerata*

As folhas de *M. glomerata* foram coletadas no parque ecológico Paulo Gorski, localizado no município de Cascavel – PR, (24°57'33.54"S e 53°26'31.96"W), entre os meses de março a julho de 2023. A exsicata foi entregue para identificação no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Herbário UNOP) e tem como número de registro UNOP10732.

Após a coleta, as folhas de *M. glomerata* foram secas em estufa de circulação de ar a 35±5°C, por 48 horas. Posteriormente, as folhas foram moídas em moinho de facas do tipo Willey® com granulometria de 0,42 mm. O material vegetal resultante foi armazenado em recipiente de vidro, devidamente fechado e armazenado em abrigo de luz até o uso para a elaboração do extrato (Weber et al. 2014; Bandeira et al. 2024).

2.3 Extração assistida por ultrassom (UAE)

O solvente utilizado para a realização da UAE foi o etanol (EtOH), por ser um solvente atóxico e renovável. O planejamento experimental utilizado foi o fatorial completo 2^3 , avaliando três fatores (amplitude, temperatura e massa) em dois níveis (-1 e 1), com triplicata no ponto central (nível 0). A amplitude variou entre 20%, 50% e 80%, temperatura entre 40, 50 e 60 °C e massa entre 2, 3,5 e 5 g para um volume de solvente fixo em 50 mL (Klein et al., 2018; Santos et al., 2019). As respostas avaliadas da melhor condição foram: rendimento (X0 - % peso), concentração de compostos fenólicos totais (TPC) e a atividade antioxidante (DPPH e ABTS).

A extração teve início com a acomodação da mistura nas proporções previamente definidas em uma célula de extração encamisada (250 mL) pela qual água circulava para manter a temperatura constante com uso de banho ultra-termostático (Marconi Ma 184). Um processador ultrassônico do tipo sonda com 13 mm de diâmetro e potência nominal de 750 W (Sonics, VCX 750) foi utilizado para sonicar a mistura (EtOH/biomassa) na frequência de 20 kHz e com a sonda inserida a 1 cm de profundidade na mistura. Os ensaios foram conduzidos em modo contínuo, ou seja, a potência dissipada no ambiente foi mantida constante durante o processo de extração.

Os ensaios do planejamento experimental foram realizados com um tempo fixo de 15 minutos. Posteriormente, para a condição ótima dentre as investigadas realizou-se uma cinética da extração para a avaliação dos tempos de 1 a 15 minutos.

O rendimento do extrato vegetal, foi calculado utilizando a Equação (1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{massa do extrato (g)}}{\text{massa vegetal seca e moída (g)}} \times 100 \quad (1)$$

Os resultados obtidos para esses ensaios são apresentados no “*Supplementary Material*” para apoiar a escolha das condições utilizadas.

2.4 Prospecção fitoquímica

Os testes de prospecção fitoquímica foram realizados com o extrato etanólico de *M. glomerata*, segundo a metodologia descrita por Matos (1997) e Batista et al. (2024). Os testes têm como base a formação de precipitados após se colocar os reagentes e/ou mudanças de cor. Os testes realizados foram para a identificação dos seguintes grupos de compostos: alcalóides, antocianidinas, antocianinas, cumarinas, esteroides, flavonoides, saponinas, taninos e triterpenoides.

2.5 Microrganismos utilizados e preparação do inóculo

A atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *M. glomerata* foi realizada de acordo com a metodologia de Scur et al. (2014), com adaptações de Bandeira et al. (2022). Os microrganismos que foram utilizados, fazem parte da coleção *American Type Culture Collection* (ATCC) e da *Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica* (CCCD). As bactérias Gram positivas foram: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Listeria monocytogenes* (ATCC 1911) e *Bacillus subtilis* (CCD-04); Gram negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella enterica* Enteritidis (ATCC 13076) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 14028).

Os microrganismos, foram recuperados em caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion Broth) e incubados por um período de 24 horas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$. Dado o tempo de

incubação, as cepas foram repicadas em meio Ágar Nutriente (AN) e padronizadas em solução salina (0,85%), resultando na concentração final de 1×10^5 UFC/mL de acordo com a escala de McFarland a 0,5.

2.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *M. glomerata* foi avaliada seguindo as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2018) com modificações de Bandeira et al. (2022) e a Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo.

O extrato etanólico de *M. glomerata*, foi solubilizado em Tween 1% e diluído em caldo MH enriquecido 2X (Muller-Hinton). Em placas de microdiluição de 96 poços, com fundo redondo, 150 μ L de caldo MH enriquecido 2X foram adicionados em todos os poços e 300 μ L de extrato foram acrescentados no primeiro poço para a realização das diluições seriadas de 200 - 0,09 mg/mL. Em cada poço, foi adicionado 20 μ L do inóculo dos microrganismos (1×10^5 UFC) e as placas foram incubadas por um período de 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Para o controle positivo foi utilizado o antibiótico comercial Gentamicina (200 mg/mL). Para o controle negativo, o inóculo foi adicionado em caldo MH enriquecido 2X, para analisar a viabilidade do microrganismo testado. Foi feito também o controle de esterilidade do extrato e do diluente (Tween 1%) para analisar se houve possível interferência do diluente no teste.

Como revelador colorimétrico, foi utilizado 20 μ L de solução de Cloreto de Trifenil Tetrazolium (TTC) a 0,5%, em cada poço da placa. A presença de coloração avermelhada nos poços é indicativo de efeito negativo da ação inibitória do extrato etanólico. O teste foi

realizado em triplicata, podendo assim determinar a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

O teste de CBM seguiu a metodologia descrita por Weber et al. (2014) com modificações. Concluído o teste CIM, antes da adição de TTC a 0,5%, foi retirada uma alíquota de 2 μL de cada poço e inoculada em placas com MH. As placas foram incubadas durante 24 horas com temperatura de $36\pm 1^\circ\text{C}$ observando se houve crescimento bacteriano na placa, para então determinar qual foi a menor concentração do extrato etanólico capaz de causar a morte dos microrganismos.

A CIM e CBM do extrato etanólico, foram classificadas de acordo com Pandini et al. (2015), sendo a atividade enquadrada em uma das quatro classes: elevada ($<12,5$ mg/mL), moderada (12,5 a 25 mg/mL), baixa (50 a 100 mg/mL) e muito baixa (>100 mg/mL).

2.7 Determinação da atividade antioxidante

O extrato etanólico de folhas de *M. glomerata* foram avaliados com relação ao seu potencial antioxidante seguindo os testes de DPPH (método de captura do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e ABTS (método de captura do radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) seguindo a metodologia modificada de Ziwei et al. (2021). A leitura das absorbâncias foram realizadas em microplaca (microplaca fundo chato estéril 96 poços) e correlacionadas com uma curva padrão de Trolox construída na faixa de concentração de 200 a 11,71 $\mu\text{mol/L}$, expressando os resultados em μmol de trolox equivalente por grama de extrato ($\mu\text{mol Trolox g ext.}^{-1}$).

2.7.1 DPPH

Para o ensaio de atividade antioxidante DPPH, foi utilizado uma solução de extrato na concentração de 25 µg/ml para a realização do teste e uma solução de 0,12 g/L de DPPH. Utilizou-se uma curva padrão com Trolox nas concentrações de 200 a 11,71 µmol/L, resultando em um $R^2 = 0,9708$.

Após a adição dos reagentes, as placas ficaram no escuro por 30 minutos, e após esse tempo foi realizada a leitura da absorbância na leitora de microplacas a 515 nm. O resultado foi expresso em µmol de Trolox por g de extrato (µmol Trolox g ext.⁻¹).

2.7.2 ABTS

Para o ensaio de atividade antioxidante ABTS foi utilizado uma solução de extrato na concentração de 25 µg/ml para a realização do teste e uma solução de estoque ABTS a 7 mmol/L, sendo misturada com uma solução de persulfato de potássio a 2,45 mmol/L, para gerar o radical ABTS⁺. O radical ABTS, foi mantido no escuro por 12-16 horas. Após o tempo, foi ajustado a absorbância entre 0,700 nm a 0,750 nm no momento do ensaio.

A curva padrão com Trolox foi realizada pelo preparo de uma solução estoque de Trolox na concentração de 2000 µmol/L, com um $R^2 = 0,964$. Após a montagem da microplaca de 96 poços, a mesma ficou no escuro por 10 minutos e após o tempo foi feita a leitura da absorbância à 750 nm na leitora de microplacas. O resultado foi expresso em µmol de Trolox por g de extrato (µmol Trolox g ext.⁻¹).

2.8 Determinação dos compostos fenólicos totais (TPC)

A seguinte metodologia tem como referência Bobo-García et al. (2015) com modificações. Foi utilizado uma solução de extrato na concentração de 250 µg/ml para a

realização do teste. A solução de Folin-Ciocalteu foi feita pela diluição de 2 ml do reagente em 8 ml de água destilada e a solução de carbonato de sódio, foi feito com o preparo de 25 ml de uma solução a 100 g/L.

Para a curva padrão com ácido gálico, utilizou-se concentrações de 200 a 1,56 µg/ml, resultando em um coeficiente de determinação (R^2) de $R^2 = 0,999$. Após adição de todos os reagentes, a placa permaneceu no escuro por duas horas e leu-se a leitura de absorvância a 750 nm. O resultado foi expresso em µg de ácido gálico equivalente (GAE) por mg de extrato (µg GAE/mg ext.).

2.9 Alelopatia e análise estatística

2.9.1 Teste de potencial alelopático (germinação)

A avaliação do potencial alelopático foi realizada através do preparo de uma solução padrão na proporção de 1000 mg.L⁻¹ do extrato etanólico de *M. glomerata* e, em seguida, realizaram-se as diluições nas concentrações de 500 mg.L⁻¹, 250 mg.L⁻¹, 125 mg.L⁻¹, 62,5 mg.L⁻¹, testemunha com água destilada e a testemunha com o diluente Tween 0,1%, que é um surfactante orgânico, anfifílico (polar e apolar), capaz de solubilizar substâncias hidrofóbicas em água (Nitschke & Pastore 2002; Grippa et al. 2010).

O processo de avaliação do potencial alelopático foi realizado utilizando como bioindicadora diásporos de *Lactuca sativa* (alface) adquiridas em uma agropecuária local da cidade de Cascavel-PR e sementes da invasora, *Digitaria insularis*, conhecida popularmente como capim-amargoso, adquiridas na Cosmos Agrícola Produção e Serviços Rurais Ltda. de Engenheiro Coelho-SP.

Os diásporos de alface foram colocados em Placas de Petri, contendo três folhas de papel filtro. Já para as sementes de capim-amargo, foi realizado previamente a superação da dormência das sementes por sete dias em geladeira, com meio úmido, à 5-10 °C (Brasil, 2009). Após os sete dias da superação da dormência, as sementes foram acondicionadas em novas Placas de Petri contendo 6 ml das suas respectivas concentrações de extrato e repetições.

Cada tratamento teve 4 repetições com 25 diásporos de alface e sementes de capim-amargoso, separadamente. As folhas de papel filtro utilizadas nas Placas de Petri foram umedecidas com 6 ml de água destilada para a testemunha e 6 ml da mistura de água destilada com Tween 0,1% para a testemunha do diluente utilizado e 6 ml para o extrato etanólico proveniente das folhas de *M. glomerata*, referente a cada tratamento (1000 mg.L⁻¹, 500 mg.L⁻¹, 250 mg.L⁻¹, 125 mg.L⁻¹, 62,5 mg.L⁻¹). Na sequência, as Placas de Petri foram acondicionadas em câmara de germinação B.O.D, tendo temperatura de 25±2 °C e fotoperíodo de 12 horas, ambos fatores controlados.

O experimento foi mantido por sete dias para alface e quatorze dias para o capim-amargoso, com avaliação diária do número de diásporos e sementes germinadas. Foram consideradas diásporos e sementes germinadas, as que apresentaram comprimento de raiz primária igual ou superior a 2mm (Hadas 1976), posteriormente foram calculadas as variáveis: porcentagem de germinação (PG%); tempo médio de germinação (TMG) segundo Edmond & Drapala (1958); índice de velocidade de germinação (IVG%) segundo Silva & Nakagawa (1995), frequência (FR) e sincronização (U) segundo Labouriau & Agudo (1987).

2.9.2 Desenvolvimento Inicial

As sementes de milho híbrido da Biomatrix sementes, cultivar BM880PRO3, safra 22/23, foram pré-germinadas em rolos de papel germitest, autoclavados e umedecidos com água destilada 2,5 vezes o peso do papel seco e foram mantidas em câmara de germinação por três dias, com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, ambos fatores controlados. Posteriormente, em sete caixas gerbox, foram adicionados 250 ml referentes a cada tratamento (1000 mg.L^{-1} , 500 mg.L^{-1} , 250 mg.L^{-1} , 125 mg.L^{-1} , $62,5 \text{ mg.L}^{-1}$, testemunha com água destilada e a testemunha com Tween 0,1%) e encaixado 40 plântulas de milho pré-germinadas entre os espaços da tela, para as raízes poderem ficarem em contato com os tratamentos referentes, por 24 horas, em temperatura e luz ambiente, com aeração.

Após o tempo de aeração das raízes, foram autoclavados novos rolos de papel germitest e embebidos com água destilada em todos os tratamentos, conforme a proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, para acomodarem as 10 plântulas que foram transferidas das caixas gerbox.

Em recipientes de 2000 ml, foi adicionado 2,5 vezes o peso do papel germitest seco com água destilada em todos os tratamentos e acondicionado os rolos de papel germitest, na vertical. Os recipientes foram mantidos por sete dias em câmara de germinação, a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, ambos fatores controlados.

Posteriormente aos sete dias, foi realizada as medições de comprimento médio de raiz e parte aérea das dez plântulas e para o peso de massa seca de raiz e parte aérea foram utilizadas apenas cinco plântulas.

2.9.3 Análise estatística utilizada nos testes de germinação e desenvolvimento inicial:

Os ensaios de potencial alelopático (germinação) e desenvolvimento inicial foram realizados em câmara de germinação e foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado

(DIC). Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa RStudio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento do extrato etanólico via extração assistida por ultrassom (UAE)

Dentre as condições do planejamento experimental e da cinética realizada para as extrações assistidas por ultrassom, a que apresentou o maior rendimento foi a condição que utilizou 5 minutos, com 2 g de massa para 50 mL de solvente, 60 °C e 80% de amplitude de ultrassom. Nessa condição, o rendimento de extração de folhas de *Myrcia glomerata* foi de 11,95%. Com o mesmo solvente do presente estudo, etanol, Santos et al. (2021) obteve 18,42% de rendimento para folhas de *Myrcia palustris* e Toledo et al. (2023) obteve 19,42% para folhas de *Eugenia involucrata*, espécie pertencente a mesma família (Myrtaceae). Apesar de superiores, esses rendimentos foram obtidos pela técnica de maceração dinâmica, requerendo um tempo de 24 horas, enquanto os resultados da presente pesquisa foram obtidos em apenas 5 minutos, evidenciando a vantagem da técnica de extração assistida por ultrassom na economia de tempo e energia.

De fato, resultados mais satisfatórios foram obtidos em extração assistida por ultrassom do que com maceração dinâmica quando as duas técnicas foram comparadas para a mesma planta, como é o caso das folhas de *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) (11,95% em comparação a 4,56% nas mesmas condições de tempo e temperatura) (Frohlich et al. 2022). Ainda, nota-se que ao comparar o rendimento da presente pesquisa com o do estudo mencionado (Frohlich et al. 2022), os resultados ficam coerentes.

As variações de rendimento observadas entre as espécies são comuns de ocorrerem, devido a certas variáveis como o método de extração escolhido, tempo de extração,

temperatura, horário da coleta, sazonalidade, fatores climáticos e principalmente o tipo de solvente escolhido para as extrações, que por conta de suas características químicas como solubilidade e polaridade, acabam por gerar influência na extração dos compostos da planta e no rendimento dos extratos (Cabana et al. 2013; Fernández-Agulló et al. 2013; Dirar et al. 2019).

3.2 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico de *M. glomerata* do presente estudo, revelou a presença dos seguintes constituintes: esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres, alcalóides, fenóis, taninos pirogálicos, flavonóides, flavonas e xantonas (Tabela I).

Tabela I. Prospecção fitoquímica do extrato etanólico (EtOH) de folhas *Myrcia glomerata* obtido por extração assistida por ultrassom.

Classes de Metabólitos	EtOH
Saponinas	-
Esteroides e triterpenoides	-
Esteroides livres	+
Triterpenoides pentacíclicos livres	+++
Alcalóides	++
Fenóis	++
Taninos pirogálicos	++
Cumarinas	-
Flavonóides	++
Flavonas	+
Flavonóides e xantonas	+

(+++) elevada presença; (++) moderada presença; (+) baixa presença; (-) ausência.

Resultados semelhantes são observados com a espécie *Myrcia glomerata*, em que dentre os vários extratos testados, o etanólico demonstrou a presença de saponinas, esteroides livres, alcalóides, flavonas, flavonóis, flavonóides, xantonas e taninos (Batista et al. 2024). A presença de saponinas, esteroides, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononas e taninos foram observados no extrato etanólico de *Myrcia palustris* (Santos et al. 2021). Na espécie *Eugenia involucrata* (Myrtaceae) foi possível observar em seu extrato etanólico a

presença de saponinas, esteroides, flavonas, flavonóis, xantonas e taninos (Toledo et al. 2023).

Já no extrato etanólico de *Myrcia oblongata*, observou-se a presença única de triterpenoides (Santana et al. 2022). Vale ressaltar, que a família Myrtaceae é abundante no quesito compostos fenólicos (taninos, flavonóis, flavonas etc.) além de triterpenoides, esteroides etc (Takao et al. 2015).

Proveniente do metabolismo secundário das plantas, os compostos bioativos podem ter sua síntese influenciada por fatores externos como a temperatura, época de coleta do material vegetal, disponibilidade hídrica, condições do solo, entre outros. Tais fatores, exercem um papel importante na determinação do perfil fitoquímico e potencial bioativo que pode ser obtido no extrato (Brass 2009; Lin et al. 2020).

Além disso, o processo de extração dos compostos é físico-químico de transferência de massa e o rendimento total do extrato, é influenciado dependendo das condições escolhidas para se realizar a extração, como a relação sólido-solvente, temperatura, tempo de extração, polaridade, solubilidade, entre outros (Poirot et al. 2006; Cabana et al. 2013; Fernández-Agulló et al. 2013).

O uso de solventes com diferentes polaridades (etanol, acetona, metanol, entre outros) no processo de extração é importante, uma vez que, detecta variações na constituição química dos extratos, além de apresentarem extratos com maior riqueza de compostos. O etanol por exemplo, que é o solvente utilizado no presente trabalho, adentra com maior facilidade na membrana celular para realizar a extração dos compostos intracelulares do material vegetal, tal feito, é resultado das suas características físico-químicas (Tiwari et al. 2011; Cabana et al. 2013; Fernández-Agulló et al. 2013).

3.3 Atividade antioxidante e compostos fenólicos totais

A capacidade antioxidante do extrato etanólico de *M. glomerata* foi determinada pelos ensaios de sequestro de radicais livres DPPH e ABTS além da determinação dos compostos fenólicos totais (TPC), onde seus respectivos resultados são expressos na tabela II. Os ensaios antioxidantes demonstram de forma confiável a capacidade que o extrato tem de sequestrar radicais livres (Cabana et al. 2013).

Tabela II. Resultado dos testes de DPPH, ABTS e Compostos Fenólicos Totais com o extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

Extrato	DPPH ($\mu\text{mol Trolox g ext.}^{-1}$)	ABTS ($\mu\text{mol Trolox g ext.}^{-1}$)	Compostos Fenólicos Totais ($\mu\text{g GAE/mg ext.}$)
Etanólico <i>M. glomerata</i>	1874	4318	360,57

Os resultados observados na presente pesquisa são satisfatórios quanto ao seu potencial antioxidante. Batista et al. (2024), utilizando a espécie *Myrcia glomerata*, dentre todos os extratos testados, foi o etanólico que apresentou o maior percentual de atividade antioxidante, onde houve presença de fenólicos totais, 117,85 mg GAE/g e elevada atividade antioxidante com 98,72% e valor IC₅₀ de 0,45 mg/mL⁻¹. O percentual de 82,29% no sequestro de DPPH, IC₅₀ de 0,29 mg/mL⁻¹ foi observado no extrato etanólico de *Myrcia palustris*, sendo que o extrato se destacou dentre os testados, por apresentar a maior atividade antioxidante, sendo classificada como alta (Santos et al. 2021). Já no estudo de Santana et al. (2022), foram observados resultados contrários ao do presente estudo, onde o extrato etanólico de *Myrcia oblongata*, não apresentou atividade antioxidante, seu percentual de sequestro de DPPH foi abaixo de 30%. Ambos os testes dos autores citados, foram realizados pelo método de redução com o radical livre DPPH.

Não há relatos na literatura de testes de sequestro do radical ABTS com extratos de *Myrcia glomerata*, no entanto, é possível realizar comparações com outras matrizes vegetais. O extrato das folhas de cravo (*Syzygium aromaticum* – Myrtaceae) por exemplo, apresentou atividade antioxidante de 1790 $\mu\text{mol de Trolox g}^{-1}$ de extrato no teste de DPPH e presença

de compostos fenólicos totais de 339,63 $\mu\text{g GAE.mg}^{-1}$ de extrato visto que, a obtenção do extrato foi via extração assistida por ultrassom com o solvente etanol, demonstrando que os valores da pesquisa estão coerentes com o presente estudo (Frohlich et al. 2022).

Vale ressaltar que, quando comparado os valores obtidos com DPPH e ABTS, o ABTS apresenta resultados superiores, isso ocorre porque cada método reage a um determinado tipo de composto. O DPPH sequestra compostos hidrofóbicos, enquanto o ABTS dissolve compostos hidrofóbicos e hidrofílicos, o que resulta em maiores valores. Tais características, evidenciam a importância de se associar mais de um método de sequestro de radicais livres, como por exemplo os mencionados acima (Pulido et al. 2003; Cheng et al. 2007; Pérez-Jiménez et al. 2007).

A atividade antioxidante observadas nas espécies vegetais, está relacionada à presença dos compostos fenólicos no extrato pela sua capacidade de reparar danos celulares provenientes dos radicais livres e bloquear a propagação dos mesmos em oxidações lipídicas (Sucupira et al. 2012). Além disso, os flavonoides são produzidos em altas quantidades pelas plantas e apresentam capacidade antioxidante por conta do seu esqueleto carbônico, que favorece o estabelecimento dos radicais livres e os taninos, responsáveis pelos sabores adstringentes e pela estabilização dos radicais livres (Jing et al. 2012; Aquino et al. 2017). De fato, a prospecção fitoquímica (Tabela I) e a quantificação dos fenólicos totais (Tabela II) apontou a presença desses compostos no extrato de folhas de *M. glomerata*.

Estes resultados são promissores com relação ao uso do presente extrato em substituição a antioxidantes sintéticos, mas evidenciam o potencial antioxidante da espécie *M. glomerata*, tornando-a uma possível candidata para o desenvolvimento de antioxidantes naturais.

As diferenças entre as espécies, quanto as suas capacidades antioxidantes se devem ao fato de que, mesmo apresentando compostos fenólicos, os mesmos podem estar em

diferentes quantidades e/ou formas moleculares, o que pode interferir na capacidade de sequestrar radicais livres DPPH e ABTS (Aquino et al. 2017; Pontes et al. 2018).

3.4 Atividade antimicrobiana

Segundo a classificação estabelecida por Pandini et al. (2015), o extrato etanólico das folhas de *M. glomerata* apresentou elevada ação bactericida e bacteriostática frente a todas as cepas padrões testadas, demonstrando atividade bactericida moderada apenas para *Salmonella enterica* Typhimurium (Tabela III).

Tabela III. Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do extrato de folhas de *Myrcia glomerata*, obtido por extração assistida por ultrassom com solvente etanol frente a bactérias padrões (ATCC's).

Bactérias	CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM (mg.mL ⁻¹)
Gram Positiva		
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,78	1,56
<i>Enterococcus faecalis</i>	6,25	12,5
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,78	12,5
<i>Bacillus subtilis</i>	3,12	3,12
Gram Negativa		
<i>Escherichia coli</i>	3,12	3,12
<i>Salmonella enterica</i> Enteritidis	6,25	12,5
<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	6,25	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,56	3,12
<i>Proteus mirabilis</i>	6,25	6,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,56	3,12

elevada (12,5 mg/mL), moderada (12,5 a 25 mg/mL), baixa (50 a 100 mg/mL) e muito baixa (>100 mg/mL) (Pandini et al. 2015).

Os resultados obtidos no presente estudo foram satisfatórios, Batista et al. (2024), avaliando a atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo de extratos de *Myrcia glomerata* obtidos com diferentes solventes, verificaram que o etanol foi o mais vantajoso, apresentando os melhores resultados, corroborando com o presente estudo, com valores de CIM e CBM variando de 0,39 a 25 mg/mL, sendo classificado como atividade elevada a moderada (*Listeria monocytogenes* e *Klebsiella pneumoniae*), dependendo da cepa testada, demonstrando atividade antimicrobiana contra todas as cepas testadas no presente estudo. Santos et al. (2021) também relataram atividade antimicrobiana elevada a moderada (*Klebsiella pneumoniae*), variando de 1,56 a 25 mg/mL, com extrato etanólico de *Myrcia palustris*, inibindo todas as cepas testadas. Já um exemplo com outro gênero, mas pertencente a mesma família (Myrtaceae) é a espécie *Eugenia involucrata*, que com seu extrato etanólico apresentou atividade antimicrobiana de elevada a moderada para as mesmas cepas que foram testadas no presente estudo (Toledo et al. 2023).

Por outro lado, resultados adversos foram observados por Santana et al. (2022), que obteve resultados de moderados a baixos quanto a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Myrcia oblongata*, tendo valores elevados para inibição de crescimento bacteriano (CIM) de *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, ambos na concentração de 12,5 mg/mL, tal resultado pode estar ligado ao método de extração escolhido e perfil fitoquímico que muda entre as espécies.

As comprovadas propriedades antimicrobianas desempenhadas pelos compostos secundários das plantas, sugerem que a ação antimicrobiana exercida pelos extratos está relacionada ao seu perfil fitoquímico, principalmente quando há a presença de flavonóides, alcalóides e esteroides. Os flavonóides, conhecidos por estarem presentes no extrato do

presente estudo (Tabela I), por serem substâncias fenólicas e hidroxilados, causam danos celulares irreversíveis na parede da bactéria, por agirem nas células microbianas formando complexos com proteínas extracelulares e solúveis, que aderem na parede celular bacteriana ocasionando sua perfuração e redução (Sher 2009; Samy & Gopalakrishnakone 2010).

Já os taninos, também presentes de acordo com a Tabela I, têm a capacidade de inibir bactérias gram-positivas responsáveis pela deterioração dos alimentos, patógenos transmitidos por alimentos contaminados e bactérias gram-negativas (Samy & Gopalakrishnakone 2010; Gyawali & Ibrahim 2014). Esse efeito antimicrobiano pode ser atribuído à formação de complexos entre os taninos e as proteínas e enzimas dos microrganismos, o que resulta na inativação de suas funções e na inibição do transporte de elétrons através da membrana (Sher 2009; Samy & Gopalakrishnakone 2010; Gyawali & Ibrahim 2014). Assim, o extrato etanólico de *M. glomerata* desempenha um papel significativo ao impactar o crescimento e/ou a morte dos microrganismos patogênicos testados, devido ao seu perfil fitoquímico que inclui compostos com propriedades antimicrobianas, sendo uma potencial alternativa a antibióticos convencionais aos quais as cepas já possuem resistência.

3.5 Potencial alelopático (germinação)

O ensaio de germinação de diásporos de alface sob extrato etanólico de *M. glomerata*, demonstrou o efeito alelopático negativo do extrato sobre a planta bioindicadora (Tabela IV).

Tabela IV. Resultados do ensaio de germinação com diásporos de alface (*Lactuca sativa*), submetidos ao extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

Tratamentos	PG (%)	TMG (sementes/dia)	IVG	CMPA (cm)	CMR (cm)	U
-------------	--------	--------------------	-----	-----------	----------	---

Testemunha (Água)	89 a	1,645 c	16,417 a	0,835 a	3,6 ab	1,25 ab
Testemunha (Água + Tween 0,1%)	90 a	2,007 bc	14,407 ab	0,757 ab	4,005 a	1,612 a
62,5 mg.L⁻¹	90 a	2,267 ab	10,855 bc	0,857 a	2,845 b	1,06 ab
125 mg.L⁻¹	80 a	2,667 a	8,807 c	0,792 ab	3,2 ab	1,495 ab
250 mg.L⁻¹	95 a	1,997 bc	13,757 ab	0,792 ab	3,782 ab	1,12 ab
500 mg.L⁻¹	85 a	2,342 ab	10,887 bc	0,585 bc	3,517 ab	1,46 ab
1000 mg.L⁻¹	98 a	2,317 ab	11,335 bc	0,502 c	3,875 a	0,795 b
CV (%)	8,45	10,83	13	12,8	12,42	27,47

Porcentagem de Germinação (PG%), Tempo Médio de Germinação (TMG – sementes/dia), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), Comprimento Médio de Parte Aérea (CMPA/cm), Comprimento Médio de Raiz (CMR/cm) e Sincronização (U). Valores acompanhados de letras iguais, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A porcentagem de germinação não apresentou diferença estatística em relação ao controle (água destilada), mas houve aumento no tempo médio de germinação e diminuição na variável índice de velocidade de germinação, nos tratamentos com o extrato quando comparados ao controle, com exceção da concentração 250 mg.L⁻¹ que não diferiu do controle.

A variável comprimento médio de parte aérea, apresentou redução nos tratamentos com as maiores concentrações (500 e 1000 mg.L⁻¹), já o comprimento médio de raiz e sincronização do processo germinativo, não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao controle. Os resultados obtidos, corroboram com Ferreira & Aquila (2000), onde afirmam que a germinação é a variável menos afetada quando comparada a outras variáveis como tempo médio de germinação e velocidade de germinação.

Vale ressaltar, que a maioria dos estudos sobre alelopatia, particularmente aqueles que investigam a germinação e o desenvolvimento inicial, utilizam extratos aquosos devido à sua semelhança com as condições naturais. Estudos que empregam extratos etanólicos, como o presente trabalho, são menos frequentes. Compostos bioativos, como flavonóides e polifenóis, costumam ser solubilizados em solventes polares como o etanol. Devido às suas características físico-químicas, o etanol é eficaz na penetração da membrana celular e na extração desses compostos das células vegetais, por isso a escolha desse solvente para o presente estudo (Tiwari et al. 2011; Toledo et al. 2023).

Os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos observados com o extrato aquoso das espécies *Eugenia involucrata* e *Eugenia uniflora*, que não demonstraram interferência na porcentagem de germinação de diásporos de alface (Huller & Schock 2011). Em contraste, o extrato de *Eugenia pyriformis* causou inibição significativa na porcentagem de germinação (Huller & Schock 2011). Quanto à variável velocidade de germinação, todas as três espécies apresentaram um decréscimo a partir do quarto dia, sendo a redução mais pronunciada e significativa para *Eugenia pyriformis*. (Huller & Schock 2011).

Resultados divergentes ao do presente estudo, foram observados com o extrato aquoso e etanólico de *Myrcia vittoriana*, que demonstraram efeito fitotóxico observado na germinação e desenvolvimento inicial da alface (Vasconcelos et al. 2022). Os extratos aquosos de *Eugenia uniflora* também apresentaram efeitos fitotóxicos na germinação da alface e no desenvolvimento inicial do milho (Boiago et al. 2018). Os compostos bioativos presentes no extrato etanólico de *M. glomerata*, como os taninos e flavonoides, geralmente estão envolvidos em efeitos alelopáticos, por apresentarem funções relacionadas a defesa da planta contra patógenos e herbivoria, inibição de crescimento, proteção contra radiação UV, entre outras, refletindo assim nos resultados obtidos do presente estudo (Shirley 1996; Taiz & Zeiger 2013).

Já os resultados referentes a frequência relativa de germinação dos diásporos de alface em cada um dos tratamentos testados (Figura I), verifica-se gráficos unimodais com desvio a direita, já na menor concentração, o que indica ação do extrato etanólico de *M. glomerata* na germinação da alface, com leve desvio à medida que se aumenta as concentrações do extrato utilizado, indicando atrasos na germinação da espécie bioindicadora.

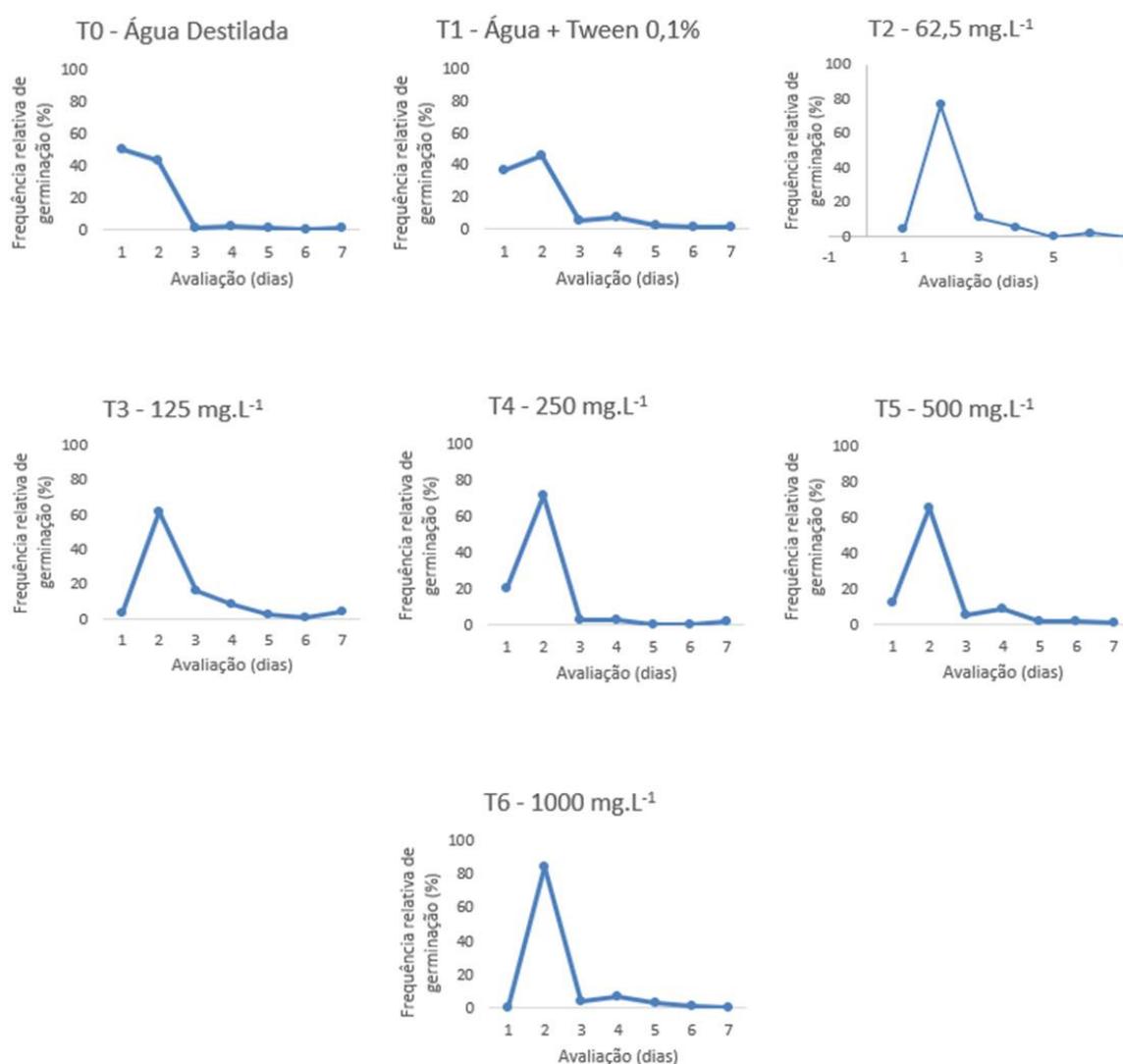


Figura I. Frequência relativa de germinação de diásporos de alface (*Lactuca sativa*) submetidas ao extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

É importante destacar que as variáveis de frequência relativa e sincronização do processo germinativo são parâmetros inversamente relacionados, uma vez que, quanto maior for o valor de sincronização, menor será da frequência, ocasionando um processo germinativo com maior uniformidade em determinado momento (Bufalo et al. 2012). Portanto, mesmo que a porcentagem de germinação da alface não tenha sido afetada pelo extrato etanólico, se observa uma análise mais detalhada com a presença das outras variáveis analisadas (Tabela IV), evidenciando que a presença dos aleloquímicos e/ou compostos bioativos no extrato de *M. glomerata* geram interferências significativas na bioindicadora (alface).

O ensaio de germinação com o extrato etanólico de *M. glomerata* sobre sementes de capim-amargoso demonstrou que não houve interferência significativa do extrato nas sementes da planta invasora, em nenhuma das variáveis analisadas (Tabela V).

Tabela V. Resultados do ensaio de germinação com sementes de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) submetidas ao extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

Tratamentos	PG (%)	TMG (sementes/dia)	IVG	U
Testemunha (Água)	41 a	5,727 a	2,742 ab	2,207 a
Testemunha (Água + Tween 0,1%)	49 a	5,292 a	3,735 a	2,352 a
62,5 mg.L ⁻¹	40 a	5,132 a	2,797 ab	1,990 a
125 mg.L ⁻¹	36 a	4,915 a	2,697 ab	1,812 a
250 mg.L ⁻¹	42 a	4,935 a	2,647 ab	2,027 a
500 mg.L ⁻¹	39 a	5,140 a	2,997 ab	1,765 a
1000 mg.L ⁻¹	25 a	5,445 a	1,487 b	1,920 a

CV (%)	42,98	16,95	24,58	19,34
--------	-------	-------	-------	-------

Porcentagem de Germinação (PG%), Tempo Médio de Germinação (TMG – sementes/dia), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Sincronização (U). Valores acompanhados de letras iguais, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A espécie em questão, apresenta alta produção de sementes, envoltas por pilosidades que proporcionam a disseminação de suas sementes pelo vento e por longas distâncias, desenvolvimento rápido em solos distróficos (baixa fertilidade) e reprodução por sementes e rizomas, resultando na formação de touceiras (Melo et al. 2015). Tais características e as concentrações de extratos testadas no presente estudo, podem estar relacionadas a dificuldade da ação alelopática do extrato etanólico de *M. glomerata* sobre as variáveis analisadas.

Poucos são os estudos encontrados na literatura, que envolvam a aplicação de extratos vegetais, principalmente etanólicos, de plantas do gênero *Myrcia* sobre sementes de capim-amargoso, para se avaliar os processos germinativos. Todavia, vale ressaltar que, capim-amargoso, é uma espécie exótica e naturalmente é pouco encontrada em locais com espécies nativas, evidenciando a importância de estudos voltados na busca por maneiras sustentáveis de se fazer o controle de espécies invasoras, como a utilização de extratos vegetais com potencial alelopático sobre as mesmas.

Resultados contrários ao do presente estudo, quanto a germinação de capim-amargoso na presença do extrato aquoso de *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae) demonstram que o extrato suprimiu a germinação da invasora (Junior et al. 2018). O extrato aquoso de *Eucalyptus camaldulensis*, também proporcionou influência negativa na germinação das sementes de capim-amargoso (Sousa et al. 2011).

Quanto aos resultados de frequência relativa de germinação das sementes de capim-amargoso em cada um dos tratamentos testados (Figura II), com o extrato etanólico de *M. glomerata*, é possível observar que por se tratar de uma espécie invasora, naturalmente apresenta uma germinação desuniforme, com tendência polimodal, que não foi alterada na presença dos extratos.

São escassos estudos que relatam dados de frequência relativa de germinação de sementes de capim-amargoso e alface, tendo influência de extratos vegetais de plantas do gênero *Myrcia* e até mesmo da família Myrtaceae. No entanto, vale ressaltar que o processo germinativo não é sincronizado, mas se distribui ao longo do tempo, como o observado (Figuras I e II) (Oliveira et al. 2017).

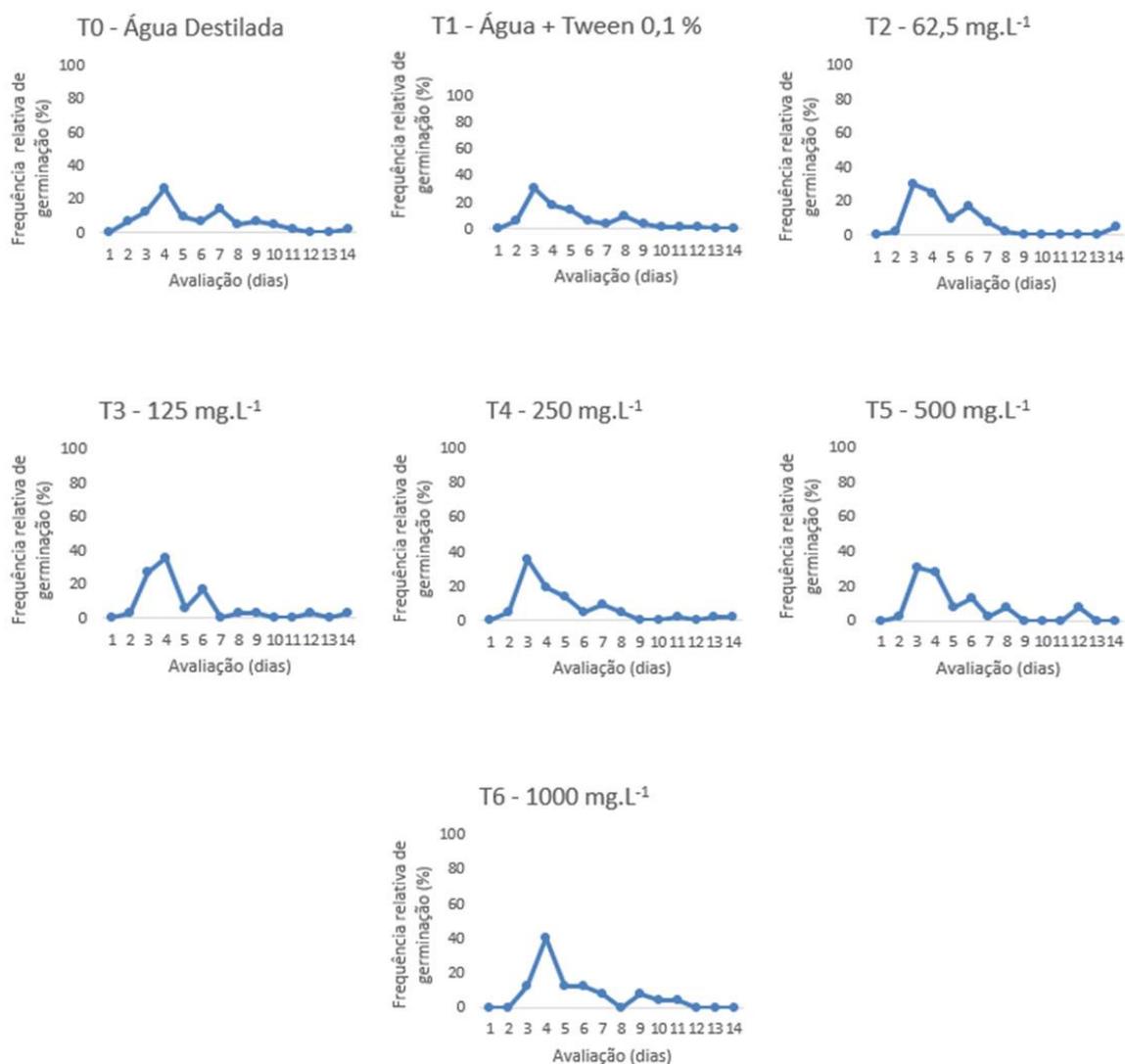


Figura II. Frequência relativa de germinação de sementes de capim-amargoso (*Digitaria insularis*) submetidas ao extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

3.6 Desenvolvimento inicial

Quanto as variáveis analisadas no ensaio de desenvolvimento inicial com a cultivada milho, submetidas ao extrato etanólico de *M. glomerata* (Tabela VI), observou-se que os parâmetros comprimento médio de parte aérea (MPA) e raiz (MR), massa seca de parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) não diferiram estatisticamente do controle com água, em nenhuma

das concentrações testadas, evidenciando ausência de efeito alelopático pelo extrato utilizado.

Tabela VI. Resultados do ensaio de desenvolvimento inicial com plântulas de milho (*Zea mays*) submetidas ao extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

Tratamentos	MPA (cm)	MR (cm)	MSPA (mg)	MSR (mg)
Testemunha (Água)	13,5125 ab	19,4525 bc	223,425 a	180,7 ab
Testemunha (Água + Tween 0,1%)	14,0175 a	24,885 ab	179,9 a	233,975 a
62,5 mg.L ⁻¹	15,0025 a	25,9525 a	247,875 a	252,225 a
125 mg.L ⁻¹	14,055 a	19,2775 bc	228,025 a	248,275 a
250 mg.L ⁻¹	10,6575 b	14,6075 c	182,95 a	153,35 b
500 mg.L ⁻¹	12,8725 ab	21,845 ab	195,35 a	232,875 a
1000 mg.L ⁻¹	14,2175 a	21,0325 ab	210,225 a	227,9 ab
CV (%)	9,3	12,57	14,37	15,75

Comprimento Médio de Parte Aérea (MPA/cm), Comprimento Médio de Raiz (MR/cm), Massa Seca de Parte Aérea (MSPA/mg) e Massa Seca de Raiz (MSR/mg). Valores acompanhados de letras iguais, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes, são observados em um estudo utilizando extrato aquoso de *Eucalyptus urophylla*, onde foi observado a ausência de interferência do extrato sobre as variáveis testadas (massa fresca e seca de plântulas, comprimento de plântulas, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação) (Lino et al. 2020).

Já resultados contrários, são observados com os extratos aquosos de *Eugenia uniflora* que apresentaram efeitos fitotóxicos no desenvolvimento inicial do milho (Boiago et al. 2018). Já um estudo utilizando extrato etanólico de *Eugenia dysenterica* no desenvolvimento

inicial do milho, mostrou redução no crescimento primário da raiz e crescimento do coleóptilo nas maiores concentrações testadas de 2000 e 4000 mg/L (Malheiros et al. 2016)

A permeabilidade e o tamanho do tegumento das sementes, influenciam na atuação dos compostos bioativos, que podem causar alterações na germinação e no crescimento das plantas devido aos efeitos promovidos nos processos bioquímicos e fisiológicos das sementes (Imatomi et al. 2013). Essas alterações foram observadas nos resultados com diásporos de alface, sendo constatado um efeito negativo. No entanto, no desenvolvimento inicial de milho e capim-amargoso, o extrato não apresentou efeito significativo sobre as espécies testadas, ressaltando que, mesmo as sementes de capim-amargoso sendo pequenas, elas apresentam características morfológicas e fisiológicas das invasoras, dentre elas a dormência e capacidade de germinação em solos de baixa fertilidade, além da permanência nos bancos de sementes do solo por longos períodos, até terem as condições ideais para superarem a dormência e germinarem (Mendonça et al. 2014; Melo et al. 2015).

Dessa forma, o extrato etanólico de *M. glomerata* apresenta atividades biológicas e características promissoras para o desenvolvimento de produtos naturais, que possam atuar nas questões de resistências bacterianas e como alternativa de antioxidante natural. Quanto aos testes alelopáticos, fica nítido a presença de efeito fitotóxico negativo do extrato, dependendo da espécie utilizada no teste, sendo o presente estudo o primeiro a ser feito com a espécie *M. glomerata*, evidenciando a necessidade de estudos futuros utilizando-se de outras formas e solventes para obtenção dos extratos, com diferentes concentrações, bioindicadoras, invasoras e cultivadas, além de estudos anatômicos das raízes das plântulas, para se verificar as possíveis interferências que os extratos possam vir a ocasionar nas células vegetais.

4 CONCLUSÃO

A prospecção fitoquímica do extrato revelou a presença de esteroides livres, triterpenoides pentacíclicos livres, alcalóides, fenóis, taninos pirogálicos, flavonóides, flavonas e xantonas. O extrato etanólico, apresentou elevada atividade bacteriostática e bactericida frente a todas as bactérias testadas, além de atividade antioxidante expressa pelos testes de DPPH e ABTS.

Quanto aos ensaios de germinação com a bioindicadora (alface) e a espécie invasora (capim-amargoso), o extrato apresentou interferência negativa sobre a alface e sem interferências significativas sobre o capim-amargoso e no desenvolvimento inicial com a cultivada milho. Esses resultados destacam o potencial do extrato etanólico tanto como agente antimicrobiano quanto como modulador de crescimento vegetal, abrindo novas perspectivas para sua aplicação em diferentes contextos farmacológicos ou agroecológicos.

Referências

AQUINO VVF, COSTA JGM, ANGÉLICO EC, MEDEIROS RS, ARAÚJO MF & RODRIGUES OG. 2017. Metabólitos secundários e ação antioxidante de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*. *Acta Brasiliensis* 1: 7-10.

BANDEIRA DM, CORRÊA JM, LASKOSKI LV, BATISTA JM, ROSSET J, COSTA WF, KUO LH & PINTO FGS. 2022. Extraction, characterization of bioactive compounds and biological activities of the leaves of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. *J Appl Res Med Aromat Plants* 31: 100427.

BANDEIRA DM, CORRÊA JM, LASKOSKI LV, ROSSET J, CONCEIÇÃO LHSM, GOMES SD & PINTO FGS. 2024. Phytochemical screening of *Podocarpus lambertii*

Klotzch ex Endl. Leaf extracts and potential antimicrobial, antioxidante and antibiofilm activity. *An Acad Bras Cien* 96(3).

BATISTA JM, BANDEIRA DM, LASKOSKI LV, BAEZA LC, CONCEIÇÃO LHSM, CANTON AG, ROSSET J, SANTOS CV & PINTO FGS. 2024. Analysis of the Chemical constituents of *Myrcia glomerata* G.Burton & E.Lucas and assessment of their antimicrobial, antioxidante, and antibiofilm potential against pathogenic microorganisms. *Revista Caderno Pedagógico* 21: 01-34.

BISHT R. 2018. Antioxidants: a brief review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 8: 373-376.

BOBO-GARCÍA G, DAVIDOV-PARDO G, ARROQUI C, VÍRSEDA P, MARTÍN-ARROYO MR & NAVARRO M. 2015. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *J Sci Food Agric* 95: 204-209.

BOIAGO NP, FORTES AMT, PILATTI DM & SILVA PSS. 2018. Allelopathic bioactivity of fresh and infused aqueous extracts of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) on lettuce and maize. *Acta Sci Biol Sci* 40: 1-9.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regra para análise de sementes. 2009. Disponível em https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf.

Acessado em 25 de junho de 2024.

BRASS FEB. 2009. Centro Científico Conhecer – Enciclopédia Biosfera. Enciclopédia Biosfera 5.

BUFALO J, AMARO ACE, ARAÚJO HS, CORSATO JM, ONO EO, FERREIRA G & RODRIGUES JD. 2012. Períodos de estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) sobre diferentes condições de luz e temperatura. *Semina Ciênc Agrár* 33: 931-940.

CABANA R, SILVA LR, VALENTÃO P, VITURRO CI & ANDRADE PB. 2013. Effect of diferente extraction methodologies on the recovery of bioactive metabolites from *Satureja parvifolia* Phil. Epling Lamiaceae. *Ind Crops Prod* 48: 49-56.

CHENG HY, LING YC & HSIEH CL. 2007. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry* 104: 1418–1424.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI. 2018. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th Edition, CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

DIAS ALB, BATISTA HRF, ESTEVAM EBB, ALVES CCF, FORIM MR, NICOLELLA HD, FURTADO RA, TAVARES DC, SILVA TS, MARTINS CHG & MIRANDA MLD. 2019. Chemical composition and in vitro antibacterial and antiproliferative activities of the essential oil from the leaves of *Psidium myrtilodes* O. Berg (Myrtaceae). *Trop J Nat Prod Res* 33: 2566-2570.

DIRAR AI, ALSAADI DHM, WADA M, MOHAMED, MA, WATANABE T & DEYKOTA HP. 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *S Afr J Bot* 120: 261–267.

EDMOND JB & DRAPALA WJ. 1958. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural Science* 7: 428-434.

FARAG NF, EL-AHMADY SH, ABDELRAHMAN EH, NAUMANN A, SCHULZ H, AZZAM SM & EL-KASHOURY ELSA. 2018. Characterization of essential oils from Myrtaceae species using ATR-IR vibrational spectroscopy coupled to chemometrics. *Ind Crops Prod* 124: 870-877.

FERNÁNDEZ-AGULLÓ A, PEREIRA E, FREIRE MS, VALENTÃO P, ANDRADE PB, GONZÁLEZ-ÁLVAREZ J & PEREIRA JA. 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut *Juglans regia* L. green husk extracts. *Ind Crops Prod* 42: 126–132.

FERREIRA AG & AQUILA MEA. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 175-204.

FROHLICH PC, SANTOS KA, HASAN SDM & SILVA EA. 2022. Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. *Food Chemistry* 373.

GRIPPA GA, MOROZESK M, NATI N & MATSUMOTO ST. 2010. Estudo genotóxico do surfactante Tween 80 em *Allium cepa*. *Rev Bras Toxicol* 23: 11-16.

GROSSO, C, VALENTÃO P, FERRERES F & ANDRADE PB. 2015. Alternative and efficient extraction methods for marine-derived compounds. *Mar Drugs* 13: 3182-3230.

GYAWALI R. & IBRAHIM SA. 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* 46: 412-429.

HADAS A. 1976. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *J Exp Bot* 27: 480-489.

HÜLLER A & SCHOCK AA. 2011. Avaliação do potencial alelopático de três espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae) sobre o processo germinativo de *Lactuca sativa* L. *Revista de Ciências Ambientais* 5: 25-37.

IMATOMI M, NOVAES P & GUALTIERI SCJ. 2013. Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. *Acta Bot Bras* 27: 54-61.

IRITI M, VITALINI S, FICO G & FAORO F. 2010. Neuroprotective herbs and foods from different traditional medicines and diets. *Molecules* 15: 3517-3555.

JAWED H, SHAMIM M SOHAIL S, FIRDOUS U & IQBAL KN. 2019. Antioxidative activity of clove (*syzygium aromaticum*) oil administration in Middle cerebral artery occlusion (mcao) Models of acute focal cerebral ischemia. *Pakistan Journal of Neurological Sciences* 14: 10-15.

JING P, ZHAO SJ, JIAN WJ, QIAN BJ, DONG Y & PANG J. 2012. Quantitative studies on structure – DPPH scavenging activity relationship of food phenolic acids. *Molecules* 17: 12910-12924.

JUNIOR RA, OTERO MQ & SILVA MM. 2018. Efeito de extratos vegetais aquosos sobre a germinação de plantas daninhas. *Enciclopédia Biosfera* 15: 188.

KLEIN EJ, SANTOS KA, PALÚ F, VIEIRA MGA & SILVA EA. 2018. Use of supercritical CO₂ and ultrasound-assisted extractions to obtain α/β -amyrin-rich extracts from uvaia leaves (*Eugenia pyriformis* Cambess.). *J Supercrit Fluids* 137: 1–8.

LABOURIAU LG & AGUDO M. 1987. On the physiology of seed germination in *S. hispânica* L. Temperature effects. *An Acad Bras Cienc* 59: 37-56.

LAI CKC, NG RWY, LEUNG SSY, HUI M & IP M. 2022. Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches - An overview. *Adv Drug Deliv Ver* 181: 114078.

LIN Y, LOU K, WU G, WU X, ZHOU X, FENG Y, ZHANG H & YU P. 2020. Bioactive metabolites in of *Ginkgo biloba* leaves: variations by seasonal, meteorological and soil. *Braz J Biol* 80: 790-797.

LINO VVR, SOUSA GO, COSTA NB, OLIVEIRA ABC & LEITE MRP. 2020. Allelopathic effect of the aqueous extract of *Eucalyptus urophylla* in corn and cowpea seeds. *Res Soc and Dev* 9.

MAGGIO A ET AL. 2019. Comparative chemical composition and bioactivity of leaves essential oils from nine Sicilian accessions of *Myrtus communis* L. *J Essen Oil Res* 1-10.

MALHEIROS RP, MAPELI AM & MACHADO LL. 2016. Atividade antioxidante e alelopática de extratos foliares obtidos de *Eugenia dysenterica*. *Ciência e Natura* 38: 601-609.

MATOS FJ. 1997. À fitoquímica experimental. Fortaleza UFC 141.

MELO MSC, SILVA DCP, ROSA LE, NICOLAI M & CHRISTOFFOLETI PJ. 2015. Herança genética da resistência de capim-amargoso ao glyphosate. *Revista Brasileira de Herbicidas* 14: 296-305.

MENDONÇA GS, MARTINS CC, MARTINS D & COSTA NV. 2014. Ecophysiology of seed germination in *Digitaria insularis* ((L.) Fedde). *Rev Ciênc Agron* 45: 823-832.

MERCADO-MERCADO G, BLANCAS-BENÍTEZ FJ, ZAMORA-GASGA VM & SÁYAGO-AYERDI SG. 2019. Mexican Traditional Plant-Foods: Polyphenols Bioavailability, Gut Microbiota Metabolism and Impact Human Health. *Curr Pharm Des* 25: 3434-3456.

MICOLI F, BAGNOLI F, RAPPUOLI R & SERRUTO D. 2021. The role of vaccines in combatting antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol* 10: 287- 302.

MISHRA AP ET AL. 2018. Bioactive compounds and health benefits of edible *Rumex* species- a review. *Cellular and Molecular Biology* 64: 27-34.

MORAVEJ H, MORAVEJ Z, YAZDANPARAST M, HEIAT M, MIRHOSSEINI A, MOGHADDAM MM & MIRNEJAD R. 2018. Antimicrobial Peptides: Features, Action, and Their Resistance Mechanisms in Bacteria. *Microb Drug Resist* 24: 747-767.

NAIR N, MAJEED J, PANDEY PK, SWEETY R & THAKUR R. 2022. Antioxidant potential of pyrimidine derivatives against oxidative stress. *Ind J Pharm Sci* 84: 14-26.

NITSCHKE M & PASTORE GM. 2002. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. *Quim Nova* 25: 772-776.

OLIVEIRA JD, SILVA JB & ALVES CZ. 2017. Tratamentos para incrementar, acelerar e sincronizar a emergência de plântulas de mucuna-preta. *Rev Ciên Agron* 48: 531-539.

PANDINI JA, PINTO FGS, SCUR MC, ALVES LFA & MARTINS CC. 2015. Antimicrobial, insecticidal, and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Guarea kunthiana* A. Juss. *J Med Plant Res* 9: 48-55.

PÉREZ-JIMÉNEZ J, ARRANZ S, TABERNERO M, DÍAZ-RUBIO ME, SERRANO J, GOÑI I & SAURA-CALIXTO F. 2008. Updated methodology to determine antioxidant

capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression. Of results. *Food Research International* 41: 274-285.

PICCIRILLO E & AMARAL AT. 2018. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. *Quim Nova* 41: 662-677.

POIROT R, PRAT L, GOURDON G, DIARD C & AUTRET JM. 2006. Fast batch to continuous solid-liquid extraction from plants in continuous industrial extractor. *Chemical Engineering & Technology* 29: 46-51.

PONTES FC, ABDALLA VCP, IMATOMI M, FUENTES LFG & GUALTIERI SCJ 2018. Antifungal and antioxidant activities of mature leaves of *Myrcia splendens* Sw. DC. *Braz J Biol* 1-6.

PULIDO R, HERNÁNDEZ-GARCÍA M & SAURA-CALIXTO F. 2003. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *Eur J of Clin Nutr* 57: 1275–1282.

RAHAMAN MM ET AL. 2023. Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Sci Nutr* 11: 1657-1670.

RAO M, PADYANA S, DIPIN KM, KUMAR S, NAYAK BB & VARELA MF. 2018. Antimicrobial compounds of plant origin as efflux pump inhibitors: new avenues for controlling multidrug resistant pathogens. *J Antimicrob Agents* 4.

RUSSO EMK, REICHELTA AAJ, SÁ JR, FURLANETTO RP, MOISES RCS, KASAMATSU TS & CHACRA AR. 1990. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Braz J Med Biol Res* 23: 11–20.

SAMY RP & GOPALAKRISHNAKONE P. 2010. Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery. *Evid Based Complement Altern Med* 7: 283-294.

SANTANA CB, SOUZA JGL, TOLEDO AG, ALVES LFA, ALVES DS, CORRÊA JM & PINTO FGS. 2022. Antimicrobial and insecticidal effects of essential oil and plant extracts of *Myrcia oblongata* DC in pathogenic bacteria and *Alphitobius diaperinus*. *Braz J Biol* 82.

SANTOS CV, MALLMANN AP, TOLEDO AG, BANDEIRA DM, CONCEIÇÃO LHSM, CORRÊA JM & PINTO FGS. 2021. Phytochemical prospection, antioxidant and antimicrobial activities of leaves extracts from *Myrcia palustres* DC. *Int J Dev Res* 11: 44724-44729.

SANTOS JRN, TELES AM, FERREIRA CG & MOUCHREK AN. 2020. Avaliação da atividade bactericida e antioxidante do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico de orégano (*Origanum vulgare*). *Res Soc Dev* 9.

SANTOS KA, KLEIN EJ, SILVA C, SILVA EA & CARDOZO-FILHO L. 2019. Extraction of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) root oil by supercritical CO₂, pressurized-liquid, and ultrasound-assisted methods and modeling of supercritical extraction kinetics, *J Supercrit. Fluids* 150: 30–39.

SANTOS MF, ET AL. 2024. *Myrcia* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB616152> . Acesso em 20 jul. 2024.

SCUR MC, PINTO FGS, BONA EAM, WEBER LD, ALVES LFA & MOURA AC. 2014. Occurrence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Serotypes Isolates Recovered from Poultry of Western Paraná, Brazil. *Afr J Agric Res* 9: 823-830.

SHAHZAD A, HUSSAIN S, ANWAR N, KARIM A, AEMAN U & IQBAL MJ. 2021. An overview of free radicals & antioxidants and its deleterious actions. *Frontiers in Chemical Sciences* 2: 147-164.

SHER A. 2009. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal J Med Sci* 7: 72-78.

SHIRLEY BW. 1996. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends Plant Sci* 31: 377-382.

SILVA JB & NAKAGAWA J. 1995. Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. *Informativo Abrates* 5: 62-73.

SILVA MLC, COSTA RS, SANTOS AS & KOBLITZ MGB. 2010. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina Ciênc Agrár* 31: 669-681.

SINGH A, KUKRETI R, SASO L & KUKRETI S. 2019. Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules* 24: 1583.

SOUSA SFG, RIQUETTI NB, TAVARES LAF, MARASCA I & JUNIOR A. 2011. Efeito da utilização de extratos vegetais sobre a germinação de três espécies de plantas espontâneas. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia* 18: 23-33.

SOUZA JGL, PINTO FGS, TOLEDO AG, ALVES LFA & ALVES DS. 2020. Biological activities and phytochemical screening of leaf extracts from *Zanthoxylum caribaeum* L. (Rutaceae). *Biosci J* 36: 223-234.

STEFANELLO MÉA, PASCOAL ACRF & SALVADOR MJ. 2011. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. *Chem Biodivers* 8: 73–94.

STÉPHANE FFY, JULES BKJ, BATIHA GES, ALI I & BRUNO LN. 2022. Extraction of bioactive compounds from medicinal plants and herbs. *Pharmacognosy-Medicinal Plants* 1-39.

SUCUPIRA NR, SILVA AB, PEREIRA G & COSTA JN 2012. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 14: 263-269.

TAIZ L & ZEIGER E. 2013. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Editora Artmed, 918 p.

TAKAO LK, IMATOMI M & GUALTIERI SCJ. 2015. Antioxidant activity and phenolic content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). *Braz J Biol* 75: 948-952.

TIWARI P, KUMAR B, KAUR M, KAUR G & KAUR H. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia* 1: 98-106.

TOLEDO AG, SOUZA JGL, SANTANA CB, MALLMANN AP, SANTOS CV, CORRÊA JM & PINTO FGS. 2023. Antimicrobial, antioxidante activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. *Braz J Biol* 83.

VARELA MF, STEPHEN J, LEKSHMI M, OJHA M, WENZEL N, SANFORD LM, HERNANDEZ AJ, PARVATHI A & KUMAR SH. 2021. Bacterial resistance to antimicrobial agents. *Antibiotics* 10(5).

VASCONCELOS LC, CARRIJO TT, VENANCIO AN, ALVES TA, TULER AC, HOLLUNDER RK, GARBIN ML, MENINI L & PRAÇA-FONTES MM. 2022.

Phytochemical screening and phytocytotoxic effects of the tropical *Myrcia vitoriana* (Myrtaceae). *An Acad Bras Cien* 94(3).

VIEGAS JRC, BOLZANI VS & BARREIRO EJ. 2006. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quim Nova* 29: 326-337.

WANG L & WELLER CL. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology* 17: 300-312.

WANNMACHER L. 2004. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida?. Disponível em: https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340027024opas_1_uso_indiscriminado.pdf. Acesso em: 24 de jun de 2024.

WEBER LD, PINTO FGS, SCUR MC, SOUZA JGL, COSTA WF & LEITE CW. 2014. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and various plant extract from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. *Afr J Agric Res* 9: 846-853.

ZIWEIL, YAQIL, JIANYIN M, XIAOMAN C, BINGBING C, GUO L, XIAN W, XIAOAI Z & YONG C. 2021. Phytochemicals, antioxidant capacity and cytoprotective effects of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) axis extracts on HepG2 cells. *Food Biosci* 41.

SUPPLEMENTARY MATERIAL (Capítulo 1 – Qualificação)

This supplementary material intends to show how the ultrasound-assisted extraction conditions were chosen.

Firstly, a complete 2^3 factorial experimental design was performed to investigate the effects of temperature, amplitude, and sample weight on the extract yield according to Table I. Four replicas were performed in the conditions of the center point, in addition to replicas performed in random assays from the experimental design to determine the error. The ranges were defined based on the results of de Souza et al. (2023), Frohlich et al. (2022), and Alves et al. (2022) for ultrasound-assisted extraction of leaves.

Table SI. Levels and conditions used to evaluate temperature, amplitude, and sample weight on the extract yield.

Coded values	-1	0	1
Temperature (°C)	40	50	60
Amplitude (%)**	20	50	80
Sample Weight (g)*	2	3.5	5

*All sample weights were used with a fixed volume of 50 mL of ethanol. **Percentage of the nominal power (750 W).

The assays were performed as described in item (2.3) for a fixed time of 15 min. The extract yields were statistically evaluated using Statistica software with a 5% significance.

The yield results obtained for each assay are displayed in Table SII.

Table SII. Yield results obtained for the complete 2^3 factorial experimental design to investigate the effects of amplitude, temperature, and sample weight on extract yield.

Assay	Amplitude (%)	Temperature (°C)	Sample weight (g)	Yield (%)
1	20	40	2	15.61
2*	20	40	5	12.82±0.04
3*	20	60	2	16.96±0.11
4	20	60	5	14.55
5*	80	40	2	17.93±0.23
6	80	40	5	15.93
7	80	60	2	19.10
8*	80	60	5	16.46±0.35
9**	50	50	3.5	16.87±0.10

*Assays that were chosen randomly to be performed in duplicate. **Center point – performed in quadruplicate.

The highest extract yield was achieved on assay 7 (19.10%), using the highest levels of amplitude (80%) and temperature (60°C), and the lowest sample weight (2 g); the lowest sample weight results in the highest ratio of solvent to sample. To statistically analyze these

results, the residues were subjected to the Shapiro-Wilk normality test, resulting in a p-value of 0.386. Thus, the Analysis of Variance can be performed, and the results showed that all three variables were significant to the result when a confidence level of 95% was considered (p-values < 0.01). The magnitude of the effects can be observed in Figure SI through the Pareto chart, where a negative effect is observed for sample weight, and a positive effect is observed for both amplitude and temperature.

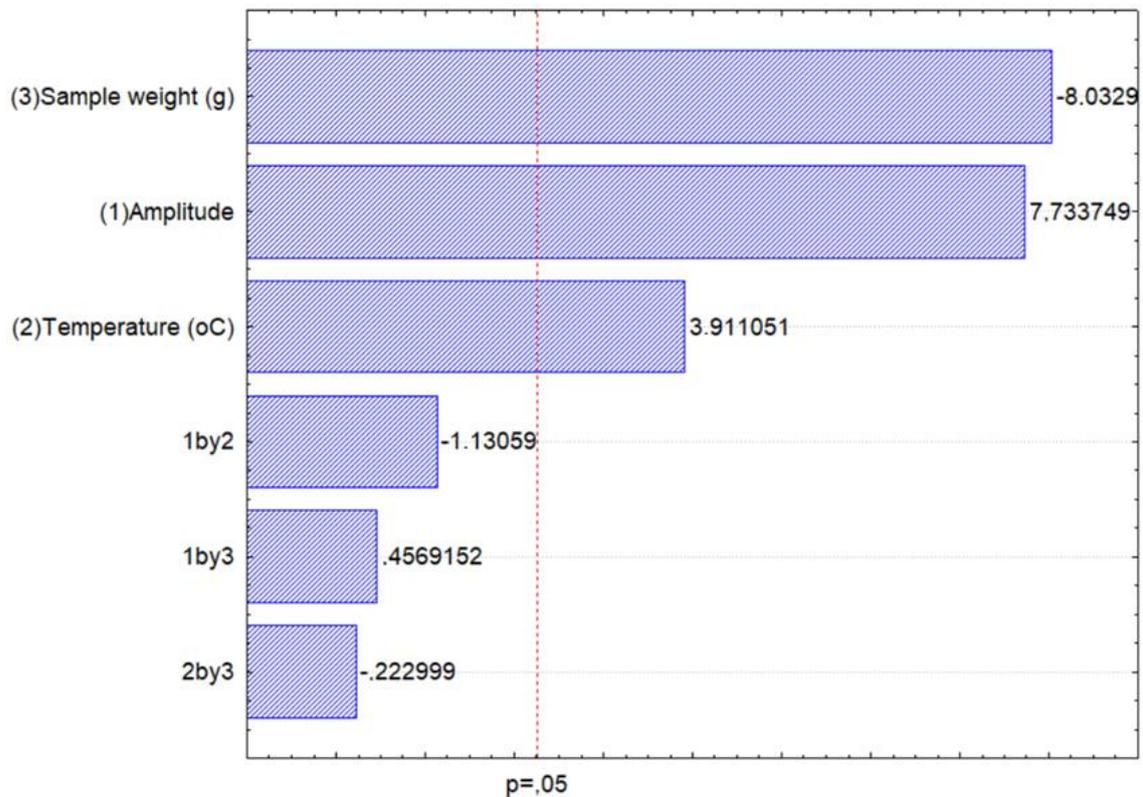


Figure SI. Pareto chart of effects demonstrating the magnitude of the effects of the variables amplitude, temperature, and sample weight on extract yield.

Through the contour plots from Figure SII, one can see again the tendency of achieving higher extract yield when higher temperatures and amplitudes are used, and lower sample weights (representing a higher solvent to sample ratio).

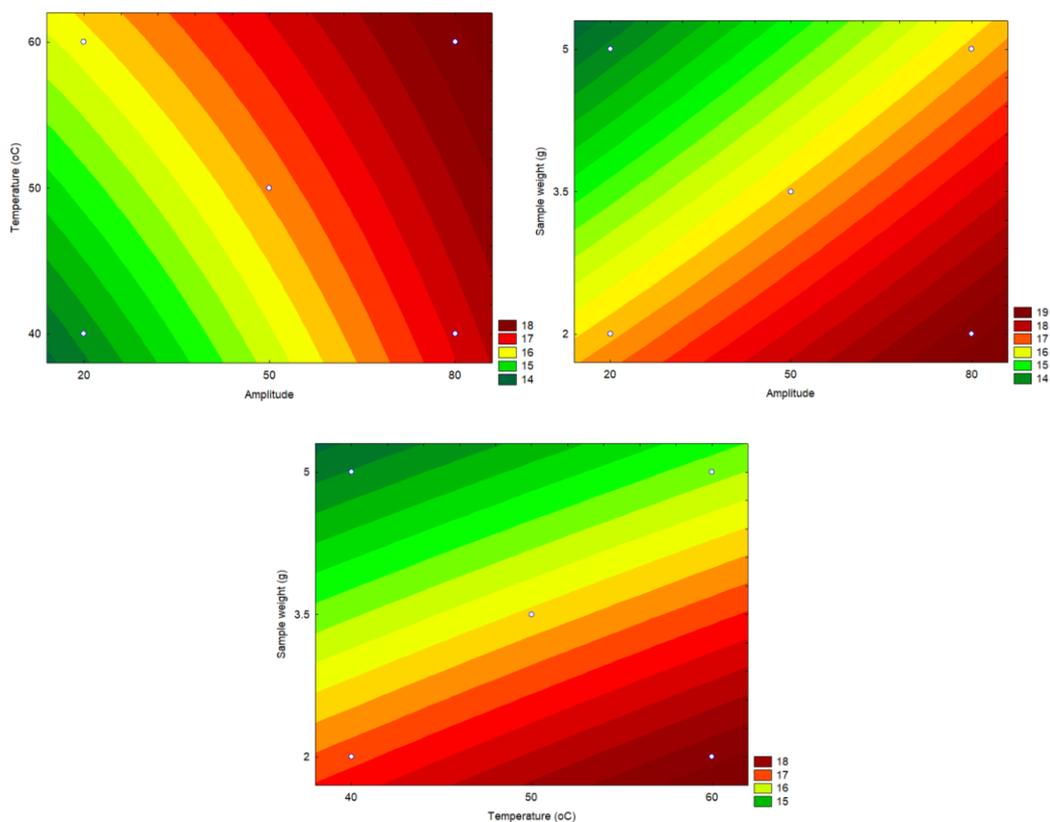


Figure SII. Contour plots obtained for the response extract yield when evaluating the effects of amplitude, temperature, and sample weight on extract yield.

Those results agree with the achievements of de Souza et al. (2023) for ultrasound-assisted extraction of *Echinodorus macrophyllus*, and Alves et al. (2022) for *Monteverdia aquifolia* leaves.

From this analysis, assay 7 would be the most advantageous since it enabled the highest extract yield. No further optimization was performed because the experiments were already being performed in the highest conditions possible for amplitude and temperature that the equipment could handle. Regarding sample weight, lowering this variable even further would imply a high volume of solvent needed, which is not economically viable.

To confirm if assay 7 is indeed the best one, the antioxidant activity and total phenolic content of all extract samples were performed, as previously described (item 3.3). The results are presented in Table SIII for the antioxidant activity expressed as $\mu\text{molTE g}^{-1}_{\text{extract}}$, total phenolic content expressed as $\mu\text{molGAE g}^{-1}_{\text{extract}}$, and also antioxidant activity and total

phenolic content yields, expressed as $\mu\text{molTE g}^{-1}\text{leaves}$, and $\mu\text{molGAE g}^{-1}\text{leaves}$, respectively, which ponders the results obtained together with the extract yield.

Table SIII. Antioxidant activity and total phenolic content obtained for the extracts from the complete 2^3 factorial experimental design.

Assay	A (%)	T (°C)	W (g)	DPPH	ABTS	TPC	DPPH Yield	ABT S Yield	TPC Yield
1	20	40	2	1858	3541	306	290	553	48
2*	20	40	5	2069±227	3123±320	285±8	265	400	37
3*	20	60	2	1736±149	2815±53	291±21	294	477	49
4	20	60	5	1841	2848	306	268	414	45
5*	80	40	2	1479±1561	2297±1239	261±9	265	412	47
6	80	40	5	1666	2865	288	265	456	46
7	80	60	2	1756	2975	293	335	568	56
8*	80	60	5	1671±158	2636±345	310±23	275	434	51
9**	50	50	3.5	1687±129	3013±216	306±26	285	508	52

As shown by Table SIII, assay 7 resulted in intermediate results for antioxidant activity and total phenolic content. However, when pondering yield and those results (that is, yield of antioxidant activity and yield total phenolic content), assay 7 still presents the highest results. Thus, the conditions of 60°C, 80%, and 2g of sample weight for 50 mL of ethanol were chosen as the best ones to perform the extractions. However, time still needed investigation. A time of 15 min was used in the previous assays, and a kinetic study was conducted to verify if this time could be reduced or needed to be prolonged. The results are shown in Table SIV.

Table SIV. Kinetic results when different times were evaluated on the condition of extraction with 80% amplitude, 60°C, and sample weight of 2 g to 50 mL of ethanol.

Time (min)	Yield	DPPH	ABTS	TPC	DPPH Yield	ABTS Yield	TPC Yield
1	11.98	2894	5048	316	347	605	38
2	13.85	2868	5116	300	397	709	42
3*	15.93±0.09	2851±31	5190±360	279±3	454	827	44
5	16.66±0.02	2893±117	5499±164	282±9	482	916	47
7	17.75	3000	5716	274	533	1015	49
10	17.19	2723	4982	280	468	856	48
12	17.82	2651	5188	240	472	925	43
15	19.10	1687±129	3013±216	306±26	322	575	58

From Table SIV, one can realize that the extract yield continues to increase as the extraction time increases. However, the rate of increase is slower as time goes by. Another observation is that from 5-7 min, there is a decrease in the antioxidant activity and total

phenolic compounds. Thus, when considering antioxidant activity yield and total phenolic compounds yields, the best results are achieved with 5 or 7 min, being 5 min the one chosen as the most advantageous due to economic reasons associated with the use of shorter times.

REFERENCES

ALVES TP, TRIQUES CC, PALSIKOWSKI PA, DA SILVA C, FIORESE ML, DA SILVA EA & FAGUNDES-KLEN MR. 2022. Improved extraction of bioactive compounds from *Monteverdia aquifolia* leaves by pressurized-liquid and ultrasound-assisted extraction: Yield and chemical composition. *J Supercrit Fluids* 181.

DE SOUZA LES, SANTOS KA, RASPE DT, DA SILVA C & DA SILVA EA. 2023. Application of ultrasound-assisted extraction to obtain antioxidant compounds from leaves of *Echinodorus macrophyllus*. *Sustain Chem Pharm* 32.

FROHLICH PC, SANTOS KA, HASAN SDM & SILVA EA. 2022. Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. *Food Chem* 373.

CAPÍTULO 2

BIOSSÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE (NPsCuO) A PARTIR DO EXTRATO DE
FOLHAS DE *Myrcia glomerata* G.P.BURTON & E.LUCAS (MYRTACEAE)

CASCAVEL-PR

2025

Biossíntese, Caracterização e Atividades Biológicas de Nanopartículas de Óxido de Cobre (NPsCuO) a partir do Extrato de Folhas de *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (Myrtaceae)

Biosynthesis, Characterization and Biological Activities of Copper Oxide Nanoparticles (CuONPs) using *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (Myrtaceae) Leaf Extract

A. J. G. Feitosa^{1*}; J. Rosset²; A. B. Seabra³; R. H. Pereira³; A. M. T. Fortes⁴; M. M. Souza⁵; F. G. S. Pinto^{1,2,5}

¹ Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Conservação e Manejo de Recursos Naturais, Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110, Cascavel - Paraná, Brasil

² Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110, Cascavel - Paraná, Brasil

³ Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, 09210-580, Santo André - São Paulo, Brasil

⁴ Laboratório de Fisiologia Vegetal (LAFEV), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110, Cascavel - Paraná, Brasil

⁵ Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia (LAMIBI), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110, Cascavel - Paraná, Brasil

*amanda00gonzatti@hotmail.com

(Recebido em dia de mês de ano; aceito em dia de mês de ano)

A nanotecnologia está emergindo com a biossíntese de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO), as quais são sustentáveis apresentando menor toxicidade ao meio ambiente. Entre os diversos métodos de biossíntese, os extratos vegetais são amplamente preferidos por serem de grande disponibilidade e baixo custo. As plantas apresentam metabólitos secundários, como compostos fenólicos denominados flavonoides e taninos, que atuam como agentes redutores e estabilizadores. Este estudo utilizou o extrato aquoso de *Myrcia glomerata*, uma planta nativa com propriedades biológicas pouco exploradas, para sintetizar NPsCuO via síntese verde. Portanto, o objetivo foi avaliar as propriedades antioxidantes, antimicrobianas e alelopáticas das NPsCuO de *M. glomerata*, sintetizadas via síntese verde, visando aplicações em saúde, agricultura e sustentabilidade. O extrato aquoso das folhas foi utilizado para a biossíntese das NPs. Foi determinado, o potencial antimicrobiano (microdiluição em caldo), potencial antioxidante (DPPH e ABTS), determinação dos compostos fenólicos totais e potencial alelopático. A caracterização das NPsCuO de *M. glomerata* apresentou tamanho hidrodinâmico de 212,4 nm, PDI de 0,15 e potencial zeta de -20,8 mV. As NPsCuO de *M. glomerata* mantiveram atividade antioxidante, baixa ou ausência de atividade antimicrobiana e sem interferência sobre a germinação da alface e capim-amargoso, havendo redução no comprimento médio da raiz do milho na maior concentração (100 µg/ml) no ensaio de germinação e desenvolvimento inicial. Sendo assim, o presente estudo demonstrou que as NPsCuO sintetizadas a partir de *M. glomerata* apresentaram resultados significativos em relação aos ensaios realizados, sendo necessário estudo futuros para uma compreensão mais detalhada do potencial biotecnológico dessas NPsCuO.

Palavras-chave: Nanopartículas de Óxido de Cobre, Atividades Biológicas, Síntese Verde, *Myrcia glomerata*.

Nanotechnology is emerging with the biosynthesis of copper oxide nanoparticles (CuONPs), which are sustainable and present lower toxicity to the environment. Among the various biosynthesis methods, plant extracts are widely preferred due to their high availability and low cost. Plants exhibit secondary metabolites, such as phenolic compounds known as flavonoids and tannins, which act as reducing and stabilizing agents. This study used the aqueous extract of *Myrcia glomerata*, a native plant with poorly explored biological properties, to synthesize CuONPs via green synthesis. Therefore, the objective was to evaluate the antioxidant, antimicrobial, and allelopathic properties of *M. glomerata* CuONPs, synthesized via green synthesis, aiming at applications in health, agriculture, and sustainability. The aqueous extract of the leaves was used for the biosynthesis of the NPs. The antimicrobial potential (broth microdilution), antioxidant potential (DPPH and ABTS), total phenolic compounds determination, and allelopathic potential were determined. The characterization of *M. glomerata* CuONPs showed a hydrodynamic size of 212.4 nm, a PDI of 0.15, and a zeta potential of -20.8 mV. The CuONPs from *M. glomerata* maintained antioxidant activity, low or no antimicrobial activity, and did not interfere with the germination of lettuce and sourgrass, with a reduction in the average root length of corn at the highest concentration (100 µg/ml) in the germination and initial

development assay. Thus, the present study demonstrated that the CuONPs synthesized from *M. glomerata* showed significant results in relation to the conducted assays, necessitating future studies for a more detailed understanding of the biotechnological potential of these CuONPs.

Keywords: Copper Oxide Nanoparticles, Biological Activity, Green Synthesis, *Myrcia glomerata*.

1. INTRODUÇÃO

As nanopartículas (NPs) são partículas na escala de nanômetros, geralmente entre 1 e 100 nm, sendo classificadas dentre uma das dimensões quando comparadas a materiais a granel e que possuem propriedades inovadoras, como controle de distribuição, tamanho e morfologia (Selmani et al. 2022). Essas características permitem aplicações em diversos campos, incluindo indústrias farmacêutica, alimentícia, cosmética, médica, agrícola e ambiental (Adrah et al. 2023; Tomar & Singh, 2023). Métodos tradicionais de síntese incluem abordagens químicas (bottom-up) e físicas (top-down), mas ambos apresentam desafios relacionados ao uso de reagentes tóxicos e altos custos. A síntese verde surge como alternativa sustentável, destacando-se por reduzir impactos ambientais ao utilizar extratos vegetais como agentes redutores e estabilizadores (Fracassetti et al. 2023; Mekuye & Abera, 2023).

A síntese verde utiliza compostos bioativos presentes nos extratos vegetais, como enzimas, aminoácidos, flavonoides, alcaloides, vitaminas, polissacarídeos, entre outros, para reduzir e estabilizar as nanopartículas durante a formação. Esses compostos também auxiliam no controle do tamanho e da morfologia das NPs, que são fundamentais para aplicações específicas (Sharma et al. 2010; Mustapha et al. 2022; Ponce et al. 2023; Behera et al. 2023). As vantagens desse método incluem sustentabilidade, baixo custo, alto rendimento e a possibilidade de conferir propriedades bioativas adicionais às NPs provenientes dos extratos vegetais (Mittal et al. 2013; Corciova & Ivanescu, 2018; Behera et al. 2023).

Entre os diferentes tipos de nanopartículas, as de óxido de cobre (NPCuO) se destacam por suas propriedades únicas, como alta atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Hafeez et al. 2019; Karuppanan et al. 2021; Maheo et al. 2022; Sarfraz et al. 2023). Além disso, possuem capacidade fotocatalítica para degradar corantes orgânicos, como vermelho congo e azul de metileno (Nwanya et al. 2019; Khan et al. 2020; Yasin et al. 2022; Maheo et al. 2022), elevada atividade antioxidante (Maheo et al. 2022; Yasin et al. 2022), e aplicações em remediação ambiental (Meena et al. 2023). Também apresentam ação antifúngica, por exemplo, contra *Alternaria brassicae*, um patógeno foliar (Gaba et al. 2022), além de funcionarem como micronutriente essencial no crescimento e desenvolvimento das plantas (Festa & Thiele, 2011; Printz et al. 2016).

Embora as propriedades das NPs_{CuO} tenham gerado interesse crescente na indústria, preocupações sobre seus impactos ambientais são levantadas. O descarte inadequado dessas partículas pode interferir em comunidades microbianas nativas, ciclos biológicos e de nutrientes dos ecossistemas, resultando em desafios ambientais (Viswanath & Kim, 2016; Doskocz et al. 2017; Mangla et al. 2021). Por isso, a busca por alternativas sustentáveis, como a síntese verde, tem

recebido incentivos significativos, especialmente para a aplicação das NPs como agentes antimicrobianos, antioxidantes e promotores de crescimento vegetal.

Nesse contexto, a espécie nativa brasileira *Myrcia glomerata* G.P.Burton & E.Lucas (Myrtaceae), conhecida como guamirim-enfeitado, apresenta potencial inexplorado para a síntese verde de NPs_{CuO}. O gênero *Myrcia*, apresenta propriedades biológicas descritas na literatura, como atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, citotóxicas e de controle de diabetes (Russo et al. 1990; Stefanello et al. 2011). Já a planta estudada, tem na sua composição fitoquímica compostos fenólicos (taninos, flavonoides, alcaloides, xantonas), saponinas, esteroides livres e antocianinas (Batista et al. 2024). No entanto, estudos envolvendo a síntese de NPs_{CuO} com essa planta são escassos, justificando a relevância do presente trabalho.

Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades antioxidantes, antimicrobianas e alelopáticas de nanopartículas de óxido de cobre de *Myrcia glomerata*, sintetizadas via síntese verde, visando aplicações em saúde, agricultura e sustentabilidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta, identificação e obtenção do material vegetal das folhas de *Myrcia glomerata*

As folhas de *M. glomerata* foram coletadas no parque ecológico Paulo Gorski, localizado no município de Cascavel – PR, (24°57'33.54"S e 53°26'31.96"W), entre os meses de março a julho de 2023. A exsicata foi entregue para identificação no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Herbário UNOP) e tem como número de registro UNOP10732.

Após a coleta, as folhas de *M. glomerata* foram secas em estufa de circulação de ar a 35±5°C, por 48 horas. Posteriormente, as folhas foram moídas em moinho de facas do tipo Willey® com granulometria de 0,42 mm. O material vegetal resultante, foi armazenado em recipiente de vidro, devidamente fechado e em abrigo de luz até o uso para a elaboração da síntese das nanopartículas de óxido de cobre (NPs_{CuO}) e extrato etanólico de *M. glomerata* (Weber et al. 2014, Bandeira et al. 2024).

2.2 Obtenção do extrato etanólico

O solvente utilizado para a realização da extração assistida por ultrassom (UAE) foi o etanol (EtOH), por ser um solvente atóxico e renovável. A amplitude utilizada para as extrações foi de 80%, tempo de 5 minutos, temperatura 60 °C e massa de 2 g para um volume de solvente fixo em 50 mL (Klein et al. 2018; Santos et al. 2019). As respostas avaliadas foram: concentração de compostos fenólicos totais (TPC) e a atividade antioxidante (DPPH e ABTS).

A extração teve início com a acomodação da mistura nas proporções definidas em uma célula de extração encamisada (250 mL) pela qual a água circulava para manter a temperatura constante com uso de banho ultra-termostático (Marconi Ma 184). Um processador ultrassônico do tipo sonda com

13 mm de diâmetro e potência nominal de 750 W (Sonics, VCX 750) foi utilizado para sonicar a mistura (EtOH/biomassa) na frequência de 20 kHz e com a sonda inserida a 1 cm de profundidade na mistura. Os ensaios foram conduzidos em modo contínuo, ou seja, a potência dissipada no ambiente foi mantida constante durante o processo de extração.

2.3 Biossíntese e caracterização das nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO)

A síntese verde das nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) foi realizada com base na metodologia de Pelegrino et al. (2020, 2021) e Kohatsu et al. (2021) com modificações, utilizando-se do chá de *Myrcia glomerata*. Uma solução aquosa de CuSO₄ foi adicionada por gotejamento a uma suspensão de chá de *M. glomerata* (1,5 g para 100 mL), preparada com água destilada aquecida entre 65 °C e 80 °C. O pH final da suspensão foi ajustado para 5,4 usando NaOH (1 mol L⁻¹). A mistura foi homogeneizada durante 30 minutos com o agitador magnético e, em seguida, centrifugada e lavada três vezes com água destilada. O precipitado escuro formado pelas nanopartículas de CuO foi liofilizado e armazenado no dessecador protegido da luz (Pelegrino et al. 2020). A caracterização das NPsCuO de *M. glomerata* foi realizada por espalhamento de luz dinâmico (DLS) para verificação do tamanho hidrodinâmico (nm), potencial zeta (mV) e índice de polidispersividade (PDI).

Para a utilização nos ensaios, as NPsCuO de *M. glomerata* foram dispersas com auxílio de um banho ultrassônico (UltraSonic Clean 1400) com frequência de 40 kHz. As concentrações das nanopartículas foram ajustadas em tubos cônicos Falcon de 50 ml e mantidas em dispersão no equipamento por 6 horas.

2.4 Microrganismos avaliados e preparação do inóculo

A recuperação dos microrganismos seguiu a metodologia de Scur et al. (2014) com adaptações de Bandeira et al. (2022). As bactérias utilizadas, fazem pertencem a coleção *American Type Culture Collection* (ATCC) e da *Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica* (CCCD). As bactérias Gram positivas foram: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Listeria monocytogenes* (ATCC 1911) e *Bacillus subtilis* (CCD-04); Gram negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Salmonella enterica* Enteritidis (ATCC 13076) e *Salmonella enterica* Typhimurium (ATCC 14028). As bactérias, foram recuperados em caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion Broth) e incubadas por um período de 24 horas a 36±1°C. Após o período de incubação, as cepas foram repicadas em meio Ágar Nutriente (AN) e padronizadas em solução salina (0,85%), resultando na concentração final de 1x10⁴ UFC/mL.

2.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A atividade antimicrobiana das NPsCuO de *M. glomerata* foi avaliada seguindo as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI* (2018), e a Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo (metodologia em processo de publicação).

O preparo das suspensões das NPsCuO de *M. glomerata* ocorreu pesando 2000 µg/ml de nanopartículas sólidas em um tubo falcon e posteriormente sendo acondicionadas em um banho ultrassônico para dispersão delas por um período de 6 horas, para então serem usadas nos ensaios.

Em placas de microdiluição de 96 poços com fundo redondo, foram adicionados 100 µL de água peptonada a 1%. Em seguida, 100 µL da suspensão de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de *M. glomerata* foram acrescentados no primeiro poço realizando diluições seriadas de 2000 a 15,62 µg/mL. Para cada poço, foi adicionado 100 µL do inóculo de microrganismos (1×10^4 UFC), e as placas foram incubadas por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Como controle positivo foi utilizado o antibiótico comercial Gentamicina (200 mg/mL). O controle negativo, constituiu na adição do inóculo bacteriano em água peptonada a 1%. Foram realizados controles das NPsCuO de *M. glomerata* e do meio de cultura (água peptonada a 1%) para avaliar possíveis interferências no teste.

Após incubação, foi adicionado 20 µL de solução de Resazurina a 0,02% como revelador colorimétrico, em cada poço da placa. A presença de coloração rosa nos poços indicou ausência de ação inibitória das NPsCuO de *M. glomerata*. O ensaio foi conduzido em triplicata para determinar a menor concentração de NPsCuO de *M. glomerata* capaz de inibir o crescimento microbiano.

O ensaio para determinação da CBM foi realizado conforme a metodologia descrita por Weber et al. (2014) com modificações. Após a finalização do teste de CIM, foi retirada uma alíquota de 2 µL de cada poço da placa de microdiluição, antes da adição de Resazurina a 0,02%. As alíquotas foram inoculadas em placas de ágar MH e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após o período de incubação, foi avaliado o crescimento bacteriano em cada poço. A CBM foi definida como a menor concentração de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de *M. glomerata* capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano nas placas, indicando a morte dos microrganismos testados.

2.6 Determinação da atividade antioxidante

As NPsCuO e extrato etanólico de *Myrcia glomerata*, foram avaliadas quanto a sua capacidade antioxidante utilizando os ensaios de DPPH (método de captura do radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e ABTS (método de captura do radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)) de acordo com a metodologia modificada de Ziwei et al. (2021). As leituras das absorbâncias foram realizadas em microplacas (microplaca fundo chato estéril 96 poços) e correlacionadas com uma curva padrão de Trolox com concentrações de 200 a 11,71 µmol/L, expressando os resultados em µmol de Trolox equivalente por grama de nanopartícula de óxido de cobre ou extrato etanólico (µmol Trolox g NPCuO ou Ext.⁻¹).

2.6.1 DPPH

Uma solução de 25 µg/ml de extrato etanólico de *M. glomerata* e uma suspensão de NPsCuO de *M. glomerata* na concentração de 300 µg/ml foram preparadas para realização do ensaio de atividade antioxidante. A solução de DPPH foi preparada na concentração de 0,12 g/L.

Após a adição dos reagentes, nanopartículas e extrato, as placas foram incubadas no escuro por 30 minutos. Em seguida, a absorvância foi medida em uma leitora de microplacas a 515 nm. Os resultados foram expressos com µmol de Trolox equivalente por grama de nanopartícula de óxido de cobre ou extrato (µmol Trolox. g NPCuO ou Ext. ⁻¹).

2.6.2 ABTS

Para o ensaio de atividade antioxidante ABTS, preparou-se uma solução de 25 µg/ml de extrato etanólico de *M. glomerata* e uma suspensão de NPsCuO *M. glomerata* na concentração de 200 µg/ml, uma solução estoque de ABTS a 7 mmol/L, misturada com persulfato de potássio a 2,45 mmol/L para gerar o radical ABTS⁺. A solução do radical foi mantida no escuro por 12 a 16 horas e sua absorvância foi ajustada entre 0,700 e 0,750 no momento do ensaio.

Após adicionar os reagentes, nanopartículas e extrato, a placa foi incubada no escuro por 10 minutos e a absorvância foi medida a 750 nm. Os resultados foram expressos com µmol de trolox equivalente por grama de nanopartícula de óxido de cobre ou extrato (µmol Trolox. g NPCuO ou Ext. ⁻¹).

2.7 Determinação do Compostos Fenólicos Totais (TPC)

A metodologia utilizada foi baseada em Bobo-Garcia et al. (2015) com modificações. Preparou-se uma solução de 250 µg/ml de extrato etanólico de *M. glomerata* e uma suspensão de NPsCuO de *M. glomerata* a 1000 µg/ml. A solução de Folin-Ciocalteu foi preparada diluindo 2 mL do reagente em 8 ml de água destilada e a solução de carbonato de sódio foi feita com 25 ml de uma solução a 100g/L.

A curva padrão foi preparada utilizando ácido gálico nas concentrações de 200 a 1,56 µg/ml, resultando em um coeficiente de determinação (R²) de 0,9831. Após a adição dos reagentes, nanopartículas e extrato, a placa foi incubada no escuro por 2 horas. A absorvância foi medida a 750 nm e os resultados foram expressos como micrograma de ácido gálico equivalente (GAE) por miligrama de nanopartículas de óxido de cobre ou extrato (µg GAE.mg NPCuO ou Ext.⁻¹).

2.8 Efeito alelopático e análise estatística

2.8.1 Ensaio de efeito alelopático (germinação) sobre alface, capim-amargoso e milho

A avaliação do potencial alelopático foi realizada através do preparo de uma solução padrão na proporção de 100 µg/ml das suspensões de NPsCuO de *M. glomerata* e, em seguida, feita as diluições

nas concentrações de 50 µg/ml, 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml e a testemunha com água destilada, todas as concentrações foram utilizadas para as três espécies utilizadas no presente teste.

O processo de avaliação do efeito alelopático foi realizado utilizando como bioindicadora diásporos de *Lactuca sativa* (alface) adquiridas em uma agropecuária local da cidade de Cascavel-PR, sementes da invasora, *Digitaria insularis*, conhecida popularmente como capim-amargoso, adquiridas na Cosmos Agrícola Produção e Serviços Rurais Ltda. de Engenheiro Coelho-SP e sementes de milho (*Zea mays* L.) adquiridas na Agrobélia em Corbélia-PR, cultivar BM880PRO3, safra 22/23, Biomatrix sementes.

Os diásporos de alface foram colocados em placas de petri, contendo três folhas de papel filtro, posteriormente, ficaram em contato com suas respectivas concentrações de NPsCuO de *M. glomerata* e testemunha durante o período de avaliação. Já para as sementes de capim-amargoso, foi realizado previamente a superação da dormência das sementes por sete dias na geladeira, em meio úmido, à 5-10 ° C (Brasil 2009), as sementes foram embebidas por 2 horas nas suas respectivas concentrações de suspensões de NPsCuO de *M. glomerata* e acondicionadas em novas placas de petri contendo 6 ml de água destilada em todos os tratamentos. E as sementes de milho, foram acondicionadas em papel germitest, embebido com as respectivas concentrações de NPsCuO de *M. glomerata* e testemunha, contendo duas folhas abaixo das sementes e uma acima das mesmas.

Cada tratamento foi composto de 4 repetições com 25 sementes cada para os diásporos de alface, sementes de capim-amargoso e milho, separadamente. As folhas de papel filtro utilizadas nas placas de Petri foram umedecidas com 6 ml de água destilada para a testemunha e 6 ml das dispersões de NPsCuO de *M. glomerata* correspondente a cada tratamento. Os papéis germitest foram umedecidos com 2,5 vezes o peso do papel seco utilizando a testemunha e as respectivas concentrações das dispersões de NPsCuO de *M. glomerata*. Importante destacar que, os diásporos de alface e as sementes de milho permaneceram em contato com as NPs durante o tempo da avaliação, já as sementes de capim-amargoso foram embebidas nas respectivas concentrações de NPs, por 2 horas. Na sequência, as placas de petri e o rolos de papel germitest foram acondicionadas em câmara de germinação B.O.D, tendo temperatura de 25±2° C e fotoperíodo de 12 horas, ambos fatores controlados.

Os experimentos foram mantidos por sete dias para alface e milho, quatorze dias para o capim-amargoso, com avaliação diária do número de diásporos e sementes germinadas, as que apresentaram comprimento de raiz primária igual ou superior a 2mm (Hadas 1976), posteriormente foram calculadas as variáveis analisadas: porcentagem de germinação (PG%); tempo médio de germinação (TMG) segundo Edmond & Drapala (1958), índice de velocidade de germinação (IVG%) segundo Silva & Nakagawa (1995), comprimento médio de parte aérea (CMPA) e raiz (CMR).

2.8.2 Desenvolvimento inicial

Foram utilizadas sementes de milho híbrido da Biomatrix sementes, cultivar BM880PRO3, safra 22/23. As sementes foram pré-germinadas em rolos de papel Germitest, previamente autoclavados e umedecidos com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os rolos foram mantidos em câmara de germinação com temperatura controlada de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, por três dias.

Posteriormente, 10 plântulas foram acondicionadas em novos rolos de papel Germitest, cortados ao meio devido ao pouco volume das concentrações de NPs, foram autoclavados e embebidos com água destilada para a testemunha, ou com as respectivas concentrações de NPsCuO de *M. glomerata* (100 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$ e 6,25 $\mu\text{g/mL}$), utilizando-se uma proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Esses rolos foram utilizados para acomodar as plântulas transferidas dos rolos de papel Germitest originais.

Em recipientes de 2000 mL, foi adicionado uma quantidade de água destilada para a testemunha ou das respectivas concentrações de NPsCuO de *M. glomerata* equivalente a 2,5 vezes o peso do papel Germitest seco. Em seguida, os rolos de papel Germitest foram acondicionados nesses recipientes. Os recipientes foram mantidos em câmara de germinação por cinco dias, sob temperatura controlada de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Após os cinco dias, foram realizadas medições do comprimento médio da raiz (CMR) e da parte aérea (CMPA), bem como do peso de massa seca da raiz (MSR) e da parte aérea (MSPA) das dez plântulas.

2.8.3 Análise estatística utilizada nos testes de germinação e desenvolvimento inicial

Os ensaios de efeito alelopático (germinação) e desenvolvimento inicial foram realizados em câmara de germinação e foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa RStudio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização das nanopartículas

Após a síntese verde das NPCuO utilizando o extrato aquoso de *M. glomerata*, as nanopartículas apresentaram um tamanho hidrodinâmico médio de 212,4 nm, PDI de 0,15 e potencial zeta de -20,8 mV (Figura I). O tamanho hidrodinâmico influencia diretamente na aplicação das nanopartículas, com partículas menores sendo mais facilmente absorvidas e internalizadas. O baixo PDI indica boa homogeneidade das nanopartículas, essencial para aplicações biológicas e farmacêuticas. O potencial zeta negativo, distante de zero, sugere alta estabilidade coloidal, minimizando a agregação (Suttiponparnit et al. 2011; Shao et al. 2015; Danaei et al. 2018).

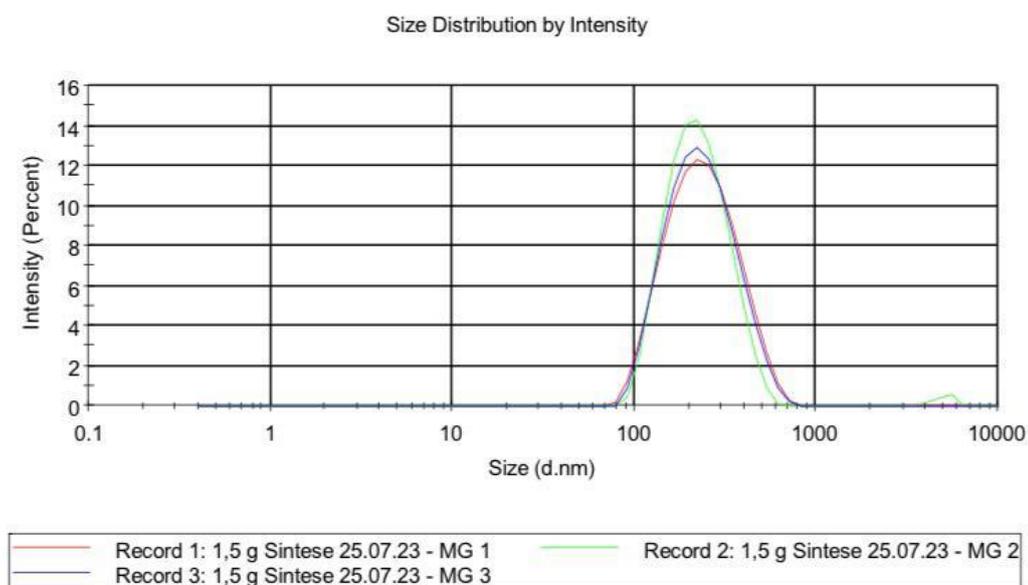


Figura I: Caracterização das nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) associada a *Myrcia glomerata*.

Na literatura, nanopartículas com tamanhos entre 1 e 100 nm (Mohanraj & Chen 2006) se classificam dentre uma das dimensões quando comparadas a materiais a granel (Selmani et al. 2022). Na prática, os tamanhos das nanopartículas podem variar significativamente entre estudos. Por exemplo, nanopartículas sintetizadas via síntese verde utilizando o extrato aquoso de folhas de *Elsholtzia blanda* apresentaram tamanhos variando entre 47,71 e 36,07 nm (Maheo et al. 2022). Já nanopartículas de óxido de cobre sintetizadas com extrato de folhas de *Passiflora edulis* apresentaram tamanhos entre 60 e 65 nm (Yasin et al. 2022), valores divergentes em relação aos do presente estudo.

Por outro lado, nanopartículas de quitosana contendo íons Cu^{2+} , sintetizadas pelo método de gelificação ionotrópica, demonstraram um tamanho médio de 173,0 nm, índice de polidispersividade (PDI) de 0,40 e potencial zeta de 27,4 mV (Gomes et al. 2023), resultados de tamanho hidrodinâmico e PDI mais próximos aos observados nesta pesquisa. As diferenças nos parâmetros de caracterização entre estudos podem ser atribuídas ao fato de que nanopartículas biogênicas são mais difíceis de controlar em termos de tamanho durante a síntese, quando comparadas a métodos convencionais, o que justifica a variabilidade observada (Tortella et al. 2024).

3.2 Atividade antioxidante e determinação dos compostos fenólicos totais (TPC)

A determinação do potencial antioxidante das NPsCuO e extrato etanólico de *M. glomerata*, foi realizada por meio dos ensaios de DPPH e ABTS, além da quantificação dos compostos fenólicos totais (TPC), conforme apresentado na Tabela I.

Tabela I: Resultados dos ensaios de potencial antioxidante de DPPH, ABTS e Compostos Fenólicos Totais (TPC) das NPsCuO e extrato etanólico de *Myrcia glomerata*.

Amostras (Nanopartícula e Extrato)	DPPH (μmol Trolox. g NP ou Ext. $^{-1}$)	ABTS (μmol Trolox. g NP ou Ext. $^{-1}$)	Compostos Fenólicos Totais ($\mu\text{g GAE. mg NP}$ ou Ext. $^{-1}$)
NPCuO de <i>M. glomerata</i>	129,28	168,62	34,45
Extrato etanólico de <i>M. glomerata</i>	1874	4318	360,57

Ao observar os resultados obtidos na presente pesquisa, notasse valores antioxidantes mais expressivos com o extrato etanólico em comparação com as NPsCuO de *Myrcia glomerata*. Isso ocorre, por conta da presença dos compostos fenólicos que são mais facilmente extraídos por solventes polares, como o etanol, que devido as suas características físico-químicas têm maior facilidade em penetrar na membrana celular para realizar a extração dos compostos intracelulares do material vegetal, resultando em valores antioxidantes e de compostos fenólicos totais superiores aos obtidos com as NPsCuO de *M. glomerata* (Tiwari et al. 2011; Fernández-Agulló et al. 2013; Cabana et al. 2013).

Todavia, mesmo havendo diminuição do potencial antioxidante nas NPsCuO de *M. glomerata*, esse potencial ainda se mantém nas nanopartículas, mesmo se fazendo a utilização do extrato aquoso para a síntese das mesmas, que por ser aquoso tem maior extração de compostos hidrossolúveis da planta em comparação ao etanol que extrai muito mais compostos, como por exemplo os fenólicos (Sher 2009; Samy & Gopalakrishnakone 2010; Fernández-Agulló et al. 2013). Vale ressaltar, que a relação entre o potencial antioxidante com os compostos fenólicos ocorre por conta do seu esqueleto carbônico, que estabelece os radicais livres que causam os danos celulares (Sucupira et al. 2012; Jing et al. 2012; Aquino et al. 2017).

Estudos que utilizam de NPsCuO e extrato etanólico de *M. glomerata* para avaliação do potencial antioxidante são escassos, por isso se faz necessária a comparação com outras matrizes vegetais e nanopartículas metálicas. Frohlich et al. (2022) utilizando o extrato etanólico de folhas de *Syzygium aromaticum*, obtiveram valores antioxidantes e de compostos fenólicos coerentes ao da presente pesquisa, sendo 1790 μmol de Trolox g^{-1} de extrato no teste de DPPH e 339,63 $\mu\text{g GAE.mg}^{-1}$ de compostos fenólicos. Já com nanopartículas de prata, biossintetizadas como os extratos de *Artemisia absinthium*, *Humulus lupulus* e *Thymus vulgaris* obtiveram-se resultados semelhantes ao da presente pesquisa com as três espécies testadas no ensaio de DPPH (140 \pm 0.00; 110 \pm 0.00 e 140 \pm 0.00 μmol Trolox. g^{-1} de amostra) e resultados superiores ao da presente pesquisa no ensaio de ABTS com as três espécies (550 \pm 50; 860 \pm 50 e 550 \pm 50 μmol Trolox. g^{-1} de amostra) (Balciunaitiene et al. 2021).

Em um estudo que utilizou nanopartículas de óxido de cobre mediadas por quitosana de *Elsholtzia blanda*, observou-se alta eficiência na atividade antioxidante, com 73% e 89% de eliminação dos radicais DPPH em comparação ao ácido ascórbico, conforme avaliação pelo ensaio de DPPH (Maheo et al. 2022). Outro estudo, envolvendo nanopartículas de óxido de cobre sintetizadas com extrato de folhas de *Passiflora edulis*, também apresentou resultados eficazes de atividade antioxidante no ensaio de DPPH (Yasin et al. 2022). No entanto, ensaios de atividade antioxidante utilizando o método ABTS para NPsCuO e extrato etanólico de *M. glomerata* ou de outras espécies do gênero *Myrcia* ainda não foram reportados na literatura, evidenciando a importância da presente pesquisa.

A diferença observada nos valores de atividade antioxidante obtidos pelos métodos utilizados na presente pesquisa, pode ser atribuída às diferenças na capacidade de cada método em reagir com diferentes tipos de compostos. ABTS (compostos hidrofóbicos e hidrofílicos) e DPPH (compostos hidrofóbicos) (Pulido et al. 2003; Cheng et al. 2007; Pérez-Jiménez et al. 2008;). Esses resultados destacam a relevância de empregar múltiplos métodos antioxidantes para uma avaliação mais abrangente do potencial antioxidante das amostras.

Com relação aos valores obtidos de compostos fenólicos totais (Tabela I), observa-se que as NPsCuO de *Myrcia glomerata* tiveram uma redução de compostos fenólicos em comparação com extrato etanólico, mas ainda assim mantendo um percentual de 3,4% de compostos fenólicos, esses resultados podem estar relacionados à reduzida quantidade ou até mesmo à ausência de flavonoides incorporados nas nanopartículas de CuO durante o processo de síntese. Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato de que, na preparação da infusão das folhas de *M. glomerata*, predominam compostos solúveis em água, enquanto compostos bioativos como flavonoides, conhecidos por suas propriedades antioxidantes, são tipicamente solúveis em solventes polares, como etanol e metanol (Sher 2009; Samy & Gopalakrishnakone 2010;). No estudo de Balciunaitiene et al. (2021) foram obtidos resultados inferiores ao da presente pesquisa de compostos fenólicos totais com as nanopartículas de prata das espécies *Artemisia absinthium*, *Humulus lupulus* e *Thymus vulgaris* ($8,98 \pm 0,24$; $6,76 \pm 0,32$ e $44,00 \pm 4,54$ $\mu\text{g GAE} \cdot \text{mg}^{-1}$ de amostra).

3.3 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana das NPsCuO de *M. glomerata* apresentou baixa ou ausência de efeito bacteriostático e bactericida contra as bactérias padrões testadas. Observou-se apenas atividade bacteriostática frente às espécies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* Enteritidis e *Salmonella enterica* Typhimurium (Tabela II).

Tabela II: Valores recorrentes da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) das suspensões de nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de Myrcia glomerata, frente a bactérias padrões (ATCC's).

Bactérias	CIM (µg/ml)	CBM
Gram Positiva		
<i>Staphylococcus aureus</i>	2000	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-
Gram Negativa		
<i>Escherichia coli</i>	2000	-
<i>Salmonella enterica</i> Enteritidis	2000	-
<i>Salmonella enterica</i> Typhimurium	2000	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-

Um possível fator responsável pela baixa ou ausência de atividade antimicrobiana das nanopartículas de CuO de *M. glomerata* pode estar relacionado aos compostos bioativos liberados durante o processo de infusão, realizado por 30 minutos antes da adição dos reagentes. Esse procedimento provavelmente favoreceu a solubilização de compostos hidrossolúveis, enquanto bioativos como os flavonoides, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas devido à capacidade de causar danos irreversíveis às paredes bacterianas, são predominantemente solúveis em solventes polares, como etanol e metanol (Sher 2009; Samy & Gopalakrishnakone 2010;). Essa característica pode explicar a limitada atividade antimicrobiana observada nas NPsCuO de *M. glomerata* sintetizadas por esse método.

Resultados diferentes do presente estudo foram observados por Priya et al. (2023), que avaliaram nanopartículas de óxido de cobre de *Morinda citrifolia* quanto à atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* pelo método de difusão em disco. As nanopartículas demonstraram eficácia contra os três microrganismos, sendo mais eficazes contra *Bacillus subtilis*. Já no estudo de Çalhan & Gundogan (2020) onde também se realizou a síntese

verde de NPsCuO de *Onosma sericeum* Willd (Boraginaceae) e avaliando a atividade antimicrobiana pelo método de microplaca (ensaio de microtitulação de Resazurina) das nanopartículas, observaram ação bacteriostática significativa frente a todos os microrganismos testados, sendo de 500 µg/ml sobre *S. aureus*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii* e *Aeromonas hydrophila* e de 250 µg/ml para *B. subtilis*.

De forma semelhante, Maheo et al. (2022) relataram alta atividade antimicrobiana de nanopartículas de óxido de cobre mediadas por quitosana de *E. blanda* contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, também utilizando o método de difusão em disco. Vale ressaltar, que são poucos estudos na literatura que abordam metodologias de microdiluição em caldo, como a feita no presente estudo em ensaios antimicrobianos utilizando de NPsCuO, fazendo-se necessária a comparação com outras metodologias.

As interferências na atividade antimicrobiana observadas nesta pesquisa podem estar possivelmente relacionadas à presença da enzima polifenol oxidase. Essa enzima degrada polifenóis em extratos aquosos, como na infusão utilizada. No entanto, ela não é ativa em solventes polares como etanol e metanol. Isso pode ter contribuído para uma possível degradação de compostos antioxidantes e antimicrobianos durante o processo de preparação das nanopartículas (Tiwari et al. 2011, Toledo et al. 2023).

Outro possível fator que pode ter atuado nos resultados obtidos é o tamanho das nanopartículas utilizadas, que influencia diretamente na interação com as membranas microbianas. Nanopartículas menores possuem maior área de contato devido à relação superfície-volume. Essa característica facilita sua entrada pelas membranas, promovendo desestabilização e ruptura. Esse efeito é mais pronunciado em bactérias Gram-negativas, cuja membrana externa complexa é mais suscetível a nanopartículas menores (Modi et al. 2023).

3.4 Efeito alelopático (germinação)

No ensaio de germinação com diásporos de alface em contato com as NPsCuO de *M. glomerata*, observou-se que as nanopartículas não apresentaram interferências significativas sobre nenhuma das variáveis analisadas, quando comparadas a testemunha (Tabela III).

Tabela III: Efeitos dos diferentes tratamentos com nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de Myrcia glomerata sobre a porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento médio de parte aérea (CMPA) e raiz (CMR) de diásporos de alface (Lactuca sativa).

Tratamentos	PG (%)	TMG (sementes/dia)	IVG	CMPA (cm)	CMR (cm)
--------------------	---------------	---------------------------	------------	------------------	-----------------

Testemunha (Água)	87 a	3,72 a	6,48 a	0,32 a	0,72 a
6,25 µg/ml	90 a	3,30 a	7,29 a	0,40 a	1,05 a
12,5 µg/ml	88 a	3,32 a	7,08 a	0,40 a	1,08 a
25 µg/ml	80 a	3,42 a	6,34 a	0,33 a	0,87 a
50 µg/ml	86 a	3,21 a	7,18 a	0,45 a	0,74 a
100 µg/ml	87 a	3,21 a	7,54 a	0,50 a	0,86 a
CV (%)	8.56	8.97	14.25	27.87	28.33

O maior CMPA foi registrado no tratamento com 100 µg/ml (0,50 cm), e o maior CMR no tratamento com 12,5 µg/ml (1,08 cm). Apesar de não apresentarem diferença estatística em relação a testemunha, esses valores podem apontar tendências de aumento de comprimento médio de parte aérea e raiz na presença das NPsCuO de *M. glomerata* que merecem investigação em estudos futuros. Esses resultados indicam que as NPsCuO de *M. glomerata* não afetaram estatisticamente a germinação ou o crescimento inicial de *Lactuca sativa*, tanto de forma positiva quanto negativa.

Resultados semelhantes aos obtidos nesta pesquisa foram relatados por Pelegrino et al. (2020), que observaram em seus ensaios de toxicidade utilizando NPsCuO biossintetizadas com extrato de chá verde (70,1 nm, PDI 0,26 e potencial zeta de 25,7 mV) nas concentrações de 0,2, 2, 20, 40, 80, 150 e 300 µg.ml⁻¹ sobre alface que, concentrações baixas de nanopartículas de até 40 µg.ml⁻¹ não afetaram e nem promoveram aumento da germinação da alface. Já em concentrações maiores de 40 µg.ml⁻¹ houve inibição da germinação e crescimento de radícula da alface variando entre 35 e 75%, sendo estes resultados contrários ao do presente trabalho (Pelegrino et al. 2020).

Resultados divergentes, também são relatos por Khaldari et al. (2021) que, após a realização da síntese verde de NPsCuO de chá verde (*Camellia sinensis* L.) e lavanda (*Lavandula angustifolia*) observaram seus efeitos fitotóxicos sobre sementes de alface e tomate, aplicando concentrações de nanopartículas de 4, 40, 400 e 4000 µg.ml⁻¹, resultando em efeitos inibitórios pouco expressivos na porcentagem de germinação, taxa de germinação, comprimento de broto e raiz nas maiores concentrações de nanopartículas (4, 40 e 4000 µg.ml⁻¹), sendo que, na menor concentração de 4 µg.ml⁻¹ houve aumento significativo de raiz e broto nas plântulas testadas.

A ausência de interferência significativa, seja positiva ou negativa, das NPsCuO de *M. glomerata* sobre a germinação da alface na presente pesquisa pode estar relacionada ao fato de que, a germinação é menos sensível a presença dos compostos bioativos e do cobre incorporados nas

nanopartículas no momento da síntese, quando comparado a outras variáveis analisadas, como o desenvolvimento da plântula (Ferreira & Aquila 2000; Silva 2012). Outro possível fator é o tamanho das nanopartículas utilizadas, onde partículas menores tendem a ser mais facilmente absorvidas pelas membranas celulares, gerando efeitos mais pronunciados, positivos ou negativos, nos organismos (Modi et al. 2023).

O ensaio de germinação com as NPsCuO de *Myrcia glomerata* em sementes de capim-amargoso revelou que não houve diferença estatística significativa em relação à testemunha para as variáveis porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG). No entanto, foi observada uma redução significativa no índice de velocidade de germinação (IVG) no tratamento com 100 µg/mL, quando comparado ao de 50 µg/mL (Tabela IV), indicando um possível efeito inibitório em concentrações mais elevadas.

Tabela IV: Efeitos dos diferentes tratamentos com nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de Myrcia glomerata sobre a porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de capim-amargoso (Digitaria insularis).

Tratamentos	PG (%)	TMG (sementes/dia)	IVG
Testemunha (Água)	30 a	6,14 a	1,39 ab
6,25 µg/ml	35 a	6,46 a	1,59 ab
12,5 µg/ml	36 a	4,87 a	2,00 ab
25 µg/ml	33 a	5,72 a	1,70 ab
50 µg/ml	37 a	4,78 a	2,33 a
100 µg/ml	25 a	4,77 a	1,08 b
CV (%)	25,81	18,53	30,68

Apesar dessa variação no IVG, os dados sugerem que, de forma geral, as NPsCuO de *M. glomerata* não afetaram significativamente o processo germinativo do capim-amargoso. A ausência de diferenças estatísticas em PG e TMG reforça que, nas condições avaliadas, as nanopartículas não interferiram de forma relevante na germinação dessa espécie.

Esse padrão de resposta também foi observado nos diásporos de alface (Tabela III), o que pode estar relacionado à menor sensibilidade da germinação frente a compostos bioativos e íons metálicos, como o cobre (Ferreira & Aquila, 2000; Silva, 2012). Além disso, o período de embebição das sementes (duas horas) pode ter sido insuficiente para permitir absorção efetiva das nanopartículas, especialmente considerando seu tamanho e a possível dificuldade de penetração pelas membranas celulares. Outro fator relevante é a biologia do capim-amargoso, uma espécie invasora dotada de características adaptativas, como elevada produção de sementes, tolerância a solos pobres e tegumento piloso. Essa pilosidade, além de favorecer a dispersão, pode atuar como barreira física à entrada de nanopartículas, restringindo sua ação (Melo et al., 2015).

Esses resultados sugerem uma possível tolerância fisiológica do capim-amargoso às NPsCuO ou indicam limitações metodológicas para detecção de efeitos mais pronunciados. Estudos futuros com variações no tempo de exposição e nas concentrações aplicadas são recomendados para aprofundar a avaliação do impacto das NPsCuO de *M. glomerata* sobre essa espécie.

No ensaio com sementes de milho, os tratamentos com NPsCuO de *M. glomerata* não influenciaram significativamente as variáveis porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG) e índice de velocidade de germinação (IVG), quando comparados a testemunha. Entretanto, foi observada uma interferência negativa no comprimento médio de raiz (CMR) na maior concentração avaliada (100 µg/mL), que resultou em uma redução significativa no tamanho das raízes das plântulas em relação a testemunha (Tabela V).

Tabela V: Efeitos dos diferentes tratamentos com nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de Myrcia glomerata sobre a porcentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG), índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimento médio de raiz (CMR) de sementes de milho (Zea mays L.).

Tratamentos	PG (%)	TMG (sementes/dia)	IVG	CMR (cm)
Testemunha (Água)	89 a	2,07 a	10,92 a	14,91 ab
6,25 µg/ml	90 a	2,12 a	10,79 a	14,70 ab
12,5 µg/ml	84 a	2,10 a	10,16 a	17,51 a
25 µg/ml	85 a	2,07 a	10,37 a	11,08 bc
50 µg/ml	87 a	2,17 a	10,32 a	13,20 abc
100 µg/ml	88 a	2,09 a	10,73 a	9,82 c
CV (%)	8,6	5,05	9,41	14,46

A redução observada no comprimento médio das raízes (CMR) no tratamento com a maior concentração de NPsCuO de *M. glomerata* (100 µg/mL) pode estar relacionada a um possível efeito tóxico causado pela exposição contínua das sementes às nanopartículas ao longo de todo o período experimental. Embora o cobre seja um micronutriente essencial ao metabolismo vegetal, seu efeito pode variar conforme a concentração, podendo atuar como bioestimulante em baixas doses e como inibidor em concentrações elevadas, fenômeno conhecido como hormese (Anderson et al., 2018; Vanti et al., 2020; Juárez-Maldonado et al., 2021).

Adicionalmente, é possível que compostos fenólicos presentes no extrato de *M. glomerata* (Tabela I), incorporados às nanopartículas durante o processo de síntese, tenham contribuído para o efeito inibitório observado. Esses metabólitos secundários podem exercer ação alelopática, interferindo negativamente no crescimento e desenvolvimento das plântulas, como evidenciado pela redução do CMR (Tabela V) (Shirley, 1996; Taiz & Zeiger, 2013).

No estudo conduzido por Vasconcelos et al. (2022), o extrato aquoso de *Myrcia vittoriana* demonstrou efeito fitotóxico sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de alface. De forma semelhante, Boiago et al. (2018) relataram efeitos inibitórios no desenvolvimento inicial do milho e na germinação da alface após o tratamento com extrato aquoso de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae). Esses achados reforçam que, mesmo extratos obtidos com solventes polares como a água, que favorecem a extração de compostos hidrossolúveis, podem conter quantidades significativas de compostos fenólicos com potencial alelopático. Tais evidências corroboram os resultados obtidos no presente estudo, em que o extrato aquoso (infusão) de *M. glomerata* foi utilizado na síntese das NPsCuO, e que também apresentou efeitos fitotóxicos sobre o desenvolvimento das plântulas.

Resultados semelhantes foram relatados por Yang et al. (2015), que observaram inibição no alongamento de raiz de milho (95,73%) e arroz (97,28%) quando submetidas a concentração de NPsCuO de 2000 mg.L⁻¹. Já a variável germinação, não foi afetada pela presença das NPsCuO nas cultivadas de milho e arroz, corroborando com os resultados do presente estudo.

Embora as NPsCuO de *M. glomerata* utilizadas na presente pesquisa apresentem tamanho médio de 212,4 nm, é possível que tenham interagido com a superfície das sementes e sido parcialmente absorvidas pelo tegumento. Essas interações podem ter desencadeado alterações bioquímicas e fisiológicas, afetando negativamente o crescimento das plântulas (Imatomi et al. 2013).

3.5 Desenvolvimento inicial

No ensaio de desenvolvimento inicial com as NPsCuO de *M. glomerata* em plântulas de milho, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos e a testemunha nas variáveis comprimento médio da parte aérea (CMPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz

(MSR). No entanto, para o comprimento médio da raiz (CMR), os tratamentos com 12,5, 25 e 50 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram reduções significativas em comparação à testemunha, embora não tenham diferido entre si. Já a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ resultou na menor média de CMR, com diferença estatística em relação a todos os demais tratamentos, indicando redução superior a 50% no comprimento radicular quando comparada à testemunha (Tabela VI).

Tabela VI: Efeitos dos diferentes tratamentos com nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) de Myrcia glomerata sobre o comprimento médio de parte aérea (CMPA), comprimento médio de raiz (CMR), massa seca de parte aérea (MSPA) e de raiz (MSR) no desenvolvimento inicial de plântulas de milho (Zea mays L.).

Tratamentos	CMPA (cm)	CMR (cm)	MSPA (mg)	MSR (mg)
Testemunha (Água)	10,62 ab	13,92 a	343,25 a	284,25 a
6,25 $\mu\text{g/ml}$	10,33 ab	13,32 a	349,75 a	288,50 a
12,5 $\mu\text{g/ml}$	8,62 b	9,40 b	270,00 a	273,75 a
25 $\mu\text{g/ml}$	11,27 ab	10,82 ab	329,00 a	329,75 a
50 $\mu\text{g/ml}$	12,11 a	10,12 ab	351,00 a	267,75 a
100 $\mu\text{g/ml}$	8,66 b	5,34 c	251,75 a	284,25 a
CV (%)	14,02	16,31	14,27	19,35

Assim como observado no ensaio de germinação (Tabela V), as NPsCuO de *M. glomerata* interferiram negativamente no comprimento médio de raiz (CMR) das plântulas de milho, especialmente na maior concentração testada (100 $\mu\text{g/mL}$), que resultou em uma redução significativa dessa variável em relação a todos os demais tratamentos (Tabela VI). Essa redução pode estar associada a uma possível toxicidade causada tanto pela elevada concentração das nanopartículas quanto pela presença de compostos fenólicos oriundos do extrato vegetal utilizado na síntese, os quais podem exercer efeitos alelopáticos negativos sobre o crescimento radicular (Shirley, 1996; Taiz & Zeiger, 2013; Anderson et al., 2018; Vanti et al., 2020; Juárez-Maldonado et al., 2021).

A raiz, por ser o primeiro órgão de contato com as nanopartículas presentes no substrato, tende a ser mais suscetível aos seus efeitos tóxicos. Isso ocorre, possivelmente, devido à maior absorção direta dos compostos bioativos presentes nas NPsCuO, os quais incluem tanto os fitocompostos de *M. glomerata* quanto o íon cobre, podendo atuar de forma sinérgica sobre processos fisiológicos das

plantas (Andrade et al., 2009). O comprometimento do desenvolvimento normal das raízes pode estar relacionado à inibição da divisão celular nas regiões meristemáticas, processo fundamental para o alongamento radicular (Carvalho et al., 2014).

Além disso, nanopartículas metálicas, especialmente as de cobre e óxido de cobre, têm sido associadas à indução de estresse oxidativo em plantas, promovendo aumento na atividade de enzimas antioxidantes e ocasionando danos às estruturas celulares e ao metabolismo vegetal (Dimkpa et al., 2012; Musante & White, 2012; Trujillo-Reyes et al., 2014; Rajput et al., 2020). Esses mecanismos podem explicar a acentuada redução no CMR observada na concentração de 100 µg/mL.

Os resultados deste estudo evidenciam que as nanopartículas de óxido de cobre (NPsCuO) sintetizadas com extrato de *M. glomerata* apresentam potencial bioativo, com efeitos modulados pela concentração e pelas características físico-químicas das partículas. Embora não tenham impactado significativamente as variáveis germinativas de alface e capim-amargoso, foi observada uma redução expressiva no comprimento radicular de plântulas de milho na concentração de 100 µg/mL, sugerindo efeito fitotóxico em doses elevadas. Essa resposta pode estar relacionada à interação entre os íons de cobre e os compostos fenólicos da planta incorporados durante a síntese, ressaltando a importância do controle da composição e da dosagem em formulações destinadas ao uso agrícola. Esses achados destacam o potencial das NPsCuO de *M. glomerata* como ferramenta biotecnológica com aplicações seletivas e sustentáveis no manejo de plantas.

4. CONCLUSÃO

A presente pesquisa demonstrou que as NPsCuO obtidas por meio da síntese verde com *M. glomerata* exerceram efeitos específicos nos bioensaios conduzidos, principalmente no desenvolvimento inicial de plântulas de milho, indicando atividade dependente da concentração. As variações observadas podem estar associadas ao tamanho hidrodinâmico das nanopartículas, à presença de compostos bioativos do extrato vegetal e às condições de dispersão adotadas. Os resultados contribuem para o entendimento das interações entre nanopartículas vegetais e sistemas biológicos, reforçando seu potencial no desenvolvimento de tecnologias voltadas à agricultura sustentável e à formulação de produtos funcionais com propriedades antimicrobianas e bioestimulantes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrah FA, Ki Denu M, Buadu MA. Nanotechnology applications in healthcare with emphasis on sustainable Covid-19 management. *J. Nanotechnol Res.* 2023 Mai;5:06-13, doi: 10.26502/jnr.2688-85210037.
2. Anderson AJ, Mclean JE, Jacobson AR, Britt DW. CuO and ZnO nanoparticles modify interkingdom cell signaling processes relevant to crop production. *J. Agric. Food Chem.* 2018;66:6513–6524, doi: [10.1021/acs.jafc.7b01302](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01302).

3. Aquino VVF, Costa JGM, Angélico EC, Medeiros RS, Araújo MF, Rodrigues OG. Metabólitos secundários e ação antioxidante de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*. *Acta Brasiliensis*. 2017; 1:7-10.
4. Bandeira DM, Corrêa JM, Laskoski LV, Batista JM, Rosset J, Costa WF, Kuo LH, Pinto FGS. Extraction, characterization of bioactive compounds and biological activities of the leaves of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2022;31:100427.
5. Bandeira DM, Corrêa JM, Laskoski LV, Rosset J, Conceição LHSM, Gomes SD, Pinto FGS. Phytochemical screening of *Podocarpus lambertii* Klotzch ex Endl. Leaf extracts and potential antimicrobial, antioxidante and antibiofilm activity. *An Acad Bras Cien*. 2024;96(3).
6. Batista JM, Bandeira DM, Laskoski LV, Baeza LC, Conceição LHSM, Canton AG, Rosset J, Santos CV, Pinto FGS. Analysis of the Chemical constituents of *Myrcia glomerata* G.Burton & E.Lucas and assessment of their antimicrobial, antioxidante, and antibiofilm potential against pathogenic microorganisms. *Revista Caderno Pedagógico*. 2024;21:01-34.
7. Behera M, Behera PR, Bhuyan PP, Singh L, Pradhan B. Algal nanoparticles and their antibacterial activity: current research status and future prospectives. *Drugs Drug Candidates*. 2023;2:554-570, doi: [10.3390/ddc2030029](https://doi.org/10.3390/ddc2030029).
8. Bobo-García G, Davidov-Pardo G, Arroqui C, Vírseda P, Martín-Arroyo MR, Navarro M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *J Sci Food Agric* 2015;95:204-209.
9. Boiago NP, Fortes AMT, Pilatti DM, Silva PSS. Allelopathic bioactivity of fresh and infused aqueous extracts of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) on lettuce and maize. *Acta Sci Biol Sci*. 2018;40:1-9.
10. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes [Internet]. Brasília (DF): MAPA; 2009. [citado em: 2 nov 2024]. Disponível em https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf.
11. Cabana R, Silva LR, Valentão P, Vitorro CI, Andrade PB. Effect of different extraction methodologies on the recovery of bioactive metabolites from *Satureja parvifolia* Phil. Epling Lamiaceae. *Ind Crops Prod*. 2013;48:49-56.
12. Cheng HY, Ling YC, Hsieh CL. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry*. 2007;104:1418–1424.
13. Clinical Laboratory Standards Institute - CLSI. 2018. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically;11th Edition, CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
14. Corciova A, Ivanescu B. Biosynthesis, characterization and therapeutic applications of plant-mediated silver nanoparticles. *J. Serb. Chem. Soc*. 2018;83(5):515-538,doi: [10.2298/JSC170731021C](https://doi.org/10.2298/JSC170731021C).
15. Danaei M, Dehghankhold M, Ataei S, Hasanzadeh daVarani F, Javanmard R, Dokhani A, KhorasanI S, Mozafari MR. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*. 2018;10(57), doi: 10.3390/pharmaceutics10020057.
16. Dimkpa CO, Mclean JE, Latta DE, Manangon E, Britt DW, Johnson WP, Boyanov MI, Anderson AJ. CuO and ZnO nanoparticles: phytotoxicity, metal speciation, and induction of oxidative stress in sand-grown wheat. *J. Nanoparticle Res*. 2012;14, doi:10.1007/s11051-012-1125-9.
17. Doğan Çalhan S, Gündoğan M. Copper Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activities and Catalytic Reduction of Methylene Blue. *JOTCSA*. 2020;7(2):561–70, doi: 10.18596/jotcsa.650993.
18. Doskocz N; Affek K; Zaleska-Radziwill. Effects of aluminium oxide nanoparticles on bacterial growth. *E3S Web of Conferences*. 2017;17, doi: 10.1051/e3sconf/20171700019.
19. Edmond JB, Drapala WJ. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*. 1958;7:428-434.
20. Fernández-Agulló A, Pereira E, Freire MS, Valentão P, Andrade PB, González-Álvarez J, Pereira JA. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut *Juglans regia* L. green husk extracts. *Ind Crops Prod*. 2013;42:126–132.
21. Festa RA, Thiele DJ. Copper: an essential metal in biology, *Curr. Biol*. 2011;21:877-883, doi: [10.1016/j.cub.2011.09.040](https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.09.040).
22. Fracassetti D. et al. Ellagic acid derivatives, Ellagitannins, Proanthocyanidins and Other Phenolics, Vitamin C and Antioxidant Capacity of two Powder Products from Camu-camu Fruit (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*. 2013;139:578-588.
23. Frohlich PC, Santos KA, Hasan SDM, Silva EA. Evaluation of the ethanolic ultrasound-assisted extraction from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves and chemical characterization of the extracts. *Food Chemistry*. 2022;373.
24. Gaba S, Rai AK, Varma A, Prasad R, Goel A. Biocontrol potential of mycogenic copper oxide nanoparticles against *Alternaria brassicae*. *Front. Chem*. 2022;10:966396, doi: 10.3389/fchem.2022.966396.

25. Gomes DG, Sanada K, Pieretti JC, Shigueoka LH, Sera GH, Seabra AB, Oliveira HC. Nanoencapsulation Boosts the Copper-Induced Defense Responses of a Susceptible *Coffea arabica* Cultivar against *Hemileia vastatrix*. *Antibiotics*. 2023;12:249, doi:10.3390/antibiotics12020249.
26. Hadas A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *J Exp Bot*. 1976;27:480-489.
27. Hafeez M, Arshad R, Khan J, Akram B, Ahmad MN, Hameed MU, Haq S. *Populus ciliata* mediated synthesis of copper oxide nanoparticles for potential biological applications. *Mater. Res. Express*. 2019;6: 055043, doi: 10.1088/2053-1591/ab0601.
28. Hoang SA, Nguyen LQ, Nguyen NH, Tran CQ, Nguyen DV, Le NT, Ha CV, Vu QN, Phan CM. Metal nanoparticles as effective promotors for Maize production. *Sci. Rep*. 2019;9:13925, doi: 10.1038/s41598-019- 50265-2.
29. Imatomi M, Novaes P, Gualtieri SCJ. Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. *Acta Bot Bras*. 2013;27:54-61.
30. Jing P, Zhao SJ, Jian WJ, Qian BJ, Dong Y, Pang J. Quantitative studies on structure – DPPH scavenging activity relationship of food phenolic acids. *Molecules* 2012;17:12910-12924.
31. Juárez-Maldonado A, Tortella G, Rubilar O, Fincheira P, Benavides-Mendoza A. Biostimulation and toxicity: the magnitude of the impact of nanomaterials in microorganisms and plants. *Journal Advanced Research*. 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.12.011>.
32. Karuppanan SK, Ramalingam R, Khalith SBM, Dowlath MJH, Raiyaan GID, Arunachalam KD. Characterization, antibacterial and photocatalytic evaluation of green synthesized copper oxide nanoparticles. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2021;31:101904, doi: [10.1016/j.bcab.2020.101904](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101904).
33. Khaldari I, Naghavi MR, Motamedi E. Synthesis of green and pure copper oxide nanoparticles using two plant resources via solid-state route and their phytotoxicity assessment. *RSC Adv*. 2021;11:3346-3353, doi: 10.1039/d0ra09924d.
34. Khan I, Khan I, Usman M, Imran M, Saeed K. Nanoclay-mediated photocatalytic activity enhancement of copper oxide nanoparticles for enhanced methyl orange photodegradation. *Journal of Materials Science: Materials in Eletronics*. 2020;31:8971-8985.
35. Kohatsu MY, Pelegrino MT, Monteiro LR, Freire BM, Pereira RM, Fincheira P, Rubilar O, Tortella G, Batista BL, De Jesus TA, Seabra AB, Lange CN. Comparison of foliar spray and soil irrigation of biogenic CuO nanoparticles (NPs) on elemental uptake and accumulation in lettuce. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2021;28:16350–16367, doi: [10.1007/s11356-020-12169-x](https://doi.org/10.1007/s11356-020-12169-x).
36. Maheo AR, Vithiya BSM, Prasad TAA, Tamizhdurai P, Mangesh VL. Biosynthesis, characterization, biological and photo catalytic investigations of *Elsholtzia blanda* and chitosan mediated copper oxide nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry*. 2022;15:103661, doi: [10.1016/j.arabjc.2021.103661](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103661).
37. Mangla B, Kaul V, Thakur N, Shukla SK. A review on harnessing nanomaterials as promising materials interface. *Adv. Mater. Lett*. 2021;12(7):1-16, doi: 10.5185/amlett.2021.071643.
38. Margenot AJ, Rippner DA, Dumlao MR, Nezami S, Green PG, Parikh SJ, Mcelrone AJ. Copper oxide nanoparticle effects on root growth and hy-draulic conductivity of two vegetable crops. *Plant Soil*. 2018; 431:333-345, doi: [10.1007/s11104-018-3741-3](https://doi.org/10.1007/s11104-018-3741-3).
39. Meena J, Kumaraguru N, Veerappa NS, Shin PK, Tatsugi J, Kumar AS, Santhakumar K. Copper oxide nanoparticles fabricated by green chemistry using *Tribulus terrestris* seed natural extract-photocatalyst and green electrodes for energy storage device. *Scientific reports*. 2023;13:22499, doi: [10.1038/s41598-023-49706-w](https://doi.org/10.1038/s41598-023-49706-w).
40. Mekuye B, Abera B. Nanomaterials: an overview of synthesis, classification, characterization and applications. *Nano Select*. 2023;4:486-501, doi: 0.1002/nano.202300038.
41. Melo MSC, Silva DCP, Rosa LE, Nicolai M, Christoffoleti PJ. Herança genética da resistência de capim-amargoso ao glyphosate. *Revista Brasileira de Herbicidas*. 2015;14:296-305.
42. Mittal AK, Christi Y, Banerjee UC. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975013000050>.
43. Modi SK, Gaur S, Sengupta M, Singh MS. Mechanistic insights into nanoparticle surface-bacterial membrane interactions in overcoming antibiotic resistance. *Front. Microbiol*. 2023;14:1135579, doi: 10.3389/fmicb.2023.1135579
44. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2006;5: 561-573.
45. Musante C, White JC. Toxicity of silver and copper to *Cucurbita pepo*: differential effects of nano and bulk-size particles. *Environ. Toxicol*. 2012;27:510–517, doi: [10.1002/tox.20667](https://doi.org/10.1002/tox.20667).
46. Mustapha T, Misni N, Ithnin NR, Daskum AM, Unyah NZ. A review on plants and microorganisms mediated synthesis of silver nanoparticles, role of plants metabolites and applications. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022;19:2-17, doi: [10.3390/ijerph19020674](https://doi.org/10.3390/ijerph19020674).

47. Nair AB, Morsy MA, Shinu P, Kotta S, Chandrasekaran M, Tahir MA. Advances of nano-iron metal nanoparticles in biomedicine. *J Pharm Sci.* 2021;24:41-61.
48. Nguyen DV, Nguyen HM, Le NT, Nguyen KH, Nguyen HT, Le HM, Nguyen AT, Dinh NTT, Hoang SA, Ha CV. Copper nanoparticle application enhances plant growth and grain yield in maize under drought stress conditions. *J. Plant Growth Regul.* 2022;41:364-375, doi: 10.1007/s00344-021-10301-w.
49. Nwanya AC, Razanamahandry LC, Bashir AKH, Ikpo CO, Nwanya SC, Botha S, Ntwampe SKO, Ezema FI, Iwuoha EI, Malik M. Industrial textile effluent treatment and antibacterial effectiveness of *Zea mays* L. dry husk mediated bio-synthesized copper oxide nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials.* 2019;375: 281-289, doi: [10.1016/j.jhazmat.2019.05.004](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.004).
50. Pelegrino MT, Kohatsu MY, Seabra AB, Monteiro LR, Gomes DG, Oliveira HC, Rolim WR, De Jesus TA, Batista BL, Lange CN. Effects of copper oxide nanoparticles on growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings and possible implications of nitric oxide in their antioxidative defence. *Environ. Monit. Assess.* 2020;192, doi: [10.1007/s10661-020-8188-3](https://doi.org/10.1007/s10661-020-8188-3).
51. Pelegrino MT, Pieretti JC, Lange CN, Kohatsu MY, Freire BM, Batista BL, Fincheira P, Tortella GR, Rubilar O, Seabra AB. Foliar spray application of CuO nanoparticles (NPs) and S-nitrosoglutathione enhances productivity, physiological and biochemical parameters of lettuce plants. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2021, doi: [10.1002/jctb.6677](https://doi.org/10.1002/jctb.6677).
52. Pérez-Jiménez J, Arranz S, Tabernero M, Díaz-Rubio ME, Serrano J, Goñi I, Saura-Calixto F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression. *Of results. Food Research International.* 2008;41:274-285.
53. Ponce S, Murillo HA, Alexis F, Alvarez-Barreto J, Mora JR. Green synthesis of nanoparticles mediated by deep eutectic solvents and their applications in water treatment. *Sustainability.* 2023;15, doi: [10.3390/su15129703](https://doi.org/10.3390/su15129703).
54. Printz B, Lutts S, Hausman JF, Sergeant K. Copper trafficking in plants and its implication on cell wall dynamics. *Front. Plant Sci.* 2016;7, doi: 10.3389/fpls.2016.00601.
55. Priya M, Venkatesan R, Deepa S, Sana SS, Arumugam S, Karami AM, Vetcher AA, Kim SC. Green synthesis, characterization, antibacterial, and antifungal activity of copper oxide nanoparticles derived from *Morinda citrifolia* leaf extract. *Scientific Reports.* 2023;13:18838, doi: [10.1038/s41598-023-46002-5](https://doi.org/10.1038/s41598-023-46002-5).
56. Pulido R, Hernández-García M, Saura-Calixto F. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *Eur J of Clin Nutr.* 2003;57:1275–1282.
57. Rajput V, Minkina T, Sushkova S, Behal A, Maksimov A, Blicharska E, Ghazaryan K, Movsesyan H, Barsova N. 2020. ZnO and CuO nanoparticles: a threat to soil organisms, plants, and human health. *Environ. Geochem. Health.* 2020;42:147–158, doi: [10.1007/s10653-019-00317-3](https://doi.org/10.1007/s10653-019-00317-3).
58. Russo EMK, Reichelt AAJ, Sá JR, Furlanetto RP, Moises RCS, Kasamatsu TS, Chacra AR. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* 1990;23(1):11–20.
59. Samy RP, Gopalakrishnakone P. Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery. *Evid Based Complement Alte.* 2010.
60. Sarfraz MH, Muzammil S, Hayat S, Khurshid M, Sayyid AH. Fabrication of chitosan and *Trianthema portulacastrum* mediated copper oxide nanoparticles: antimicrobial potential against MDR bacteria and biological efficacy for antioxidant, antidiabetic and photocatalytic activities. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2023;242(3):124954, doi: [10.1016/j.ijbiomac.2023.124954](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124954).
61. Scur MC, Pinto FGS, Bona EAM, Weber LD, Alves LFA, Moura AC. Occurrence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella Serotypes* Isolates Recovered from Poultry of Western Paraná, Brazil. *Afr J Agric Res.* 2014; 9: 823-830.
62. Selmani A, Kovacevic D, Bohinc K. Nanoparticles: from synthesis to applications and beyond. *Advances in Colloid and Interface Science.* 2022;303: 102640. doi: 10.1016/j.cis.2022.102640.
63. Shao XR, Wei XQ, Song X, Hao LY, Cai XX, Zhang ZR, Peng Q, Lin YF. Independent effect of polymeric nanoparticle zeta potential/surface charge, on their cytotoxicity and affinity to cells. *Cell Prolif.* 2015;48: 465-477, doi: 10.1111/cpr.12192.
64. Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Chemistry Department, Florida Institute of Technology, 150 West University Boulevard, Melbourne, Florida 32901, USA, v. 154, setembro, 2010. p.83–96. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/316621049_Silver_nanoparticles_green_synthesis_approaches.
65. Sher A. Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants. *Gomal J Med Sci.* 2009;7: 72-78.
66. Shirley BW. Flavonoid biosynthesis: ‘new’ functions for an ‘old’ pathway. *Trends in Plant Science.* 1996;31(1):377-382.
67. Silva JB, Nakagawa J. Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. *Informativo Abrates.* 1995;5:62-73.

68. Sowmya N, Mohanty D, Nirosha B, Kumar NU, Patra PK. A systematic review of metallic nanoparticles: synthesis, biological activities and applications. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. 2023;14: 2525-2533.
69. Stefanello MÉA, Pascoal ACRF, Salvador MJ. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity*. 2011;8(1):73-94, doi: [10.1002/cbdv.201000098](https://doi.org/10.1002/cbdv.201000098).
70. Sucupira NR, Silva AB, Pereira G, Costa JN. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde*. 2012;14:263-269.
71. Suttiponparnit K, Jiang J, Sahu M, Suvachittanont S, Charinpanitkul T, Biswas P. Role of surface area, primary particle size, and crystal phase on titanium dioxide nanoparticle dispersion properties. *Nanoscale Res Lett*. 2011;6(27).
72. Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Editora Artmed, 2013. p.918.
73. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1:98-106.
74. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1: 98-106.
75. Toledo AG, Souza JGL, Santana CB, Mallmann AP, Santos CV, Corrêa JM, Pinto FGS. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. *Braz J Biol*. 2023;83.
76. Tomar R, Singh NB. Overview of applications of nanotechnology. *Materials Research Foundations*. 2023;148:1-26, doi: [10.21741/9781644902554-1](https://doi.org/10.21741/9781644902554-1).
77. Tortella G, Rubilar O, Fincheira P, Parada J, Oliveira HC, Benavides-Mendoza A, Leiva S, Fernandez-Baldo M, Seabra AB. Copper nanoparticles as a potential emerging pollutant: Divergent effects in the agriculture, risk-benefit balance and integrated strategies for its use. *Emerging Contaminants*. 2024;10: 100352, doi: [10.1016/j.emcon.2024.100352](https://doi.org/10.1016/j.emcon.2024.100352).
78. Trujillo-Reyes J, Majumdar S, Botez CE, Peralta-Videa JR, Gardea-Torresdey JL. Exposure studies of core-shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: are they a potential physiological and nutritional hazard? *J. Hazard Mater*. 2014;267:255-263, doi: [10.1016/j.jhazmat.2013.11.067](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.067).
79. Vanti GL, Masaphy S, Kurjogi M, Chakrasali S, Nargund VB. Synthesis and application of chitosan-copper nanoparticles on damping off causing plant pathogenic fungi. *Int. J. Biol. Macromol*. 2020;156: 1387-1395, doi: [10.1016/j.ijbiomac.2019.11.179](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.179).
80. Vasconcelos LC, Carrijo TT, Venancio AN, Alves TA, Tuler AC, Hollunder RK, Garbin ML, Menini L & Praça-Fontes MM. Phytochemical screening and phytocytotoxic effects of the tropical *Myrcia vittoriana* (Myrtaceae). *An Acad Bras Cien*. 2022;94(3).
81. Viswanath B, Kim S. (2016). Influence of nanotoxicity on human health and environment: the alternative strategies. In: de Voogt, p. (eds) *Reviews of environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 242. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol 242. Springer, Cham. doi: [10.1007/398_2016_12](https://doi.org/10.1007/398_2016_12).
82. Wang W, Lin Y, Xu Y, Yin Y, Guo H, Du W. Divergence in response of lettuce (var. ramosa Hort.) to copper oxide nanoparticles/microparticles as potential agricultural fertilizer. *Environmental Pollutants and Bioavailability*. 2019;31:80-84, doi: [10.1080/26395940.2019.1578187](https://doi.org/10.1080/26395940.2019.1578187).
83. Weber LD, Pinto FGS, Scur MC, Souza JGL, Costa WF, Leite CW. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and various plant extract from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. *Afr J Agric Res*. 2014;9:846-853.
84. Yang Z, Chen J, Dou R, Gao X, Mao C, Wang L. Assessment of the phytotoxicity of metal oxide nanoparticles on two crop plants, maize (*Zea mays* L.) and rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2015;12:15100-15109, doi: [10.3390/ijerph121214963](https://doi.org/10.3390/ijerph121214963).
85. Yasin A, Fatima U, Shahid S, Mansoor S, Inam H, Javed M, Iqbal S, Alrbyawi H, Somaily HH, Pashameah RA, Alzahrani E, Farouk AE. Fabrication of copper oxide nanoparticles using *Passiflora edulis* extract for the estimation of antioxidant potential and photocatalytic methylene blue dye degradation. *Agronomy*. 2022;12:2315, doi: [10.3390/agronomy12102315](https://doi.org/10.3390/agronomy12102315).
86. Ziwei L, Yaqi L, Jianyin M, Xiaoman C, Bingbing C, Guo L, Xian W, Xiaoi Z, Yong C. Phytochemicals, antioxidant capacity and cytoprotective effects of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) axis extracts on HepG2 cells. *Food Biosci*. 2021; 41.
87. Silva PSS. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. *Biotemas*, Florianópolis, v. 25, n. 3, p. 65-74, 2012.
88. Ferreira GA, Aquila MEA. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*, São Paulo, v. 12, Edição especial, p. 175-204, 2000.
89. Andrade HM, Bittencourt AHC, Vestena S. Potencial alelopático de *Cyperus rotundus* L. sobre espécies cultivadas. *Ciência e Agrotecnologia* v.33, p. 1984-1990, 2009.

90. Carvalho WP, Carvalho GJ, Abbade Neto DO, Teixeira LGV. Alelopatia de extratos de adubos verdes sobre a germinação e crescimento inicial de alface. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v.30, p. 1-11, 2014.
91. Balcunaitiene A, Viskelis P, Viskelis J, Streimikyte P, Liaudanskas M, Bartkiene E, Zavistanaviciute P, Zokaityte E, Starkute V, Ruzauskas M, Lele V. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of *Artemisia absinthium* L., *Humulus lupulus* L. and *Thymus vulgaris* L., Physico-Chemical Characterization, Antimicrobial and Antioxidant Activity. *Processes*. 9, 1304, 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/pr9081304>.

Anexo I (Capítulo 1 – Qualificação) - Normas da Revista

Instruções aos autores

O periódico Anais da Academia Brasileira de Ciências considera para publicação as submissões feitas exclusivamente pelo sistema online de gerenciamento de artigos. Uma vez que seu artigo esteja de acordo com as instruções abaixo, favor acessar o sistema no link <https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo>.

Por favor, leia estas instruções com atenção e as siga rigorosamente. Desta forma você irá garantir que a avaliação e a publicação de seu artigo sejam o mais eficiente e veloz quanto possível. Os editores reservam-se ao direito de devolver artigos que não estejam de acordo com estas instruções. Apesar de dispormos de uma página de instruções em português, lembramos que só consideramos para submissão, avaliação e publicação os artigos redigidos de forma clara e concisa na língua inglesa.

Objetivo e política editorial

Todos os manuscritos submetidos devem conter pesquisa original que não tenha sido publicada ou esteja sob consideração em outro periódico. O critério primário para aceitação é qualidade científica. Artigos devem evitar o uso excessivo de abreviações ou jargões, além de ser tão inteligíveis quanto possível para o público em geral. Deve ser dada atenção particular às seções Abstract, Introduction e Discussion, as quais devem detalhar a novidade e significância dos dados relatados. Não cumprir com qualquer um dos pontos acima pode causar atraso na publicação ou até mesmo a recusa do artigo.

Textos podem ser publicados em forma de revisão, artigo completo ou como comunicação curta (*short communications*). Os volumes regulares dos AABC são publicados em março, junho, setembro e dezembro.

Tipos de artigos

Revisões

Revisões são publicadas apenas por **meio de convite**, tendo ainda que passar pelo processo de revisão por pares. Contudo, uma proposta de revisão pode ser enviada por e-mail para a Assessoria de publicações (aabc@abc.org.br). O e-mail deve conter os tópicos e autores da revisão proposta, bem como o abstract, área dos AABC na qual o artigo se encaixa e a justificativa pela qual este tópico seria de particular interesse à área.

Os AABC permitem que os autores depositem preprints de seus artigos em servidores de preprint tais como, mas não limitados a, ArXiv.org e bioRxiv.org. Contudo, autores devem atualizar os registros informando que o artigo foi aceito/publicado pelos AABC.

Cartas ao editor

Cartas ao editor (*Letters to the Editor*) estarão sujeitas à edição e revisão, não podendo conter material que tenha sido submetido ou publicado em outro periódico. Cartas que venham a se referir a um artigo publicado nos AABC não podem exceder 250 palavras (não contando com referências) e devem ser recebidas em até 4 semanas após a publicação online do artigo. Cartas não relacionadas a um artigo publicados pelos AABC não podem exceder 500 palavras (não contando com referências). Uma carta não pode ter mais de dez referências, além de uma figura ou tabela.

Articles

Sempre que possível, artigos devem estar subdivididos nas seguintes partes: **1.** Página de rosto; **2.** Abstract (em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); **3.** Introduction; **4.** Materials and Methods; **5.** Results; **6.** Discussion; **7.** Acknowledgments, se aplicável; **8.** Author contributions (se o artigo tiver mais de um autor); **9.** References; **10.** Legendas de figuras e tabelas, se aplicável. Artigos de algumas áreas, como por exemplo Ciências Matemáticas, devem seguir seu format padrão. Em alguns casos, pode ser aconselhável omitir a seção (4) e juntar as partes (5) e (6). Quando aplicável, a seção Materials and Methods deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em seres humanos ou as normas seguidas para tratamentos experimentais em animais.

Short communications

Short communications procuram relatar uma **importante e concisa contribuição para pesquisa**, a qual progrediu para o estágio em que os resultados devem ser tornados públicos para outros pesquisadores do mesmo campo. Uma short communication também deve possuir Abstract (100 palavras ou menos, neste caso), uma pequena introdução (até 200 palavras) e não pode exceder 1500 palavras. Tabelas e Figuras podem ser incluídas no texto, mas este deve ser proporcionalmente reduzido. Este tipo de publicação nos AABC deve conter contribuições extremamente relevantes, sendo um tipo de artigo com alta competição.

Após recebimento e primeira triagem editorial, artigos serão avaliados por pelo menos dois revisores, sendo eles de instituições educacionais e/ou de pesquisa tanto nacionais quanto internacionais, desde que comprovada sua produção científica. Após possíveis correções e sugestões, o artigo pode ser aceito ou recusado, considerando os pareceres recebidos.

Nós utilizamos o programa integrado Crossref Similarity Check para detectar possíveis plágios.

Os AABC não possuem taxas de submissão, avaliação e publicação de artigos.

Preparação de manuscritos

Todas as seções do manuscrito devem possuir espaçamento duplo. Após o aceite, nenhuma mudança será feita no artigo, de modo que as provas de prelo precisem apenas de correções em erros tipográficos. Lembramos que o envio de artigos é feito exclusivamente pelos autores através do nosso sistema de gerenciamento de artigos.

Tamanho do artigo

Os artigos podem ser de qualquer tamanho necessário para a apresentação e discussão concisa dos dados, mas mantendo-se conciso e cuidadosamente preparado tanto em termos de impacto quanto de legibilidade. No entanto, artigos não devem exceder 50 páginas, incluindo todos os itens (figuras, tabelas, referências, etc.), a menos que possua autorização prévia do Editor-Chefe.

Página de rosto

A página de rosto do artigo deve apresentar os seguintes itens: **1.** Título do artigo com até 150 caracteres, sem abreviações e com a tentativa de manter o interesse amplo da comunidade científica; **2.** Nomes completos de todos os autores. Utilize números sobrescritos para indicar a filiação de cada autor. **3.** Endereços profissionais e ORCID de todos os autores, incluindo instituição, departamento, rua, número, CEP, cidade, estado e país; **4.** Key words (de 4 a 6 em ordem alfabética e separadas por vírgulas); **5.** Running title (versão resumida – e não abreviada - do título com até 50 caracteres, incluindo espaços); **6.** Seção dos AABC à qual o artigo pertence; **7.** Nome, endereço, telefone e e-mail do autor para correspondência, a quem serão enviadas as mensagens mais relevantes do

processo de avaliação. Este autor ou autora deve ser indicado com um asterisco após seu nome.

Não cumprir com qualquer dos requisitos acima fará com que o artigo seja devolvido (*unsubmitted*) para correções.

Abstract

O abstract deve conter até 200 palavras e apresentar as principais descobertas do artigo, incluindo uma breve introdução, os objetivos do trabalho e uma conclusão baseada nas presentes descobertas. Caso os autores estejam submetendo uma revisão convidada/autorizada, o abstract deve abordar o principal tema da revisão e explicitar a contribuição de tal revisão à área. O abstract não deve possuir títulos nem citações/referências.

Texto do manuscrito

Todo o texto deve ser escrito com espaçamento duplo utilizando a fonte Times New Roman tamanho 12 ou equivalente, desde que mantida a legibilidade. Por favor, organize seu texto nas seguintes partes sempre que possível: **1.** Página de rosto; **2.** Abstract (em página separada, 200 palavras ou menos, sem abreviações); **3.** Introduction; **4.** Materials and Methods; **5.** Results; **6.** Discussion; **7.** Acknowledgments, se aplicável; **8.** Author contributions (se o artigo tiver mais de um autor); **9.** References; **10.** Legendas de figuras e tabelas, se aplicável.

Artigos de algumas áreas, como por exemplo Ciências Matemáticas, devem seguir seu formato padrão. Em alguns casos, pode ser aconselhável omitir a seção (4) e juntar as partes (5) e (6). Quando aplicável, a seção Materials and Methods deve indicar o Comitê de Ética que avaliou os procedimentos para estudos em seres humanos ou as normas seguidas para tratamentos experimentais em animais.

Todos os procedimentos devem ser detalhadamente descritos. Utilize inglês norte-americano para escrever o texto. Nomenclaturas da área de Química devem ser fornecidos de acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC). Cepas de organismos também devem estar identificadas. Informe nomes de fornecedores de reagentes e/ou equipamentos. Utilize unidades e símbolos de acordo com o Bureau International des Poids et Mesures (SI) sempre que possível.

Acknowledgments

Devem ser incluídos ao fim do texto, antes das referências. Agradecimentos pessoais devem preceder nomes de instituições e agências. De forma ideal, notas de rodapé devem ser evitadas, mas, quando necessário, devem estar numeradas. Agradecimentos a financiamentos, subsídios, bolsas de estudo e dívidas com outros colegas, bem como menções à origem do artigo (como uma tese, por exemplo), devem estar nesta seção. Favor incluir o nome completo da agência de fomento, país e número do projeto (se aplicável).

Abreviações

Devem ser definidas em sua primeira ocorrência no texto, exceto por abreviações padrão e oficiais. Unidades e seus símbolos devem estar em conformidade com as aprovadas pelo Bureau International des Poids et Mesures (SI).

Legendas de figuras

Esta informação deve ser fornecida ao fim do manuscrito, após as referências. Todas as figuras devem conter legenda. A legenda deve possuir uma sentença introdutória que descreve as principais descobertas. Todas as divisões na figura devem ser identificadas com letras minúsculas, quando aplicável (1a, 2a, 2b, 3c, 3d, etc.). Quando for o caso da utilização de barras de erro, favor informar se um número que vem após o símbolo \pm é um Standard Error Of Mean (SEM) ou standard deviation of mean (SD). Deve ser informado na legenda se o resultado apresentado representa N experimentos individuais.

Tabelas

Cada tabela deve possuir um pequeno título acima da mesma. Notas abaixo da tabelas também pode ser utilizadas. Tabelas devem ser citadas no artigo em algarismos romanos (Table I, Table II, Tables IV and V, etc.). Tabelas devem ser submetidas separadamente em arquivos editáveis, preferencialmente .doc ou .docx.

Figuras

Só serão aceitas figuras de alta qualidade (mínimo de 300 dpi). Todas as ilustrações serão consideradas figuras, incluindo desenhos, gráficos, mapas, fotografias, esquemas, etc. Seu posicionamento tentativo deve ser indicado, assim como todas as figuras devem ser citadas com seu respectivo número ao longo do texto. Figuras devem ser enviadas de acordo com as seguintes especificações: **1.** Desenhos e ilustrações devem estar em formato .PS/.EPS

ou .CDR (PostScript ou Corel Draw) e nunca inseridas no texto; **2.** Imagens ou figuras em escala de cinza devem estar em formato .TIF e nunca inseridas no texto; **3.** Cada figura deve ser enviada em arquivo separado; **4.** Figuras devem, a princípio, ser submetidas no tamanho em que espera-se que estejam publicadas no periódico, ou seja, largura de 8cm (uma coluna) ou 16,2cm (duas colunas), com a altura máxima de cada figura e respectiva legenda sendo menor ou igual a 22cm.

As legendas das figuras devem ser enviadas com espaçamento duplo em página separada. Cada dimensão linear dos menores caracteres e símbolos não pode ser menor que 2mm após redução. Figuras coloridas são aceitas tanto como figuras em preto e branco. No entanto, 5 figuras em p/b são sem custo aos autores, enquanto cada figura colorida na versão impressa será cobrada dos autores, com a comunicação sendo feita durante a fase de produção (após o processo de avaliação). De modo a padronizar a contagem e cobrança de figuras preto e branco, tabelas que ocupem dois terços da página ou que tenham mais que 12 colunas ou 24 colunas serão consideradas figuras p/b. Manuscritos de Matemática, Física ou Química podem ser redigidos em TEX, AMS-TEX ou LaTeX, desde que o arquivo .BIB seja enviado junto. Manuscritos sem fórmulas podem ser enviados em .RTF ou doc/docx para Windows.

Referências

Os autores são responsáveis pela exatidão das referências, bem como suas respectivas citações. Artigos publicados ou ainda 'In press' podem ser incluídos. Comunicações pessoais (Smith, personal communication) devem ser autorizadas por escritos pelos envolvidos. Referências a teses, abstracts de encontros (não publicados em jornais indexados) e manuscritos em preparação ou apenas submetidos, mas não ainda aceitos, devem ser citados no texto no formato (Smith et al., unpublished data) e NÃO devem ser incluídos na lista de referências.

Referências devem ser citadas no texto no formato a seguir sem a aspa simples, 'Smith 2004', 'Smith & Wesson 2005' ou, quando há 3 ou mais autores, 'Smith et al. 2006'. Quando houver dois ou mais artigos cujo nome do primeiro autor e ano de publicação são idênticos, as referências devem ser diferenciadas por letras minúsculas, como em 'Smith 2004a', 'Smith 2004b', etc.

As referências devem ser listadas alfabeticamente de acordo com o nome do primeiro autor, sempre na ordem SOBRENOME XY, sendo X e Y as iniciais. Se há mais de 10 autores na referência, usar SOBRENOME XY ET AL., sem listar os demais autores. Referências

devem conter também o título do artigo. Os nomes dos periódicos devem estar abreviados sem itálico, pontos ou vírgulas. Para as abreviações corretas, verifique listas das maiores bases de dados nas quais o periódico está indexado, ou consulte a World List of Scientific Periodicals. A abreviação a ser usada em referências dos Anais da Academia Brasileira de Ciências é **An Acad Bras Cienc**. Os seguintes exemplos devem servir de guias para sua lista de referências em nossa revista:

REFERENCES

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P & LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the areas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELAND-SHEER E, GIUFFRIDA R & CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG & MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID & SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Livros e capítulos de livros

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science. *Thinker's Library*, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5., Philadelphia. *Proceedings ...*, Philadelphia: J. B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W & BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), *Peptides, polypeptides and proteins*, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

DIRAR AI, ALSAADI DHM, WADA M, MOHAMED, MA, WATANABE T & DEYKOTA HP. 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *S Afr J Bot* 120: 261–267.

Scientia Plena



Título do trabalho

Título em inglês

X. X. Sobrenome^{1*}; X. X. Sobrenome²¹Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-Estado, País²Nome do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-Estado, País

*emaildoautorcorrespondente@xxx.xxx

(Recebido em dia de mês de ano; aceito em dia de mês de ano)

O resumo deve ser inserido aqui e não pode ultrapassar 250 palavras.

Palavras-chave: Indicar, no máximo, três palavras-chave, separadas por vírgula.

Idem para o resumo em língua inglesa. Se o trabalho estiver na língua inglesa, um título, resumo e palavras chave devem ser apresentados em português ou espanhol.

5. INTRODUÇÃO

O trabalho deve ser submetido pelo sistema eletrônico da revista APENAS em formato “.doc”. Todo o corpo do texto deve ser redigido em Times New Roman, tamanho 11, justificado e com espaçamento simples. As margens das páginas devem ser de 2,5 cm (superior e inferior) e 3,0 cm (esquerda e direita). Todos os parágrafos devem apresentar tabulação de 0,5 cm. Ao longo do texto deve ser utilizado o sistema internacional de unidades (SI) para indicação de medidas.

As informações apresentadas no texto devem indicar as devidas citações. Para a citação das referências, utilizar o Estilo Vancouver com a numeração entre colchetes. Exemplos:

“... obtidos para determinados valores [1], ...”

“Segundo Meneton et al. (2005) [2] ...”

“... para estudos de germinação, conforme Silva e Souza (2013) [3].”

“... segundo o tamanho da amostra [4, 5].”

“Pereira (2020) [12] e Carvalho et al. (2022) [17] consideram que as variações ...”

Essa numeração deve ser sequencial, iniciando em 1. **Não serão consideradas citações de trabalhos acadêmicos (monografias, dissertações, teses, etc.) e de trabalhos apresentados em eventos científicos.**

Não usar notas de rodapé.

Na seção Introdução, o autor deve descrever o estado-da-arte do problema, além de justificar e apresentar os objetivos do seu trabalho.

6. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia deve ser descrita com as informações necessárias para permitir a repetição do estudo por outro pesquisador. Trabalhos que utilizaram seres humanos como objeto de estudo ou realizaram experimentação animal devem indicar no texto o número da aprovação do projeto pelos

respectivos Comitês de Ética. Estudos que envolvem a aplicação de questionários devem informar a utilização do “Termo de consentimento livre e esclarecido”. Estudos com captura e/ou coleta de grupos biológicos devem indicar o número da licença de autorização para atividades com finalidade científica (IBAMA, SISBIO ou órgão estadual/municipal).

2.1 Subtítulo nível 2

2.1.1 Subtítulo nível 3

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados e Discussão podem ser apresentados em conjunto ou em subtítulos separados.

Tabelas e Figuras devem ser citadas no corpo do texto (ex: Figura 1; Tabela 1), centralizadas, com título objetivo e autoexplicativo em itálico, tamanho 10. Tabelas não devem apresentar linhas verticais secundárias. O texto da discussão deve apresentar as devidas citações.

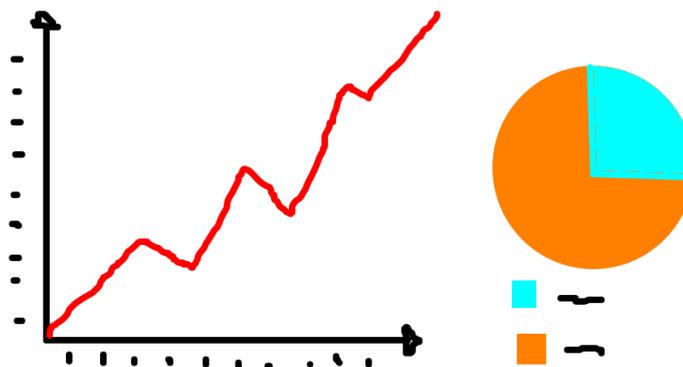


Figura 1: Incluir título da figura. Fonte: www.gartic.com.br

Tabela 1: Modelo de tabela.

Título	Título		
	Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3
Linha 1	XXX	XXX	XXX
Linha 2	XXX	XXX	XXX
Linha 3	XXX	XXX	XXX
Linha 4	XXX	XXX	XXX

8. CONCLUSÃO

Uma conclusão deve ser apresentada com as principais contribuições do estudo, sem citação bibliográfica.

9. AGRADECIMENTOS

Apresentar os agradecimentos pertinentes, se houver.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Modelo para artigo (título do periódico deve ser abreviado):

92. Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol*. 2005 Jan;62(1):112-6, doi:10.1001/archneur.62.1.112
93. Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev*. 2005 Apr;85(2):679-715, doi: 10.1152/physrev.00056.2003

Modelo para livro:

94. Lemos A. *Cibercultura: tecnologia e vida social na cultura contemporânea*. 7. ed. Porto Alegre (RS): Sulina; 2015.

Modelo para capítulo de livro:

95. Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, editor. *The cat: diseases and clinical management*. New York (US): Churchill Livingstone; 1989. p. 229-332.
96. Riffenburgh RH. *Statistics in medicine*. 2nd ed. Amsterdam (Netherlands): Elsevier Academic Press; 2006. Chapter 24, Regression and correlation methods; p. 447-86, doi: 10.1016/B978-0-12-384864-2.00025-1

Modelo para norma técnica:

97. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR ISO 12836: odontologia: dispositivos para sistemas CAD/CAM para restaurações dentárias indiretas: métodos de ensaio para avaliação de exatidão. Rio de Janeiro (RJ): ABNT; 2017.

Modelo para documentos jurídicos:

98. Brasil. Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010. Dispõe sobre a política nacional de resíduos sólidos. *Diário Oficial da União*. 03 ago 2010;147(Seção 1):3.
99. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Portaria PR nº 05/2019 de 14 de maio 2019. Regulamenta a concessão de prorrogação de vigência de Bolsas outorgadas pela FAPESP em razão do advento de prole, revogando a Portaria PR nº 08, de 15 de julho de 2015 [Internet]. 22 mai 2019. Available from: <https://fapesp.br/index.php/12872/portaria-pr-no-052019>

Modelo para software:

100. Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Legendre RKP, McGlenn D, Minchin PR, et al. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-6. R Core Team. 2019. Available from: <https://cran.r-project.org/package=vegan>

Modelo para homepage e documentos online:

101. CAISM: Hospital da Mulher Prof. Dr. José Aristodemo Pinotti [Internet]. Campinas (SP): Unicamp; c2014 [citado em 15 out 2014]. Disponível em: <https://www.caism.unicamp.br>
102. INCA: Instituto Nacional de Câncer. O que é o câncer? INCA [Internet]; 30 nov 2020 [citado em 2 fev 2021]; Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>
103. Peci A. RAP | Ações e Estratégias COVID-19. *SciELO em Perspectiva* [Internet]; 2020 mar 30 [citado em 2 fev 2021]. Disponível em: <https://blog.scielo.org/blog/2020/03/30/rap-acoes-e-estrategias-covid-19/#.YB6f--hKjIU>
104. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes [Internet]. Brasília (DF): MAPA; 2009. [citado em 16 jul 2020]. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf