

Junielson Soares da Silva  
Denise dos Santos Vila Verde  
Elmary da Costa Fraga  
Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira  
Organizadores

# PESQUISAS EM BIOTECNOLOGIA:

## Inovações, técnicas e aplicações

Volume 1



 Wissen  
editora  
2025

Junielson Soares da Silva  
Denise dos Santos Vila Verde  
Elmary da Costa Fraga  
Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira  
Organizadores

# PESQUISAS EM BIOTECNOLOGIA:

## Inovações, técnicas e aplicações

Volume 1



 Wissen  
editora  
2025

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

Junielson Soares da Silva  
Denise dos Santos Vila Verde  
Elmary da Costa Fraga  
Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira  
Organizadores

# **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações**

**Volume 1**

 **Wissen**  
editora  
Teresina-PI, 2025

©2025 by Wissen Editora  
 Copyright © Wissen Editora  
 Copyright do texto © 2025 Os autores  
 Copyright da edição © Wissen Editora  
*Todos os direitos reservados*

Direitos para esta edição cedidos pelos autores à Wissen Editora.



Todo o conteúdo desta obra, inclusive correção ortográfica e gramatical, é de responsabilidade do(s) autor(es). A obra de acesso aberto (Open Access) está protegida por Lei, sob Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial-Sem Derivações 4.0 Internacional, sendo permitido seu *download* e compartilhamento, desde que atribuído o crédito aos autores, sem alteração de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

**Editores Chefe:** Dr. Junielson Soares da Silva  
 Ma. Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira  
 Dra. Denise dos Santos Vila Verde  
 Dra. Adriana de Sousa Lima

**Projeto Gráfico e Diagramação:** Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira

**Imagem da Capa:** Canva

**Edição de Arte:** Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira

**Revisão:** Os autores  
 Os Organizadores

**Informações sobre a Editora**

Wissen Editora  
 Homepage: [www.editorawissen.com.br](http://www.editorawissen.com.br)  
 Teresina – Piauí, Brasil  
 E-mails: [contato@wisseneditora.com.br](mailto:contato@wisseneditora.com.br)  
[wisseneditora@gmail.com](mailto:wisseneditora@gmail.com)

**Siga nossas redes sociais:**



@wisseneditora

**EQUIPE EDITORIAL****Editores-chefes**

Dr. Junielson Soares da Silva  
 Ma. Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira  
 Dra. Denise dos Santos Vila Verde  
 Dra. Adriana de Sousa Lima

**Equipe de arte e editoração**

Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira

**CONSELHO EDITORIAL****Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Dr. Felipe Górski - Secretaria de Educação do Paraná (SEED/PR)  
 Dra. Patrícia Pato dos Santos - Universidade Anhanguera (Uniderp)  
 Dr. Jose Carlos Guimaraes Junior - Governo do Distrito Federal (DF)

**Ciências Biológicas e da Saúde**

Dra. Francijara Araújo da Silva - Centro Universitário do Norte (Uninorte)  
 Dra. Rita di Cássia de Oliveira Angelo - Universidade de Pernambuco (UPE)  
 Dra. Ana Isabelle de Gois Queiroz - Centro Universitário Ateneu (UniAteneu)

**Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Dr. Allan Douglas Bento da Costa - Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)  
 Dra. Vania Ribeiro Ferreira - Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC)  
 Dr. Agmar José de Jesus Silva – Secretaria de Educação do Amazonas (Seduc/AM)

**Linguística, Letras e Artes**

Dra. Conceição Maria Alves de A. Guisardi - Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

**Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Dr. Isael de Jesus Sena - Culture, Education, Formation, Travail (CIRCEFT)  
 Dra. Mareli Eliane Graupe - Universidade do Planalto Catarinense (Uniplac)  
 Dr. Rodrigo Avila Colla - Rede Municipal de Ensino de Esteio, RS  
 Dr. Erika Giacometti Rocha Berribili - Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)  
 Dr. Douglas Manoel Antonio De Abreu P. Dos Santos - Universidade de São Paulo (USP)  
 Dra. Aline Luiza de Carvalho - Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG)  
 Dr. José Luiz Esteves - Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC/PR)  
 Dr. Claudemir Ramos - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC/SP)  
 Dr. Daniela Conegatti Batista – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)  
 Dr. Wilson de Lima Brito Filho - Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
 Dr. Cleonice Pereira do Nascimento Bittencourt- Universidade de Brasília (UnB)  
 Dr. Jonata Ferreira de Moura - Universidade Federal do Maranhão (UFMA)  
 Dra. Renata dos Santos - Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

**Conselho Técnico Científico**

- Me. Anderson de Souza Gallo - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)  
 Ma. Antônia Alikeane de Sá - Universidade Federal do Piauí (UFPI)  
 Ma. Talita Benedcta Santos Künast - Universidade Federal do Paraná (UFPR)  
 Ma. Irene Suelen de Araújo Gomes – Secretaria de Educação do Ceará (Seduc /CE)  
 Ma. Tamires Oliveira Gomes - Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)  
 Ma. Aline Rocha Rodrigues - União Das Instituições De Serviços, Ensino E Pesquisa LTDA (UNISEPE)  
 Me. Mauricio Pavone Rodrigues - Universidade Cidade de São Paulo (Unicid)  
 Ma. Regina Katiuska Bezerra da Silva - Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
 Esp. Rubens Barbosa Rezende – Faculdade UniFB  
 Me. Luciano Cabral Rios – Secretaria de Educação do Piauí (Seduc/PI)  
 Me. Jhenys Maiker Santos - Universidade Federal do Piauí (UFPI0)  
 Me. Francisco de Paula S. de Araujo Junior - Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)  
 Ma. Anna Karla Barros da Trindade - Instituto Federal do Piauí (IFPI)  
 Ma. Elaine Fernanda dos Santos - Universidade Federal de Sergipe (UFS)  
 Ma. Lilian Regina Araújo dos Santos - Universidade do Grande Rio (Unigranrio)  
 Ma. Luziane Said Cometti Lélis - Universidade Federal do Pará (UFPA)  
 Ma. Márcia Antônia Dias Catunda - Devry Brasil  
 Ma. Marcia Rebeca de Oliveira - Instituto Federal da Bahia (IFBA)  
 Ma. Mariana Moraes Azevedo - Universidade Federal de Sergipe (UFS)  
 Ma. Marlova Giuliani Garcia - Instituto Federal Farroupilha (IFFar)  
 Ma. Rosana Maria dos Santos - Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
 Ma. Rosana Wichineski de Lara de Souza - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)  
 Ma. Simone Ferreira Angelo - Escola Família Agrícola de Belo Monte - MG  
 Ma. Suzel Lima da Silva - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)  
 Ma. Tatiana Seixas Machado Carpenter - Escola Parque  
 Me. Cássio Joaquim Gomes - Instituto Federal de Nova Andradina / Escola E. Manuel Romão  
 Me. Daniel Ordane da Costa Vale - Secretaria Municipal de Educação de Contagem  
 Me. Diego dos Santos Verri - Secretária da Educação do Rio Grande do Sul  
 Me. Fernando Gagno Júnior - SEMED - Guarapari/ES  
 Me. Grégory Alves Dionor - Universidade do Estado da Bahia (UNEB)/ Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
 Me. Lucas Pereira Gandra - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); UNOPAR, Polo Coxim/MS  
 Me. Lucas Peres Guimarães – Secretaria Municipal de Educação de Barra Mansa - RJ  
 Me. Luiz Otavio Rodrigues Mendes - Universidade Estadual de Maringá (UEM)  
 Me. Mateus de Souza Duarte - Universidade Federal de Sergipe (UFS)  
 Me. Milton Carvalho de Sousa Junior - Instituto Federal do Amazonas (IFAM)  
 Me. Sebastião Rodrigues Moura - Instituto Federal de Educação do Pará (IFPA)  
 Me. Wanderson Diogo A. da Silva - Universidade Regional do Cariri (URCA)  
 Ma. Heloisa Fernanda Francisco Batista - Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)  
 Ma. Telma Regina Stroparo - Universidade Estadual do Centro Oeste (Unicentro)

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

Me. Sérgio Saraiva Nazareno dos Anjos - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
(Embrapa)

# Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações

 <http://www.doi.org/10.52832/wed.146>

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Pesquisas em biotecnologia [livro eletrônico]: inovações, técnicas e aplicações: volume 1 / organizadores Junielson Soares da Silva... [et al.]. -- Teresina, PI: Wissen Editora, 2025.

PDF

Vários autores.

Outros organizadores: Denise dos Santos Vila Verde, Elmary da Costa Fraga, Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira.

ISBN 978-65-85923-57-6

DOI: 10.52832/wed.146

Biologia 2. Biotecnologia 3. Pesquisas I. Silva, Junielson Soares da. II. Verde, Denise dos Santos Vila. III. Fraga, Elmary da Costa. IV. Oliveira, Neyla Cristiane Rodrigues de.

25-260714

CDD-6060-6

## Índices para catálogo sistemático:

1. Biotecnologia 660.6

Eliane de Freitas Leite - Bibliotecária - CRB 8/8415

## Informações sobre a Wissen Editora

Homepage: [www.editorawissen.com.br](http://www.editorawissen.com.br)

Teresina - Piauí, Brasil

E-mails: [contato@wisseneditora.com.br](mailto:contato@wisseneditora.com.br)

[wisseneditora@gmail.com](mailto:wisseneditora@gmail.com)

**Como citar ABNT:** SOARES, J. S. da; VILA VERDE, D. dos S.; FRAGA, E. da C.; OLIVEIRA, N. C. R. de. **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações.** Teresina-PI: Wissen Editora, 2025. 160 p. DOI: <http://www.doi.org/10.52832/wed.146>

 **Wissen**  
editora  
**Teresina-PI, 2025**

## SOBRE OS ORGANIZADORES

### Junielson Soares da Silva



Mestre e doutor em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva (PPG-GCBEv), pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí, onde participou do Pibid. Especialista em Saúde Pública, e em Educação Ambiental pelo Instituto Superior de Educação São Judas Tadeu-ISESJT. Vem estudando o efeito tóxico, citotóxico, genotóxico e mutagênico de substâncias derivadas de plantas em mosquitos vetores de arboviroses (*Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*). Tem experiência em metodologia de Ensino de Ciências da Natureza (Ciências e Biologia) e Formação de Professores. É editor-chefe de revistas científicas (Journal of Education, Science and Health JESH, Journal of Research in Medicine and Health JORMED, Revista Ensinar - RENSIN e Revista Base Científica) e da Wissen Editora.

### Denise dos Santos Vila Verde



Graduada em Engenharia Florestal pela UFRB, com experiência como bolsista Fapesb em ciência do solo (2014 - 2015). Bolsista Fapesb/CNPq no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, focando em micropropagação de citros, mandioca, inhame e mamão (2015 - 2018). Mestre em Ciências Agrárias pela UFRB, pesquisando conservação in vitro de germoplasma de inhame na Embrapa (2020), como bolsista Capes. Doutora em Produção Vegetal na UESC, como bolsista Capes, desenvolvendo minha tese com indução de haploides e poliploides em citros, além de contribuir com outros trabalhos da cultura e de mandioca, mamão e inhame. Além disso, atuo como professora conteudista/autora desde 2023 na Delinea EDTECH, desenvolvendo materiais didáticos para disciplinas como Hidrologia, Irrigação e Drenagem, Fruticultura, Extensão Rural, e também em oficinas voltadas para a indústria sucroalcooleira e regulamentos de operação de prensa. Também desempenho um papel ativo na organização de eventos, especialmente como membro da Comissão Científica da Bio10 Digital Cursos, contribuindo para a coordenação e qualidade dos conteúdos apresentados.

### Elmary da Costa Fraga



Possui Graduação em Ciências Licenciatura Plena, Habilitação em Biologia pela Universidade Estadual do Maranhão, Especialização em Microbiologia pela PUC/MG, Mestrado em Ciências Biológicas (Entomologia) pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Doutorado em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Pará. Atualmente é professor Associado I da Universidade Estadual do Maranhão, Diretor do Curso de Ciências Naturais licenciatura do Campus Caxias -UEMA e Professor/Permanente dos Programas de Pós-Graduação "Mestrado em Biodiversidade Ambiente e Saúde" Campus Caxias/UEMA e "Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade" CECEN/UEMA. Professor Permanente do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal PPGCA/CCA/UEMA Mestrado e Doutorado. Tem experiência na área de Genética, com ênfase em Genética de Populações e Sistemática Molecular, atuando principalmente nos seguintes temas: Sequenciamento de genes mitocondriais e nuclear,

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

Sistemática Molecular de Peixes e Genética de Populações de Insetos vetores. Foi bolsista produtividade FAPEMA no quadriênio de 2016 a 2020 e bolsista produtividade UEMA de setembro/2021 a setembro/2023.

**Neyla Cristiane Rodrigues de Oliveira**   



Mestra em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA/UFPI). Membro do Grupo de Estudos e Pesquisas Ambientais do Maranhão, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (GEPAM/IFMA). Especialista em Ensino de Ciências pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), Especialista em Ensino de Genética pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA). Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Piauí (UFPI). Estagiária bolsista-CNPq na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Embrapa, Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte/Teresina, PI, adquirindo experiências na área de Ciência do Solo (coleta, manejo, propriedades químicas, biológicas e fauna edáfica). Bolsista CAPES/UFPI (2019/2021) adquirindo experiências em Meio Ambiente, Ensino, Educação Ambiental e Mudanças Climáticas. Docente na Educação Básica e Ensino Superior, nas instituições: Escola Municipal Nossa Senhora da Conceição (EMNSC), Ensino Fundamental-Ciências (2015); Professora substituta EBTT de Biologia no IFMA/ *Campus* Alcântara (2015-2017); Professora Substituta EBTT no IFPI/ *Campus* São João do Piauí (2021-2023). Editora-chefe das revistas científicas (Journal of Education, Science and *Health* –JESH, Revista Ensinar -RENSIN) e da *Wissen* Editora.

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	15
CAPÍTULO 1.....	17
<b>TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE E RNA MENSAGEIRO NO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS.....</b>	<b>17</b>
Thálita Cristyne de Oliveira Alves    .....	17
Julienny Aline da Silva Nascimento    .....	17
Carlos Eduardo Assis da Silva    .....	17
André Lucas de Souza Lopes    .....	17
Kelyonara Maria Sales de Assis    .....	17
Leandro Fagundes Mançano    .....	17
Lara Emanuely da Silva Alves    .....	17
Jeus Vieira de Souza    .....	17
Margareth Santos Costa Penha    .....	17
Joellington Marinho de Almeida    .....	17
DOI: 10.52832/wed.146.859  .....	17
CAPÍTULO 2.....	25
<b>BIOTECNOLOGIA APLICADA À NANOMEDICINA: síntese de nanopartículas de prata estabilizadas com extrato de <i>Curcuma longa</i> L. (Açafrão-da-Terra) para potencial uso no tratamento do câncer .....</b>	<b>25</b>
Tacyane Araújo da Silva    .....	25
Raíssa Gomes da Silva    .....	25
Eduardo Feitosa da Conceição    .....	25
Denilson Moraes Rocha de Sousa    .....	25
Marcos Vinícios Alves de Sá    .....	25
Maura Celia Cunha e Silva    .....	25
Deuzuita dos Santos Freitas Viana    .....	25
DOI: 10.52832/wed.146.860  .....	25
CAPÍTULO 3.....	42
<b>NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EXTRATO DE <i>Matricaria recutita</i> L. (CAMOMILA): uma abordagem biotecnológica contra depressão.....</b>	<b>42</b>

Thalia Macedo Lizanio   	42
Denilson Morais Rocha de Sousa   	42
Maura Celia Cunha e Silva   	42
Deuzuita dos Santos Freitas Viana   	42
DOI: 10.52832/wed.146.861 	42
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	61
<b>NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM [<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf] (CAPIM-LIMÃO): uma abordagem biotecnológica no auxílio ao tratamento da hipertensão arterial</b> .....	61
Raíssa Gomes da Silva   	61
Tacyane Araujo da Silva   	61
Eduardo Feitosa da Conceição   	61
Denilson Morais Rocha de Sousa   	61
Marcos Vinicios Alves de Sá   	61
Maura Celia Cunha e Silva   	61
Deuzuita dos Santos Freitas Viana   	61
DOI: 10.52832/wed.146.862 	61
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	78
<b>DESENVOLVIMENTO DE UM FITOTERÁPICO A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E MALVA-DO-REINO: uma proposta biotecnológica para potencial ação antitumoral</b> .....	78
Gracileide de Jesus Oliveira   	78
Denilson Morais Rocha de Sousa   	78
Maura Celia Cunha e Silva   	78
Deuzuita dos Santos Freitas Viana   	78
DOI: 10.52832/wed.146.863 	78
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	91
<b>BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADAS POR EXTRATO AQUOSO DE <i>Azadirachta indica</i> (NIM INDIANO) COM DIFERENTES pH</b> .....	91
Denilson Morais Rocha de Sousa   	91
Gracileide de Jesus Oliveira   	91

Raíssa Gomes da Silva   	91
Tacyane Araujo da Silva   	91
Maura Celia Cunha e Silva   	91
Jairelda Sousa Rodrigues   	91
Deuzuita dos Santos Freitas Viana   	91
DOI: 10.52832/wed.146.864 	91
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	100
<b>AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO FOLIAR DE <i>Cestrum axillare Vell.</i> SOBRE TRÊS FITOPATÓGENOS DO CACAUEIRO</b> .....	100
Henrique Brandão da Silva   	100
Sônia Cristina Oliveira Melo   	100
Amanda Bastos Santana   	100
Cristina Pungartnik   	100
DOI: 10.52832/wed.146.865 	100
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	113
<b>ANÁLISES E POTENCIAL DE <i>Ipomoea imperati</i>: PLANTA DE RESTINGA, PARA PAISAGISMO E PRESERVAÇÃO AMBIENTAL</b> .....	113
Jonilson Ribeiro Trindade   	113
João Ubiratan Moreira dos Santos   	113
DOI: 10.52832/wed.146.875 	113
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	123
<b>AGRICULTURA 4.0, BIOTECNOLOGIA, BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA: A UNIÃO TECNOLÓGICA CONTEMPORÂNEA</b> .....	123
Marília Fattori   	123
Marcelo Marini Pereira de Souza   	123
DOI: 10.52832/wed.146.876 	123
<b>CAPÍTULO 10</b> .....	135
<b>ISOLAMENTO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> DE AMBIENTES AQUÁTICOS E ATIVIDADE PATOGÊNICA EM LARVAS DE <i>Aedes aegypti</i></b> .....	135
Maria Cleoneide da Silva   	135
Alessandra Maria Silva Vidigal   	135

Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

Ludmila Miranda Alencar   	.....135
Andresa Soares da Costa Brito   	.....135
Jeverson Renato Moraes Brito   	.....135
DOI: 10.52832/wed.146.889 	.....135

## APRESENTAÇÃO

É com enorme satisfação que apresentamos a primeira edição da obra "Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações", uma coletânea de dez capítulos que reúne avanços significativos na área de Biotecnologia. O primeiro Capítulo intitulado "Tecnologia do DNA Recombinante e RNA Mensageiro no Desenvolvimento de Vacinas", consta de uma revisão integrativa de literatura destacando como o avanço da biotecnologia tem impulsionado o desenvolvimento de vacinas.

O Capítulo 2 explora a BIOTECNOLOGIA APLICADA À NANOMEDICINA: síntese de nanopartículas de prata estabilizadas com extrato de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra) para potencial uso no tratamento do câncer. O estudo objetivou sintetizar nanopartículas de prata utilizando extrato de Açafrão-da-Terra como agente estabilizante para potencial uso no tratamento do câncer.

O Capítulo 3 detalha o uso das NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EXTRATO DE *Matricaria recutita* L. (CAMOMILA): uma abordagem biotecnológica contra depressão. No trabalho os autores destacam o potencial do extrato de camomila como agente estabilizador no tratamento da depressão. Já o Capítulo 4, intitulado "NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] (CAPIM-LIMÃO): uma abordagem biotecnológica no auxílio ao tratamento da hipertensão arterial", traz a utilização de nanopartículas de prata como coadjuvante no tratamento da hipertensão.

No Capítulo 5, ainda seguindo a temática biotecnológica de uso de nanopartículas temos uma abordagem do DESENVOLVIMENTO DE UM FITOTERÁPICO A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E MALVA-DO-REINO: uma proposta biotecnológica para potencial ação antitumoral. No capítulo 6 os autores exploram a BIOCÍNTese DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADAS POR EXTRATO AQUOSO DE *Azadirachta indica* (NIM INDIANO) COM DIFERENTES pH, onde evidenciaram que o extrato de nim indiano com pH básico tem excelente potencial para síntese de nanopartículas de prata.

Uma abordagem intitulada "AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO FOLIAR DE *Cestrum axillare* Vell. SOBRE TRÊS FITOPATÓGENOS DO CACAUEIRO" é mostrada no capítulo 7, evidenciando a atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *C. axillare* contra fitopatógenos do cultivo do cacauero (*Theobroma cacao* L), desenvolvido no Sul da Bahia.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

O Capítulo 8 denominado “ANÁLISES E POTENCIAL DE *Ipomoea imperati*: PLANTA DE RESTINGA, PARA PAISAGISMO E PRESERVAÇÃO AMBIENTAL”, a pesquisa foi motivada pela escassez de estudos sobre o desenvolvimento dessa planta em ambientes de restinga na Amazônia, que são ecossistemas ameaçados por atividades antrópicas.

Uma abordagem que consiste em um conjunto de tecnologias variadas, como Internet das Coisas (IoT), Inteligência Artificial (IA), Big Data, computação em nuvem, robótica, fabricação aditiva, dentre outras, encontra-se contemplado no Capítulo 9, AGRICULTURA 4.0, BIOTECNOLOGIA, BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA: A UNIÃO TECNOLÓGICA CONTEMPORÂNEA.

E finalmente o Capítulo 10 intitulado “ISOLAMENTO DE *Bacillus thuringiensis* DE AMBIENTES AQUÁTICOS E ATIVIDADE PATOGÊNICA EM LARVAS DE *Aedes aegypti*”, mostra uma alternativa viável para o controle das populações desse inseto, com o intuito de reduzir a utilização de inseticidas químicos.

Esperamos que os conteúdos aqui abordados colaborem com o avanço científico e tecnológico contribuindo com a evolução das pesquisas em Biotecnologia. É nessa perspectiva que desejamos uma excelente leitura a todos!

*Elmary da Costa Fraga*

Organizadores

# CAPÍTULO 1

## TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE E RNA MENSAGEIRO NO DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

### RECOMBINANT DNA AND MESSENGER RNA TECHNOLOGY IN VACCINE DEVELOPMENT

**Thálita Cristyne de Oliveira Alves**   

Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre-ES, Brasil

**Julieny Aline da Silva Nascimento**   

Graduado em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa - PB, Brasil

**Carlos Eduardo Assis da Silva**   

Graduado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacases- RJ, Brasil

**André Lucas de Souza Lopes**   

Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacases - RJ, Brasil

**Kelyonara Maria Sales de Assis**   

Graduada em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa - PB, Brasil

**Leandro Fagundes Mançano**   

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais (IF Sudesde), Minas Gerais - MG, Brasil

**Lara Emanuely da Silva Alves**   

Graduanda em Bacharelado em Nutrição, Universidade de São Paulo (UNICID), São Paulo- SP, Brasil

**Jeus Vieira de Souza**   

Graduação em Nutrição, Faculdade São Francisco da Paraíba (FASP), Cajazeiras- PB, Brasil

**Margareth Santos Costa Peña**   

Graduada em Farmácia, Programa Biociência Aplicada à Saúde Universidade Ceuma, São Luíz- MA, Brasil

**Joellington Marinho de Almeida**   

Doutor em Biotecnologia pela Universidade do Espírito Santo (UFES), Vitória-ES, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.859 

**Resumo:** O avanço da biotecnologia tem impulsionado o desenvolvimento de vacinas, sendo a tecnologia do DNA recombinante uma abordagem inovadora nesse campo. As vacinas de DNA destacam-se por sua segurança, eficácia e facilidade de produção, tornando-se uma alternativa promissora frente aos imunizantes convencionais. Neste estudo, foi realizada uma revisão integrativa de literatura, utilizando a base de dados PubMed, com o objetivo de sintetizar os avanços e desafios das vacinas de DNA no cenário atual. Os resultados evidenciam que essas vacinas apresentam vantagens significativas, como a indução de uma resposta imune robusta sem risco de replicação patogênica, a possibilidade de administração por vias mucosas e a alta estabilidade, que reduz a necessidade de refrigeração. Além disso, a produção é rápida e de menor custo, permitindo uma resposta ágil a surtos epidemiológicos. Tais características tornam essa tecnologia essencial para a prevenção e controle de doenças emergentes e reemergentes. Conclui-se que as vacinas de DNA representam um avanço estratégico na imunização global, oferecendo uma alternativa viável para ampliar a cobertura vacinal, especialmente em regiões de difícil acesso. O contínuo investimento em pesquisa e desenvolvimento é fundamental para otimizar essa tecnologia e garantir sua implementação em larga escala, fortalecendo as políticas de saúde pública e promovendo uma resposta eficaz a futuras pandemias.

**Palavras-chave:** Vacinas de DNA. Biotecnologia. Imunização. DNA recombinante. Engenharia genética.

**Abstract:** Advances in biotechnology have driven the development of vaccines, with recombinant DNA technology being an innovative approach in this field. DNA vaccines stand out for their safety, efficacy, and ease of production, making them a promising alternative to conventional vaccines. In this study, an integrative literature review was conducted using the PubMed database to summarize the advances and challenges of DNA vaccines in the current scenario. The results show that these vaccines have significant advantages, such as inducing a robust immune response without the risk of pathogenic replication, the possibility of administration via mucosal routes, and high stability, which reduces the need for refrigeration. In addition, production is rapid and cost-effective, allowing an agile response to epidemiological outbreaks. These characteristics make this technology essential for the prevention and control of emerging and reemerging diseases. It is concluded that DNA vaccines represent a strategic advance in global immunization, offering a viable alternative to expand vaccination coverage, especially in hard-to-reach regions. Continued investment in research and development is essential to optimize this technology and ensure its large-scale implementation, strengthening public health policies and promoting an effective response to future pandemics.

**Keywords:** DNA vaccines. Biotechnology. Immunization. Recombinant DNA. Genetic engineering.

## 1 INTRODUÇÃO

A ciência por trás da vacinação de DNA começou há mais de meio século. Segundo Ito (1960) demonstrou que injeções de frações de ácido desoxirribonucleico (DNA) do papilomavírus derivadas de tumores induziram a geração de tumores em coelhos, sugerindo pela primeira vez a capacidade do DNA purificado de transfectar células de mamíferos *in vivo* e expressar as proteínas codificadoras.

As vacinas estão entre as intervenções médicas mais importantes da história humana. Estamos em uma era de avanço científico sem precedentes em tecnologias de vacinas. No

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

entanto, o desenvolvimento de novas vacinas enfrenta desafios significativos. Isso se deve a fatores como o alto custo de desenvolvimento, que direciona o foco para mercados maiores, e prazos prolongados para a transição da vacina para testes clínicos. Além disso, o aumento da ocorrência de infecções emergentes e reemergentes exige respostas rápidas em intervenções vacinais. Exemplos incluem o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) e a hepatite B, entre outros (Gary; Weiner, 2020).

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19) é causada pelo coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), um vírus de RNA fita simples (ssRNA) de sentido positivo do gênero *Betacoronavirus*. Para conter a disseminação da pandemia, governos em todo o mundo mobilizaram recursos humanos e materiais em esforços de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de vacinas contra a COVID-19. Diversas abordagens foram testadas simultaneamente, incluindo vírus inativado, vivos atenuados, proteínas recombinantes, vetores de adenovírus, vetores de vírus influenza, mRNA e vacinas de DNA. A tecnologia da vacina de mRNA desempenhou um papel fundamental no controle da pandemia da COVID-19 (Fang *et al.*, 2022).

A infecção crônica pelo vírus da hepatite B afeta aproximadamente 296 milhões de pessoas mundialmente e é a principal causa de cirrose e câncer de fígado. Esse vírus pode causar carcinoma hepatocelular mesmo sem o desenvolvimento de cirrose, pois, sendo um vírus de DNA, ele se integra ao genoma humano. No início da década de 1980, os Estados Unidos e a França desenvolveram as primeiras vacinas contra hepatite B, conhecidas como vacinas derivadas de plasma, obtidas a partir da extração de partículas de HBsAg do sangue de portadores do vírus (Mahmood *et al.*, 2023).

Várias características do mRNA transcrito *in vitro* contribuem para seu potencial vacinal. Primeiramente, o desenvolvimento de uma vacina de mRNA pode ser significativamente mais rápido do que o de vacinas proteicas convencionais (Zeng *et al.*, 2022). Durante a pandemia de SARS-CoV-2 em 2020, uma vacina de mRNA foi administrada ao primeiro voluntário em um ensaio clínico de fase 1 dentro de dez semanas após a divulgação da sequência do genoma viral (Lurie *et al.*, 2020). Além disso, a transcrição *in vitro* tem alta eficiência e pode ser ampliada industrialmente para fabricação em grande escala. Outro aspecto relevante é a síntese *in situ* de proteínas de antígeno, eliminando a necessidade de purificação e estabilização prolongada de proteínas, um desafio para alguns antígenos. O transporte e armazenamento do mRNA podem ser mais simples do que vacinas baseadas em proteínas, desde que protegidos contra ribonucleases (RNases), tornando a tecnologia altamente promissora (Zeng *et al.*, 2022).

As vacinas de mRNA apresentam vantagens específicas em relação às vacinas convencionais. O mRNA pode teoricamente codificar e expressar diversos tipos de proteínas,

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

permitindo maior flexibilidade no desenvolvimento vacinal. A eficiência do processo pode ser otimizada por modificações na sequência de mRNA, uma abordagem mais prática em comparação com outras técnicas de modificação vacinal (Xu *et al.*, 2020). Além disso, a maioria dos processos de produção e purificação das vacinas de mRNA são padronizáveis, facilitando o desenvolvimento de outras vacinas baseadas nessa tecnologia. A transcrição *in vitro* também simplifica sua produção (Linares-Fernández *et al.*, 2020), permitindo maior economia de tempo e custos.

A tecnologia do DNA recombinante surge como um instrumento revolucionário na criação de vacinas, permitindo o desenvolvimento de imunizantes que são mais seguros, eficazes e personalizados. Essa abordagem inovadora não apenas expande os horizontes da biotecnologia e da imunologia, mas também transforma as estratégias de saúde pública, proporcionando novas visões para enfrentar doenças, tanto as novas quanto as já conhecidas. Portanto, entender e investigar os mecanismos do DNA recombinante é essencial para fomentar pesquisas futuras e aperfeiçoar as políticas de prevenção, estabelecendo uma trajetória promissora para a promoção da saúde no mundo.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo consiste em uma revisão de literatura integrativa, com o objetivo de sintetizar o conhecimento científico disponível sobre a Tecnologia do DNA recombinante e do RNA mensageiro no desenvolvimento de vacinas. A busca foi realizada exclusivamente na base de dados PubMed, abrangendo artigos publicados entre janeiro de 2020 e janeiro de 2025, garantindo a atualidade das informações. Essa restrição de anos foi adotada para garantir que as informações analisadas estivessem atualizadas e refletissem contextos mais recentes, considerando mudanças globais na segurança alimentar.

Para a estratégia de busca, foram utilizados descritores controlados do Medical Subject Headings (MeSH) e termos livres que incluem: "Recombinant DNA", "Recombinant Vaccines", "Genetic Engineering", "Biotechnology", "Vaccines, DNA", "Gene Expression", "Cloning, Molecular", "Virus Vectors", "Immunization Techniques", "Messenger RNA" e "Antigens, Recombinant". A combinação foi ajustada para refinar os resultados e garantir relevância. Foram incluídos artigos originais e revisões sistemáticas que abordassem, DNA recombinante, Vacinas recombinantes, Biotecnologia, publicados em inglês. Artigos que não apresentavam texto completo, estudos focados em adultos ou idosos, e publicações não científicas, como editoriais e comentários, foram excluídos.

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

A seleção dos estudos ocorreu em três etapas: leitura inicial de títulos e resumos, leitura integral dos artigos pré-selecionados e, finalmente, inclusão daqueles que atenderam aos critérios pré estabelecidos. Por fim, embora a revisão seja robusta, reconhece-se que a escolha de apenas uma base de dados (PubMed) e a delimitação temporal de 2020 a 2025 podem limitar a abrangência dos resultados.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O avanço das técnicas de biotecnologia e engenharia genética possibilitou a utilização do DNA recombinante no desenvolvimento de vacinas, permitindo a criação de imunizantes mais seguros, eficazes e acessíveis. Essa tecnologia inovadora baseia-se na clonagem de genes de interesse, sua inserção em vetores apropriados e a expressão de antígenos que estimulam a resposta imunológica. As vacinas de DNA representam uma revolução na imunização, sendo estudadas para diversas aplicações, desde a prevenção de infecções até o tratamento de doenças crônicas e imunomediadas, incluindo câncer e distúrbios autoimunes (Eusébio *et al.*, 2021).

Quando comparadas às vacinas convencionais, as vacinas de DNA oferecem diversas vantagens, como a indução de respostas imunes amplas sem risco de replicação patogênica, além da possibilidade de codificar múltiplos antígenos em um único vetor vacinal ((Silveira; Moreira; Mendonça, 2021). Essas características favorecem sua aplicação em doenças emergentes e reemergentes, especialmente em cenários que demandam uma resposta rápida e eficaz, como pandemias. Ademais, essas vacinas ativam eficientemente tanto a resposta imune humoral quanto a celular, induzindo a produção de anticorpos e a ativação de células T CD8+, essenciais para a defesa contra diversos patógenos.

As vacinas de RNA mensageiro (mRNA) representam um dos avanços mais revolucionários da biotecnologia moderna. Essa tecnologia ganhou destaque durante a pandemia de COVID-19, com imunizantes altamente eficazes desenvolvidos em tempo recorde. Diferente das vacinas convencionais, as vacinas de mRNA não utilizam patógenos inativados ou atenuados, mas sim instruções genéticas que induzem as células a produzirem proteínas virais específicas, ativando a resposta imune do organismo (Fang *et al.*, 2022).

O mecanismo de ação do RNA mensageiro utilizado nas vacinas é projetado para codificar um antígeno de interesse, geralmente uma proteína estrutural do patógeno. Esse mRNA é encapsulado em nanopartículas lipídicas (LNPs), protegendo-o da degradação e facilitando sua absorção pelas células hospedeiras (Linares-Fernández *et al.*, 2020). Uma vez no citoplasma celular, os ribossomos traduzem o mRNA na proteína-alvo, que é então reconhecida pelo sistema imunológico, desencadeando uma resposta imune robusta e duradoura.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

A estabilidade das vacinas de DNA é outro fator relevante, minimizando a necessidade de armazenamento refrigerado. Esse aspecto é fundamental para a distribuição em áreas endêmicas e países em desenvolvimento, onde as dificuldades logísticas frequentemente limitam o acesso a vacinas tradicionais (Silveira; Moreira; Mendonça, 2021). Essa vantagem é reforçada pela capacidade dessas vacinas de serem produzidas de forma rápida e escalável, permitindo sua implantação em grande escala durante surtos epidemiológicos.

Outro diferencial é a possibilidade de administração por vias mucosas inovadoras (intranasal, intratraqueal ou oral), o que amplia suas aplicações e facilita a autoaplicação, tornando a imunização mais acessível e indolor (Correa; Portilho; De Gaspari, 2022). Essa estratégia não apenas aumenta a aceitação da vacina pela população, mas também favorece uma resposta imune robusta nas mucosas, primeira linha de defesa contra diversos patógenos respiratórios e gastrointestinais.

O quadro apresentado a seguir sintetiza as principais diferenças entre vacinas convencionais e vacinas de DNA recombinante, destacando os aspectos de segurança, resposta imune, produção, armazenamento, administração e aplicação em surtos epidemiológicos.

**Quadro 1** – Comparação entre vacinas convencionais e vacinas de DNA recombinante.

<b>Característica</b>	<b>Vacinas Convencionais</b>	<b>Vacinas de DNA</b>
<b>Segurança</b>	Podem conter microrganismos atenuados ou inativados	Não apresentam risco de replicação patogênica
<b>Resposta Imune</b>	Pode-se necessitar de adjuvantes para maior eficácia	Induz resposta imune celular e humoral robusta
<b>Produção</b>	Processo mais demorado e caro	Produção rápida e de baixo custo
<b>Armazenamento</b>	Necessidade de refrigeração constante	Alta estabilidade, reduzindo a necessidade de refrigeração
<b>Administração</b>	Geralmente injetável	Pode ser aplicada por vias mucosas (intranasal, oral)
<b>Aplicabilidade em surtos</b>	Tempo de desenvolvimento mais longo	Desenvolvimento ágil, ideal para pandemias

**Fonte:** Autores, 2025.

A tabela evidencia as vantagens das vacinas de DNA recombinante em relação às vacinas convencionais. Enquanto os imunizantes tradicionais frequentemente requerem microrganismos atenuados ou inativados, aumentando o risco de reações adversas, as vacinas de DNA eliminam

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

esse perigo, proporcionando uma alternativa mais segura. Além disso, a produção desses imunizantes é mais ágil e de menor custo, permitindo uma resposta rápida diante de surtos epidêmicos. O armazenamento também se destaca como um fator essencial, pois a estabilidade do DNA reduz a necessidade de refrigeração, facilitando a distribuição em regiões de difícil acesso. A possibilidade de administração por vias mucosas é outra vantagem significativa, pois facilita a adesão da população à vacinação e amplia sua aplicabilidade. Dessa forma, a tecnologia do DNA recombinante otimiza não apenas a eficiência imunológica, mas também aspectos logísticos e de produção, tornando-se uma estratégia promissora para o controle de doenças infecciosas e pandemias (Kozak; Hu, 2024 ; Lu *et al.*, 2024).

Diante desses fatores, a tecnologia do DNA recombinante no desenvolvimento de vacinas demonstra um potencial significativo para revolucionar a forma como lidamos com doenças emergentes e reemergentes. Sua viabilidade para produção em larga escala, aliada à segurança e eficácia, reforça seu papel essencial no enfrentamento de futuras pandemias e na promoção da saúde pública global.

## **4 CONCLUSÃO**

A tecnologia de DNA recombinante marca um grande avanço na criação de vacinas, proporcionando melhorias notáveis em segurança, eficácia e acessibilidade. Ao possibilitar a indução de respostas imunes abrangentes sem o perigo de replicação do patógeno, essas vacinas se destacam em relação às convencionais, surgindo como uma alternativa promissora no combate a doenças infecciosas. Ademais, sua produção rápida e econômica facilita uma resposta mais eficiente a surtos epidemiológicos, contribuindo para a aplicação de estratégias eficazes de imunização em escala global.

Um ponto importante a ser destacado é a estabilidade dessas vacinas, que reduz a exigência de armazenamento sob refrigeração, tornando-as mais viáveis em áreas de difícil acesso. Além disso, a opção de administração através de vias mucosas traz uma vantagem significativa, pois facilita a aplicação e melhora a adesão da população às campanhas de vacinação. Essas qualidades destacam o potencial das vacinas de DNA como uma ferramenta fundamental no enfrentamento de desafios sanitários contemporâneos, especialmente com o aumento de infecções emergentes e reemergentes.

Dessa forma, os avanços na biotecnologia consolidam as vacinas de DNA como uma estratégia inovadora e altamente eficaz para a prevenção e controle de doenças. Sua flexibilidade na codificação de antígenos e a capacidade de resposta rápida a novas ameaças epidemiológicas demonstram a importância contínua do investimento em pesquisa nessa área. Assim, a adoção

dessa tecnologia poderá transformar o cenário da saúde pública mundial, contribuindo para o fortalecimento de políticas de imunização e a mitigação de futuras pandemias.

## REFERÊNCIAS

- CORREA, V. A.; PORTILHO, A. I.; DE GASPARI, E. Vaccines, adjuvants and key factors for mucosal immune response. **Immunology**, v. 167, n. 2, p. 124–138, 2022. DOI: 10.1111/imm.13526
- EUSÉBIO, D. *et al.* Methods to improve the immunogenicity of plasmid DNA vaccines. **Drug Discov Today**, v. 26, n. 11, p. 2575-2592, 2021. DOI: 10.1016/j.drudis.2021.06.008
- FANG, E. *et al.* Advances in COVID-19 mRNA vaccine development. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, p. 94, 2022. DOI: 10.1038/s41392-022-00950-y
- GARY, E. N.; WEINER, D. B. DNA vaccines: prime time is now. **Current Opinion in Immunology**, v. 65, p. 21–27, 2020. DOI: 10.1016/j.coi.2020.01.006
- ITO, Y. A tumor-producing factor extracted by phenol from papillomatous tissue (Shope) of cottontail rabbits. **Virology**, v. 12, n. 4, p. 596-601, 1960. DOI: 10.1016/0042-6822(60)90182-3
- KOZAK, M.; HU, J. DNA Vaccines: Their Formulations, Engineering and Delivery. **Vaccines**, v. 12, n. 1, p. 71, 2024. DOI: 10.3390/vaccines12010071
- LINARES-FERNÁNDEZ, S. *et al.* Tailoring mRNA Vaccine to Balance Innate/Adaptive Immune Response. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 3, p. 311–323, 2020. DOI: 10.1016/j.molmed.2019.10.002
- LU, B. *et al.* The next-generation DNA vaccine platforms and delivery systems: advances, challenges and prospects. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1332939, 2024. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1332939
- LURIE, N. *et al.* Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 21, p. 1969–1973, 2020. DOI: 10.1056/NEJMp2005630
- MAHMOOD, F. *et al.* HBV Vaccines: Advances and Development. **Vaccines**, v. 11, n. 12, p. 1862, 2023. DOI: 10.3390/vaccines11121862
- SILVEIRA, M. M.; MOREIRA, G. M. S. G.; MENDONÇA, M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. **Life Sciences**, v. 267, p. 118919, 2021. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118919
- XU, S. *et al.* mRNA Vaccine Era—Mechanisms, Drug Platform and Clinical Propection. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 6582, 2020. DOI: 10.3390/ijms21186582
- ZENG, C. *et al.* Formulation and Delivery Technologies for mRNA Vaccines. **Current topics in microbiology and immunology**, v. 440, p. 71–110, 2022. DOI: 10.1007/82\_2020\_217

# CAPÍTULO 2

## BIOTECNOLOGIA APLICADA À NANOMEDICINA: síntese de nanopartículas de prata estabilizadas com extrato de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra) para potencial uso no tratamento do câncer

BIOTECHNOLOGY APPLIED TO NANOMEDICINE: synthesis of silver nanoparticles stabilized with extract of *Curcuma longa* L. (Turmeric) for potential use in cancer treatment

**Tacyane Araújo da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias - MA, Brasil

**Raíssa Gomes da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Eduardo Feitosa da Conceição**   

Graduado em Química Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Denilson Moraes Rocha de Sousa**   

Mestrando em Química pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Marcos Vinícios Alves de Sá**   

Mestrando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Maura Celia Cunha e Silva**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Dezuiita dos Santos Freitas Viana**   

Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias - MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.860 

**Resumo:** O câncer representa uma das principais causas de mortalidade no mundo, impactando negativamente a expectativa de vida e configurando-se como um grave problema de saúde pública. Diante da necessidade de novas abordagens biotecnológicas aplicada a nanomedicina, as nanopartículas de prata (AgNPs) vêm sendo exploradas por suas propriedades antimicrobianas e seu potencial uso na área oncológica. Este trabalho teve como objetivo sintetizar AgNPs utilizando extrato de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra) como agente estabilizante para potencial uso no tratamento do câncer. O extrato foi obtido por decocção, utilizando 5 g das folhas da planta em 400 mL de água deionizada, aquecida a 100 °C por aproximadamente 5 minutos. Para a síntese das AgNPs, 125 mL de solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$  1,0 mmol L<sup>-1</sup>) foram levados à ebulição sob agitação magnética. Em seguida, foram adicionados 5 ml de citrato de sódio a 1%, sendo a reação monitorada até a formação de uma coloração amarelada, indicativa da formação de AgNPs. Após o resfriamento da solução a 25 °C, foi adicionado o extrato vegetal para estabilização das nanopartículas. A caracterização das AgNPs foi realizada por espectroscopia UV-Vis. A avaliação da genotoxicidade foi conduzida pelo teste de *Allium cepa*, revelando que os grupos tratados com *Curcuma longa* L. (grupo B) e com AgNPs+*Curcuma longa* L. (grupo C) apresentaram menor índice mitótico em relação ao controle. O grupo C apresentou ainda o maior índice de aberrações cromossômicas, sugerindo genotoxicidade moderada e potencial aplicação como fitoterápico coadjuvante no tratamento do câncer.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de prata. Oncologia. Extratos vegetais. Síntese de nanopartículas. Antitumoral.

**Abstract:** Cancer is one of the leading causes of mortality worldwide, negatively impacting life expectancy and constituting a serious public health problem. Given the need for new biotechnological approaches applied to nanomedicine, silver nanoparticles (AgNPs) have been explored for their antimicrobial properties and their potential use in oncology. This work aimed to synthesize AgNPs using *Curcuma longa* L. (turmeric) extract as a stabilizing agent for potential use in cancer treatment. The extract was obtained by decoction using 5 g of plant leaves in 400 mL of deionized water, heated to 100 °C for approximately 5 minutes. For the synthesis of AgNPs, 125 mL of silver nitrate solution ( $\text{AgNO}_3$  1.0 mmolL<sup>-1</sup>) were brought to the boil under magnetic stirring. Then, 5 mL of 1% sodium citrate were added, and the reaction was monitored until a yellowish coloration was formed, indicative of the formation of AgNPs. After cooling the solution to 25°C, the plant extract was added to stabilize the nanoparticles. The characterization of AgNPs was performed by UV-Vis spectroscopy. The genotoxicity evaluation was conducted by the *Allium cepa* test, revealing that the groups treated with *Curcuma longa* L. (group B) and with AgNPs+*Curcuma longa* L. (group C) presented a lower mitotic index compared to the control. Group C also presented the highest rate of chromosomal aberrations, suggesting moderate genotoxicity and potential application as an adjuvant phytotherapeutic in cancer treatment.

**Keywords:** Silver nanoparticles. Oncology. Plant extracts. Nanoparticle synthesis. Antitumor.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença que diminui a expectativa de vida em todo mundo, se tornando uma das principais causas de morte no cenário mundial. Estimativas destacam que houveram 19,3 milhões de casos novos de câncer no mundo (Inca, 2022). No Brasil a incidência de novos casos

é de aproximadamente 704.080 e na região nordeste é de aproximadamente 152.930 (Oliveira *et al.*, 2023).

Atualmente, novas alternativas com a nanopartículas de prata vêm sendo desenvolvidas de acordo com sua aplicação, e uma delas é na área oncológica (Pompeu, 2021). O prefixo nano, “anão” em grego, abreviado por nm, significa um bilionésimo do metro, possuindo uma proporção de 1 a 100 nanômetros. Almeida (2015) destaca que a nanopartículas de prata (AgNPs) está presente nas variadas áreas e produtos de consumo, ajudando na prevenção de algumas bactérias e fungos. Além disso, Antunes *et al.* (2013) destacou em seu trabalho que este nanomaterial possui propriedades físicas, químicas e biológicas.

Um estudo conduzido por Pompeu (2021), relatou que o uso da nanotecnologia no tratamento do câncer está relacionado a redução e a incidência de efeitos diversos; aumentar o intervalo entre as doses aplicadas e a obtenção de uma melhor eficácia devido ao direcionamento do fármaco aos tecidos doentes com a proteção simultânea dos tecidos saudáveis. As nanopartículas não poderiam ser diferentes, pois elas promovem redução das dosagens necessárias justamente porque as nanopartículas (NPs) possuem nível de alcance intracelular, atingindo unicamente células cancerosas (Canezin *et al.*, 2021).

Vasconcelos (2021), ressalta que no método biológico a síntese verde é simples, rápida, fácil de conduzir e é a mais benéfica para a sustentabilidade do meio. Os nanomateriais produzidos com a síntese verde se destaca por apresentar uma abordagem acessível e sustentável, onde são utilizadas fontes biológicas para produzir uma diversidade de nanopartículas, tais como raízes, folhas, sementes de plantas, frutas, microrganismos, algas marinhas, entre outros (Rodrigues, 2022).

O agente redutor e estabilizador está muito presente nos extratos naturais, por esse motivo esse produto é muito utilizado na síntese verde de nanopartículas metálicas. O extrato de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra) é uma ótima alternativa, já que por si só possui propriedades medicinais: anticâncer, antioxidantes, atividade hepatoprotetora, anti-inflamatória, antibacteriana, antidiabética, antilipêmico, cardioprotetora e quimiopreventiva (Agostinho, 2022). Feitoza, Terra e Grasselli (2021) citaram a atuação da planta como tratamento para câncer. Portanto, a estabilização das nanopartículas de prata estabilizada em extrato de *Curcuma longa* L. mostra-se como opção promissora, contribuindo para o conhecimento científico e podendo atuar como um coadjuvante para tratamento do câncer, tendo em vista que essa espécie é usada para fins terapêuticos.

Diante desse cenário, este trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata e estabilizar em extrato aquoso de *Curcuma longa* L. para potencial uso no tratamento do câncer.

Também caracterizar pelo método de Espectroscopia Ultravioleta Visível (UV-Vis) e avaliar o potencial genotóxico das nanopartículas de prata em extrato de *Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

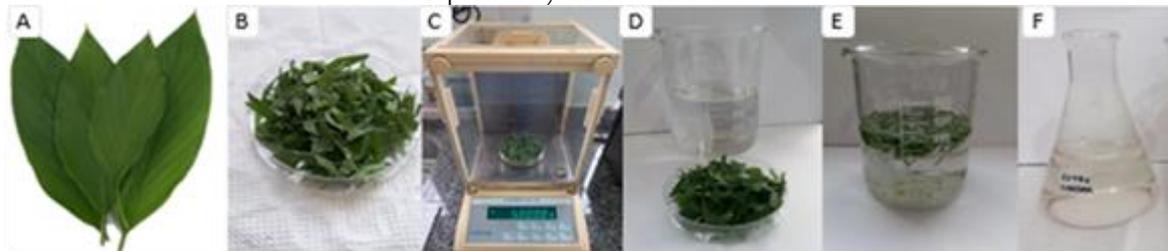
### 2.1 Tipo de pesquisa e local do estudo

O estudo foi realizado na Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, sendo uma pesquisa experimental, realizado no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC), e no Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais (LAPEQUIM) do Campus Caxias.

### 2.2 Preparação do extrato aquoso de *Curcuma longa* L.

Para obtenção do extrato aquoso, o presente trabalho seguiu a metodologia apresentada por Silva, Miranda e Conceição (2010). Assim, foram lavadas com água destilada, secadas com auxílio de um papel toalha e picadas em pequenos pedaços 5g de folhas de *Curcuma longa* L., posteriormente, foram adicionados em um béquer contendo 400 mL de água deionizada e aquecida em um agitador magnético com uma temperatura de 100 °C durante 5 minutos. Após o tempo de aquecimento, o extrato foi retirado do aparelho elétrico e ficou em repouso realizando o processo de resfriamento. Em seguida, foi filtrado 400 mL do extrato obtido e armazenado em recipiente até o dia do uso (Figura 1).

**Figura 1** - Preparo do extrato aquoso das folhas de *Curcuma longa* L. A) Folhas frescas do açafrão- da -terra. B) Folhas picadas. C) Pesagem das folhas. D) Água deionizada e as folhas picadas. E) Extrato em repouso. F) Extrato filtrado.



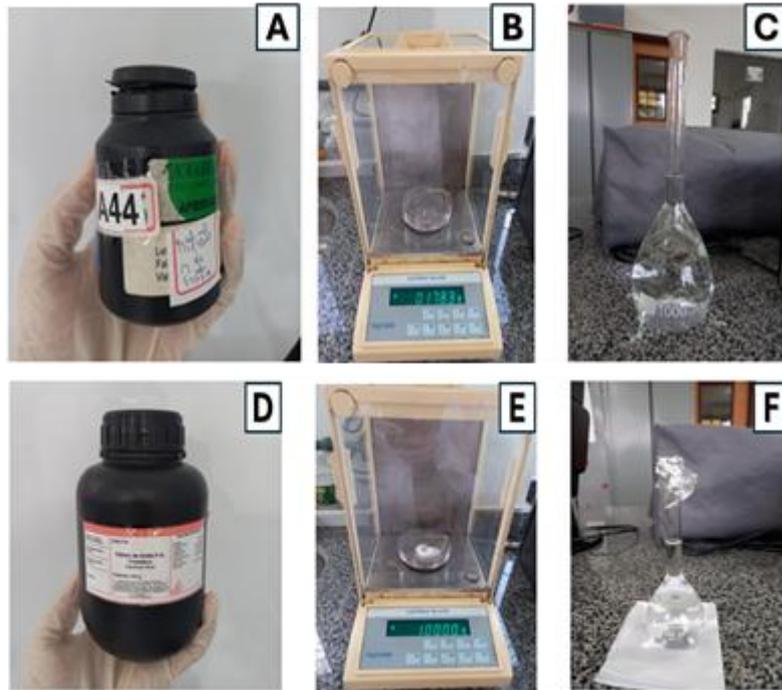
Fonte: Autores, 2024.

### 2.3 Síntese das nanopartículas de prata

Primeiro foi preparado as duas soluções aquosas para a realização da síntese das nanopartículas de pratas (AgNPs). Assim, foram pesados 0,17 g de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), adicionado em um balão volumétrico contendo 1000 mL de água deionizada e em seguida foi agitada até a homogeneização completa. Para a solução do citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) 1%, foi

pesado 1 g e foi adicionado em um balão volumétrico contendo 100 mL de água deionizada e em seguida foi dissolvida (Figura 2).

**Figura 2** – A) Nitrato de prata; B) Massa do nitrato de prata pesado; C) Solução preparada ( $\text{AgNO}_3$ ) 1 mmol/L; D) Citrato de sódio; E) Massa do citrato de sódio e F) Solução preparada.



Fonte: Autores, 2024.

Posteriormente, foi aquecida 125 mL de nitrato de prata sob agitação magnética numa chapa aquecedora até a ebulição. Ao atingir a temperatura de ebulição, foi misturado gota a gota 5 mL de citrato de sódio 1% na solução de nitrato de prata. O gotejamento ocorreu numa taxa de 1 gota por segundo, sob aquecimento e agitação magnética (Figura 3). A mistura ficou mudando de cor até atingir a coloração amarelada. Essa coloração indicou a redução da prata com formação de nanopartículas. Após atingir essa coloração, foi desligado o aquecimento da chapa aquecedora. No entanto, a solução permaneceu em agitação magnética.

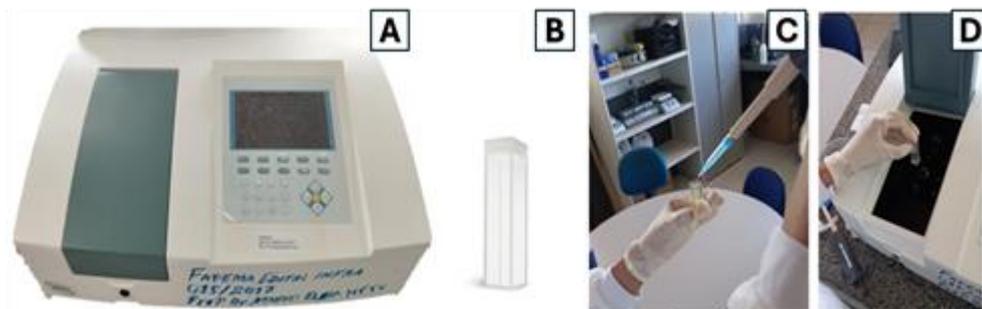
**Figura 3** - Solução contendo as nanopartículas em agitação magnética.

Fonte: Autores, 2024.

Após a solução contendo as nanopartículas atingirem a temperatura ambiente (25 °C), foi adicionado o extrato vegetal previamente produzido. Em seguida, a solução nitrato de prata/citrato/*Curcuma longa* L. (Açafrão-da-Terra) foi armazenada num frasco âmbar.

#### 2.4 Caracterização das soluções por UV-Vis

A caracterização é uma fase imprescindível para esta pesquisa, visto que é nessa etapa que é possível verificar a confirmação e a estabilidade das nanopartículas que foram formadas. Assim, foi utilizado um espectrofotômetro do modelo N6000PLUS da marca Kasuaki, na obtenção dos espectros ultravioleta-visível (UV-Vis) utilizando o intervalo de varredura de 200 a 600 nm em cubetas de quartzo (Figura 4). Nesta etapa, foram submetidos a espectroscopia UV-Vis as soluções nitrato/citrato, nitrato/citrato/*Curcuma longa* L. e foi analisado também o extrato aquoso de Açafrão-da-Terra.

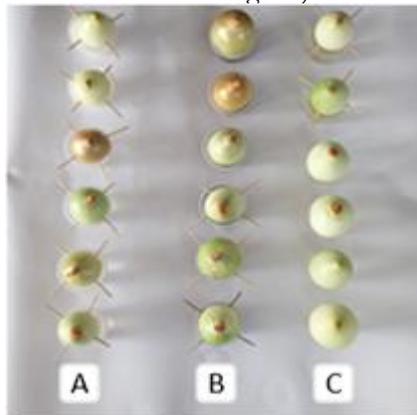
**Figura 4** - A) Aparelho de espectrofotometria UV-vis; B) Cubeta de quartzo; C) Cubeta com a inserção da solução e D) Inserção da cela de quartzo com amostra para análise no UV-Vis.

Fonte: Autores, 2024.

## 2.5 Avaliação Genotóxica

O Teste *Allium cepa* seguiu o protocolo sugerido pela Sociedade Brasileira de Mutagênese Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA) elaborado por Medeiros *et al.* (2007). A avaliação foi separada em três grupos: Grupo A (água deionizada) sendo o grupo controle, grupo B (Extrato de *Curcuma longa* L.) e o grupo C (nanopartículas de prata estabilizadas em *Curcuma longa* L.) todos contendo a mesma concentração de 100% (Figura 5).

**Figura 5** – Bulgos separados em três grupos contendo: Grupo A (água deionizada) sendo o grupo controle, Grupo B (extrato de *Curcuma longa* L.) e o Grupo C (nanopartículas de prata estabilizadas em *Curcuma longa* L.).



Fonte: Autores, 2024.

Para cada grupo, foram colocadas 06 cebolas em contato com cada solução. Após 74 horas as raízes que mediram entre 0,5 e 1,5 cm foram coletadas, fixadas em solução Carnoy (etanol 95% + ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v) por 24 horas e após esse tempo foram estocadas em etanol 70% até o dia do preparo das lâminas. Para a preparação das lâminas, as raízes foram lavadas com água destilada (3 banhos de 5 minutos cada para a remoção do fixador e depois realizou a hidrólise com HCl (ácido clorídrico) por 1 min. Em seguida, foram retiradas do ácido e lavadas com água destilada. Com o auxílio de uma pinça, as raízes foram secadas e transferidas para um frasco âmbar com o reativo de Schiff por 2 horas. As raízes foram lavadas com água até a remoção total do corante e as raízes foram secadas. Para finalizar esta etapa, as raízes foram colocadas sobre uma lâmina, separado a extremidade mais corada da raiz, em seguida foi adicionada uma gota de carmim acético, macerada com auxílio de um bastão de vidro, coberta com lamínula e observada no microscópio imediatamente.

Para a contagem das células no microscópio, foram analisadas 1.000 células para cada raiz, verificando o ciclo celular, que incluiu as fases de Interfase, Prófase, Metáfase, Anáfase e Telófase, e buscando encontrar algumas aberrações durante essas fases mitóticas. Assim, o presente estudo seguiu o cálculo utilizado pelo trabalho de Parvan *et al.* (2020) sendo, o número total de índice Mitótico (IM) encontrado em 1.000 células, dividido por 1.000 e multiplicado por

100. A mesma fórmula foi utilizada para a contagem de aberrações ( $AC = n^\circ$  de células em divisão  $\times 100 / n^\circ$  total de células observadas).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Produção do extrato de *Curcuma longa* L.

Na análise das características obtidas pelo extrato produzido, foram verificados o odor e uma coloração amarelada bem característico, com o pH de 6,0 (Figura 6) os resultados corroboram com Moretes e Geron (2019). Silva *et al.* (2018) fez a caracterização do rizoma de *Curcuma longa* L. e encontrou o pH 5,87. Freitas (2022) também fez a caracterização do rizoma da açafrão-da-terra e encontrou uma média de pH de  $6,35 \pm 0,07$ .

**Figura 6** - Extrato de *Curcuma longa* L. no teste do pH.



Fonte: Autores, 2024.

#### 3.2 Síntese verde de Nanopartículas de Prata

O aspecto visual das soluções coloidais de nanopartículas de prata deste trabalho, e é notório a transição entre as três diferentes colorações, onde iniciou-se incolor, depois de alguns minutos passou para um tom amarelo-claro e, por fim, transformou-se em uma solução alaranjada (Figura 7), a mudança de coloração corrobora com o resultado observado por Sousa *et al.* (2024) que ao sintetizar nanopartículas de prata observaram alteração de cor que variou de incolor a amarelo alaranjado. Esta alteração de tonalidade se assemelha ao trabalho apresentado por Conceição *et al.* (2023). Tal fato, foi notado no trabalho de Silva *et al.* (2024) indicando a redução da prata com a aglomeração das AgNPs. Brito, Viana e Viana (2022) obtiveram também resultados semelhantes, apresentando bandas e coloração parecidos.

**Figura 7** – Aspecto visual da solução coloidal das nanopartículas de prata.

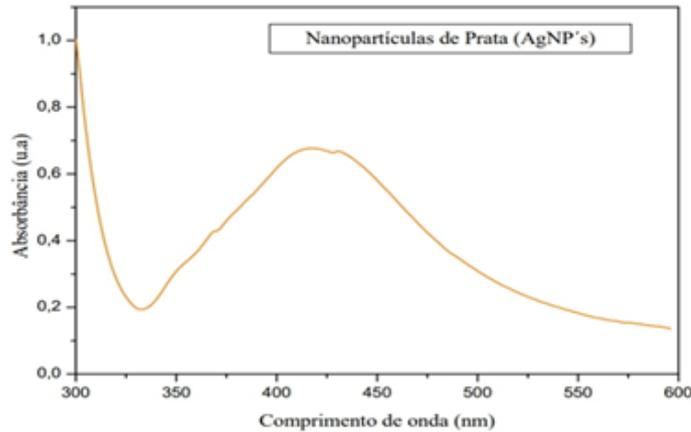


Fonte: Autores, 2024.

A mudança de coloração permite ter a confirmação da formação das AgNPs e indício da absorção da radiação eletromagnética. Essa radiação eletromagnética está ligada diretamente à interação entre a luz e matérias em nanômetros, causando as oscilações dos elétrons livres (Dada *et al.*, 2019).

### 3.3 Espectroscopia de absorção de UV-Vis

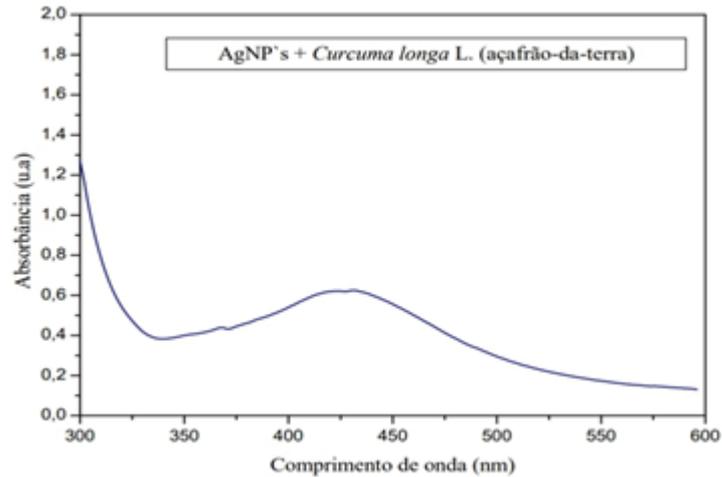
No presente estudo, três amostras foram avaliadas por espectroscopia UV-vis uma contendo nitrato de prata/citrato de sódio, outra com AgNPs+*Curcuma longa* L., e a terceira compondo o extrato aquoso de Açafão-da-terra apenas para efeitos comparativos. Assim, a análise visou verificar a absorbância das soluções e detectar as formas e tamanhos conforme as bandas de plasmon. Na análise da solução contendo nitrato de prata/citrato de sódio, observa-se uma banda de absorção com comprimento de onda máximo em torno de 420 nm (Figura 8). De acordo com Antunes *et al.* (2013) as AgNPs que absorvem nesse comprimento de onda, possuem formato esférico e com tamanho de aproximadamente 50 nm. Os picos obtidos estão de acordo com os resultados de Conceição *et al.* (2024), que ao analisar a caracterização das AgNPs obteve o máximo de comprimento de onda de 425 nm.

**Figura 8** – Espectro de absorbância de absorção UV-vis das nanopartículas de prata.

Fonte: Autores, 2024.

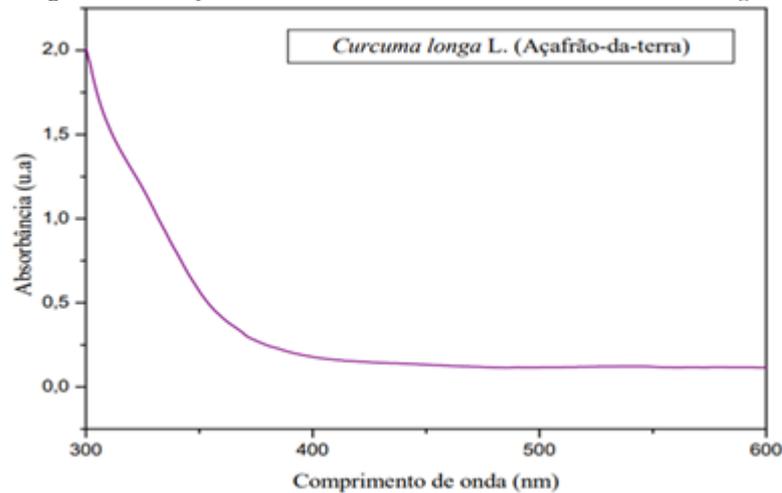
Resultados semelhantes foram encontrados por Silveira *et al.* (2022) e Soares (2018), onde as bandas de absorbância foram situadas entre 420 nm, indicando tamanho de nanopartículas na faixa de 35 a 50 nm. Outros trabalhos como de Lemos (2021) e Vasconcelos (2021) observaram um pico na banda de absorção com máxima de 420 e 449 nm para nanopartículas de prata. Pode-se visualizar na Figura 11 a caracterização da solução contendo as nanopartículas de prata/ Extrato de *Curcuma longa* L., ao ser analisado foi verificado um pico de absorção em um comprimento de onda de 430 nm, entre a faixa de 300-60 nm. Esse resultado mostra que foram formadas as nanopartículas e o extrato utilizado mostrou-se eficaz na estabilização das nanopartículas.

Figueira (2023), em um estudo que teve como objetivo síntese e caracterizar as NPs de Ag em extrato de *Anacardium occidentale* L., observou um pico na banda de absorção com máxima de 428 nm. Como é descrito por esse mesmo autor explica que essa estabilização das nanopartículas feita pela síntese verde é realizada pelas substâncias bioativas, com o caso dos flavonoides que impede a interação e a agregação entre elas. Karan, Erenler e Bozer (2022) estudaram caracterização de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas, usando a curcumina como estabilizante. Eles relataram que a banda de absorção ocorreu em torno de 430 nm, comprovando as AgNPs. Descobertas semelhantes foram descritas por Fard, Tafvizi e Torbati (2018), que utilizaram o extrato da folha de *Centella asiatica* L. para estabilizar as nanopartículas de prata, ao ser analisada no espectroscopia UV-visível, observaram um espectro de absorção de 430 nm, o que segundo esses autores este pico se dá pela ressonância plasmônica de superfície (SPR) das nanopartículas de prata.

**Figura 9** – Espectro de absorbância das Nanopartículas de Prata/*Curcuma longa* L.

Fonte: Autores, 2024.

Sobre a solução de extrato de *Curcuma longa* L. ao ser submetida no espectroscopia UV-Visível, foi verificado que não houve nenhum pico de absorção, diferente dos outros gráficos anteriores, que na composição das soluções á presenças das nanopartículas de prata, pois são as NPs que contém os metais nobres e a absorvem as radiações eletromagnéticas (Figura 10).

**Figura 10** – Espectro de absorbância do extrato de *Curcuma longa* L.

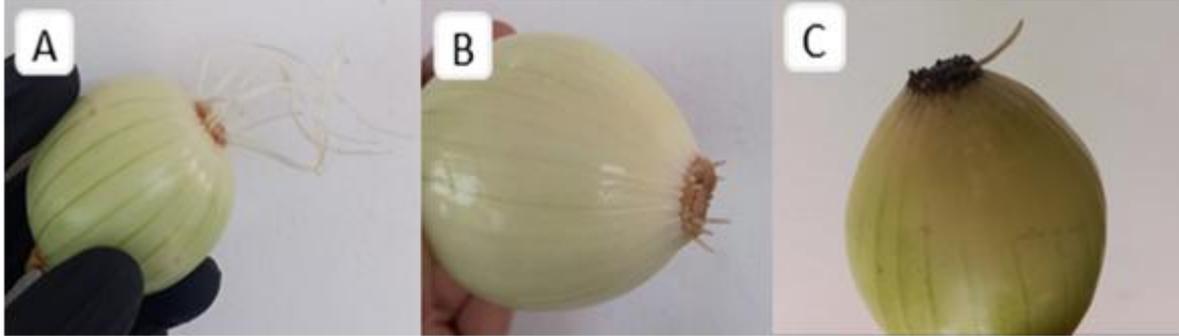
Fonte: Autores, 2024.

### 3.4 Avaliação genotóxica

A análise macroscópica avaliou-se de forma descritiva em relação ao crescimento e o tamanho das raízes. Com relação ao crescimento, o grupo A apresentou um crescimento acelerado, dos 6 bulbos tratados com a água deionizada apenas três tiveram inibição de crescimento, já o grupo B submetido ao extrato de *Curcuma longa* L. este grupo foi o mais bem-sucedido apresentando crescimento em todos os seis bulbos e o grupo C contendo as

nanopartículas de prata/Extrato de *Curcuma longa* L., das seis cebolas apenas duas germinaram. Sobre o tamanho das raízes, todos os grupos que germinaram apresentaram tamanho acima de 0,5 cm (Figura 11).

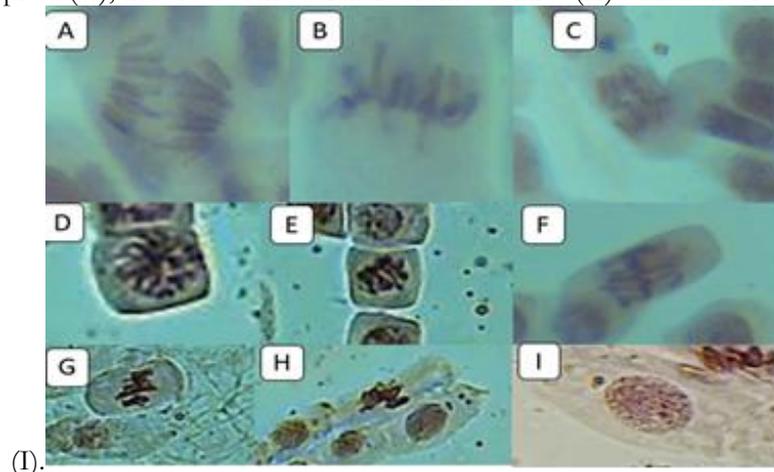
**Figura 11** – Análise macroscópica dos bulbos com raízes germinadas dos grupos: A) Controle; B) Extrato de *Curcuma longa* L.; C) Nanopartículas de prata/Extrato de *Curcuma longa* L.



Fonte: Autores, 2024.

Diante desse resultado, Conceição *et al.* (2023) explica que soluções que contêm uma alta concentração de nanopartículas de prata podem diminuir o crescimento das raízes porque as ações dos nanomateriais podem reduzir o índice mitótico (IM). Em relação a análise microscópica, foram observados um total de 8 lâminas, sendo da seguinte forma: 3 lâminas do grupo A (água deionizada), 2 lâminas do grupo B (extrato de *Curcuma longa* L.) e 3 lâminas do grupo C (AgNPs/*Curcuma longa* L.). Foi possível observar que os três grupos apresentavam um índice mitótico elevado, mas em contrapartida foi encontrado algumas aberrações cromossômicas como: Pontes cromossômicas, micronúcleo, viscosidade, metáfase com aderência cromossômica e cromossomo fora da placa (Figura 12). Segundo Ferreira (2021) essas aberrações são definidas pelas modificações das estruturas cromossômicas ou pelo número total cromossômica.

**Figura 12** – Pontes cromossômicas (A), Metáfase normal(B), Anáfase normal (C), Prófase normal (D), viscosidade (E), metáfase irregulares (F), Metáfase com aderência cromossômica e cromossomo fora da placa (G), metáfase com aderência cromossômica (H) e Micronúcleo.



Fonte: Autores, 2024.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

Os resultados do índice mitótico (IM) mostraram valores inferiores nos grupos B (18,9%) e C (11,4%), em comparação com o grupo controle (A) que apresentou (26,6%). Por outro lado, os grupos B (1,1%) e C (2,7%) apresentaram valores superiores em relação ao grupo A (grupo controle) no índice de alterações cromossômicas (Tabela 1) que apresentou 0,8%. Os dados do grupo controle indicam que o grupo A mostrou uma divisão celular estável e não sofreu alterações significativas por apresentar um índice reduzido (baixo) nas mudanças das estruturas cromossômicas nas células.

**Tabela 1 – Análise de índice mitótico e de alterações cromossômicas.**

GRUPOS	Índice mitótico (IM)	Índice de alterações cromossômicas (IAC)
Grupo A (Água deionizada)	26,6%	0,8%
Grupo B ( <i>Curcuma longa</i> L.)	18,9%	1,1%
Grupo C (AgNPs + <i>Curcuma longa</i> L.)	11,4%	2,7%

**Fonte:** Autores, 2024.

Essa diferença, no índice mitótico (IM), pode estar relacionado a presença de agentes citotóxicos como, ações químicas, que pode estar provocando a redução do processo de mitose nos grupos B e C quando comparado ao grupo negativo (Lima *et al.*, 2023). Quando o índice mitótico for inferior ao grupo controle, isso pode indicar ações de substâncias químicas no crescimento das células, e quando o índice mitótico for superior ao grupo controle significa que houve uma proliferação celular (Santos, 2020). Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Fachinetto (2007) que teve como objetivo avaliar o efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC. Ao ser comparado com o grupo controle, a diminuição do IM foi significativa. Em relação aos índices de alterações cromossômicas no grupo C (AgNPs + *Curcuma longa* L.), Silva (2019) explica que pode estar relacionado com a concentração e tamanho das nanopartículas.

#### 4 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos acima, é possível afirmar que o extrato de *Curcuma longa* L. foi promissora na estabilização das nanopartículas de prata, comprovando que a síntese verde é um método simples, rápido, econômico e eficaz na estabilização da NPs. Nas análises da espectroscopia de UV-Vis, foi possível confirmar as nanopartículas de prata tanto no extrato contendo somente as nanopartículas de prata (Pico de absorbância de 420 nm), quanto o extrato composto por nanopartículas de prata com extrato de *Curcuma longa* L. (Bandas de absorção em um comprimento de onda de 430 nm).

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

Em relação ao teste genotóxico, para análise dos parâmetros de índice mitótico (IM) e aberrações cromossômicas (AC), foi observado que o Grupo B (*Curcuma longa* L.) e o grupo C (AgNPs + *Curcuma longa* L.) foram inferiores em comparação ao controle em relação ao IM. Por outro lado, o extrato grupo C apresentou o maior índice de aberrações cromossômicas, significando as modificações nas estruturas cromossômicas. Esses resultados informam que as nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Curcuma longa* L. apresentaram genotoxicidade moderada, demonstrando potencial promissor para o desenvolvimento de um fitoterápico coadjuvante no tratamento do câncer.

## REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, M. S. P. **Produção de nanopartículas de zeína para incorporação dos compostos bioativos presentes no extrato do açafraão-da-terra.** 2022. Dissertação de Mestrado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/29413>. Acesso em: 13 dez. 2023.

ALMEIDA, J. C. B. *et al.* **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata.** **Anais do XXXVII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados.** Universidade Federal de São Carlos- São Carlos- SP, 2015. (Vol. 2, pp. 2040-2048).

ANTUNES, F. S. *et al.* Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 20-6, 2013.

BRITO, J. E.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F. G. Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata AgNp estabilizadas em extrato de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e21611629051-e21611629051, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i6.29051>

CANEZIN *et al.* **Nanotecnologia aplicada no tratamento de câncer.** Encontro Científico Cultural Interinstitucional. 2021. Cascavel. Anais 19°. Paraná: Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz. 2021. P 1-5.

CONCEIÇÃO, E. F.; ALBUQUERQUES, M. R.; SILVA, T. A.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, V.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F. Nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) como tratamento auxiliar da diabetes. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**. v. 5, p. 1569-1593, 2023. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n4p1569-1593>

CONCEIÇÃO, E. F.; VIANA, D. S. F.; ROCHA, A. F. R.; SILVA, V. M.; VIEIRA, J. G. C.; OLIVEIRA, A. M. M.; MENEZES, B. T. B.; SÁ, M. V. A.; SANTOS, L. N.; LIZANIO, T. M. Análise da estabilidade de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (MART. EX DC.) STANDL.). **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 4, p. 2335–2367, 2024. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n4p2335-2367>

DADA, A. O. *et al.* Silver nanoparticle synthesis by *Acalypha wilkesiana* extract: phytochemical screening, characterization, influence of operational parameters, and preliminary antibacterial

testing. **Heliyon**, v. 5, n. 10, 2019. Disponível em: DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02517>

FARD, S. E.; TAFVIZI, F.; TORBATI, M. B. Nanopartículas de prata biossintetizadas usando extrato de folhas de *Centella asiatica*: indução de apoptose na linhagem de células de câncer de mama MCF-7. **IET nanobiotechnology**, v. 12, n. 7, p. 994-1002, 2018. DOI: [doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5069](https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5069)

FACHINETTO, J. M. *et al.* Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 49-54, 2007 DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100011>

FEITOZA, L. Q.; TERRA, F. S.; GRASSELLI, Cristiane da Silva Marciano. Plantas Medicinais e seus Compostos com Potencial Terapêutico no Tratamento do Câncer: Revisão Integrativa. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 67, n. 1, 2021. DOI: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2021v67n1.11>

FIGUEIRA, É. L. M. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Anacardium Occidentale*, caracterização fisicoquímica e morfológica**. 2023. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/72523>. Acesso em: 13 dez. 2023.

FERREIRA, R. Caracterização de aberrações cromossômicas em estudos de genotoxicidade e mutagenicidade. **Revista científica Intellecto**, v. 6, n. 1, 2021.

FREITAS, R. V. **Análise dos compostos bioativos do condimento em pó do açafrão da terra (*Curcuma longa* L.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição)- Faculdade de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2022. Disponível em: <https://bdm.ufpa.br:8443/jspui/handle/prefix/5320>. Acesso em: 13 dez. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Estimativa de 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2023.

KARAN, T.; ERENLER, R.; BOZER, B. M. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata usando curcumina: efeitos citotóxicos, apoptóticos e necróticos em várias linhagens celulares. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 77, n. 7-8, p. 343-350, 2022. DOI: [doi.org/10.1515/znc-2021-0298](https://doi.org/10.1515/znc-2021-0298)

LEMOS, T. A. B.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F.; LEMOS, M. H. S.; FIGUEIRÊDO, G. S. Desenvolvimento, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata estabilizadas com extrato de girassol (*Helianthus annuus*). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 6, p. e11710615533, 2021. DOI: [10.33448/rsd-v10i6.15533](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15533)

LIMA, S. N. A. *et al.* Avaliação da atividade citotóxica e genotóxica de extratos de *arrabidaea* chica sobre o sistema teste de *Allium cepa*. **Educação, Ciência e Saúde**, v. 10, n. 1, 2023.

MORETES, D. N.; GERON, V. L. M. G. Os benefícios medicinais da *Curcuma longa* L. (açafrão da terra). **Revista da Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA**, v. 10, n. 1, p.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

108-116, jan.-jun. 2019. Disponível em:

<https://repositorio.unifaema.edu.br/jspui/handle/123456789/2450>. Acesso em: 13 dez. 2023.

OLIVEIRA, M. *et al.* Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>

PARVAN, L. G. *et al.* Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. **Rev. Pan. Amaz. Saude** 2020; 11:e202000544 – e-ISSN: 2176-6223. DOI: <https://doi.org/10.5123/S2176-6223202000544>

POMPEU, L. D. *et al.* Nanotecnologia aplicada à oncologia: uma perspectiva sobre o tratamento do câncer utilizando óxido de grafeno. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, v. 22, n. 2, p. 39-52, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37779/nt.v22i2.3793>

RODRIGUES, M. A. L. O. **Síntese verde de nanopartículas de cobre e suas aplicações: revisão de literatura**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/49651>. Acesso em: 13 dez. 2023.

SANTOS, P. N.; PAZ, F. A. N.; SANTOS, E. N.; BATISTA, N. J. C.; CARVALHO, T. M.; COSTA, C. L. S. Analysis of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of the hydroalcoholic extract of *Morus nigra* L. Leaves through the bioassay *Allium cepa*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e132942968, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i4.2968

SILVA, D. B. *et al.* **Coleção de propostas utilizando produtos naturais para a introdução ao tema ácido-base (parte II): extração e armazenamento**. 2018. DOI:10.22201/fq.18708404e.2018.1.63702

SILVA, J. V. F. *et al.* **EFEITOS CITOGENÉTICOS DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM *Allium cepa* E *Vicia faba***. 71ª Reunião Anual da SBPC - 21 a 27 de julho de 2019-UFMS-Campo Grande/MS Disponível em: [https://livro.sbpnet.org.br/71ra/trabalhos/resumos/1353\\_1ff57b85860af32d91f856e5793d3dd0a.pdf](https://livro.sbpnet.org.br/71ra/trabalhos/resumos/1353_1ff57b85860af32d91f856e5793d3dd0a.pdf). Acesso em: 13 dez. 2023.

SILVA, N. L. A.; MIRANDA, F. A. A.; CONCEIÇÃO, G. M. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **SCIENTIA PLENA**, v. 6, p. 1–17, fev. 2010. Disponível em: <https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/22/14>. Acesso em: 13 dez. 2023.

SILVA, V. M. *et al.* Síntese verde e estabilização de nanopartículas de prata em morinda citrifolia L.(noni) como coadjuvante no tratamento de câncer. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 1841-1865, 2024. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n3p1841-1865>

SILVEIRA, R. *et al.* Nanopartículas de prata: síntese, atividade antibacteriana e comparativo com um desinfetante comum. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 19, p. 0-0, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/2176-1523.20222638>

SOARES, S. A. **Ressonância plasmônica de nanopartículas de prata em madeira de *Hevea brasiliensis***. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Engenheiro Florestal), Instituto de Florestas

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Disponível em:  
<https://rima.ufrjr.br/jspui/handle/20.500.14407/5533>. Acesso em: 13 dez. 2023.

SOUSA, D. M. R.; OLIVEIRA, G. J.; OLIVEIRA, T. R.; CONCEIÇÃO, T. M.; SILVA, Y. G. A.; RODRIGUES, J. S.; VIANA, D. S. F.; SILVA, M. C. C. (2024). Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Cissus verticillata* L. (insulina vegetal). *Cuadernos De Educación Y Desarrollo*, v. 16, n. 11, e6430, 2024. DOI:  
<https://doi.org/10.55905/cuadv16n11-118>

VASCONCELOS, I. M. **Obtenção de nanopartículas de prata utilizando açúcar mascavo: um estudo da influência das condições de síntese.** 2021. Disponível em:  
<https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/5755>. Acesso em: 13 dez. 2023.

# CAPÍTULO 3

## NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EXTRATO DE *Matricaria recutita* L. (CAMOMILA): uma abordagem biotecnológica contra depressão

SILVER NANOPARTICLES STABILIZED WITH EXTRACT OF *Matricaria recutita* L. (CHAMOMILE): a biotechnological approach against depression

**Thalia Macedo Lizanio**   

Graduada em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Denilson Morais Rocha de Sousa**   

Mestrando em Química pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Maura Celia Cunha e Silva**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Deuzuita dos Santos Freitas Viana**   

Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.861 

**Resumo:** A depressão é um transtorno com alto grau de sofrimento psíquico que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Atualmente, diversos estudos tratam da obtenção de nanopartículas de prata (AgNP's), devido às suas propriedades únicas, podendo ser utilizadas em diagnóstico e tratamento de doenças. Este trabalho teve como objetivo sintetizar AgNP's utilizando extrato de *Matricaria recutita* L. (camomila) como agente estabilizador para potencial uso no tratamento da depressão. As AgNP's foram sintetizadas utilizando nitrato de prata e citrato de sódio. A caracterização AgNP's foi realizada pelo método de espectroscopia de luz ultravioleta visível (UV-Vis). A avaliação genotóxica das AgNP's foi feita pelo teste de *Allium cepa*, calculando a taxa de índice mitótico (IM) e índice de alterações cromossômicas (IAC), apresentando uma baixa no índice mitótico e uma elevação nas alterações cromossômicas no grupo D3 em relação ao grupo controle. A avaliação toxicológica foi realizada pelo teste com *Artemia salina*, observando a taxa de mortalidade nas 36 amostras submetidas ao teste, baseando-se na dose letal mediana (DL<sub>50</sub>) que apresentou um alto nível de mortalidade para as concentrações das soluções, que foi de 76,6% no grupo controle A, 100% no grupo B, 98,3% no grupo C, 98,3% no grupo D1, 100% no grupo D2 e 96,6% no grupo D3. Esta pesquisa apresenta resultados que se mostram interessantes para a continuação do estudo e entendimento da ação das nanopartículas estabilizadas na camomila como coadjuvante no tratamento da depressão, abrindo espaço para novos testes.

**Palavras-chave:** Antidepressiva. Extrato vegetal. Nanopartículas metálicas.

**Abstract:** Depression is a disorder with a high degree of psychological distress that affects millions of people around the world. Currently, several studies deal with the obtaining of silver nanoparticles (AgNP's), due to their unique properties, which can be used in the diagnosis and treatment of diseases. The objective of this study was to synthesize AgNP's using *Matricaria recutita* L. (chamomile) extract as a stabilizing agent for potential use in the treatment of depression. The AgNP's were synthesized using silver nitrate and sodium citrate. The characterization of AgNP's was performed by the visible ultraviolet light (UV-Vis) spectroscopy method. The genotoxic evaluation of AgNP's was performed by the *Allium cepa* test, calculating the rate of mitotic index (MI) and chromosomal alteration index (IAC), showing a decrease in the mitotic index and an increase in chromosomal alterations in the D3 group in relation to the control group. The toxicological evaluation was carried out by the test with *Artemia salina*, observing the mortality rate in the 36 samples submitted to the test, based on the median lethal dose (LD50) that presented a high level of mortality for the concentrations of the solutions, which was 76.6% in the control group A, 100% in group B, 98.3% in group C, 98.3% in group D1, 100% in group D2 and 96.6% in group D3. This research presents results that are interesting for the continuation of the study and understanding of the action of nanoparticles stabilized in chamomile as an adjuvant in the treatment of depression, opening space for new tests.

**Keywords:** Antidepressant. Plant extract. Metallic nanoparticles.

## 1 INTRODUÇÃO

A nível global, estima-se que mais de 300 milhões de pessoas sofram de depressão, equivalente a 4,4% da população mundial. Os transtornos depressivos são caracterizados por tristeza, perda de interesse ou prazer, sentimento de culpa ou baixa autoestima, sono ou apetite perturbados, sentimentos de cansaço e falta de concentração. A depressão pode ser duradoura ou

recorrente, prejudicando substancialmente a capacidade de um indivíduo de funcionar no trabalho ou na escola ou lidar com o dia a dia. O principal sintoma da depressão é o humor deprimido (Rufino *et al.*, 2018; World Health Organization, 2017). A depressão está associada com alta mortalidade, em boa parte contabilizada pelo suicídio (Lima, 2019).

Diante deste cenário, as nanopartículas de prata se apresentam como uma possível contribuição para novas terapias no tratamento da depressão. Nanopartículas (NP's) são partículas que existem em uma escala nanométrica com tamanhos de até 100 nm. Materiais constituídos por pequenas partículas sempre foram de grande interesse para a humanidade (Coura *et al.*, 2018). Materiais na forma de nanopartículas possuem uma gama de aplicações que contempla desde itens para área da saúde, como implantes e sistemas de liberação controlada de fármacos, até dispositivos eletrônicos. Em geral, sua fabricação ocorre por métodos físicos ou químicos a partir de metais nobres. Porém muitas delas envolvem equipamentos caros, várias etapas e geram subprodutos tóxicos. Por esses motivos, a implementação de técnicas mais simples, baratas e sem prejudicar o meio ambiente é muito atraente (Freitas, 2019).

Uma alternativa para a fabricação de nanopartículas é a síntese verde, que se mostra cada vez mais uma tecnologia em crescimento (Freitas, 2019). Atualmente, inúmeras plantas estão sendo estudadas por sua capacidade de influenciar o comportamento e o humor, tornando-se alternativas complementares para o tratamento da ansiedade, estresse, nervosismo e depressão (Silva, 2022). A *Matricaria recutita* L. conhecida por Camomila, mostra-se eficaz no tratamento de diversas doenças como ação ansiolítica, antisséptico e carminativa. (Amsterdam *et al.*, 2020; Nóbrega *et al.*, 2022). Essa espécie é muito utilizada tanto de forma empírica na medicina tradicional (MT), como também na forma de medicamento fitoterápico, por meio da extração de flavonoides e óleo volátil presentes nos capítulos florais, responsáveis por suas propriedades terapêuticas, com destaque para a ação ansiolítica (Lima *et al.*, 2019).

Esta pesquisa teve como objetivo, desenvolver nanopartículas de prata estabilizadas em extrato aquoso de camomila, por meio da síntese verde, caracterizar e avaliar seu potencial genotóxico.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

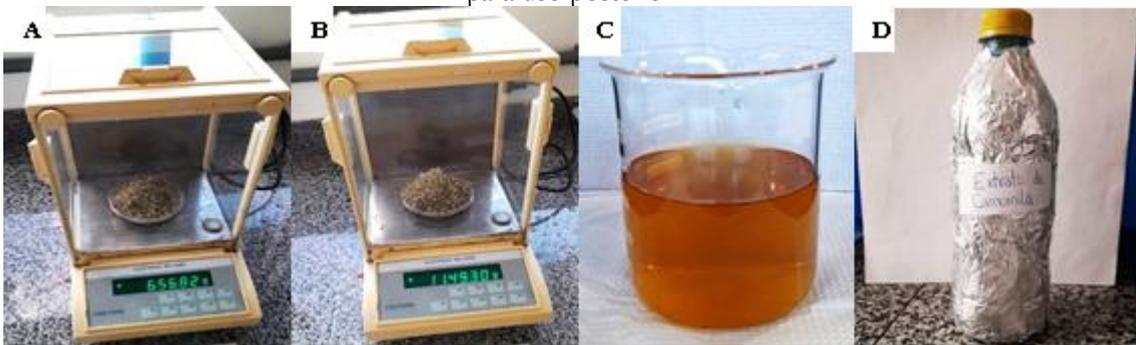
### **2.1 Tipo de pesquisa e local do estudo**

O estudo foi realizado na Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, sendo uma pesquisa experimental, realizado no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC), e no Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais (LAPEQUIM) do Campus Caxias.

## 2.2 Obtenção do material e produção do extrato de camomila

A camomila foi obtida diretamente do comércio no município de Caxias – MA, já em sua forma desidratada contendo as flores, folhas e galhos. Em seguida, o material foi levado a Universidade Estadual do Maranhão – UEMA Campus Caxias, onde foi utilizado para a produção do extrato aquoso da camomila no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC), onde também ocorreram todos os outros processos do trabalho. Para obtenção do extrato aquoso da camomila, foram pesadas na balança de precisão 18 g da planta já desidratada e macerada (Figura 1 A e B) que foram colocadas em 180 mL de água deionizada, levadas ao micro-ondas por 3 minutos e após esfriar a solução foi filtrada ficando pronta para ser armazenada na geladeira para uso posterior (Figura 1 C e D).

**Figura 1** – Pesagem da camomila na balança de precisão em duas etapas contabilizando 18g. A) Primeira pesagem; B) Segunda pesagem; C) Extrato pronto; D) Extrato pronto para ser armazenado na geladeira para uso posterior.

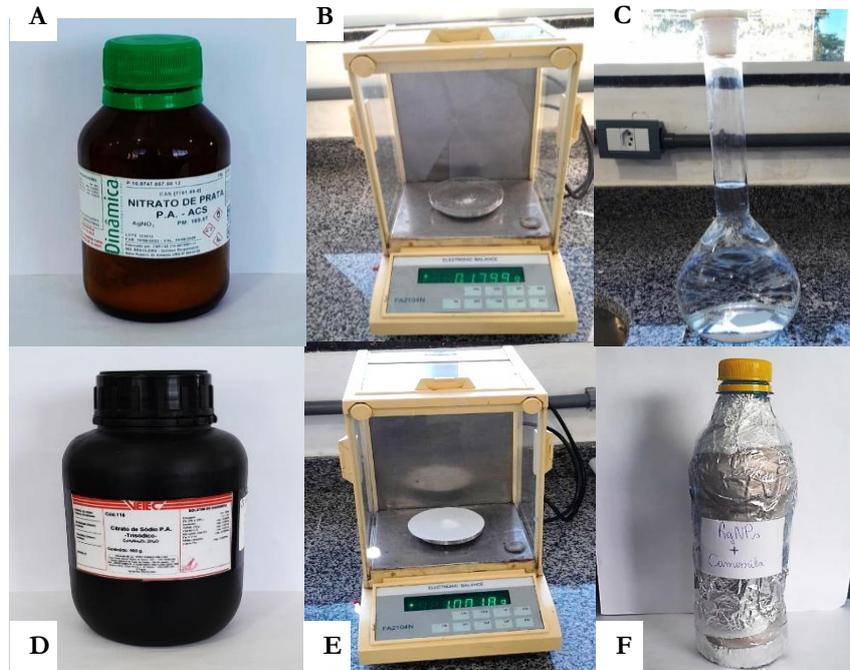


Fonte: Autores, 2024.

## 2.3 Síntese das nanopartículas de prata

Para a síntese das nanopartículas de prata, foi utilizado 0,17 g de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) (Figura 2 A e B) diluído em um balão volumétrico contendo 1000 mL de água deionizada (Figura 2 C). Em seguida, foi adicionado 1 g de citrato de sódio ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ ) (Figura 2 D e E) em um Béquer contendo 100 mL de água deionizada. Após isso, 600 mL da solução de nitrato foi colocada em um Béquer e disposto à chapa aquecedora até a ebulição. Após a solução de nitrato de prata atingir a ebulição, foi adicionado a ela 3 mL de citrato de sódio e misturadas as soluções formando uma solução nitrato de prata/citrato de sódio. Essa solução foi aquecida em agitação magnética em uma chapa aquecedora. A solução foi submetida a aquecimento e agitação magnética constante até se observar a redução da prata. Após a redução da prata, a solução foi mantida apenas em agitação magnética. Ao atingir a temperatura ambiente de  $25^\circ\text{C}$  foi adicionada à mistura a solução do extrato aquoso de camomila anteriormente preparado. Em seguida, passados 15 minutos, a solução nitrato de prata/citrato/camomila foi armazenada num frasco âmbar (Figura 2 F).

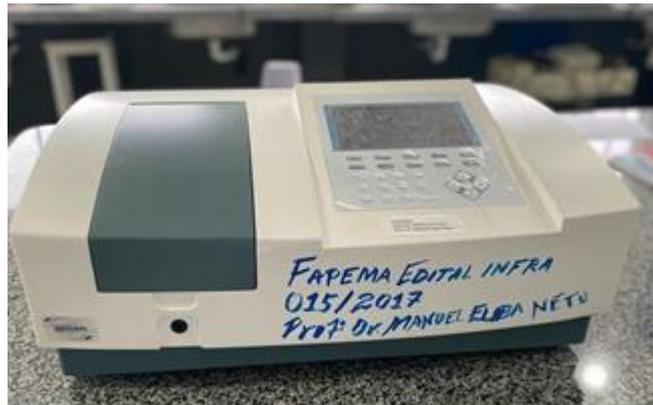
**Figura 2** – Processos de preparo das soluções. A) Nitrato de prata; B) Pesagem do nitrato de prata; C) Balão volumétrico contendo o nitrato de prata; D) Citrato de sódio; E) Pesagem do citrato de sódio; F) Solução das nanopartículas de prata mais o extrato da camomila.



Fonte: Autores, 2024.

#### 2.4 Caracterização das nanopartículas de prata

A caracterização das nanopartículas sintetizadas foi realizada por espectroscopia ultravioleta visível (UV-Vis), usando espectrofotômetro Kasuaki, modelo N6000PLUS (Figura 3), com celas de quartzo. Foram submetidas à UV-Vis as soluções nitrato/citrato, camomila e nitrato/citrato/camomila para verificar a presença de alteração no tamanho ou forma das nanopartículas de prata em ambas as soluções. Foram adicionadas 3 mL da solução nitrato/citrato diluídas em água deionizada, em cela de quartzo e levadas ao espectrofotômetro para caracterização das nanopartículas de prata. Logo em seguida, foi adicionado em 30 mL da solução das nanopartículas de prata, 10 mL do extrato de camomila diluídos em 20 mL de água deionizada, formando assim uma solução de nitrato/citrato/camomila a qual também foi submetida ao espectrofotômetro. O extrato aquoso da camomila também foi submetido à espectrofotometria de luz UV-Vis para a verificação de estabilização das nanopartículas de prata.

**Figura 3** – Aparelho de espectrofotometria. Kasuaki, modelo N6000PLUS.

Fonte: Autores, 2024.

### 2.5 Avaliação Genotóxica com *Allium cepa*

A avaliação genotóxica com *Allium cepa* foi realizada utilizando o extrato da camomila, a solução pura das nanopartículas de prata e a solução das nanopartículas de prata estabilizadas no extrato vegetal da camomila em três concentrações diferentes. A análise foi realizada utilizando quatro grupos (A, B, C e D). Sendo o grupo A, o controle negativo, contendo água deionizada. O grupo B, com concentração de 100% do extrato aquoso da camomila. O grupo C, com a solução pura das nanopartículas de prata. E o grupo D contendo a solução das nanopartículas estabilizadas na camomila subdividido em três outros subgrupos, sendo eles: D1, D2 e D3. Cada um dos três subgrupos contava com concentrações diferentes de AgNP's + camomila. Tendo o subgrupo D1, 25% de AgNP's + camomila; o subgrupo D2, 50% de AgNP's + camomila; e o subgrupo D3, 100% de AgNP's + camomila (Figura 4 A e B). Para cada grupo foram colocadas seis cebolas (*A. cepa*) de tamanho médio (Figura 4 C), pré-tratadas, por meio de lavagem dos bulbos, retirada de raízes velhas e catáfilos (casca) e a retirada de parênquima central da coroa de brotamento (Figura 4 D e E). O teste contou ao todo com seis grupos (A, B, C, D1, D2 e D3), com seis cebolas em cada, totalizando assim 36 cebolas em contato com as soluções (Figura 4 F). O Teste *A. cepa* seguiu o protocolo sugerido pela Sociedade Brasileira de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA) elaborado por Medeiros *et al.*, (2007) com adaptações.

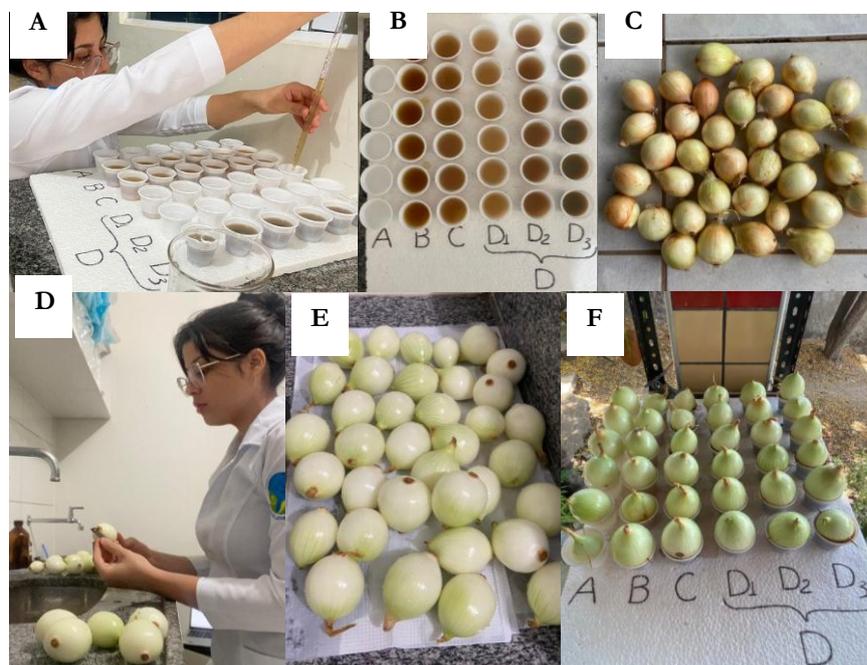
Após 72 horas, as raízes que mediram entre 0,5 e 1,5 cm foram cortadas. Posteriormente, as raízes foram colocadas em solução Carnoy por 24 horas e, após esse tempo, foram estocadas em etanol 70% até o dia do preparo das lâminas. Para a preparação das lâminas, as raízes foram lavadas com água deionizada (3 banhos de 5 minutos cada), para a remoção do fixador e depois foi realizada a hidrólise com HCl em 60 °C por 1 min. Em seguida, as raízes foram retiradas do ácido e lavadas em água deionizada. Com o auxílio de uma pinça, as raízes foram secas e

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

transferidas para um frasco âmbar com o reativo de Schiff por 2 horas. As raízes foram lavadas com água até a remoção total do corante e em seguida secadas. Para a última etapa, foram separadas as extremidades mais coradas de cada raiz e colocadas cada uma em uma lâmina, onde foram maceradas e em seguida adicionadas em cada lâmina uma gota de carmim acético para ao final cobrir com as lamínulas exercendo uma leve pressão. Após esse preparo, as lâminas foram levadas para observação no microscópio.

O teste de avaliação genotóxico de raízes germinadas pelo teste *A. cepa* foi baseado na contagem do número de anomalias cromossômicas (AC) em células meristemáticas. A avaliação de genotoxicidade foi realizada utilizando sete raízes levadas ao microscópio com o intuito de verificar anomalias cromossômicas e índices mitóticos (IM). A genotoxicidade foi avaliada com base no índice de genotoxicidade (IGen) estabelecido pela relação do número de células com anormalidade cromossômica (IAC) e o número total de células observadas (Sampaio, 2021).

**Figura 4** – Processos para o teste com *Allium cepa*. A) Preparo das concentrações; B) Concentrações prontas; C) Cebolas escolhidas para o teste; D) Preparo das cebolas; E) Cebolas prontas para o teste; F) Bulbos submetidos à germinação nos seis grupos.



Fonte: Autores, 2024.

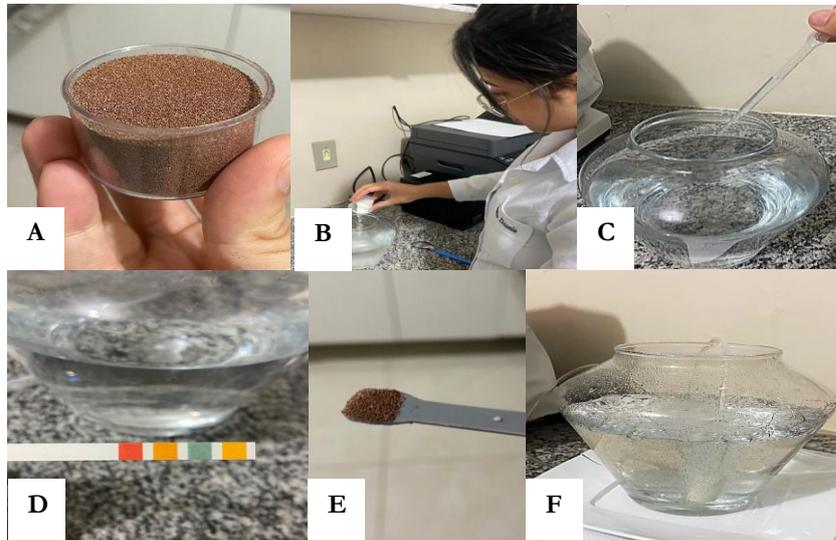
## 2.6 Avaliação toxicológica com *Artemia salina*

A avaliação toxicológica com *Artemia salina* foi realizada utilizando as mesmas soluções e concentrações utilizadas para o teste com *Allium cepa*. Para eclosão dos ovos da *A. salina* (Figura 5 A) foi feita a cultura em um recipiente contendo 1000 mL de água deionizada, juntamente com 30 g de sal marinho (Figura 5 B). Para a estabilização do pH foram adicionadas 4 mL de hidróxido de sódio (NaOH) que deixou o pH da solução em 9 (Figura 5 C e D). Em seguida

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

foram adicionados à solução uma pequena quantidade dos ovos da *A. salina* e ligada a oxigenação mecânica deixando assim a cultura pronta (Figura 5 E e F). A temperatura do ambiente ficou entre 25 e 30°C.

**Figura 5** – Processos para o teste com *Artemia salina*. A) Ovos de *A. salina*; B) 30 g de sal marinho adicionados em 1000 mL de água deionizada; C) 4 mL de NaOH adicionadas a água salina; D) pH estabilizado em 9; E) Quantidade de ovos de *A. salina* adicionados na água salina; F) Cultura pronta.



Fonte: Autores, 2024.

Após 24h grande quantidade dos ovos da *A. salina* já haviam eclodido. Com auxílio de uma pipeta e uma placa de petri foram transferidos 360 náuplios de *A. salina* para 36 tubos de ensaio divididos em seis grupos (A, B, C, D1, D2 e D3) contendo 10 náuplios em cada tubo (Figura 6 A). Sendo o grupo A, o controle, contendo água deionizada. O grupo B, com concentração de 100% do extrato aquoso da camomila. O grupo C, com a solução pura das nanopartículas de prata. Os grupos D1, D2 e D3 contavam com concentrações diferentes de AgNP's + camomila. Tendo o grupo D1, 25% de AgNP's + camomila; o D2, 50% de AgNP's + camomila; e o D3, 100% de AgNP's + camomila. Em cada tubo de ensaio foram adicionados 10 náuplios com 5 ml de água salina e 5 ml de cada solução, tendo um volume final de 10 ml em cada tubo (Figura 6 B). Tanto para a água deionizada do grupo controle (A) como para as soluções dos demais grupos (B, C, D1, D2 e D3) foram ajustadas as quantidades em g de sal marinho de acordo com cada uma das soluções. Sendo assim, para cada 5 ml de solução em cada tubo, foram adicionados 0,15 g de sal marinho para manter-se o ambiente salino ideal para as artêmias submetidas aos testes. Os náuplios foram mantidos nos tubos com as soluções por 24h. Após esse período foram transferidos para uma placa de petri para a contagem dos náuplios vivos e mortos

**Figura 6** – Processos para o teste com *Artemia salina*. A) Náuplios sendo transferidos para os tubos de ensaio; B) Tubos de ensaio prontos com as artemias e as soluções (início do teste).



Fonte: Autores, 2024.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Produção do extrato de camomila

O extrato aquoso da camomila apresentou uma coloração alaranjada (Figura 7), com cheiro intenso e característico do extrato da planta. O princípio responsável pela coloração é a apigenina, flavonóide que se complexa com sais metálicos naturais (Ca, Al). Estes complexos, em condições ideais de pH e forças iônicas, fixam-se às fibras queratínicas, revestindo-as sem penetrar no núcleo destas (Florien, 2018). A análise do extrato aquoso é particularmente importante em função do uso popular como chá e tisanas. De acordo com Nováková *et al.* (2010) o ácido clorogênico (polifenol), umbeliferona, apigenina e apigenina-7-O-glicósido são os compostos fenólicos mais abundantes nas flores de camomila e no chá (infusão). A apigenina-7-O-glicósido pode atingir mais de 60,0% no extrato aquoso (Ministério da Saúde e Anvisa, 2015).

**Figura 7** – Extrato da camomila obtido por infusão apresentando cor alaranjada.



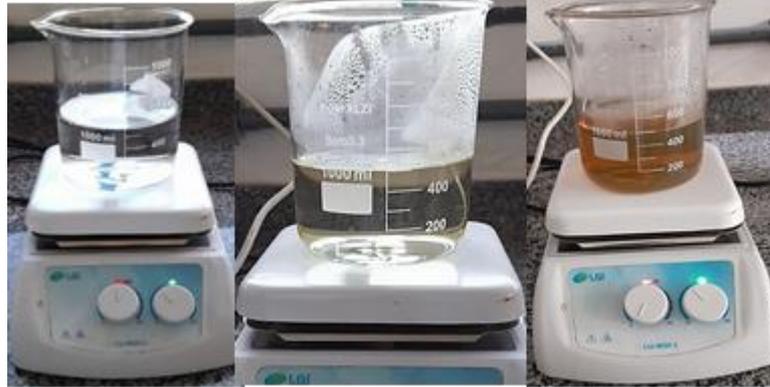
Fonte: Autores, 2024.

#### 3.2 Síntese das nanopartículas de prata

As nanopartículas sintetizadas apresentaram uma mudança gradual de coloração à medida que estavam sob aquecimento e agitação magnética. A solução foi de incolor a amarelo-

esverdeado, indicando a redução da prata com formação de nanopartículas (Figura 8 A – C). Os resultados observados corroboram com Melo *et al.* (2012) que, em seu trabalho, também notou uma cor amarelada característica da redução e formação de AgNP's.

**Figura 8** – Extrato da camomila obtido por infusão apresentando cor alaranjada.

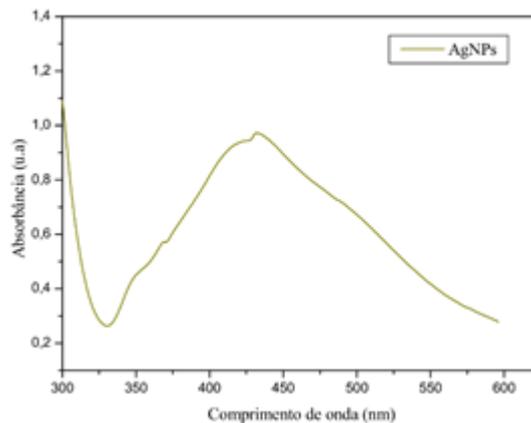


Fonte: Autores, 2024.

### 3.3 Caracterização das nanopartículas de prata

A solução das nanopartículas de prata foi submetida à espectroscopia de ultravioleta visível (UV-Vis), onde foi observada uma banda de absorção larga com máxima intensidade em 420 nm indicando nanopartículas de diferentes tamanhos, confirmando assim a formação das nanopartículas de prata (Figura 9).

**Figura 9** – Gráfico de absorção da solução de AgNP's.



Fonte: Autores, 2024.

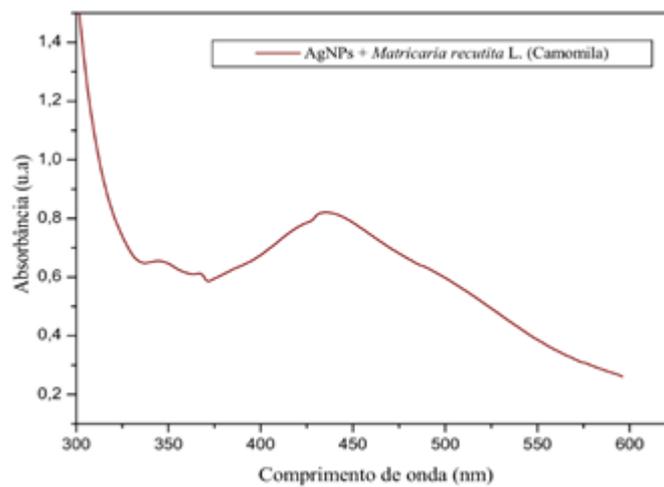
Resultados observados na espectrofotometria das AgNP's corroboram com Melo *et al.* (2012), que observaram uma banda de absorção larga com máxima intensidade em torno de 415 e 440 nm, aproximadamente 430 nm. O espectro de absorção no comprimento de onda em torno de 400 nm é tipicamente característico de solução de nanopartículas de prata com coloração amarela, como é possível observar na (Figura 8 C) (Lima, 2011; Reis, 2011; Miguel, 2012; Melo *et*

*al.*, 2012). Segundo Noguez (2007), fatores importantes das nanopartículas no efeito de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS) são: a densidade eletrônica do material, massa efetiva, formato e tamanho, bem como sua função dielétrica, mostrando que o tamanho e formas das NPM's influenciam em seu grau de absorção.

O gráfico apresentado na solução de AgNP's com uma banda de absorbância, é gerado por um fenômeno de Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (RPSL), o qual é um fenômeno ocasionado pela interação de elétrons de NP de metais nobres com luz, gerando uma onda de plásmons, como descrito no trabalho de Silva (2019).

A caracterização da solução de nitrato/citrato/camomila apresentou uma banda de absorção na faixa de comprimento de onda de 400 e 440 nm (Figura 10), indicando que as nanopartículas de prata se mantiveram estabilizadas no extrato de camomila, apresentando pouca ou nenhuma alteração em seus tamanhos e formas.

**Figura 10** - Gráfico de absorção da solução de AgNP's + camomila.



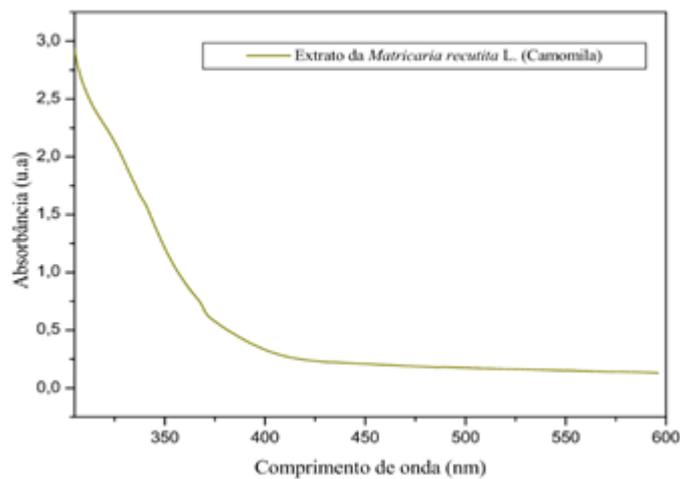
Fonte: Autores, 2024.

Essa caracterização foi necessária para verificar se as nanopartículas estabilizadas no extrato de camomila sofreram alguma alteração na morfologia ou tamanho, podendo afetar a banda de absorbância em comprimento de onda. O resultado da espectrofotometria da solução nitrato/citrato/camomila se mostrou semelhante a resultados encontrados na literatura. Noorbazargan *et al.* (2021) observaram um pico na banda de absorção com máxima de 430 nm para AgNP's estabilizadas em extrato de *Juniperus polycarpus*. Venugopal *et al.* (2017), observaram em AgNP's estabilizadas em *Syzygium aromaticum* uma banda de absorção em torno de 420 a 470 nm. Conceição *et al.* (2023), observaram uma banda de absorção por volta de 400 nm em seu trabalho com nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Baubinia forficata*.

Silva (2019) observou que outra característica importante das NP's de prata é que, para as NP's de diâmetro de 50 nm, o pico das eficiências de espalhamento, absorção e extinção está na faixa de 408 nm, enquanto para as NP's de ouro, o pico das eficiências está na faixa de 550 nm. Visto isso, as faixas de absorções se mantiveram estáveis entre 400 e 430 nm que podem indicar um tamanho aproximado de 50 nm das AgNP's.

A solução do extrato aquoso da camomila submetida a UV-Vis não apresentou nenhum pico máximo em graus e absorção, como já se era esperado, uma vez que não existiam nanopartículas de prata nesta solução (Figura 11).

**Figura 11** - Gráfico de absorção da solução de camomila.



Fonte: Autores, 2024.

No espectro do extrato da camomila não foi encontrado banda de absorbância com valor máximo como observado nas soluções de AgNP's e AgNP's + camomila, devido à ausência de nanopartículas de prata que absorvem radiação em comprimento de onda de 400 a 480 nm, situação ocasionada pela ausência do fenômeno de RPSL, onde deixam de existir nessa solução, elétrons de metais nobres.

### 3.4 Avaliação genotóxica com *Allium cepa*

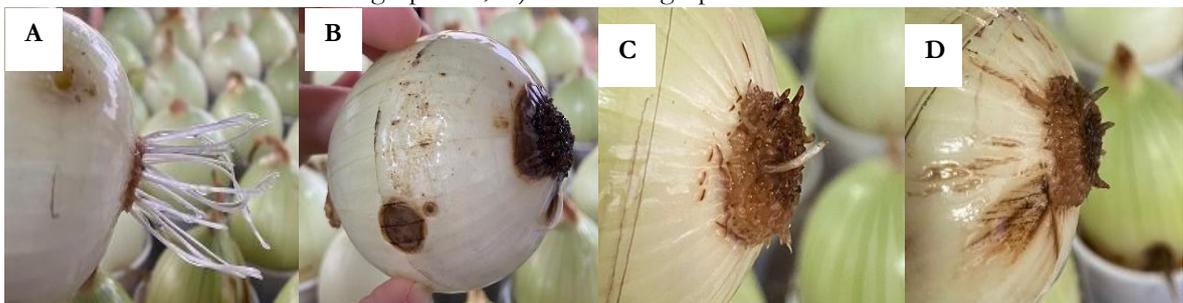
Ao observar os resultados das germinações dos bulbos das cebolas, foi possível notar que não houveram germinações de raízes em todas as amostras. Entre as 36 cebolas dos seis grupos submetidas às soluções, em 24 ocorreram as germinações das raízes (Figura 12 A – D). No grupo A (grupo controle contendo água deionizada), ocorreram germinações de raízes em todas as cebolas. Mas apenas as cebolas de números 1, 2, 4 e 5, apresentaram raízes com tamanhos ideais para análises (entre 0,5 e 1,5 cm).

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

No grupo B (com concentração 100% de do extrato aquoso da camomila) houve germinação de raiz em apenas uma cebola (cebola de número 2), porém não se encaixava no tamanho ideal para análise, medindo menos de 0,5 cm. No grupo C (contendo a solução pura das nanopartículas de prata) não ocorreram germinações de raízes, sendo possível notar danificações nos bulbos e nas escamas externas das cebolas após permanecerem em contato com a solução por 72h.

No subgrupo D1 (com concentração de 25% de AgNP's + camomila) houveram germinações de raízes em cinco cebolas (cebolas de números 1, 2, 3, 5 e 6). Porém, apenas a cebola de número 5 apresentou raiz de tamanho ideal para análise. No subgrupo D2 (com concentração de 50% de AgNP's + camomila) ocorreram germinações de raízes em cinco cebolas (cebolas de número 1, 2, 3, 4 e 6). Porém, nenhuma das raízes estava adequadas para as análises, medindo todas menos de 0,5 cm. Apresentando tamanhos semelhantes às raízes da cebola de número 6 do grupo D. No subgrupo D3 (com concentração de 100 % de AgNP's + camomila) ocorreram germinações de raízes em cinco cebolas (cebolas de número 1, 3, 4, 5 e 6). Porém, apenas as cebolas de números 4 e 5 apresentaram raízes com tamanhos ideais para as análises. As demais raízes que germinaram nas outras cebolas apresentaram medidas semelhantes às raízes das cebolas de números 1 e 5 do grupo D1.

**Figura 12** – Representação dos grupos. A) Cebola do grupo A; B) Cebola do grupo C; C) Cebola do grupo D1; D) Cebola do grupo D3.



**Fonte:** Autores, 2024.

Dentre as 24 raízes que germinaram, sete apresentaram tamanhos ideais para as análises, medindo entre 0,5 a 1,5 cm. Foram as raízes das cebolas 1, 2, 4 e 5 do grupo A (grupo controle contendo água deionizada), da cebola de número 5 do grupo D1 (contendo concentração de 25% de AgNP's + camomila) e das cebolas de números 4 e 5 do grupo D3 (contendo concentração de 100% de AgNP's + camomila). Com as sete raízes foram confeccionadas sete lâminas que foram levadas para observação no microscópio.

Das sete lâminas feitas, apenas duas estavam adequadas para observação ao microscópio (raiz da cebola 2 do grupo A e raiz da cebola 1 do grupo D3), onde podiam ser vistas as células.

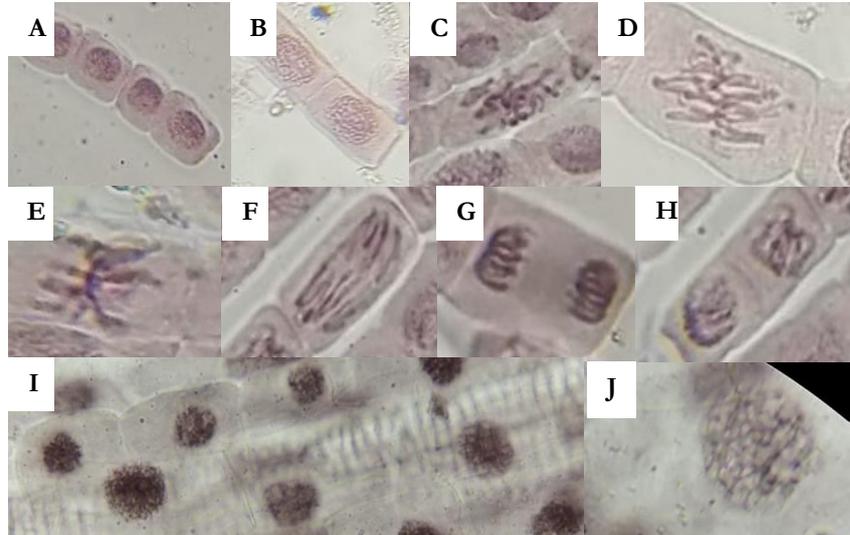
**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

Isso pode ter se dado por diversos fatores, desde o preparo das amostras que envolvem várias etapas importantes, como a coleta das amostras, sua coloração, maceração e fixação, por exemplo. Em alguns dos processos algo possivelmente não ficou de acordo para uma observação ideal de todas as sete lâminas preparadas.

De acordo com a observação das lâminas, dois fatores importantes podem ser destacados para a não adequação das cinco amostras: coloração e maceração. A coloração das células não se encontrava de acordo para observação precisa dos núcleos celulares e seus componentes. A coloração é essencial para realçar detalhes específicos das células e tecidos, permitindo uma visualização clara e diferenciada das estruturas sob o microscópio. No que diz respeito à maceração do tecido, algumas células se encontravam muito sobrepostas umas às outras, dificultando a diferenciação e observação individual de cada célula. O que abre espaço para testar outras maneiras como cortes citológicos mais precisos na raiz para uma possível melhor fixação do material na lâmina.

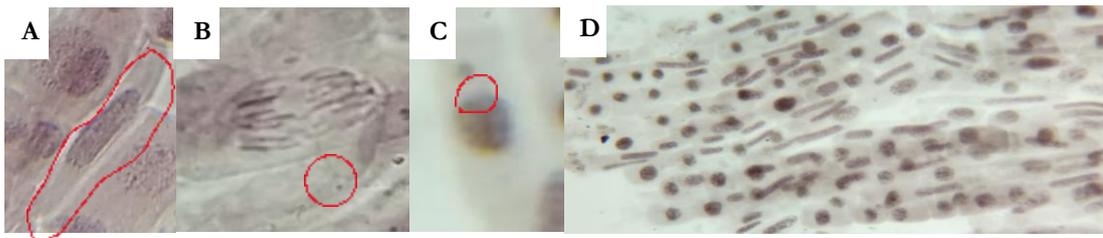
Nas duas lâminas adequadas para a observação, foram contabilizadas 550 células, sendo 400 células na amostra do grupo A e 150 na amostra do grupo B. A contagem foi realizada com o intuito de verificar índice de alterações cromossômicas (IAC) e índices mitóticos (IM). Nas amostras observadas foi possível diferenciar as células, observar seus núcleos, encontrar células em divisão e diferenciar cada uma das fases de divisão (Prófase, Metáfase, Anáfase e Telófase). A grande maioria das células encontravam-se em interfase (momento em que a célula não está se dividindo), e outra parte encontrava-se em divisão celular, onde foram observadas as fases da divisão (Figura 13 A – H), assim como também anomalias cromossômicas (Figura 14 A – D).

**Figura 13** – Fases das divisões celulares; A) Células do grupo A em interfase; B) Células do grupo A em prófase; C) Cromossomos metafásico do grupo A; D) Células do grupo A em metáfase; E) Célula do grupo A com placa metafásica; F) Célula do grupo A em anáfase; G) Célula do grupo A em telófase; H) Célula do grupo A em citocinese; I) Células do grupo B3 em interfase; J) Células do grupo B 3 em prófase.



Fonte: Autores, 2024.

**Figura 14** – Alterações cromossômicas observadas nos grupos A e D3; A) Célula e material genético do grupo A com estruturas alongadas; B) Célula do grupo A em anáfase com ponte cromossômica e partes do DNA fragmentadas; C) Célula do grupo D3 com micronúcleo; D) Células do grupo D3 com estruturas alongadas.



Fonte: Autores, 2024.

As análises realizadas nas células meristemáticas das raízes das cebolas revelaram dados significativos sobre os IM e IAC para a quantidade de células observadas. No grupo A (grupo controle contendo água deionizada) os resultados indicaram um índice mitótico de 27,50%, sugerindo uma taxa de divisão celular estável para amostra. O índice de alterações cromossômicas no grupo controle foi de 3,75%, indicando uma baixa incidência de modificações estruturais nas células. O grupo experimental D3 (contendo concentração de 100% de AgNP's + camomila), apresentou alterações consideráveis nos índices mitóticos e nos índices de alterações cromossômicas para a quantidade de células observadas. O índice mitótico foi de 13,3% com células observadas em fase de prófase. No entanto, o índice de alterações cromossômicas foi alto,

chegando a 33,3%, sugerindo que mesmo com uma taxa menor de divisão celular, com as fases da mitose menos evidentes, as alterações cromossômicas foram elevadas.

Com isso, pode-se inferir que a alta concentração de das AgNP's estabilizadas na camomila em 100% mostra-se tóxica, considerando o descrito por Andrade (2012) que em seu trabalho, mostrou que valores de índice mitótico significativamente abaixo daqueles encontrados no controle negativo podem indicar alterações decorrentes da ação química no crescimento e desenvolvimento de organismos expostos.

### 3.5 Avaliação toxicológica com *Artemia salina*

O ensaio de toxicidade frente a espécie *Artemia salina* demonstra a sensibilidade da espécie aquática em relação às substâncias tóxicas ou atóxicas. A avaliação da atividade tóxica das soluções foi realizada com 360 náuplios de artêmias submetidos a seis grupos contendo soluções e concentrações diferentes. Cada um dos seis grupos contou com seis amostras, contabilizando 36 amostras no total, com 10 náuplios em cada. Os resultados encontram-se esquematizados na tabela abaixo (Tabela 1).

**Tabela 1** – Resultado do teste toxicológico com *Artemia salina* em DL<sub>50</sub>.

Quantidades de amostras	Soluções	Mortas	% Mortas	Vivas	% Vivas
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	Água deionizada (grupo A)	46	76,6	14	23,3
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	100% do extrato de camomila (Grupo B)	60	100	0	0
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	Nanopartículas puras (Grupo C)	59	98,3	1	1,6
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	25% de AgNP's + camomila (Grupo D1)	59	98,3	1	1,6
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	50% de AgNP's + camomila (Grupo D2)	60	100	0	0
6 tubos de ensaio com 10 náuplios em cada	100% de AgNP's + camomila (Grupo D3)	58	96,6	2	3,3

em cada				
<b>36 tubos de ensaio e 360 náuplios</b>	-	<b>342</b>	-	<b>18</b>

Fonte: Autores, 2024.

A morte do microcrustáceo é evidenciada pela sua sedimentação. Por se tratar de um crustáceo ativo em água salina, a falta de movimento e sedimentação são os indicadores de morte do mesmo. Os resultados revelaram que em cada amostra houve uma porcentagem extremamente alta de mortalidade das artêmias em contato com as soluções, todas acima de 50%, mesmo no grupo controle. Tendo o grupo A uma taxa de 76,6% de mortalidade, o grupo B uma taxa de 100% de mortalidade, o grupo C 98,3% de mortalidade, o grupo D1 uma taxa de 98,3% de mortalidade, o grupo D2 uma taxa de 100% de mortalidade e o grupo D3 uma taxa de 96,6% de mortalidade.

No que se refere as cebolas que estiveram em contato com a mesma concentração de 100 % de AgNP's + camomila no grupo D3 do teste genotóxico, foi possível notar desenvolvimento das raízes nas cebolas que estiveram em contato com solução das nanopartículas estabilizadas na camomila. Enquanto no grupo B (contendo extrato de 100% da camomila) houve a germinação de raiz em apenas uma cebola, no grupo C (com as nanopartículas puras) não houve germinação de raiz e ocorreu a danificação das cebolas, no grupo D3 (com 100% de AgNP's + camomila) ocorreram germinações de raízes em cinco das seis cebolas. O que pode ser inferido ainda de forma limitada, que de alguma maneira as nanopartículas tiveram efeito positivo estabilizadas no extrato aquoso da camomila. Sendo esse resultado um ponto que se mostra interessante para a continuação do estudo e entendimento da ação das nanopartículas estabilizadas na camomila, abrindo espaço para novos testes.

#### 4 CONCLUSÃO

A pesquisa desenvolveu nanopartículas de prata através do processo de síntese verde, utilizando o extrato vegetal de camomila, que demonstrou ser uma abordagem eficaz e qualificada para a produção e estabilização dessas AgNP's. A caracterização através da espectroscopia em UV-vis demonstrou que a estabilização de AgNP's no extrato aquoso da camomila é eficaz e não alterou as bandas de absorbância que se mantiveram na faixa 400 nm, constatando a estabilização das nanopartículas.

Através do teste genotóxico observou-se que ocorreu uma baixa no índice mitótico e uma elevação nas alterações cromossômicas no grupo D3 (com concentração de 100 % de AgNP's +

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

camomila) em relação ao grupo controle A (contendo água deionizada), indicando essa concentração da solução como sendo tóxica para as células da cebola. A avaliação toxicológica revelou uma alta taxa de mortalidade dos náuplios de *Artemia salina* submetidos ao teste, chegando a 100% nos grupos B e D2, indicando as soluções nessas concentrações como sendo tóxicas.

No que diz respeito às germinações das raízes, houve um número considerável nas cebolas submetidas às soluções. Sendo que nos grupos D1, D2 e D3 contendo concentrações diferentes de AgNP's + camomila, das 18 cebolas desses grupos que estiveram em contato com as soluções, em 15 germinaram raízes, demonstrando mesmo de forma preliminar, que houve uma interação positiva entre as nanopartículas e o extrato aquoso da camomila, possibilitando o desenvolvimento das raízes nas cebolas.

Mesmo os testes genotóxicos e toxicológicos indicando níveis de toxicidade para os organismos submetidos às análises nas concentrações testadas, os resultados encontrados na síntese das nanopartículas de prata estabilizadas no extrato aquoso da camomila, se mostram como um potencial interessante para a continuação do estudo e entendimento dessa ação, abrindo espaço para novos testes com concentrações menores, em busca de melhores resultados no conhecimento dessa solução promissora para o tratamento coadjuvante da depressão.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, B. **Estudo do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico em células de allium cepa da parationa metilica antes e após aplicação dos processos uv e uv/h2o.** Tese de doutorado em (Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ. Rio de Janeiro – RJ, 2012.

AMSTERDAM, J.D. *et al.* Chamomile (*matricaria recutita*) may have antidepressant activity in anxious depressed humans-an exploratory study. **Alternative therapies in health and medicine**, v. 18, n. 5, p. 44, 2012.

CONCEIÇÃO, E. F.; ALBUQUERQUES, M. R.; SILVA T. A.; SILVA, R. G.; OLIVEIRA, V.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F. Nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) como tratamento auxiliar da diabetes. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**. v. 5, p. 1569-1593, 2023.

COURA, F.; ARROIOS, G.; CORREIA, L. C.; FREM, R. C. G. Como obter nanopartículas de ouro usando suco de limão? **Rev. Quim. Nova**, v. 41, n. 5, p. 533-539, Araraquara – SP, 2018.

FLORIEN FITTOATIVOS. **Camomila**, 2018. Disponível em: <https://florien.com.br>. Acesso em: 08 de ago. 2024.

FREITAS, I. **Síntese verde para obtenção de nanopartículas de prata a partir de extratos naturais.** Monografia (Bacharelado em Engenharia de Materiais) – Rio de Janeiro: Universidade

Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. WORLD Health Organization. Globocan 2018: Estima ted cancer incidence, mortality and prevalence worl dwide in 2018. Lion: IARC; 2015. Disponível em: <https://www.iarc.fr/wpcontent/uploads/2018/07/p.223>, 2015.

LIMA, S.; OLIVEIRA, R.; LOPES, G. **Aspectos farmacológicos da *Matricaria recutita* (camomila) no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada e sintomas depressivos.** v. 20 n.2. Curitiba – PR, 2019.

LIMA, T. H. **Modificação do cimento ortopédico com nanopartículas de prata.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Minas, Escola de Engenharia – Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

MELO JÚNIOR, M. A.; SANTOS, L.S.S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, Campinas – SP, 2012.

MIGUEL, C. S. C. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas FeOx/Au/Ag em Multicamanda Nucleo-concha**, 2012. 139f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada) Universidade da Madeira, Portugal, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE E ANVISA. Monografia da espécie *Matricaria chamomilla* L. (= *Chamomilla recutita* (L.) *Rauschert*, camomila). Brasília – DF, 2015.

NOORBAZARGAN, H.; AMINTEHRANI, S.; DOLATABADI, A.; MASHAYEKHI, A.; KHAYAM, N.; MOULAVI, P.; NAGHIZADEH, M.; MIRZAIE, A.; MIRZAEI-RAD, F.; KAVOUSI, M. Anti-Cancer & Anti-Metastasis Properties of Bioorganic-Capped Silver Nanoparticles Fabricated from Juniperus Chinensis Extract against Lung Cancer Cells. **AMB Express**, v. 11, n 61, 2021.

NOGUEZ, C. Surface Plasmons on Metal Nanoparticles: The Influence of Shape and Physical Environment. **Journal of Physical Chemistry C, Washington**, v. 111, p. 3806- 3819, 2007.

NOVAKOVA L.; VILDOVA, A.; MATEUS J.; GONCALVES T.; SOLICH P. Development and application of UHPLC-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in Chamomile flowers and Chamomile tea extracts. **Talanta**. 2010.

REIS, M. O. **Desenvolvimento e caracterização de nanocompósitos produzidos a partir de miniemulsão acrílica aquosa contendo nanopartículas de prata.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Minas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SAMPAIO, L. **Shedding light sobre a toxicidade de mistura de poluentes na biota aquática vegetal: um estudo envolvendo allium cepa L.** Dissertação (Mestrado em Conservação de Recursos Naturais do Cerrado) – Instituto Federal Goiano – IFGO, Urutaí, Goiás, 2021.

SILVA, M. J. S.; BERGMANN, A.; SIQUEIRA, A. S. E.; CASADO, L.; ZAMBONI, M. M. Influência das Iniquidades Sociais e dos Cuidados de Saúde na Incidência e Mortalidade por Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 64, n. 4, p. 469-460, 2018.

# CAPÍTULO 4

## NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS EM [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] (CAPIM-LIMÃO): uma abordagem biotecnológica no auxílio ao tratamento da hipertensão arterial

SILVER NANOPARTICLES STABILIZED IN [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf] (LEMONGRASS): a biotechnological approach to aid the treatment of arterial hypertension

**Raíssa Gomes da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Tacyane Araujo da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Eduardo Feitosa da Conceição**   

Estudante de Graduação em Licenciatura em Química, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Denilson Moraes Rocha de Sousa**   

Mestrando em Química pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Marcos Vinícios Alves de Sá**   

Mestrando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Maura Celia Cunha e Silva**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Deuzuita dos Santos Freitas Viana**   

Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias - MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.862 

**Resumo:** A síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) estabilizadas em extrato de *Cymbopogon citratus* (capim-limão), podem apresentar bioativos potenciais e compatíveis para utilização coadjuvante no tratamento da hipertensão arterial sistêmica, uma das doenças crônicas que ocupam o quadro de maior causa de morbidade e mortalidade no Brasil. Diante disso, a pesquisa tem como objetivo sintetizar nanopartículas de prata e estabilizar em extrato de capim-limão. A obtenção do extrato ocorreu pela infusão de 4,0 g de folhas de capim-limão em 400 mL de água fervida. As AgNPs foram sintetizadas utilizando nitrato de prata e citrato de sódio, confirmando a redução da prata pela mudança na cor da solução. A caracterização das nanopartículas obtidas foi realizada por espectroscopia no UV-Vis, mostrando banda de absorbância na região de 420 nm, indicando estabilização e formação de AgNPs. A genotoxicidade das nanopartículas de prata foi feita através do teste de *Allium cepa* (cebola). O grau genotóxico variou entre os grupos, o grupo controle apresentou um índice mitótico (IM) estável e índice de alterações cromossômicas (IAC) baixo; grupo B mostrou frequência de IAC alta e IM abaixo e o grupo C revelou IM e IAC próximos ao grupo controle. Esta pesquisa mostrou que AgNPs estabilizadas em extrato de capim-limão apresentaram genotoxicidade inferior, apontando que são promissoras na síntese de um fitoterápico coadjuvante no controle da hipertensão.

**Palavras-chave:** Extrato vegetal. Nanotecnologia. Nanopartículas metálicas. Pressão alta. Tratamento alternativo.

**Abstract:** The synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) stabilized in lemongrass extract may present potential and compatible bioactives for adjuvant use in the treatment of systemic arterial hypertension, one of the chronic diseases that is the leading cause of morbidity and mortality in Brazil. Therefore, the research aims to synthesize silver nanoparticles and stabilize them in lemongrass extract. The extract was obtained by infusing 4.0 g of lemongrass leaves in 400 mL of boiled water. The AgNPs were synthesized using silver nitrate and sodium citrate, confirming the reduction of silver by the change in the color of the solution. The characterization of the obtained nanoparticles was performed by UV-Vis spectroscopy, showing an absorbance band in the 420 nm region, indicating stabilization and formation of AgNPs. The genotoxicity of silver nanoparticles was assessed using the *Allium cepa* (onion) test. The genotoxic degree varied between groups; the control group presented a stable mitotic index (MI) and low chromosomal alteration index (CAI); group B showed a high CAI frequency and lower MI; and group C revealed MI and CAI close to the control group. This study showed that AgNPs stabilized in lemongrass extract presented lower genotoxicity, indicating that they are promising in the synthesis of a phytotherapeutic adjuvant in the control of hypertension.

**Keywords:** Plant extract. Nanotechnology. Metallic nanoparticles. High blood pressure. Alternative treatment.

## 1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS), mais conhecida como pressão alta, é uma doença crônica predominante e tem forte relação com os casos de doenças cardiovasculares, sendo a principal causa de morte no Brasil e no mundo (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2020). Um dos principais fatores que têm contribuído para o agravamento é a não adesão ao tratamento farmacológico e/ou a falta de acesso adequado (Mansour; Monteiro; Luiz, 2016).

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

A utilização de medicamentos e hábitos saudáveis são medidas essenciais que auxiliam no controle da doença (Ministério da Saúde, 2022). Além disso, em conjunto com a medicina convencional, o uso complementar da fitoterapia tem se destacado nos países ocidentais (Ataliba *et al.*, 2017). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) uma planta é considerada medicinal quando é composta por substâncias capazes de prevenir, curar ou tratar determinada doença.

O Brasil tem um rico histórico com o uso de plantas medicinais para o tratamento de enfermidades, uma vez que a sociedade detém de um conhecimento ancestral que é repassado para as novas gerações (Gabrielle *et al.*, 2015). Atualmente, grande parte da população mundial ainda escolhe esse recurso medicinal alternativo por sua acessibilidade (Carneiro, 2014). No país, cerca de 82% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais nos seus cuidados com a saúde (Ministério da Saúde, 2012). Em destaque, a folhagem do capim-limão abriga compostos bioativos reconhecidos por suas atividades terapêuticas, como: a ação antimicrobiana, antioxidante e antiinflamatória (Rahhal *et al.*, 2024).

Em decorrência dos avanços nas pesquisas, o campo da nanotecnologia se mostrou promissor, abrindo espaço para as nanopartículas metálicas (NPMs), em função das propriedades físico-químicas, antibacterianas e por suas diversas aplicações. As inúmeras utilizações abrangem áreas biomédicas, mecânicas e catalíticas (Sato; Tapudima, 2023).

Dentre os metais nobres (ouro, cobre, zinco e titânio) utilizados na produção de nanopartículas por suas propriedades ópticas que trazem versatilidade nas aplicações, a prata tem se destacado por características singulares como: flexibilidade, maleabilidade, potencial antimicrobiano, assim como pela característica de ressonância plasmônica de superfície (RPS) e uma condutividade térmica e elétrica que se sobressai a qualquer outro metal (Sena; Ramos; Faria 2019; Vasconcelos, 2021).

Há inúmeros métodos utilizados para a síntese e estabilização de nanopartículas de prata que convencionalmente envolvem processos físicos ou químicos que são nocivos para o meio ambiente (Tapudima, 2023). Diante desse cenário, a síntese verde é uma alternativa que tem se mostrado viável usando reagentes naturais que atuam como agente redutor e estabilizador das nanopartículas (Vasconcelos, 2021).

A escolha de produção mediada por plantas tem se tornado popular, devido à abordagem com métodos simples, de baixo custo, biocompatibilidade e ecológico, visto que não faz uso de solventes tóxicos (Sato, 2023). Sendo assim, a estabilização de nanopartículas de prata em capim-limão se mostra como opção promissora, em virtude das propriedades presentes nas AgNPs aliado aos bioativos do capim-limão, em especial, a ação antihipertensiva. Esses fatores

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

contribuem para a produção de um fitoterápico operante no controle da hipertensão arterial sistêmica, cooperando em novas vias de tratamento.

Esse trabalho teve como objetivo produzir nanopartículas de prata estabilizada em extrato de vegetal de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Capim-limão) através da síntese verde. Sendo averiguadas pelo método de Ultravioleta visível (UV-vis) e o potencial genotóxico por meio do bioensaio *Allium cepa*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de Estudo e Público-alvo

O trabalho consiste em uma pesquisa experimental com abordagem quantitativa, realizada no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC) em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais (LAPEQUIM), ambos situados no Campus Caxias.

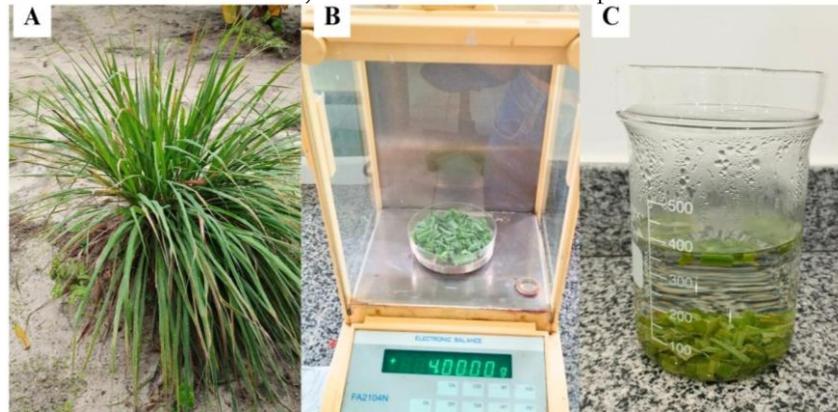
### 2.3 Metodologia da pesquisa

#### 2.3.1 Coleta das folhas e obtenção do extrato aquoso de Capim-limão

A coleta das folhas de capim-limão ocorreu no município de Caxias, Maranhão, na zona urbana sob as coordenadas (4°51' 27"S 43°20' 08"W) (Figura 1A). Para obtenção do extrato vegetal, as folhas passaram por um processo de preparação: lavagem, secagem e secção. Logo depois, esse material foi pesado em uma balança de precisão (4,0 g) (Figura 1B).

Em um becker foram adicionados 400 mL de água deionizada, esse solvente foi submetido ao aquecimento em um forno micro-ondas e imediatamente foi entornado 4,0 g do material vegetal, até que se extraísse o chá após o tempo de repouso (Figura 1C). De acordo com Oliveira *et al.* (2021), o método de infusão se mostrou adequado, visto que preserva os metabólitos presentes no capim-limão e por fim, a porção líquida foi filtrada e armazenada para as próximas etapas da sintetização.

**Figura 1** – Processo de obtenção do extrato aquoso. A) Exemplar de capim-limão. B) Pesagem das folhas seccionadas. C) Infusão das folhas de capim-limão.

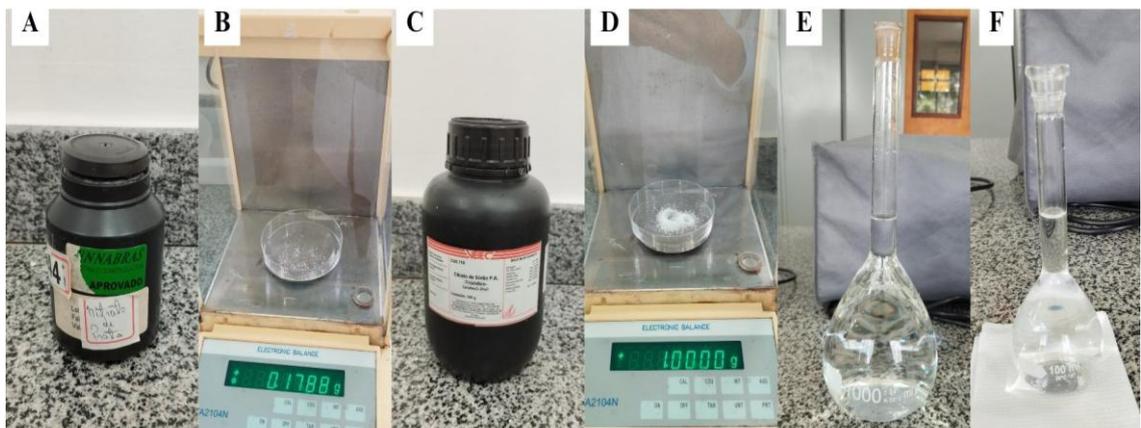


Fonte: Autores, 2024.

### 2.3.2 Síntese de Nanopartículas de Prata

Para o preparo da solução de nanopartículas de prata, foi utilizado 0,17 g de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) diluído em 1000 mL de água deionizada. Em seguida, foi preparado 1 g de citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) diluído em 100 mL de água deionizada (Figura 2).

**Figura 2** – Procedimento de pesagem e diluição dos solutos. A) Nitrato de Prata; B) Pesagem de Nitrato de prata; C) Citrato de Sódio; D) Pesagem de Citrato de Sódio; E) Solução de Nitrato de Prata; F) Solução de Citrato de Sódio.



Fonte: Autores, 2024.

Em seguida, foi colocado 400 mL da solução de nitrato de prata em um Béquer e seguidamente submetido à chapa aquecedora. Ao atingir a ebulição, adicionou-se 1 mL de citrato de sódio. A solução permaneceu em constante agitação magnética e aquecimento por 15 minutos até que a prata reduzisse. Após a redução, a solução foi mantida apenas em agitação. Assim que a temperatura ambiente ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) foi alcançada, acrescentou-se 100 mL de extrato aquoso previamente produzido. Por fim, formando uma solução com nitrato de prata/citrato de sódio/extrato aquoso de capim-limão, sendo armazenada em um frasco âmbar (Figura 3).

**Figura 3** - Solução nitrato/citrato/capim-limão em frasco âmbar.

**Fonte:** Autores, 2024.

### 2.3.3 Caracterização das Nanopartículas de Prata

A caracterização foi realizada por espectroscopia de luz Ultravioleta Visível (UV-Vis), utilizando o espectrofotômetro Kazuaki, modelo: N6000PLUS, com celas de quartzo (Figura 4). Essa técnica de análise eficiente e acessível é comumente utilizada para monitorar a estabilidade e confirmar a formação de nanopartículas (Santos, 2015; Hembram *et al.*, 2018).

**Figura 4** – Espectrofotômetro utilizado para as análises das soluções.

**Fonte:** Autores, 2024.

Com o objetivo de verificar características como estabilização, formato e tamanho das nanopartículas, as soluções produzidas de nitrato/citrato/capim-limão e extrato aquoso de capim-limão foram submetidas ao UV-Vis em seções separadas. Para cada análise a cubeta de quartzo foi higienizada com água deionizada para receber a próxima amostra.

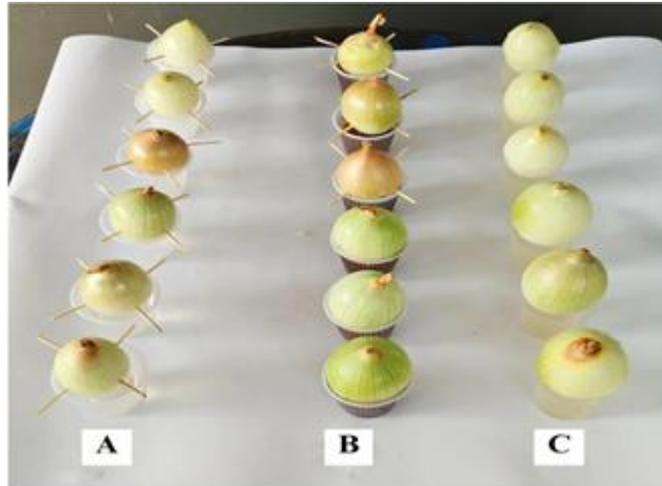
### 2.3.4 Teste genotóxico com *Allium cepa* (Cebola)

A análise genotóxica foi realizada usando três grupos (A, B e C) organizados em diferentes recipientes. O grupo A, com água deionizada (controle negativo); grupo B, com a solução das nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

grupo C, apenas com extrato vegetal de capim-limão (Figura 5). O Teste *Allium cepa* (cebola), seguiu um protocolo sugerido pela Sociedade Brasileira de Mutagênese, Carcinogênese e Teratogênese Ambiental (SBMCTA) elaborado por Medeiros *et al.* (2007).

**Figura 5** – Bulbos de cebolas submetidos nas soluções em três grupos: A) com água deionizada, grupo controle; B) com AgNPs com extrato aquoso de capim-limão; C) com extrato vegetal de capim-limão.



Fonte: Autores, 2024.

Para cada grupo foram selecionados seis bulbos de cebolas bem preservados, previamente limpas, através da remoção de catáfilos (cascas), raízes antigas, retirada superficial da base (placa basal) e lavagem. Após esse tratamento, os bulbos foram submersos nas soluções produzidas. Após 72 horas as raízes que mediam entre 0,5 e 1,5 cm foram cortadas e fixadas em solução Carnoy por 24 horas e após esse tempo foram estocadas em etanol 70% até o preparo das lâminas.

Para a preparação das lâminas, as raízes foram lavadas com água deionizada para a remoção do fixador e depois realizou-se a hidrólise com HCl IN 60 °C por 1 minutos. Em seguida as raízes foram retiradas do ácido e banhadas novamente. Com o auxílio de uma pinça, as raízes foram secadas e transferidas para um frasco âmbar com o reativo de Schiff por 2 horas. Para a remoção do corante, as raízes foram lavadas e secas. Para o último passo, as raízes foram colocadas sobre uma lâmina, separando a extremidade mais corada da raiz e uma gota de carmim acético foi adicionada. A extremidade mais corada foi macerada e coberta com uma lamínula realizando-se uma leve pressão. Após isso, foi levada para observação no microscópio imediatamente. As células do meristema das raízes foram observadas e quantificadas, a fim de obter o percentual do índice mitótico (IM) e índice de alterações cromossômicas (IAC). Diante disso, o cálculo do IM foi obtido por meio da fórmula:  $IM = \frac{n^{\circ} \text{ de células em divisão}}{n^{\circ} \text{ total de células observadas}} \times 100$ . Nesta lógica, o cálculo do índice de anomalias cromossômicas (IAC) se dá sob a fórmula:  $IAC = \frac{n^{\circ} \text{ de células alteradas}}{n^{\circ} \text{ de células observadas}} \times 100$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Obtenção do extrato aquoso de capim-limão

O extrato aquoso de capim-limão (Figura 6) apresentou coloração amarelada, com aroma cítrico característico da planta e apresentou um potencial hidrogeniônico (pH) de 5,0. O valor do teste de pH corrobora com os resultados da pesquisa de Lins *et al.* (2015), onde a solução aquosa com capim-limão demonstrou um pH na faixa de 5,8 e acidez em torno de 0,3%.

**Figura 6** – Extrato aquoso de capim-limão.

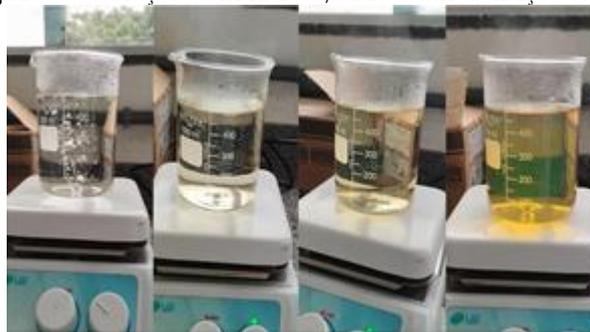


Fonte: Autores, 2024.

#### 3.2 Síntese das Nanopartículas de Prata

As nanopartículas sintetizadas apresentaram alteração na coloração durante a agitação e aquecimento (Figura 7). Ao longo desse percurso, a solução incolor mudou para uma cor amarelada, esse evento indica a redução da prata e formação das nanopartículas (Ahmed *et al.*, 2016). Concordando com o trabalho de Assunção *et al.* (2021), onde explicam que a mudança da cor ocorre devido à agitação da ressonância plasmônica de superfície (RPS) durante a redução dos íons da prata.

**Figura 7** – Solução com nitrato/citrato em transição de cor.



Fonte: Autores, 2024.

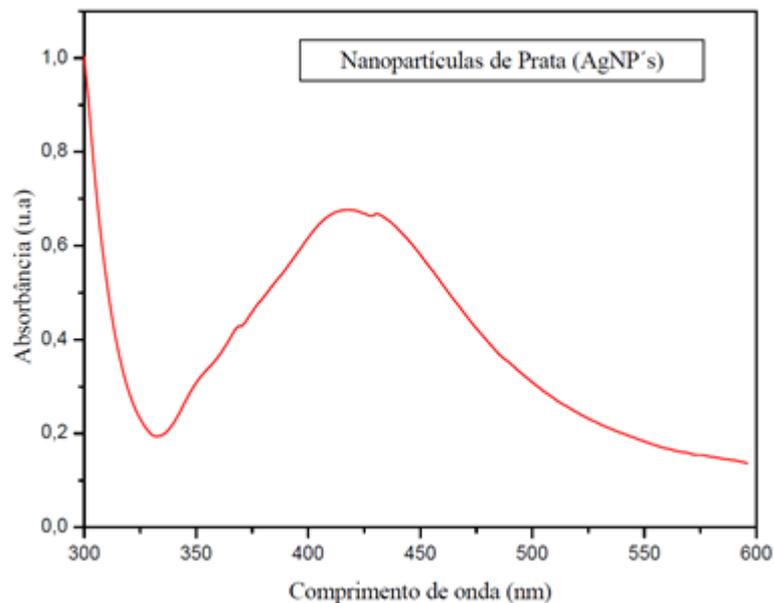
Os resultados são reforçados com a pesquisa de Araruna *et al.* (2020), que da mesma forma constatou que essa transição para cor amarela é uma característica particular apontada na produção de nanopartículas de prata.

### 3.3 Caracterização das Nanopartículas de Prata

Por meio da varredura feita pela espectroscopia de Ultravioleta Visível (UV-vis), foi possível obter a caracterização da nanopartícula metálica. Resultando em bandas de absorção com características particulares, em razão de propriedades, como: o tamanho, forma, ambiente químico e entre outros. Isso ocorreu devido ao fenômeno de Ressonância Plasmônica de Superfície (RPS), uma vez que os elétrons dispersos na superfície das AgNPs interagem com a onda de luz produzida pelo espectrofotômetro, que conseqüentemente cria picos de maior intensidade em dadas frequências (Almatroudi, 2020; Caixeta, 2018; Zhang *et al.*, 2016).

As análises das soluções realizadas por UV-vis ocorreram na faixa de comprimento de onda de 300 a 600 nanômetros (nm). Ao submeter a amostra com nanopartículas de prata (AgNPs), foi possível observar uma banda de absorção com maior intensidade na região aproximada de 420 nm (Figura 8), indicando que houve a formação de nanopartículas. Semelhantemente Sousa *et al.* (2024) ao sintetizar AgNPs observaram bandas de absorção com comprimento de onda máximo em torno de 425 nm.

**Figura 8** – Espectro das Nanopartículas de Prata (AgNPs).

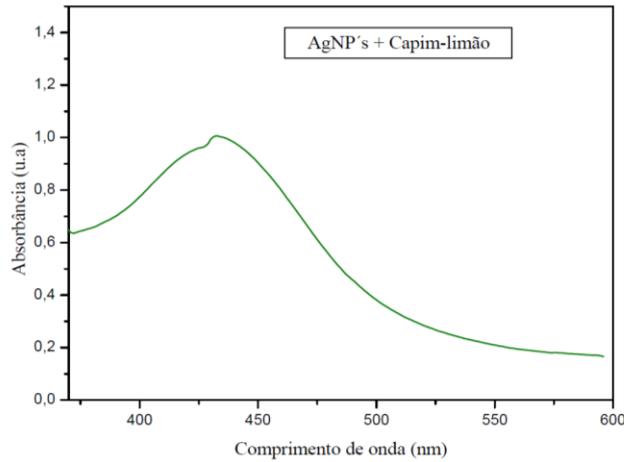


Fonte: Autores, 2024.

Os resultados dessa análise compactuam com o trabalho de Silveira *et al.* (2022), que observaram bandas de absorbância na região de 420 a 435 nm. Concordando com Silva e Mania (2024), que ao verificarem o espectro das nanopartículas de prata, notaram a absorbância em torno de 400 nm, apontando a confirmação de nanopartículas formadas. Segundo Tormena (2020), essa região de comprimento de onda é um aspecto da existência das AgNPs. A caracterização da solução de AgNPs com extrato aquoso de capim-limão apresentou uma banda de absorção na faixa de comprimento de onda em torno de 420 a 425 nm (Figura 9). No que diz

respeito ao comprimento de onda, observa-se que as bandas dos espectros da figura 1 e 2 são similares indicando que ocorreram alterações suaves, ou seja, mostram que as nanopartículas de prata seguiram estabilizadas em extrato de capim-limão.

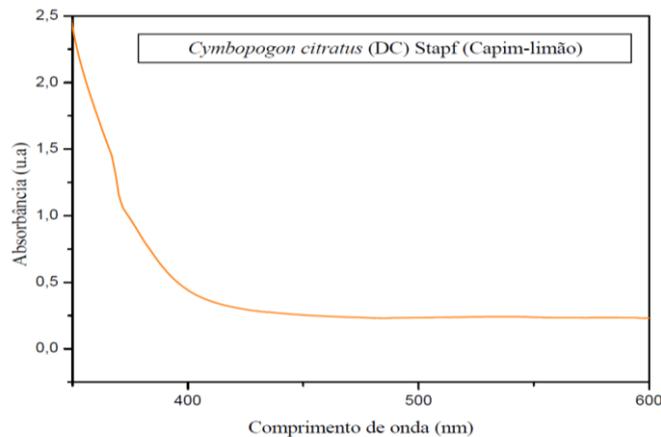
**Figura 9** – Espectro das nanopartículas de prata com extrato de capim-limão.



Fonte: Autores, 2024.

Em contraste com os espectros anteriores, o espectro do extrato de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (Capim-limão) submetido ao UV-vis, não demonstrou banda de absorção por não apresentar nenhum metal nobre como a prata na composição da amostra de análise, diante disso, não acontece o Fenômeno de Superfície Plasmônica (RPS) (Figura 10).

**Figura 10** – Espectro do extrato aquoso de capim-limão.



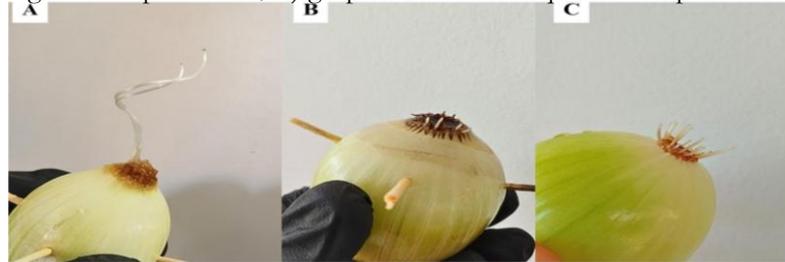
Fonte: Autores, 2024.

Segundo o trabalho de Mulfinger *et al.* (2007), o tamanho das nanopartículas pode ser indicado de acordo com o comprimento de onda de maior absorção de plasmon. Sendo assim, as bandas de absorvância localizadas em torno de 420 nanômetros indicam AgNPs com tamanho aproximado de 5 a 25 nm e formato esférico (Santos, 2023).

### 3.4 Teste genotóxico com *Allium cepa* (Cebola)

As raízes de *Allium cepa* foram expostas em diferentes soluções e demonstraram desenvolvimentos diferentes. O grupo A (controle negativo), tratado com água, teve o número maior de bulbos germinados, com tamanho das raízes acima de 0,5 cm. Com aspecto similar, as cebolas do grupo C, no tratamento com extrato de capim-limão, não apresentaram inibição no crescimento, com raízes próximas ao comprimento mínimo. Em contrapartida, quando comparado ao controle negativo, os bulbos com a solução com AgNPs e extrato de capim-limão mostraram baixa evolução, já que de seis cebolas apenas duas cresceram com raízes medindo inferior a 0,5 cm (Figura 11).

**Figura 11** – Bulbos de cebolas germinadas em determinadas soluções. A) grupo controle; B) grupo com AgNPs e capim-limão; C) grupo com extrato aquoso de capim-limão.



Fonte: Autores, 2024.

As lâminas foram confeccionadas e analisadas em microscópio óptico. Para cada bulbo analisou-se 1.000 células, totalizando 5.000 células. Durante esse processo, foram avaliados os efeitos citotóxicos por meio da análise de índice mitótico (IM) e os genotóxicos pelo índice de alterações cromossômicas (IAC), com o objetivo de contabilizar a presença de anomalias em fases do ciclo celular (interfase, prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase).

A porcentagem do IM e IAC obtidos para os diferentes tratamentos está presente na Tabela 1. O controle negativo (A), foi utilizado como base estável para comparação entre os demais grupos. O grupo controle, apresentou um índice mitótico de 48,0% e um IAC de 0,1%, apontando divisão celular controlada e baixo nível de modificação nas células. No entanto, o grupo B, tratado com AgNPs/Capim-limão, indicou dados consideráveis no índice mitótico, com 27,5% e alterações cromossômicas de 0,5 %, mostrando o aumento de IAC, além do efeito citotóxico pela diferença significativa quando comparado ao controle negativo. De acordo com o trabalho de Lima *et al.* (2018), o crescimento meristemático das raízes pode ser prejudicado pela presença de agentes tóxicos e isso pode ser apontado por meio de um índice mitótico inferior ao do grupo controle. Concordando com Santos (2023), que afirma que a diminuição da divisão celular ocorre com a existência de substâncias e componentes químicos, visto que influenciam e danificam o material genético. Com relação a toxicidade de AgNPs ao tecido vegetal, Cvjetko *et*

*al.* (2017), explica que existem fatores que contribuem podem variar de acordo com a duração do método de exposição, espécie da planta, concentração e tamanho das nanopartículas.

**Tabela 1** - Análises de índice mitótico (IM) e índice de alterações cromossômicas (IAC).

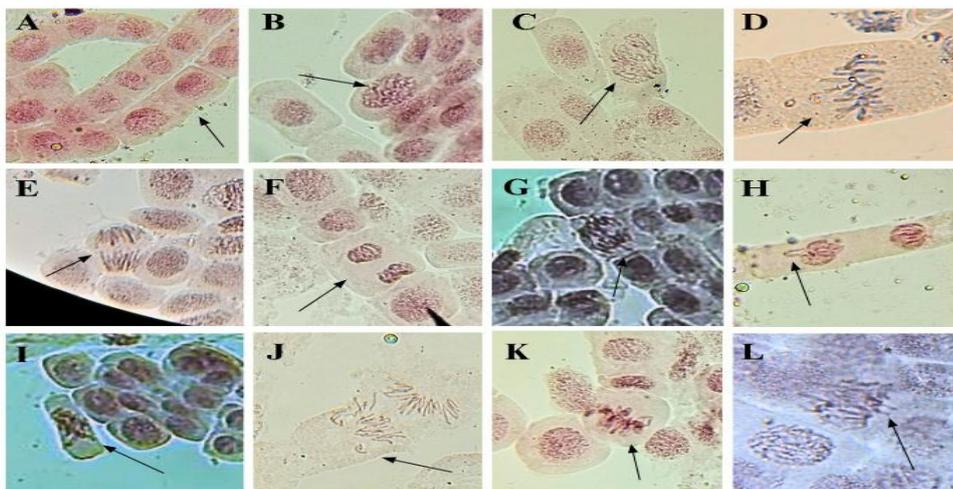
GRUPOS	IM	IAC
Grupo A - Controle negativo	48%	0,1%
Grupo B - AgNPs/capim-limão	27,5%	0,5%
Grupo C - Capim-limão	41,8%	0,2%

Fonte: Autores, 2024.

Foi demonstrado que o percentual do extrato de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) apresentou estabilidade, em razão da proximidade com os índices do grupo tratado com água. Segundo Oliveira e Santos (2021), ativos antioxidantes presentes em extratos vegetais auxiliam no controle de toxicidade e possuem habilidade de melhorar o reparo no DNA.

Na figura 12 estão apresentados estágios normais do ciclo celular e algumas anomalias cromossômicas (AC) observadas na análise com os três grupos (A, B e C), em especial, notou-se uma frequência de AC maior no grupo B. Sendo elas: anáfase com ponte cromossômica, Telófase com cromossomos retardatários, metáfases irregulares e anáfase retardatária com fragmento cromossômico.

**Figura 12** – Fases do ciclo celular e alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa* expostas em diferentes soluções. **A)** Intérfase; **B)** Prófase; **C)** Pró-metáfase; **D)** Metáfase; **E)** Anáfase; **F)** Telófase; **G)** Anáfase com ponte cromossômica; **H)** Telófase com cromossomos retardatários; **I, K e L)** Metáfases irregulares; **J)** Anáfase retardatária com fragmento cromossômico.



Fonte: Autores, 2024.

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

As anomalias cromossômicas podem acontecer de forma espontânea ou decorrente da exposição a agentes químicos. Podendo ser induzidas por agentes clastogênicos (pontes cromossômicas, fragmentos cromossômicos em anáfase ou metáfase e outras modificações) ou aneugênicos (cromossomos pegajosos, perda cromossômica, metáfases poliplóides e etc.) (Costa, 2022; Vasconcelos *et al.*, 2019). Da Silva *et al.* (2024), informa que o termo genotoxicidade se caracteriza por interferir em processos celulares fundamentais, resultado da ação de agentes mutagênicos que interagem com o DNA e suas enzimas.

Neste trabalho observou-se anormalidades cromossômicas, tais como a formação de ponte cromossômica em anáfase (Figura 10G) consequência da quebra e fusão de cromossomos devido a processo mutacionais estruturais, podendo levar a apoptose (Sampaio *et al.*, 2021).

A telófase com cromossomos retardatários (Figura 10H), está incluída em mudanças turbagênicas (cromossomos vagantes, tardios e precoces). A produção de cromossomos retardatários se dá em razão da inibição de proteínas do citoesqueleto ou polimerização da tubulina (Bonciu *et al.*, 2018).

A maior frequência de anomalias foi observada em células em metáfase (Figura 10I, K e L), mostrando que foi uma fase da divisão celular sensível aos efeitos causados por agentes externos. Conforme Rocha *et al.* (2019), a formação de metáfases irregulares ocorre devido a interações no estágio de prófase, tornando-a inativa temporariamente inibindo o processo mitótico e ao avançar, resulta na exclusão de estruturas essenciais que atuam na formação do fuso mitótico.

Neste teste com controle negativo, solução de AgNPs/capim-limão e extrato das folhas *Cymbopogon citratus* Stapf, não houve evidências de micronúcleo, sugerindo assim ausência desse efeito mutagênico nos meristemas das cebolas.

## 4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de prata foram sintetizadas por meio do método da síntese verde utilizando extrato aquoso de capim-limão, que exibiram coloração amarelada e mostrou ser um método eficaz no desenvolvimento e estabilização dessas nanopartículas. O uso da espectroscopia UV-vis mostrou que as nanopartículas de prata foram estabilizadas em extrato aquoso de capim-limão, por apresentar banda de absorbância próximo ao espectro de AgNPs, na região de 420 nm. Indicando a formação de AgNPs, formato esférico e tamanho próximo a 25 nm.

Através da sensibilidade em detectar e monitorar a presença de compostos químicos do teste genotóxico *Allium cepa* notou-se que a solução com AgNPs se mostrou estável e apresenta

baixo índice genotóxico. Concluindo que o extrato vegetal de *Cymbopogon citratus* Stapf (Capim-limão) se mostra eficiente no processo de síntese e estabilização da nanopartícula, tornando-se uma opção promissora como coadjuvante no tratamento da hipertensão arterial.

## REFERÊNCIAS

AHMED, Shakeel *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. **Journal of radiation research and applied sciences**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>

ALMATROUDI, A. Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications. **Open Life Sciences**, v. 15, n. 1, p. 819–839, 2020.

ARARUNA, F. *et al.* Green syntheses of silver nanoparticles using babassu mesocarp starch (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) and their antimicrobial applications. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 13, p. 100281, 2020.

ASSUNÇÃO, D. *et al.* Development, Characterization and Microbiological Evaluation of Silver Nanoparticles, Obtained by Green Synthesis, from the Extract of *Annona muricata* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.

ATALIBA, F. J. B. *et al.* INTERAÇÕES PLANTA MEDICINAL X MEDICAMENTO CONVENCIONAL NO TRATAMENTO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 2, p. 90–99, 2017.

BONCIU, E. *et al.* An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia; giornale di citologia, citosistemica, e citogenetica**, v. 71, n. 3, p. 191–209, 2018.

CAIXETA, I. *et al.* Nanopartículas de prata: síntese, caracterização e aplicação como agente antibacteriano. **Perquirere**, p. 122–134, 2018.

CARNEIRO, Fernanda Melo *et al.* Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

COSTA, R. *et al.* Efeito citogenotóxico do  $\alpha$ -terpineol em células meristemáticas de *Allium cepa* L. **Scientia Plena**, v. 18, n. 4, 2022.

CVJETKO, P. *et al.* Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 137, p. 18–28, 2017.

DA SILVA, Vitor de Moraes *et al.* Síntese verde e estabilização de nanopartículas de prata em *Morinda citrifolia* L. (noni) como coadjuvante no tratamento de câncer. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 1841-1865, 2024.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

GABRIELLE, M. *et al.* Artigo Original Uso de plantas medicinais por pessoas com hipertensão Use of medicinal plants by people with hypertension Uso de plantas medicinales por personas con hipertensión. **Rev Rene**, 2015.

HEMBRAM, K. C. *et al.* Therapeutic prospective of plant-induced silver nanoparticles: application as antimicrobial and anticancer agent. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 46, n. 3, p. 38–51, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1489262>.

LIMA, M. V. DA S. *et al.* Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de Hibiscus sabdariffa L. in natura e industrializado, e comparação da toxicidade entre as formas analisadas da planta. **Multitemas**, v. 23, n. 55, p. 121, 2018.

LINS, A. D. F. *et al.* Quantificação de Compostos Bioativos em Erva Cidreira (*Melissa officinalis* L.) e Capim Cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.]. **Gaia Scientia**, v. 9, n. 1, 2015.

MANSOUR, S. N.; MONTEIRO, C. N.; LUIZ, O. DO C. Adesão ao tratamento farmacológico de pacientes hipertensos entre participantes do Programa Remédio em Casa. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 3, p. 647–654, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. PRÁTICAS INTEGRATIVAS E COMPLEMENTARES ATENÇÃO BÁSICA CADERNOS de. [s.l: s.n.]. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas\\_integrativas\\_complementares\\_plantas\\_medicinais\\_cab31.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/praticas_integrativas_complementares_plantas_medicinais_cab31.pdf). Acesso em: 01 de mar. 2025.

MULFINGER, L. *et al.* Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 2, p. 322, 2007.

NACIONAL, A.; SANITÁRIA -ANVISA, V. ORIENTAÇÕES SOBRE O USO DE FITOTERÁPICOS E PLANTAS MEDICINAIS. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/orientacoes-sobre-o-uso-de-fitoterapicos-e-plantas-medicinais.pdf>. Acesso em: 01 de mar. 2025.

OLIVEIRA, C. C. A. DE; SANTOS, J. S. Compostos ativos de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*): uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, p. e263101220281, 2021.

OLIVEIRA, J. B. DE *et al.* Estudo do perfil químico de chás de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* Stapf) mediante a variação na forma de preparo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e234101119413, 2021.

RAHHAL, B. *et al.* Multi-biological activity assessment and phytochemical characterization of an aqueous extract of the *Cymbopogon citratus* grown in Palestine. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 24, n. 1, 2024.

RIBEIRO, R. *et al.* Efeito citogenotóxico do  $\alpha$ -terpineol em células meristemáticas de *Allium cepa* L. *Scientia Plena*, v. 18, n. 4, 2022.

ROCHA, G. N. da *et al.* Uso da espécie arbórea *Pinus taeda* L. como modelo em testes de citogenotoxicidade. 2019.

SAMPAIO, L. *et al.* **SHEDDING LIGHT SOBRE A TOXICIDADE DE MISTURA DE POLUENTES NA BIOTA AQUÁTICA VEGETAL: UM ESTUDO ENVOLVENDO *Allium cepa* L.** 2021.50 f. Dissertação de Mestrado - Instituto Federal Goiano, Urutaí, 2021.

SANTOS, D. A. O. dos. **Síntese de nanopartículas metálicas de prata (AgNPs) e ouro (AuNPs) empregando extrato de *Spondias mombin* L. para potencial aplicação na medicina veterinária.** 2023. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2023.

SANTOS, F. L. dos. **Potencial toxicogenético do herbicida Flumyzin 500 SC® utilizando o bioensaio *Allium cepa* L.** 2023.

SATO, T. S. **Síntese de nanopartículas de prata mediada por extrato aquoso e etanólico de folhas de *Eugenia involucrata*: caracterização.** 2022. Dissertação (Mestrado em Tecnologias em Biociências) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2022.

SENA, A. E.; RAMOS, A. L.; FARIA, F. S. Avaliação da síntese de nanopartículas de prata sob diferentes concentrações do extrato de *Copaiba multijuga* (Heine). *Scientia Naturalis*, v. 1, n. 1, 2019.

SILVA, N.; MANIA, E. **Biossíntese de nanopartículas utilizando *Turnera subulata*.** Anais dos Seminários de Iniciação Científica, n. 27, 2024.

SILVEIRA, R. *et al.* Nanopartículas de prata: síntese, atividade antibacteriana e comparativo com um desinfetante comum. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 19, p. e2638, 2022.

SOUSA, D. M. R. de; OLIVEIRA, G. de J.; OLIVEIRA, T. da R.; CONCEIÇÃO, T. M. da; SILVA, Y. G. de A.; RODRIGUES, J. S.; VIANA, D. dos S. F.; SILVA, M. C. C. e. (2024). Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Cissus verticillata* L. (insulina vegetal). **Cuadernos De Educación Y Desarrollo**, v. 16, n. 11, e6430, 2024. DOI: <https://doi.org/10.55905/cuadv16n11-118>

TAPUDIMA, M. **Síntese verde de nanopartículas de prata mediada por extratos vegetais de *Astrocaryum aculeatum* (Tucumã).** Ufam.edu.br, 16 dez. 2022.

TORMENA, R. P. I. **Investigação da atividade antimicrobiana e da toxicidade de nanopartículas de prata obtidas por meio de síntese verde assistida por microondas.** 2020. 105f., il. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologias em Saúde) — Universidade de Brasília, Brasília.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

VASCONCELOS, I. M. **Obtenção de nanopartículas de prata utilizando açúcar mascavo: um estudo da influência das condições de síntese.** Unipampa.edu.br, 2021.

VASCONCELOS, L. C. *et al.* Phytochemical analysis and effect of the essential oil of Psidium L. species on the initial development and mitotic activity of plants. **Environmental science and pollution research international**, v. 26, n. 25, p. 26216–26228, 2019.

ZHANG, X.-F. *et al.* Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, p. 1534, 13 set. 2016.

# CAPÍTULO 5

## DESENVOLVIMENTO DE UM FITOTERÁPICO A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E MALVA-DO-REINO: uma proposta biotecnológica para potencial ação antitumoral

DEVELOPMENT OF A PHYTOTHERAPEUTIC BASED ON SILVER NANOPARTICLES AND MALVA-DO-REINO: a biotechnological proposal for potential antitumor action

**Gracileide de Jesus Oliveira**   

Graduada em Química Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Denilson Morais Rocha de Sousa**   

Mestrando em Química pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Maura Celia Cunha e Silva**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Dezuita dos Santos Freitas Viana**   

Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias - MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.863 

**Resumo:** O câncer é uma doença multifatorial caracterizada pelo crescimento desordenado de células, sendo resultado de alterações em genes que regulam o metabolismo celular. Essas alterações permitem a proliferação celular descontrolada e a capacidade invasiva, tornando o câncer uma das principais causas de mortalidade mundial. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um fitoterápico antitumoral utilizando o extrato aquoso de Malva-do-reino (*Plectranthus amboinicus* L.) associado a nanopartículas de prata (AgNPs). O extrato foi obtido por decocção de folhas frescas, para tanto, 30g destas folhas foram pesadas e lavadas com água deionizada para eliminar possíveis contaminantes. Em seguida, as folhas foram picadas em pedaços garantindo e colocados em um béquer de 400 mL e adicionadas 200 mL de água deionizada. Posteriormente, a mistura foi aquecida a uma temperatura constante de 100 °C na chapa de aquecimento por 20 min. O extrato obtido foi filtrado, após atingir temperatura foi armazenado em frasco âmbar e guardado sob refrigeração garantindo a preservação dos metabólitos secundários. As nanopartículas foram sintetizadas a partir de uma solução de nitrato de prata ( $1,0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>) com citrato de sódio a 1%, com agitação e temperatura controlada. A formação das AgNPs foi confirmada pela mudança de coloração da solução para amarelada e caracterizada por espectroscopia no UV-Vis. As interações entre o extrato e as nanopartículas foram avaliadas em diferentes proporções (1:3; 3:1 e 1:1), a fim de identificar a combinação mais eficiente. O extrato apresentou coloração variando entre esverdeada e amarelada, com pH ácido igual a 5. Os resultados obtidos reforçam a relevância da *P. amboinicus* L. e das nanopartículas de prata no desenvolvimento de terapias alternativas, evidenciando o valor das plantas medicinais e das nanobiotecnológicas no avanço de estratégias mais eficazes e sustentáveis para a saúde humana.

**Palavras-chave:** Nanotecnologia. Síntese química. Extrato vegetal. Câncer.

**Abstract:** Cancer is a multifactorial disease characterized by disordered cell growth, resulting from alterations in genes that regulate cellular metabolism. These alterations allow uncontrolled cell proliferation and invasive capacity, making cancer one of the main causes of mortality worldwide. This study aimed to develop an antitumor phytotherapeutic agent using the aqueous extract of Malva-do-reino (*Plectranthus amboinicus* L.) associated with silver nanoparticles (AgNPs). The extract was obtained by decoction of fresh leaves. For this purpose, 30 g of these leaves were weighed and washed with deionized water to eliminate possible contaminants. Then, the leaves were chopped into pieces and placed in a 400 mL beaker and 200 mL of deionized water were added. Subsequently, the mixture was heated at a constant temperature of 100 °C on the heating plate for 20 min. The extract obtained was filtered, and after reaching temperature, it was stored in an amber bottle and kept under refrigeration, ensuring the preservation of secondary metabolites. The nanoparticles were synthesized from a silver nitrate solution ( $1.0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>) with 1% sodium citrate, with stirring and controlled temperature. The formation of AgNPs was confirmed by the change in color of the solution to yellowish and characterized by UV-Vis spectroscopy. The interactions between the extract and the nanoparticles were evaluated in different proportions (1:3; 3:1 and 1:1), in order to identify the most efficient combination. The extract presented a coloration ranging from greenish to yellowish, with an acidic pH equal to 5. The results obtained reinforce the relevance of *P. amboinicus* L. and silver nanoparticles in the development of alternative therapies, highlighting the value of medicinal plants and nanobiotechnological technologies in the advancement of more effective and sustainable strategies for human health.

**Keywords:** Chemical synthesis. Plant extract. Cancer.

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença multifatorial caracterizada pelo crescimento desorganizado das células. A capacidade invasiva, desenvolvimento e progressão da doença estão relacionados a alterações em genes envolvidos na regulamentação do metabolismo celular, como proliferação, diferenciação, e vias apoptóticas. Às células tumorais são capazes de invadir tecidos e órgãos adjacentes, ou de outras partes do corpo pelo sistema linfático ou sanguíneo, por processo conhecido como metástase (Hanahan; Weinberg, 2011).

Os tratamentos antitumorais convencionais, como quimioterapia, radioterapia e imunoterapia, combinados ou não com outros tratamentos são relativamente eficazes, porém, são vários os desafios a serem superados como, o longo tempo de exposição, altas doses de quimioterápicos resistentes, efeitos adversos e alto custo financeiro para os pacientes e ao Sistema de Saúde (Wargo *et al.*, 2015; El-Readi; Athubiti, 2019; Zhu *et al.*, 2023).

Há uma grande demanda global por tratamentos personalizados para pacientes com câncer. As nanopartículas podem apresentar várias morfologias e composições, como: esféricas, cilíndricas, estrelas, discos, pirâmides e núcleo-casca. O formato depende da aplicação onde será utilizada a nanopartícula e, de acordo com o formato, pode-se melhorar a sensibilidade e a confiabilidade do nanosensor (Silva, 2019).

Segundo Oliveira (2019) existe fácil interação das nanopartículas metálicas com biomoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, anticorpos, entre outros) que permitem um amplo potencial de aplicação na área médica, no que se refere ao desenvolvimento de nanobiossensores. As nanopartículas de metais nobres podem ser aplicadas no campo da medicina, biologia, física, química e ciência dos materiais (Kumar, 2014).

A síntese de nanopartículas metálicas se apresenta como tema de diversos estudos devido às suas propriedades diferenciadas e sua ampla gama de aplicações. As nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam grande potencial de uso na área biomédica devido às suas propriedades diferenciadas e cicatrizantes. Existem diversos métodos de obtenção dessas AgNPs que resultam em subprodutos tóxicos ou em uma alta demanda energética. Por isso, é essencial o desenvolvimento de técnicas que não agridam o meio ambiente.

Um estudo conduzido por Pompeu *et al.* (2021), relatou que o uso da nanotecnologia no tratamento do câncer está relacionado a redução e a incidência de efeitos diversos, aumentar o intervalo entre as doses aplicadas e a obtenção de uma melhor eficácia devido ao direcionamento do fármaco aos tecidos doentes com a proteção simultânea dos tecidos saudáveis. As nanopartículas não poderiam ser diferentes, pois elas promovem redução das dosagens

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

necessárias justamente porque as nanopartículas (NPs) possuem nível de alcance intracelular, atingindo unicamente células cancerosas (Canezin *et al.*, 2021).

Popularmente conhecida como Malva-do-reino, possui uma composição química rica em flavonoides como apigenina e taxifolina, assim como óleos voláteis, triterpenos e taninos. O extrato aquoso é utilizado popularmente em casos de epilepsia como anticonvulsivante e contra doenças gástricas, já o extrato das folhas *P. amboinicus* apresenta ação antibacteriana sobre cepas *Staphylococcus aureus*, bem como em isolados de pacientes com otite externa, confirmando a atividade antimicrobiana.

O segmento de fitoterápicos movimenta anualmente no mundo cerca de US\$22 bilhões, com crescimento de 12% ao ano. Só no ano de 2000, o setor faturou cerca de US\$6,6 bilhões nos Estados Unidos e US\$8,5 bilhões na Europa, sendo a Alemanha e os Estados Unidos os maiores mercados fitoterápicos. No Brasil, considera-se que as vendas neste setor crescem 10% ao ano, com estimativas de terem alcançado a cifra de US\$550 milhões no ano de 2001 (Pinto *et al.*, 2002; Brasil, 2006). Dessa forma, com a potencialização das nanopartículas de prata e os constituintes fitoquímicos das plantas medicinais e seu papel como auxiliar no tratamento de doenças, o desenvolvimento de um fitoterápico como uma alternativa no tratamento de enfermidades como o câncer é promissor contra os tratamentos tradicionais.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização da pesquisa**

O estudo foi realizado na Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, no período de Agosto a Dezembro de 2024, sendo uma pesquisa experimental, realizado no Laboratório de Biotecnologia (LABIOTEC), e no Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais - LAPEQUIM do Campus Caxias.

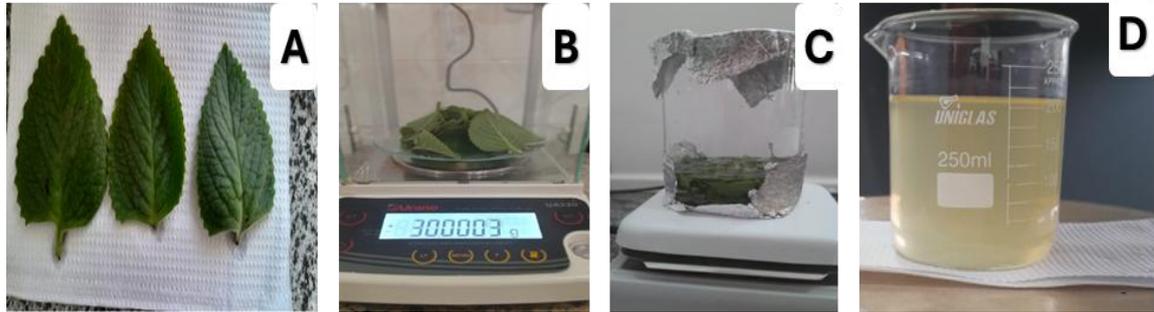
### **2.2 Metodologia da pesquisa**

#### **2.2.1 Produção do extrato da Malva-do-reino**

Inicialmente as folhas de Malva-do-reino foram coletadas no município de Aldeias Altas - MA e encaminhada para o Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais (LAPEQUIM) e identificada por uma botânica da Universidade. O extrato aquoso da Malva-do-reino foi preparado por decoção, a partir das folhas frescas, para tanto, 30 g destas folhas foram pesadas e lavadas com água deionizada para eliminar possíveis contaminantes. Em seguida, as folhas foram picadas em pedaços pequenos e colocadas em um béquer de 400 mL e adicionadas 200 mL de água deionizada. Posteriormente, a mistura foi aquecida a uma temperatura constante de 100 °C

na chapa de aquecimento por 20 minutos. O extrato obtido foi filtrado, após atingir temperatura foi armazenado em frasco âmbar e guardado sob refrigeração (Figura 1).

**Figura 1** – A) Folhas frescas de de Malva-do-Reino (*P. amboinicus* L.). B) Pesagem das folhas. C) Preparo do Extrato Aquoso. D) Extrato Filtrado.



Fonte: Autores, 2024.

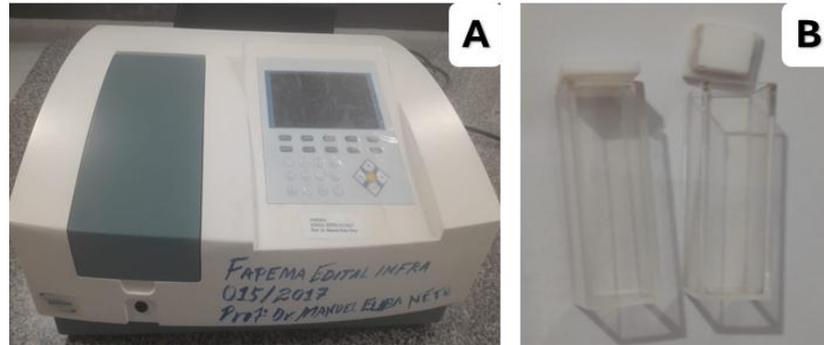
### 2.2.2 Síntese das nanopartículas de prata

Para a síntese das nanopartículas de prata foi usado 400 mL de uma solução de nitrato de prata a concentração de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup>, em seguida, colocou-se sob agitação magnética numa chapa de aquecimento sob agitação e temperatura constante. Ao atingir a ebulição, adicionou-se 2 mL gota a gota de uma solução de citrato de sódio a concentração de 1% na solução de nitrato de prata. Ao observar a mudança de coloração a solução nitrato de prata/citrato de sódio foi deixada apenas sob agitação magnética. Quando a solução atingiu a temperatura ambiente adicionou-se à mistura, uma solução de extrato aquoso da Malva-do-reino. Depois de 15 minutos, a solução nitrato de prata/citrato de sódio/Malva-do-reino foi armazenada em frasco âmbar e guardada sob refrigeração.

### 2.2.3 Caracterização das nanopartículas de prata e *P. amboinicus* L.

A caracterização é uma fase imprescindível para esta pesquisa, visto que é nessa etapa que é possível verificar a confirmação e a estabilidade das nanopartículas que foram formadas. Assim, foi utilizado um espectrofotômetro do modelo N6000PLUS da marca Kasuaki, na obtenção dos espectros Ultravioleta-visível (UV-Vis) utilizando o intervalo de varredura de 300 a 700 nm em cubetas de quartzo. Para esta etapa, foram submetidos a (UV-Vis) o extrato aquoso de *P. amboinicus* L., nanopartículas de prata e mais três proporções de nanopartículas de prata/*P. amboinicus* L. (25/75; 50/50; 75/25) (Figura 2).

**Figura 2** – A) Aparelho Espectrofotômetro de UV-vis. B) Cubetas de Quartzo.



Fonte: Autores, 2024.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Extrato de *P. amboinicus* L.

O extrato aquoso das folhas frescas de Malva-do-reino apresentou uma coloração esverdeada amarelada (Figura 3), que pode variar conforme o método de extração e o pH do extrato foi igual a 5. Essas características podem ser alteradas dependendo da maturidade das folhas e das condições de preparo do extrato.

**Figura 3** – Extrato aquoso de *P. amboinicus* L.

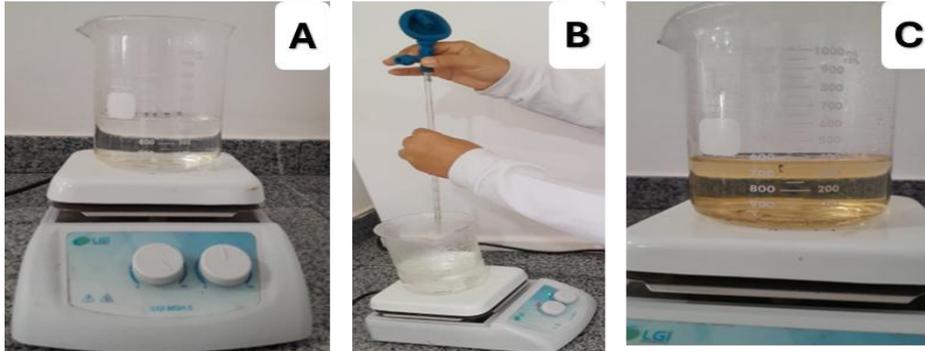


Fonte: Autores, 2024.

#### 3.2 Nanopartículas de Prata

As nanopartículas de prata, sintetizadas, apresentaram mudança de coloração que variou de incolor para uma coloração amarelada logo após a adição do agente redutor citrato de sódio (Figura 4), isso é um indício de que as nanopartículas foram sintetizadas, o resultado obtido corrobora com a literatura, a qual ao sintetizar nanopartícula de prata Viana *et al.* (2021) e Santos *et al.* (2022) também observaram mudança de coloração.

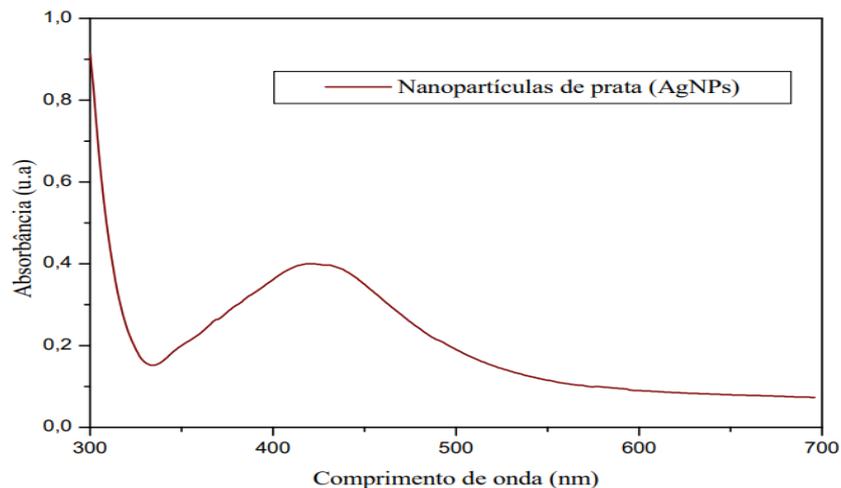
**Figura 4** – A) Solução de nitrato de prata. B) Solução de nitrato/citrato de sódio. C) Nanopartículas de prata.



Fonte: Autores, 2024.

O espectro UV-Vis das nanopartículas de prata apresenta uma banda de absorção (Figura 5) com comprimento de onda máximo em torno de 425 nm, que é característico da Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR). Esse fenômeno óptico ocorre devido à oscilação coletiva dos elétrons na superfície das nanopartículas sob a incidência de luz. O resultado obtido corrobora com os trabalhos de Conceição *et al.* (2024), Silva *et al.* (2024) e Sousa *et al.* (2024) que ao sintetizar as nanopartículas de prata observaram bandas de absorção em torno de 420, 420 e 425 nm, respectivamente. Câmara, Viana e Viana (2021) ao utilizar como agente redutor a citrato de sódio observou bandas de absorção em 430 nm.

**Figura 5** – Espectro de absorção UV-vis das Nanopartículas de Prata (AgNPs).



Fonte: Autores, 2024.

Segundo Conceição *et al.* (2024) nanopartículas de prata (AgNPs) com banda de absorção em 425 nm e espectro largo (350-475 nm) indicam morfologia esférica, com tamanhos entre 50 e 100 nm. A largura do espectro sugere uma distribuição de tamanhos e possíveis agregações. Sínteses verdes, como as que utilizam extratos vegetais, frequentemente resultam em

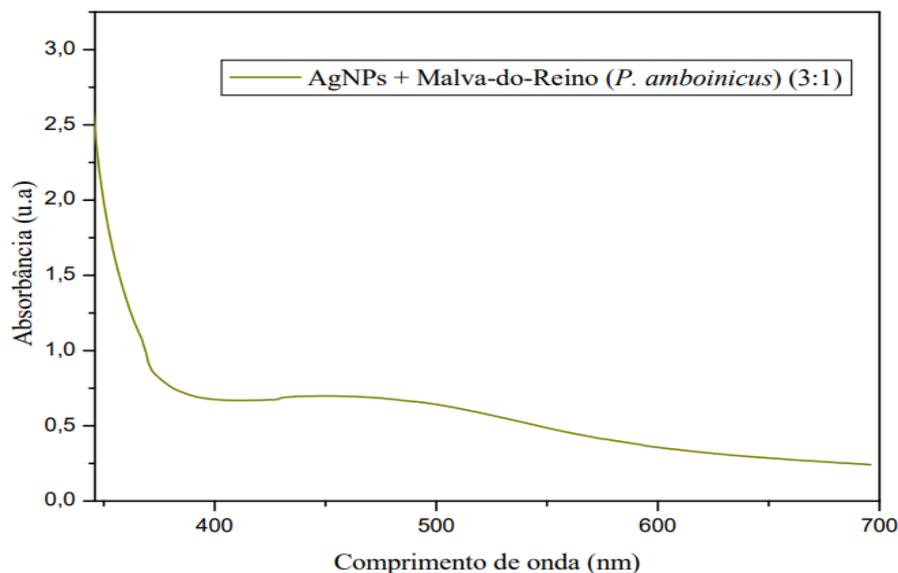
nanopartículas esféricas ou quase esféricas, com propriedades ópticas dependentes das condições de síntese.

De acordo com Brito, Viana e Viana (2022), a forma simétrica e estreita do pico indica uma distribuição homogênea de tamanhos das nanopartículas, sugerindo que o processo de síntese resultou em partículas uniformes e estabilizadas. Além disso, a ausência de picos adicionais no espectro reforça que não há presença de contaminantes ou aglomeração significativa no material analisado.

### 3.3 Fitoterápico a base de nanopartículas de prata e Malva-do-reino

O espectro de absorção UV-Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) com o extrato de *P. amboinicus* L. composto por 75 e 25 %, respectivamente, apresenta uma larga banda de absorção próximo à região de 450 nm (Figura 6), indicando assim a presença das AgNPs na solução. Os resultados da espectrofotometria (AgNPs+ *P. amboinicus* L.) se mostrou semelhante aos de Venugopal *et al.* (2017) ao estabilizar as nanopartículas de prata com *Syzygium aromaticum*, observaram bandas em torno de 420 a 470 nm, confirmando assim a formação das nanopartículas de prata e a eficácia do extrato de *P. amboinicus* como agente estabilizante.

**Figura 6** – Espectro de absorção das AgNPs+Malva-do-reino (3:1).

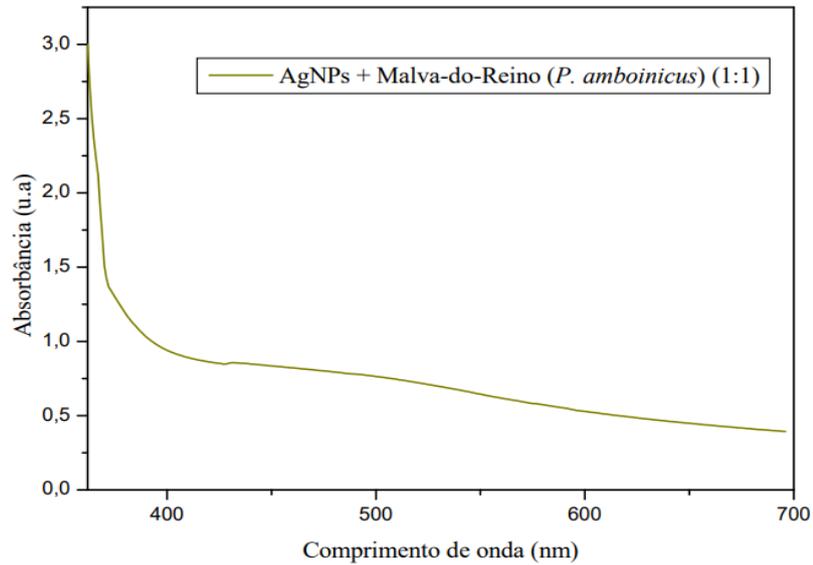


Fonte: Autores, 2024.

Além disso, a ausência de múltiplos picos na faixa de 400-700 nm reforça a uniformidade no tamanho e na distribuição das nanopartículas formadas. Essa análise corrobora a eficácia do extrato vegetal como uma alternativa sustentável para a síntese de nanomateriais, alinhando-se às diretrizes da nanotecnologia verde.

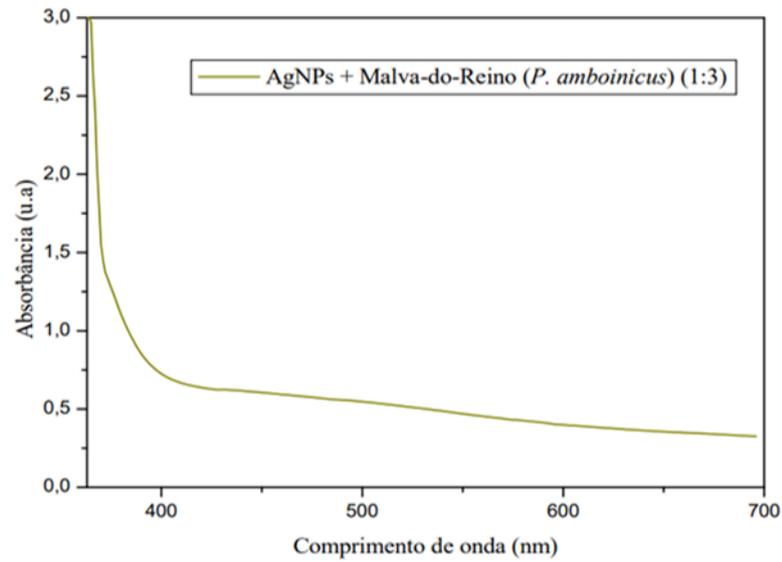
O fitoterápico na proporção 1:1 também apresenta banda em 450 nm (Figura 7), confirmando assim a presença das AgNPs. Esse comportamento espectral está de acordo com a literatura, que identifica a presença de um pico nessa faixa como um indicador da formação e estabilidade das nanopartículas metálicas.

**Figura 7** – Espectro de absorção das AgNPs +Malva-do-reino (1:1).



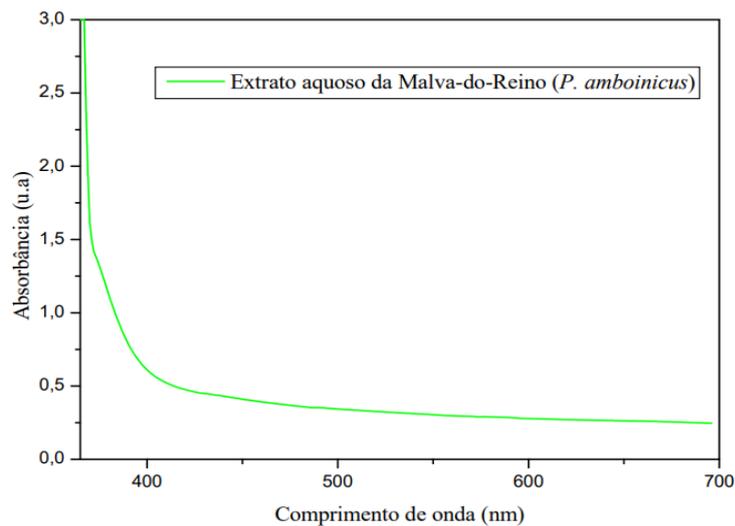
**Fonte:** Autores, 2024.

O fitoterápico na proporção 1:3 (Figura 8) que corresponde a composição de 25 % de nanopartículas de prata e 75 %, não apresenta comprimento de onda com banda de absorção significativa, isso se dá justamente devido à pouca presença das AgNPs na solução.

**Figura 8** – AgNPs+Malva-do-reino (1:3).

Fonte: Autores, 2024.

Ao caracterizar o extrato aquoso das folhas verdes de *P. amboinicus* L. no espectrofotômetro UV-vis o espectro de absorção obtido não apresentou bandas, como se era esperado, pois a solução não tinha AgNPs (Figura 9).

**Figura 9** – Espectro de absorção UV-vis do extrato aquoso produzido.

Fonte: Autores, 2024.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato aquoso das folhas da Malva-do-reino foi obtido de maneira eficaz, empregando um método prático e sustentável que utiliza apenas água como solvente. Aspectos como proporção, temperatura e tempo de preparo foram fundamentais para melhorar o rendimento. As nanopartículas de prata foram sintetizadas usando o extrato aquoso de Malva-do-reino como agente redutor e estabilizante na síntese de nanopartículas de prata. As nanopartículas obtidas apresentaram características satisfatórias, mostrando que o extrato atuou de forma na redução e estabilização das partículas.

O fitoterápico pode possuir excelentes propriedades devido à presença dos constituintes fitoquímicos da Malva-do-Reino nas nanopartículas de prata, o que pode aumentar a atividade antimicrobiana e anticancerígena das nanopartículas de prata. Vale ressaltar que mais estudos deverão ser realizados para se obter mais informações sobre esse fitoterápico, como a morfologia das NPs e a presença dos constituintes. Testes como genotoxicidade, citotoxicidade e entre outros, são muito importantes na verificação de toxicidade das nanopartículas de prata sintetizadas, além disso, ensaios utilizando células anticancerígenas ou algum outro ensaio, sem dúvidas torna-se uma técnica indispensável.

#### REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa 103 de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos/ Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148 p. 2006.

BRITO, J. E.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F. Síntese verde e caracterização de nanopartículas de prata AgNp estabilizadas em extrato de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, e21611629051, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i6.29051>

CÂMARA, N. L. A. S.; VIANA, D. S. F.; VIANA, V. G. F. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizada em extrato de *Struthanthus Flexicaulis* Mart. (Erva-de-Passarinho). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021.

CANEZIN. Nanotecnologia aplicada no tratamento de câncer. Encontro Científico Cultural Interinstitucional. 2021. Cascavel. **Anais 19º**. Paraná: Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz, 2021.

CONCEIÇÃO, E. F.; VIANA, D. S. F.; ROCHA, A. F. R.; SILVA, V. M.; VIEIRA, J. G. C.; OLIVEIRA, A. M. M.; MENEZES, B. T. B.; SÁ, M. V. A.; SANTOS, L. N.; LIZANIO, T. M. Análise da estabilidade de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. **Brazilian Journal of Implantology and Sciences**, v. 6, n. 4, p. 23342367, 2024. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n4p2335-2367>

EL-READI, M. Z.; ALTHUBITI, M. A. Cancer nanomedicine: a new era of successful targeted therapy. **Journal of Nanomaterials**, v. 2019, p.1687-4110.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, p. 646–674, 2011.

KUMAR, P. P. N.; PAMMI, S. V. N.; KOLLU, P.; SANTYANARAYANA, K. V.V.; SHAMEEM, U. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using Boerhaavia diffusa plant extract and their antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 1, n. 52, p. 562-566, 2014.

OLIVEIRA, J. S. A. **Estudo do reconhecimento de micrnas expressos em carcinomas epidermoides de cabeça e pescoço (cecp) utilizando nanopartículas de prata**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental), Sorocaba, 2019.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S. BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Quím. Nova**, 25, p. 45-61, 2002.

POMPEU, L. D.; DALCIN, A. J. F. F.; OLIVEIRA, E. C. de, PINHEIRO, A. P.; DUTRA, N. S. Nanotecnologia aplicada à oncologia: uma perspectiva sobre o tratamento do câncer utilizando óxido de grafeno. **Disciplinarum Scientia | Ciências Naturais e Tecnológicas**, v. 22, n. 2, 2021.

SANTOS, L. P. M.; MENDES, A. L. R.; SOUZA, M. V. C.; VIANA, V. G. F.; VIANA, D. S. F.; MELO, S. M. Nanopartículas de prata estabilizadas em extrato hidroalcoólico de *Mentha piperita* como coadjuvante no tratamento da depressão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, e468111537653, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.37653>

SILVA, T. B. **Caracterização de Nanopartículas Metálicas para a Construção de Sensores Ópticos**. 54f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Instituto Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

SILVA, V. M.; LIZANIO, T. M.; CONCEIÇÃO, E. F.; SANTOS, L. N.; PEREIRA, A. D.; RODRIGUES, J. C.; SÁ, M. V. A.; SILVA, R. G.; SILVA, T. AVIEIRA, J. G. C.; VIANA, D. S. F. Síntese verde e estabilização de nanopartículas de prata em morinda citrifolia L. (noni) como coadjuvante no tratamento de câncer. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 18411865, 2024. DOI: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n3p1841-1865>

SOUSA, D. M. R. de; OLIVEIRA, G. de J.; OLIVEIRA, T. da R.; CONCEIÇÃO, T. M. da SILVA, Y. G. de A.; RODRIGUES, J. S.; VIANA, D. dos S. F.; SILVA, M. C.; C. e. Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Cissus verticillata* L. (insulina vegetal). **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 11, e6430., 2024. DOI: <https://doi.org/10.55905/cuadv16n11-118>

VENUGOPAL, K.; RATHER, H. A.; RAJAGOPAL, K.; SHANTHI, M. P.; SHERIFF, K.; ILLIYAS, M.; RATHER, R. A.; MANIKANDAN, E.; UVARAJAN, S.; BHASKAR, M.; MAAZA, M. Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) for anticancer activities (MCF 7 breast and A549 lung cell lines) of the crude extract of *Syzygium aromaticum*. **Journal of Photochemistry Photobiology B: Biology**, v. 167, p. 282-289, 2017.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

VIANA, A. V.; VIANA, D. S. F.; FIGUEIREDO, G. S.; BRITO, J. E.; VIANA, V. G. F.; JUNIOR, V. G. F. V. Potencial antimicrobiano das nanopartículas de prata estabilizadas em curcumina e extrato de folhas de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Research, society and development**, v. 10, n. 9, e47610918364, 2021. DOI: [dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i9.18364](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.18364)

ZHU, M.; YANG, X.; YOU, J.; ZHENG, L.; YI, C.; HUANG, Y. Nanobiotechnology-mediated radioimmunotherapy treatment for triple-negative breast cancer. **MedComm – Biomaterials and Applications**, v. 2, p. 1–18, 2023.

# CAPÍTULO 6

## BIOSSÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA MEDIADAS POR EXTRATO AQUOSO DE *Azadirachta indica* (NIM INDIANO) COM DIFERENTES pH

### BIOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES MEDIATED BY AQUEOUS EXTRACT OF *Azadirachta indica* (INDIAN NEEM) WITH DIFFERENT pH

**Denilson Moraes Rocha de Sousa**   

Mestrando em Química pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina - PI, Brasil

**Gracileide de Jesus Oliveira**   

Graduada em Química Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Raíssa Gomes da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Tacyane Araujo da Silva**   

Graduada em Ciências Biológicas Licenciatura, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Maura Celia Cunha e Silva**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Jairelda Sousa Rodrigues**   

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Dezuita dos Santos Freitas Viana**   

Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP), Docente do Campus Caxias, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias - MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.864 

**Resumo:** As nanopartículas metálicas (MNPs) têm atraído a atenção de diversos pesquisadores devido sua gama de aplicações, dentro dessa área, as nanopartículas de prata (AgNPs) também estão incluídas. O objetivo deste trabalho, foi biossintetizar nanopartículas de prata utilizando diferentes pH do extrato aquoso de *Azadirachta indica* (nim indiano). Para obtenção do extrato foi utilizado 2 g das folhas verdes e foram fervidas em 200 mL de água deionizada, para neutralização foi usado uma solução de NaOH concentração 0,1 mol/L, na biossíntese das AgNPs a solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) a 1 mM, foi colocada em três erlenmeyers (100 mL cada) sob agitação magnética e temperatura de 90 a 100 °C, quando começou a ebulição adicionou-se 5 mL dos extratos (pH 8, 9 e 10), à medida que as soluções mudaram de coloração o sistema ficou apenas sob agitação. A caracterização dos extratos e das AgNPs foi realizada pela técnica de Espectroscopia UV-Vis. Os resultados das análises UV-Vis confirmaram a síntese das AgNPs dos extratos de pH 8, 9 e 10 com bandas de absorção em 420, 410 e 410 nm, respectivamente. Observou-se também que à medida que houve aumento do pH observou-se o aumento da banda de absorção, isso é um indicativo de que mais nanopartículas foram sintetizadas. Portanto, o extrato com pH básico tem excelente potencial para síntese de nanopartículas de prata.

**Palavras-chave:** Nanopartículas metálicas. Síntese verde. pH. Meio alcalino. Nim.

**Abstract:** Metal nanoparticles (MNPs) have attracted the attention of several researchers due to their range of applications. Within this area, silver nanoparticles (AgNPs) are also included. The objective of this work was to biosynthesize silver nanoparticles using different pH values of the aqueous extract of *Azadirachta indica* (Indian neem). To obtain the extract, 2 g of green leaves were used and boiled in 200 mL of deionized water. For neutralization, a NaOH solution with a concentration of 0.1 mol/L was used. In the biosynthesis of AgNPs, the silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ) solution at 1 mM was placed in three Erlenmeyer flasks (100 mL each) under magnetic stirring and a temperature of 90 to 100 °C. When boiling began, 5 mL of the extracts (pH 8, 9 and 10) were added. As the solutions changed color, the system remained only under stirring. The characterization of the extracts and AgNPs was performed using the UV-Vis spectroscopy technique. The results of the UV-Vis analyses confirmed the synthesis of AgNPs from the extracts at pH 8, 9 and 10 with absorption bands at 420, 410 and 410 nm, respectively. It was also observed that as the pH increased, the absorption band increased, indicating that more nanoparticles were synthesized. Therefore, the extract with basic pH has excellent potential for the synthesis of silver nanoparticles.

**Keywords:** Metallic nanoparticles. Green synthesis. pH. Alkaline medium. Neem.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, pesquisadores têm voltado a atenção aos estudos sobre a gama de aplicações das nanopartículas metálicas (MNPs). Na medicina as MNPs têm sido utilizadas devido seu potencial antibacteriano, antiviral, anticâncer, antipatógenos, na cicatrização de feridas e também na área da odontologia. Nas indústrias está presente por meio dos nanocompósitos, cosméticos, nanopigmentos, revestimentos antiincrustantes e de papel. Na área de alimentos e agricultura também é empregado contra bactérias e fungos, nas embalagens de alimentos, nos nanofertilizantes e nanoherbicidas e entre outras áreas e aplicações (Ali *et al.*, 2020). Há uma

variedade de MNPs que apresentam propriedades físico-químicas, ópticas, mecânicas, elétricas e químicas, o que permitem excelente desempenho em diversas áreas, estão incluídos dentro dessa classe as nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs), nanopartículas de ouro (AuNPs) e a nanopartículas de prata (AgNPs) (Alsaiani *et al.*, 2023).

Existem várias técnicas para sintetizar as nanopartículas, pode ser por coprecipitação, síntese hidrotérmica, condensação de gás inerte, espalhamento por pulverização catódica iônica, microemulsão, sol-gel, sonoquímica e entre outras (Rane *et al.*, 2018). As nanopartículas de prata podem ser obtidos de várias formas, pelo método químico que faz uso de produtos químicos tóxicos e que pode possuir efeitos nocivos, por outro lado, a síntese verde ou biossíntese é um método bastante utilizado atualmente nas pesquisas, por ser uma rota ecologicamente correta e sustentável, ela faz uso de extratos naturais ou biomoléculas obtidas de microrganismos, algas e plantas, assim sendo, a produção das AgNPs reduz os impactos ambientais e torna-se uma alternativa mais sustentável (Shumail *et al.*, 2021; Dubey; Shukla; Hussain, 2023).

Os extratos vegetais possuem constituintes fitoquímicos que são essenciais na síntese verde das AgNPs, eles podem ser extraídos das folhas, flores, frutos, caules e raízes, essas partes das plantas são ricas em compostos fenólicos, alcaloides, flavonoides, terpenoides, catequinas, saponinas, taninos, enzimas, proteínas, polissacarídeos e entre outros. Esses fitoquímicos atuam tanto como agentes redutores dos íons metálicos de prata (Ag<sup>+</sup>), quanto estabilizadores das AgNPs (Abdellatif *et al.*, 2024; Assunção *et al.*, 2024). Uma síntese utilizando os extratos aquosos com diferentes tipos de pH é algo que pode fornecer mais informações, pois além de ser observado acerca do papel dos constituintes fitoquímicos na redução da Ag<sup>+</sup>, a alteração do pH pode ser outro fator bastante importante. Dessa forma, o objetivo principal deste trabalho foi biossintetizar nanopartículas de prata utilizando diferentes pH do extrato aquoso de *Azadirachta indica* (nim indiano).

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Coleta do material vegetal**

Os galhos verdes com as folhas de nim indiano foram coletados dentro da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Campus Caxias, no mês de novembro do ano de 2024. A árvore está localizada próxima ao Laboratório de Pesquisa em Química e Materiais (LAPEQUIM).

## 2.2 Preparação do extrato

As folhas verdes foram lavadas com água deionizada com o intuito de remoção de possíveis sujeiras que poderiam estar presentes no material vegetal. Após ficarem secas, pesou-se 2 g das folhas verdes e foram adicionadas em 200 mL de água deionizada em um béquer de 1000 mL e, em seguida, o béquer foi colocado sobre a chapa de aquecimento e permaneceu durante um período de 15 minutos em fervura na temperatura de 90 °C. O extrato aquoso então obtido foi filtrado e ficou em descanso até atingir a temperatura ambiente. Para a neutralização do extrato de nim, utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de 0,1 mol/L. Foram preparadas 4 (quatro) soluções do extrato com pH básico (8, 9, 10 e 11). O aparelho utilizado no ajuste foi um pHmetro de bancada Modelo Q400AS (Quimis) e os produtos finais foram armazenados em frascos de vidro e guardados sob refrigeração para posterior continuação da pesquisa.

## 2.3 Biossíntese das nanopartículas de prata

Para sintetizar as nanopartículas de prata, três erlenmeyers foram colocados em um agitador magnético múltiplo aquecedor com 100 mL de solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) à concentração de 1 mM, sob agitação constante de 800 rpm e a temperatura de 90 a 100 °C. Ao observar que as soluções começaram a evaporar em cada erlenmeyer, adicionou-se 5 mL dos extratos aquosos de nim. Nesse mesmo instante, as soluções passaram a mudar de coloração. E foram deixadas apenas sob agitação, quando atingiram temperatura ambiente foram armazenadas em frascos e guardadas sob refrigeração.

## 2.4 Caracterização UV-Vis

A confirmação das nanopartículas de prata sintetizadas foi realizada pela Espectroscopia Ultravioleta Visível (UV-Vis). Além disso, os extratos aquosos, assim como os de diferentes pH, foram caracterizados, para serem obtidas mais informações. As análises foram realizadas utilizando o equipamento espectrofotômetro UV-Vis N6000PLUS com faixa de 190 a 1100 nm, duplo feixe, e as cubetas utilizadas foram de quartzo, volume de 3.5 mL.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

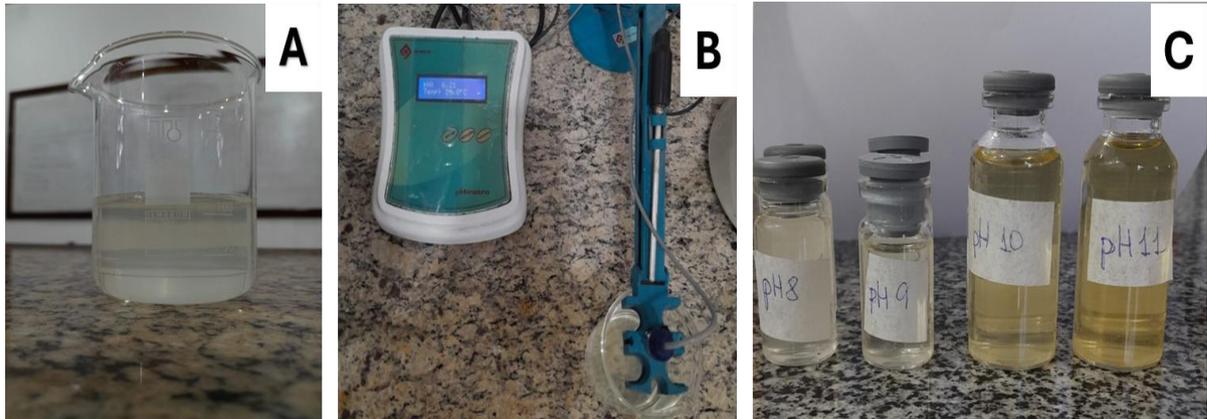
## 3.1 Extrato aquoso de *Azadirachta indica*

O extrato aquoso das folhas verdes obtido apresentou uma coloração de amarelo esverdeado. Ao medir o pH, foi observado 6,21, e isso indica quase um caráter neutro (Figura 1a e 1b). Durante o ajuste de pH do extrato, foi observada uma mudança gradual de coloração

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

(Figura 1c) para as quatro soluções à medida que se adicionava a solução de hidróxido de sódio à concentração de  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , e ela foi essencial para ajustar o pH do extrato, pois no primeiro teste com uma mesma solução de  $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$  causou um pouco de dificuldade, o que pode sugerir que soluções de neutralização com alta concentração ocasionam desperdício de extrato e também de reagente.

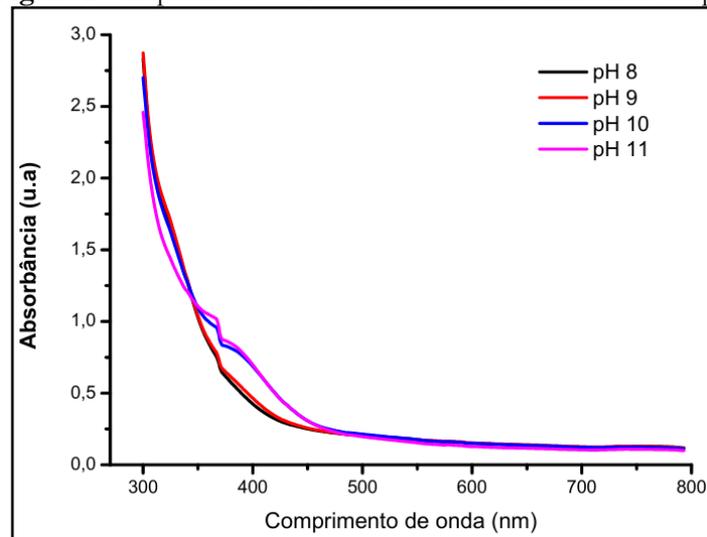
**Figura 1 – A)** Extrato aquoso das folhas verdes, **B)** Medição do pH e **C)** Extratos com os diferentes pHs.



Fonte: Autores, 2024.

Conforme Ousman (2025), por meio da triagem fitoquímica realizada com o extrato aquoso das folhas de *Azadirachta indica*, foi observada a presença com alto teor de polifenóis e flavonoides, o extrato também apresentou médio e baixo teores de terpenoides, taninos e carboidratos. As estruturas desses compostos fitoquímicos apresentam muitos átomos de oxigênio, carbono e nitrogênio. Na análise UV-Vis, o extrato não apresentou bandas de absorção. Porém, à medida que o extrato passou a ter a variação do pH de 8 a 11, pôde-se observar o surgimento das bandas de absorção próximas ao comprimento de onda em 360 a 400 nm (pH 10 e 11). De acordo com Martinho (1994) e Guzmán (2022), essas bandas podem estar relacionadas a transições eletrônicas  $n \rightarrow \sigma^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$  que ocorrem em ligações  $C=O$  e  $C=C-C=C$ .

Figura 2 – Espectro UV-Vis do extrato sobre a influência do pH.

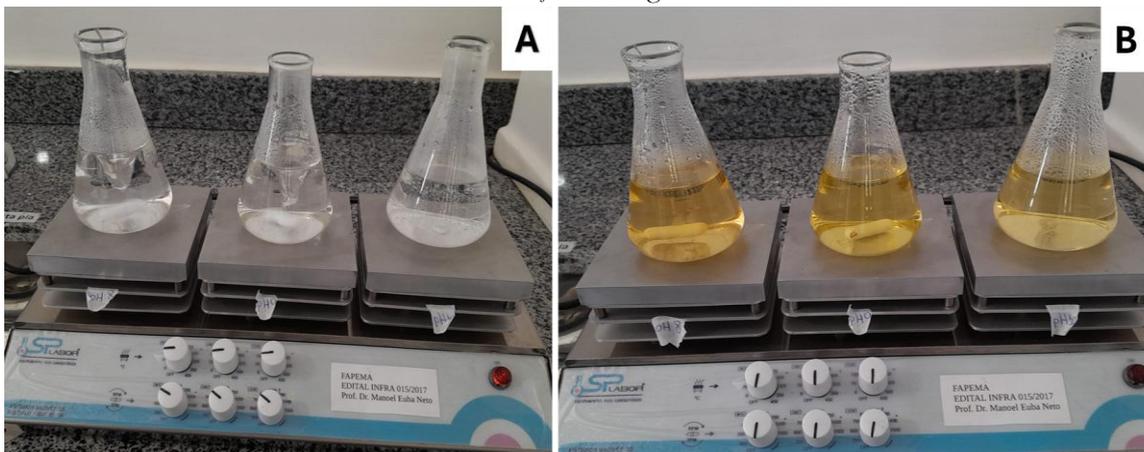


Fonte: Autores, 2024.

### 3.2 Nanopartículas de prata biossintetizadas

Foi observado que, durante a biossíntese das nanopartículas de prata, ao adicionar os extratos de nim na solução de nitrato de prata, houve uma mudança de coloração nas soluções que, no início estavam incolores e, após a presença do extrato, apresentaram diferentes colorações (Figura 3). Na literatura, esse indicativo é uma confirmação de que houve a redução dos íons de prata ( $\text{Ag}^+$ ) para a escala nanométrica. Os resultados corroboram com os observados por Moges e Misskire (2025), que ao sintetizar nanopartículas de prata usando extrato de folhas de *Sida schimperiana* observaram a variação de coloração que partiu de amarelo claro para marrom escuro. Semelhantemente, Liaqat *et al.* (2022) também observaram alteração de cor durante a síntese de AgNPs.

Figura 3 – Mudança de coloração da solução de  $\text{AgNO}_3$ . **A)** Soluções incolores de  $\text{AgNO}_3$  e **B)** Formação das AgNPs.

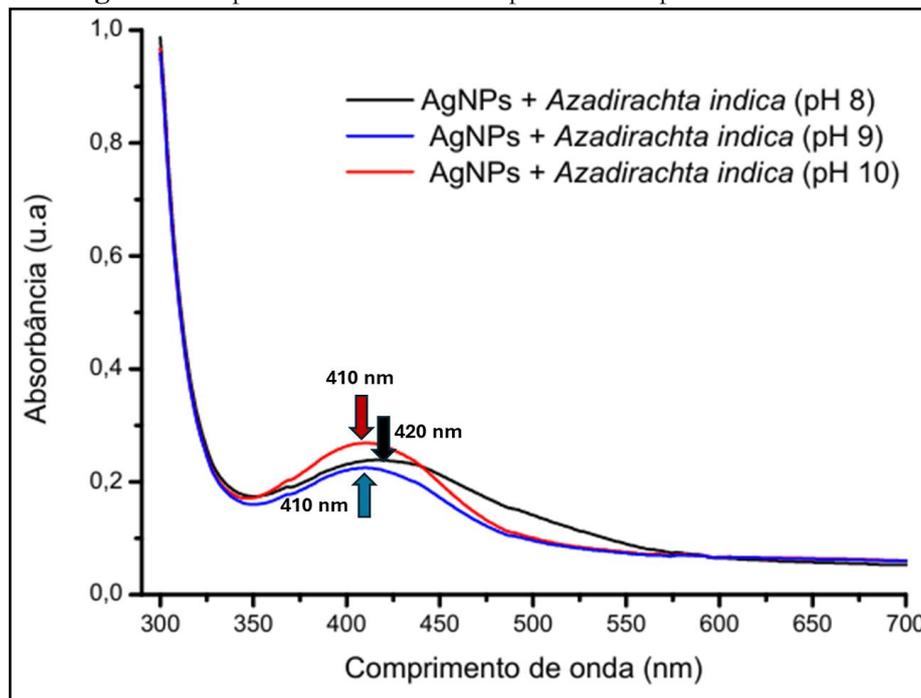


Fonte: Autores, 2024.

Além da mudança de cor da solução de  $\text{AgNO}_3$ , indicando a redução dos íons de  $\text{Ag}^+$ , a técnica de Espectroscopia Ultravioleta-Visível é imprescindível na caracterização das nanopartículas metálicas (por exemplo, ouro ou prata). Essa técnica permite observar, por meio do espectro eletrônico UV-Vis, a banda de absorção com comprimento de onda máximo em nanômetro (nm), e isso devido ao fenômeno de Ressonância Plasmônica de Superfície (SPR) que explora a geração de ondas eletromagnéticas (plasmons). Quando o feixe de luz é incidido e absorvido em um determinado comprimento de onda, resulta então em uma banda de absorção, e as nanopartículas de prata possuem essa característica, por isso absorvem entre 350 a 450 nm.

A nanopartículas sintetizadas apresentaram bandas de absorção entre 350 a 500 nm. Observa-se que as bandas de absorção mudaram à medida que o pH aumentou. As AgNPs sintetizadas com o extrato de pH 8 apresentou banda de absorção mais larga em 420 nm (Figura 4). Esse resultado corrobora com os achados de Khan *et al.* (2024), que sintetizaram nanopartículas de prata com extrato de *Callistemon viminalis* (escova-de-garrafa) e também observaram uma banda em 420 nm. Elsaftany *et al.* (2025) obtiveram AgNPs com uma banda de absorção de 420 nm.

Figura 4 – Espectro UV-Vis das nanopartículas de prata biossintetizadas.



Fonte: Autores, 2024.

As AgNPs com *Azadirachta indica* pH 9 e 10 (Figura 4) apresentaram bandas de absorção em 410 nm, porém, nota-se que mesmo a concentração de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) sendo igual, ou seja, de 1 mM, houve um aumento na absorbância, na qual o pH 10 tem aproximadamente 0,3

(u.a), o que confirma com Sousa *et al.* (2024) e Corciova *et al.* (2024) que quanto maior for a absorvância, mais nanopartículas foram formadas. Dessa forma, o extrato com pH 10 indica que foram produzidos mais AgNPs. Conforme Alharbi, Alsubhi e Felimban (2022), a presença dos grupos OH nos constituintes fitoquímicos atua na redução e estabilização dos íons de Ag<sup>+</sup>.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível, pelo método proposto, sintetizar as nanopartículas de prata utilizando os diferentes pHs (8, 9 e 10) dos extratos aquosos de nim indiano, o que indica o seu excelente potencial. Além disso, também ficou evidente que o pH 10 do extrato, mas em especial, o pH citado, possui grande potencial na síntese de AgNPs.

O estudo sugere que também é necessário o uso de outras técnicas, como por exemplo Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para visualização da morfologia das AgNPs sintetizadas, além da Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR) para observação dos espectros com picos de estiramentos, que são atribuídos aos grupos funcionais presentes no extrato do nim indiano, que podem estar atuando na redução dos íons metálicos de prata.

#### REFERÊNCIAS

- ABDELLATIF, A. A. H *et al.* Explorando a síntese verde de nanopartículas de prata usando extratos naturais e seu potencial para o tratamento de câncer. **Biotecnologia**, v. 14, n. 274, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-024-04118-z>
- ALHARBI, N. S.; ALSUBHI, N. S.; FELIMBAN, A. I. Síntese verde de nanopartículas de prata usando plantas medicinais: caracterização e aplicação. **Revista de Pesquisa em Radiação e Ciências Aplicadas**, v. 15, n. 3, p. 109-124, 2022. DOI://[doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012](https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012)
- ALI, M. A *et al.* Avanços na síntese de nanopartículas metálicas baseadas em plantas e micróbios e sua atividade antimicrobiana contra patógenos vegetais. **Nanomateriais**, v. 10, n. 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano10061146>
- ALSAIARI, N. S *et al.* Abordagens vegetais e microbianas como métodos verdes para a síntese de nanomateriais: síntese, aplicações e perspectivas futuras. **Moléculas**, v. 28, n. 1, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28010463>
- ASSUNÇÃO, M. A. S *et al.* Síntese verde de nanopartículas de prata derivadas de algas e suas propriedades larvicidas para o controle do *Aedes aegypti*. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 15, p. 1566-1575, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3762/bjnano.15.123>
- CORCIOVA, A *et al.* Síntese biogênica de nanopartículas de prata mediada por *Aronia melanocarpa* e sua avaliação biológica. **Vida Basileia**, v. 14, n. 9, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/life14091211>

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

DUBEY, R. K.; SHUKLA, S.; HUSSAIN, Z. Síntese verde de nanopartículas de prata: uma abordagem sustentável com diversas aplicações. **Chinese Journal of Applied Physiology**, 39, e20230007, 2023. DOI: <https://doi.org/10.62958/J.CJAP.2023.007>

ELSAFFANY, A. H *et al.* Síntese verde de nanopartículas de prata usando extrato de casulo de *Bombyx mori* L.: potencial terapêutico em aplicações antibacterianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e antimurais. **BMC Biotecnologia**, v. 25, n. 38, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12896-025-00971-9>

GUZMÁN, D. G. **Estudo das biomoléculas do Capsicum Annuum via UV-Vis, PAS e TDDFT**. 2022. 118f. Dissertação (Mestrado em Física). Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2022.

KHAN, S. *et al.* Síntese verde de nanopartículas de prata e ouro em extratos de *Callistemon viminalis* e suas atividades antimicrobianas. **Engenharia de Bioprocessos e Biosistemas**, v. 47, p. 1197-1211, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00449-024-02994-6>

KONAPPA, S. *et al.* Síntese de nanopartículas de prata usando extratos de folhas de *Amomum nilgiricum*: preparação, caracterização físico-química e efeito benéfico contra linhagens de células cancerígenas humanas. **Citotecnologia**, v. 77, n. 16, 2025.

LIAQT, N. *et al.* Nanopartículas de prata sintetizadas em verde: otimização, caracterização, atividade antimicrobiana e estudo de citotoxicidade por ensaio de hemólise. **Fronteiras em Química**, v. 10, 2022.

MARTINHO, J. M. G. Espectroscopia de absorção no ultravioleta e visível. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 52, n. 3, 1994.

MOGES, W.; MISSKIRE, Y. Síntese verde, caracterização e atividades antibacterianas de nanopartículas de prata usando extrato de folhas de *Sida schimperiana* Hochst. ex A. Rich (*Chifrig*) Hochst. **Discover materials**, v. 5, n. 34, 2025.

OUSMAN, B. M *et al.* Primeira investigação de triagem fitoquímica, caracterização por HPLC-MS e atividade antibacteriana de extratos de flores de *Azadirachta indica* A. Juss (Mim ou Neem), cultivadas na República do Chade. **Comunicações de produtos naturais**, v. 20, n. 2, 2025.

RANE, A. V. *et al.* Métodos para síntese de nanopartículas e fabricação de nanocompósitos. **Síntese de nanomateriais inorgânicos**, p. 121-139, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101975-7.00005-1>

SHUMAIL, H. *et al.* Revisão sobre síntese verde de nanopartículas de prata por meio de plantas. **Distúrbios endócrinos, metabólicos e imunológicos - alvos de medicamentos**, v. 21, n. 6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871530320666200729153714>

SOUSA, D. M. R. *et al.* Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Cissus verticillata* L. (insulina vegetal). **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v. 16, n. 11, p. 01-14, 2024. DOI: <https://doi.org/10.55905/cuadv16n11-118>

# CAPÍTULO 7

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO FOLIAR DE *Cestrum axillare* Vell. SOBRE TRÊS FITOPATÓGENOS DO CACAUEIRO

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LEAF EXTRACT OF *Cestrum axillare* Vell. ON THREE PHYTOPATHOGENS OF COCOA

**Henrique Brandão da Silva**   

Licenciado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-BA, Brasil

**Sônia Cristina Oliveira Melo**   

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-BA, Brasil

**Amanda Bastos Santana**   

Mestre em Biologia e Biotecnologia de Microrganismos pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-BA, Brasil

**Cristina Pungartnik**   

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-BA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.865 

**Resumo:** O cultivo do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L), desenvolvido no Sul da Bahia é prejudicada por várias doenças causadas por microrganismos. Dentre esses, se destacam *Moniliophthora perniciosa*, *Ceratocystis cacaofunesta* e *Phytophthora palmivora*. Visto isso, este trabalho verificou a atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *C. axillare* contra esses três fitopatógenos. O extrato foi produzido colocando-se o pó resultante das folhas trituradas da planta para macerar em etanol 95%, por 24 horas, com filtragem posterior e evaporação do solvente em evaporador rotativo. Para testar a ação antimicrobiana do extrato foram usadas três concentrações do mesmo, no teste de inibição do halo de crescimento, em triplicata. Para isso, inicialmente adicionou-se 1 mL do extrato a 19 mL do meio de cultura, que foi vertido em uma placa de Petri. Após a solidificação, foi adicionado um disco de micélio do microrganismo no centro da placa. As placas foram incubadas em estufa a 25 °C e mediu-se o diâmetro do micélio quando o microrganismo do controle zero cobriu toda a superfície da placa. Para a análise estatística foram utilizados a análise de variância (ANOVA,  $\alpha = 0,05$ ) e o teste de TUKEY. Assim, observou-se que o extrato apresentou ação antimicrobiana e diminuiu significativamente o crescimento micelial dos três fitopatógenos, sendo o fungo *C. cacaofunesta* o mais sensível à sua ação, seguido de *M. perniciosa* e *P. palmivora*. Visto isso, é notável que o extrato foliar de *C. axillare* possui ação antimicrobiana específica e é um potencial fonte de moléculas antimicrobianas.

**Palavras-chave:** Bioprospecção. Solanaceae. Vassoura de bruxa. Bioatividade.

**Abstract:** Cocoa cultivation (*Theobroma cacao* L) in southern Bahia is affected by several diseases caused by microorganisms. Among these, *Moniliophthora perniciosa*, *Ceratocystis cacaofunesta* and *Phytophthora palmivora* stand out. In view of this, this study verified the antifungal activity of the extract of *C. axillare* leaves against these three phytopathogens. The extract was produced by placing the powder resulting from the crushed leaves of the plant to macerate in 95% ethanol for 24 hours, with subsequent filtration and evaporation of the solvent in a rotary evaporator. To test the antimicrobial action of the extract, three concentrations of the same were used in the growth halo inhibition test, in triplicate. For this, initially 1 mL of the extract was added to 19 mL of the culture medium, which was poured into a Petri dish. After solidification, a mycelium disk of the microorganism was added to the center of the dish. The plates were incubated in an oven at 25 °C and the diameter of the mycelium was measured when the zero control microorganism covered the entire surface of the plate. Analysis of variance (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) and the TUKEY test were used for statistical analysis. Thus, it was observed that the extract presented antimicrobial action and significantly reduced the mycelial growth of the three phytopathogens, with the fungus *C. cacaofunesta* being the most sensitive to its action, followed by *M. perniciosa* and *P. palmivora*. Given this, it is noteworthy that the leaf extract of *C. axillare* has specific antimicrobial action and is a potential source of antimicrobial molecules.

**Keywords:** Bioprospecting. Solanaceae. Witch's broom. Bioactivity.

## 1 INTRODUÇÃO

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.), membro da família Malvaceae, é uma planta nativa da região amazônica. Suas sementes possuem significativo valor econômico, pois são usadas na confecção de chocolate, manteiga e cosméticos (Ferraz; Cássio; Lucas, 2019). O cacau é produzido em cerca de 50 países tropicais, nos quais apresenta grande importância econômica, sendo fonte de renda para milhões de pequenos produtores rurais, que são responsáveis por

ofertarem 80 % da produção mundial de cacau (Lessa *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2020; Ferraz *et al.*, 2021; Espinal *et al.*, 2023).

No Brasil, a cacauicultura se expandiu no Sul da Bahia e a produção de sementes ganhou importância significativa, colocando o Brasil, no século 20, entre os maiores países produtores e exportadores de cacau do mundo (Aguiar; Pires, 2019; Carvalho, Soares Neto; Pinheiro, 2019). Nessa região, o cultivo do cacau se manteve próspero até os anos 1980, no final dos quais iniciou-se nas lavouras cacaueiras sul baianas uma grande crise, causada pela doença vassoura-de-bruxa (Ferraz; Cássio; Lucas, 2019). Essa enfermidade reduziu em 90 % o volume de grãos produzidos, o que desencadeou uma enorme crise socioeconômica, que deixou mais de 200 mil pessoas desempregadas (Aguiar; Pires, 2019).

Apesar do declínio na produção, a cacauicultura sul baiana ainda possui relevante participação na economia regional e mantém a Bahia como o maior produtor de cacau do país, com quase 60% das áreas de plantações nacionais (Carvalho; Soares Neto; Pinheiro, 2019).

A vassoura de bruxa está presente nos países produtores de cacau da América do Sul e Central, onde causa enormes danos socioeconômicos (Santos *et al.*, 2020; Ferraz *et al.*, 2021). É provocada pelo fungo basidiomiceto hemibiotrófico *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime Phillips-Mora, que infecta tecidos meristemáticos de botões florais, folhas jovens, brotos e frutos jovens (Ferraz; Cássio; Lucas, 2019). Após a infecção, inicia-se a sua fase biotrófica, na qual o fungo parasita os tecidos infectados e cresce entre as suas células. Posteriormente, a fase necrotrófica começa, onde o patógeno induz a morte tecidual e passa a se alimentar dos tecidos mortos (Santos *et al.*, 2023), nos quais gera basidiocarpos, que produzem e liberam milhões de basidiósporos infectantes (Ferraz; Cássio; Lucas, 2019; Santos *et al.*, 2020).

Além da vassoura de bruxa, outra doença que ameaça a produção de cacau é a Murcha de *Ceratocystis* ou mal do facão, que nas lavouras sul baianas, causa perdas de até 30 % na produção (Paladines-Rezabala *et al.*, 2022). É causada pelo fungo ascomiceto *Ceratocystis cacaofunesta* Engelbrecht & Harrington, que penetra nas plantas por meio de feridas provocadas por ferramentas de manejo contaminadas por esporos, como o facão, ou por insetos vetores, especialmente *Xyleborus spp.*, que podem transportar esporos de árvores doentes para as saudáveis ao fazerem furos e penetrarem no tronco do cacau (Espinal *et al.*, 2023). Esse patógeno coloniza e causa a necrose do parênquima xilemático, o que impede a circulação de água e nutrientes no corpo da planta, gerando inicialmente a clorose e murchamento de suas folhas e por último a sua morte (Ramos-Lizardo *et al.*, 2023).

Um outro problema que também prejudica a cacauicultura mundial são as doenças causadas pelos microrganismos oomicetos do gênero *Phytophthora*. Dentre eles, a espécie mais

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

importante é *Phytophthora palmivora* (E. J. Butl.) E. J. Butler, pois é muito agressiva e apresenta distribuição pantropical, ocorrendo em todos os países produtores de cacau (Perrine-Walker, 2020). Esse microrganismo causa dois tipos de doença no cacau: a podridão parda e o cancro do caule. Nesta primeira enfermidade os sintomas são o aparecimento de manchas pretas ou marrons no fruto. Já no cancro do caule ocorre o aparecimento de feridas avermelhadas e úmidas neste órgão, às vezes, com escorrimento de um líquido de cor vermelho amarronzado das lesões (Lessa et al., 2020).

A podridão impacta mundialmente a produção de cacau. Sua presença em plantações contribui para a perda anual de cerca de 30% dos frutos e para a morte de 10% das plantas. No Sul da Bahia, sua ocorrência pode diminuir em até 80% a produção de frutos (Lessa et al., 2020). Além de *T. cacao*, *P. palmivora* pode infectar outras 200 espécies de plantas, dentre elas muitas de importância econômica, como coqueiro, abacaxi, mamão, laranja, limão, abacate, feijão, tomate, cebola, ervilha e dendê (Perrine-Walker, 2020).

Atualmente o controle químico disponível para controlar essas enfermidades ainda é pouco eficiente. *M. perniciosa*, por exemplo, é resistente aos principais grupos de fungicidas usados para combater fungos fitopatógenos, como os cúpricos e os azóis (Ferraz et al., 2021). Ademais, o uso de fungicidas desse tipo é pouco recomendado, visto que podem contaminar os frutos e sementes do cacau, utilizadas na indústria alimentícia e prejudicar a saúde humana e o meio ambiente, por meio da contaminação de corpos d'água e do solo, por exemplo. A sua utilização em demasia também contribui para aumentar a ocorrência de fitopatógenos resistentes (Mdee; Masoko; Eloff, 2009; Valencia-Mejía et al., 2022).

Além disso, no Sul da Bahia, onde o cultivo do cacau se desenvolve em um sistema agroflorestal tradicional, denominado cabruca, o uso de agroquímicos sintéticos é mais prejudicial, pois por apresentarem ação de amplo espectro podem afetar e desequilibrar o microbioma dessas áreas e as relações ecológica estabelecidas entre eles os demais seres (Gomes et al., 2014). Diante disso, surge a necessidade de se descobrir novos agentes antifúngicos eficientes contra esses fitopatógenos resistentes, de baixa toxicidade e com pouco impacto ambiental (Mdee; Masoko; Eloff, 2009).

Dessa forma, uma alternativa menos nociva que pode ser empregada para combater microrganismos fitopatógenos é a utilização de produtos naturais derivados de vegetais; que produzem uma enorme variedade de compostos, que ao longo da História têm sido usados contra micróbios causadores de doenças em animais e plantas (Valencia-Mejía et al., 2022). Esses fitoquímicos podem ser isolados e utilizados para originar novos fungicidas comerciais. Essas moléculas possuem a vantagem de serem rapidamente biodegradadas quando liberados no meio

ambiente e de possuírem pouca ou nenhuma toxicidade, o que os torna menos prejudiciais para a saúde humana e ambiental (Mdee; Masoko; Eloff, 2009; Gomes *et al.*, 2014).

Um grupo de plantas que apresenta potencial relevante para ser usado como fonte de moléculas fungicidas são as do gênero *Cestrum*, da família Solanaceae, que é rico em compostos com propriedades antifúngicas, especialmente saponinas, produzidas pelos vegetais com a função de protegê-los contra patógenos microbianos e herbívoros, o que os caracteriza como boas opções para originar novos fungicidas comerciais (Ribeiro *et al.*, 2016a; Bahgat *et al.*, 2022).

Alguns estudos realizados com extratos e substâncias isoladas de *Cestrum spp.* verificaram que esses apresentaram atividade antifúngica contra patógenos de plantas e animais. Extratos de *C. nocturnum* apresentaram ação contra os fitopatógenos *Fusarium kuroshium* e *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum capsici* e *Candida albicans* (Al-reza *et al.*, 2010; Valencia-Mejía *et al.*, 2022; Naynika; Nirali; Mohan, 2023). Saponinas isoladas de *C. elegans* apresentaram atividade contra *Candida albicans* e *Aspergillus niger* (Nasr *et al.*, 2021).

Dentre as espécies de *Cestrum* que ocorrem no Brasil, *C. axillare*, anteriormente denominada *C. laevigatum* Schlecht, se destaca como uma rica fonte de extratos e saponinas antifúngicas. Essa planta é um arbusto que atinge até 2 m de altura e popularmente é conhecido como coerana, quarana, dama da noite, canema ou baúna. É nativa da América do Sul e ocorre nas regiões Sudeste, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil (Ubiali *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2016a).

Ensaio realizados com essa planta constataram que extratos de suas folhas possuem ação contra os fitopatógenos *F. oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *P. nicotiana*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Penicillium expansum* (Mdee; Masoko; Eloff, 2009). Ademais, saponinas isoladas das suas folhas, caules e raízes apresentaram ação contra as leveduras *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* (Ribeiro *et al.*, 2016a; Ribeiro *et al.*, 2016b).

Visto isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *C. axillare* e contra os fitopatógenos do cacauero *Moniliophthora perniciosa*, *Ceratocystis cacaofunesta* e *Phytophthora palmivora*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta do material vegetal

A coleta da folha da espécie *Cestrum axillare* foi feita no campus Soane Nazaré de Andrade da Universidade Estadual de Santa Cruz, cidade de Ilhéus, Bahia. Um ramo fértil foi coletado, herborizado e depositado no Herbário (HUESC) desta mesma universidade, sob o número de registro 26051.

## 2.1 Preparação do extrato

A preparação do extrato foi adaptada a partir de Osukoya *et al.* (2019). Após a coleta, as folhas foram lavadas em água corrente e depois enxaguadas com água destilada. Em seguida, elas foram deixadas na estufa, na temperatura de 40 °C, durante 2 dias. Terminada essa etapa, as folhas foram moídas em um liquidificador comercial. A seguir, pesou-se 100 g do pó, que sofreu maceração em 500 ml de etanol 95% (v/v) durante 24 horas, em temperatura ambiente. Por fim, o solvente foi evaporado com o uso de um evaporador rotativo sob pressão e de uma estufa B.O.D, ambos a 40 °C. Assim, obteve-se um extrato pastoso de coloração verde escuro e odor forte.

## 2.3 Avaliação da atividade antimicrobiana por meio do teste de inibição do halo de crescimento

Os testes foram realizados em triplicata, em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e repetido por três vezes. O extrato foi solubilizado em solução veículo: *tween* 1% + DMSO 10% para os ensaios com *C. cacaofunesta* e *P. palmivora* e em etanol 20% para *M. pernicioso*. Para os tratamentos, 1 ml do extrato foi adicionado à 19 ml de meio de cultura fundido (ágar batata dextrose para *M. pernicioso*, ágar cenoura para *P. palmivora* e ágar batata para *C. cacaofunesta*). Para o controle zero usou-se apenas meio de cultura e para o negativo utilizou-se 1 ml da solução veículo adicionada em 19 ml do meio de cultura. Após a solidificação do meio nos controles e tratamentos, um disco de 0,8 cm de diâmetro do micélio do microrganismo foi adicionado no centro das placas. Estas foram incubadas em temperatura ambiente (25±1 °C). *P. palmivora* foi mantido sob a luz de uma lâmpada fluorescente. A medição do diâmetro do halo de crescimento foi realizada quando o micélio dos microrganismos do controle zero cobriu toda a área da placa.

Com base nos valores obtidos, a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi calculada com a equação abaixo:

$$PIC = \left[ \left( \frac{\text{Diâmetro do controle zero} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro do controle zero}} \right) \right] \times 100 \text{ (equação 1).}$$

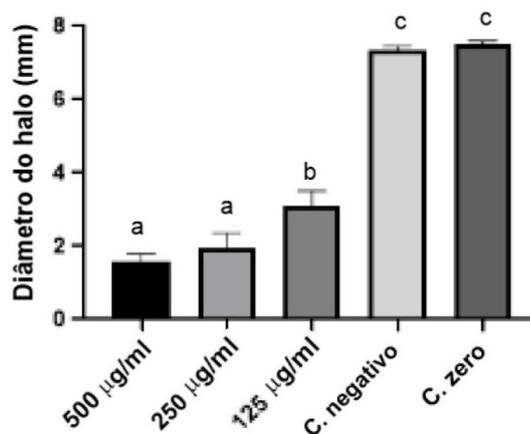
Para averiguar se havia diferença significativa entre os valores de diâmetro do halo de crescimento dos controles e tratamentos utilizou-se a análise de variância (ANOVA,  $\alpha = 0,05$ ) e o teste de TUKEY. Estas análises foram feitas no programa GraphPad Prism 8.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos bioensaios realizados observou-se que o extrato foliar de *C. axillare* apresentou ação antimicrobiana e diminuiu significativamente o crescimento micelial dos três fitopatógenos do cacauero.

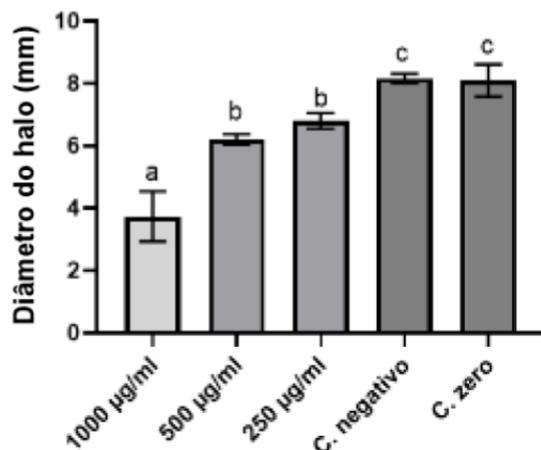
O fungo *C. cacaofunesta* foi o patógeno mais sensível à ação do extrato, sendo dentre todos os microrganismos o que sofreu a maior redução do crescimento. Seu desenvolvimento foi inibido até mesmo na menor dose (125 µg/ml) utilizada nos experimentos (Figura 1). *M. perniciososa* também foi altamente suscetível à ação do extrato e nas três doses testadas o extrato conseguiu diminuir o crescimento do seu micélio (Figura 2). Já *P. palmivora* foi o mais resistente à atividade do extrato e seu crescimento foi afetado apenas por duas (1000 e 500 µg/ml) das três concentrações usadas (Figura 3).

**Figura 1** - Efeito in vitro do extrato foliar de *C. axillare* no crescimento micelial de *C. cacaofunesta*. Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).



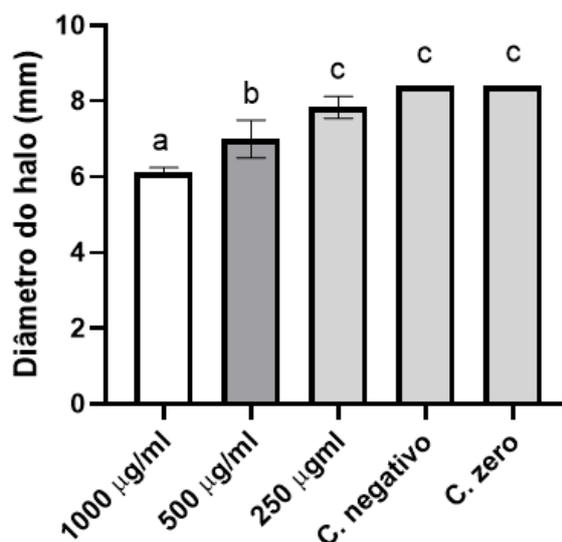
Fonte: Autores, 2025.

**Figura 2** - Efeito in vitro do extrato foliar de *C. axillare* no crescimento micelial de *M. perniciososa*. Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).



Fonte: Autores, 2025.

**Figura 3** – Efeito in vitro do extrato foliar de *C. axillare* no crescimento micelial de *P. palmivora*. Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).



Fonte: Autores, 2025.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) foi determinada a partir dos valores do diâmetro micelial dos tratamentos e do controle zero. Venturoso *et al.* (2011), consideram que extratos vegetais apresentam alta atividade antimicrobiana e antifúngica quando geram  $PIC \geq 50\%$ . Desse modo, o extrato foliar de *C. axillare* exibiu alta atividade contra o fungo *C. cacaofunesta*, em todas as concentrações testadas, e contra *M. pernicioso*, apenas na dose de 1000 µg/ml. Contra o oomiceto *Phytophthora palmivora*, o extrato não mostrou alta atividade antimicrobiana em nenhuma das concentrações utilizadas (Tabela 1).

**Tabela 1** – Porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) dos fitopatógenos submetidos a diferentes concentrações do extrato foliar de *C. axillare*.

Concentração (µg/ml)	Microrganismos		
	<i>Monilophthora pernicioso</i>	<i>Ceratocystis Cacaofunesta</i>	<i>Phytophthora Palmivora</i>
1000	54 ± 9,90 a	-	27,18 ± 1,5 a
500	23,5 ± 2,13 b	78,67 ± 2,67a	16,67 ± 5,95 b
250	16 ± 3,26 b	74,22 ± 5,55a	6,75 ± 3,44b
125	-	58,67 ± 5,33b	-

Nota: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade; - Concentração não testada.

Fonte: Autores, 2025.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

A atividade antimicrobiana do extrato de *C. axillare* pode estar relacionada com a presença de saponinas em sua constituição. Essas substâncias são glicosídeos, formados por uma molécula de açúcar, denominada glicona, de natureza polar, ligada a uma cadeia de carbono esteroidal ou triterpênica, chamada de sapogenina ou aglicona, que é apolar (Alrabayah *et al.*, 2023). Por conta disso, são anfifílicas e possuem propriedades surfactantes e emulsificantes (Bahgat *et al.*, 2022).

Elas costumam exibir forte atividade antifúngica, decorrente de sua interação com componentes da membrana plasmática das células fúngicas, especialmente com o ergosterol. Por conta disso, ocorre o surgimento de poros e a deformação da membrana, que gera o extravasamento do conteúdo citoplasmático e resulta na morte ou funcionamento anormal das células (Valencia-Mejía *et al.*, 2022).

Algumas pesquisas com *C. axillare* já demonstraram que essa espécie apresenta diversas saponinas com ação antifúngica nos seus órgãos. Ribeiro *et al.* (2016a), isolaram das folhas dessa planta a saponina esteroidal formosina C, que apresentou ação contra as leveduras patogênicas *C. albicans* e *C. parapsilosis*, com IC<sub>50</sub> (concentração que inibe 50% do crescimento fúngico) de 1,9 e 3,2 µg/mL, respectivamente. Percebe-se, a partir disso, que as folhas de *C. axillare* possuem um composto com potente atividade antifúngica, que possivelmente colabora com o efeito antimicrobiano do extrato relatado neste estudo.

Também foram isoladas do seu caule duas saponinas esteroidais, ocorrendo na forma de misturas epiméricas, que apresentaram ação antifúngica contra *Candida spp.* Os compostos (25 R, S)-5α-spirostan-2α,3β-diol 3-O-β-D-glucopiranosil-(1→4)-β-D-galactopiranosil-(1→4)-β-D-galactopiranosídeo foram ativos contra *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. albicans*, apresentando, respectivamente IC<sub>50</sub> de 125, 7,0 e 3,9 µg/mL. Já a mistura (25R, S)-5α-espirostan-2α,3β-diol 3-O-β-D-galactopiranosídeo exibiu ação apenas contra *C. krusei* e *C. albicans*, com IC<sub>50</sub> de 31,2 e 7,0 µg/mL, respectivamente (Ribeiro *et al.*, 2016a).

Das suas raízes também isolou-se a saponina esteroidal epimérica (25 R, S)-5α-espirostan-2α,3β-diol 3-O-β-D-glucopiranosil-(1→2)-α-L-ramnopiranosil-(1→4)-β-D-galactopiranosídeo que também apresentou ação contra essas três espécies de *Candida*, com IC<sub>50</sub> de 7,8, 125 e 7,8 µg/mL, respectivamente (Ribeiro *et al.*, 2016b).

Corroborando os resultados deste trabalho, extratos brutos de *C. axillare* já se mostraram com relevante atividade antimicrobiana contra fitopatógenos importantes. O seu extrato foliar acetônico exibiu ação contra *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Phytophthora nicotiana*, *Colletotrichum gloeosporioides*, e *Penicillium expansum*, com as seguintes concentrações inibitórias mínimas (CIM): 0,27, 1,67, 0,27, 0,37, 0,21, 0,64, 0,08 e 0,32 mg/ml, respectivamente. O extrato de suas flores também mostrou ação contra esses microrganismos,

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

apresentando, respectivamente, estas CIMs: 0,53, 2,08, 0,32, 0,53, 0,43, 1,05, 0,27 e 0,53 mg/ml (Mdee; Masoko; Eloff, 2009).

Além de *C. axillare* outras plantas do gênero *Cestrum* se destacam por apresentarem extratos e saponinas antimicrobianas. Esses compostos são produzidos para proteger os órgãos vegetais da predação e do ataque de patógenos e são apontadas como as principais responsáveis pela bioatividade observada em diversas espécies de *Cestrum* (Bahgat et al., 2022). Vários estudos já avaliaram a ação antifúngica de extratos de plantas do gênero *Cestrum* e encontraram resultados relevantes, alguns dos quais apontam que as saponinas são as principais responsáveis pela ação contra os fungos e oomicetos.

Al-reza et al. (2010), avaliou a ação antifúngica do óleo essencial e extratos orgânicos das flores de *Cestrum nocturnum*. O óleo apresentou ação contra todos os fitopatógenos usados, inibindo o crescimento micelial, na concentração de 1000 ppm, de *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum capsici*, em 80,6%, 80,5%, 70,6%, 69,7%, 66,2%, 63,6% e 59,2%, respectivamente. O extrato metanólico também exibiu ação contra todos os patógenos, com as seguintes porcentagens de inibição do crescimento: 68,4%, 72,1%, 76,3%, 78,9%, 75,2%, 67,0% e 68,4%, respectivamente.

O extrato foliar de *Cestrum schlechtendablii* G. Don apresentou ação antifúngica contra dois patógenos de humanos: *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*. Uma saponina esteroidal, isolada desse extrato, também apresentou ação sobre esses dois fungos e contra o fitopatógeno *Fusarium graminearum* (Ta et al., 2016). Outro trabalho relata que foram isoladas das flores de *Cestrum elegans* duas saponinas esteroidais; uma saponina triterpênica e um flavonóide: Quercetin 3-Oneohesperidoside. Todos apresentaram atividade contra os fungos *C. albicans* e *Aspergillus niger* (Nasr et al., 2021).

Já o extrato metanólico das folhas e caule de *C. nocturnum*, sua fração n-butanólica e as subfrações desta apresentaram alta atividade contra os fungos *Fusarium kuroshium* e *F. solani*, causadores de doenças em cerca de 300 espécies vegetais. A saponina esteroidal pennogenina tetraglicosídeo, destacada como a principal molécula antifúngica, também foi isolada desse extrato e apresentou excelente ação fungicida contra *F. kuroshium*, com 100% de inibição do crescimento micelial na dose de 0,2 mg/mL (Valencia-Mejía et al., 2022). Ainda sobre essa espécie, Naynika, Nirali e Mohan (2023) observaram que os extratos aquosos e metanólico das suas folhas também apresentaram ação contra *Candida albicans*.

Visto isso, nota-se que as espécies do gênero *Cestrum*, especialmente *C. axillare*, possuem muitas saponinas com propriedades antimicrobianas nos seus órgãos e têm grande potencial para

originar novos produtos fungicidas, úteis para combater fitopatógenos que afetam culturas de importância econômica e microrganismos que provocam doenças em humanos e animais.

Os resultados encontrados neste trabalho reforçam ainda mais esse potencial e abrem espaço para a realização de novas pesquisas que poderão descobrir moléculas antimicrobianas menos nocivas à saúde do ser humano e ao meio ambiente, com ação contra os fitopatógenos *Moniliophthora perniciosa*, *Ceratocystis cacaofunesta* e *Phytophthora palmivora*.

#### 4 CONCLUSÃO

O extrato foliar de *Cestrum axillare* apresentou ação antimicrobiana contra os fitopatógenos do cacauero *Moniliophthora perniciosa*, *Ceratocystis cacaofunesta* e *Phytophthora palmivora*. Isso demonstra que esta planta nativa da flora brasileira pode ser a fonte de novos compostos antimicrobianos. Recomenda-se, assim, a realização de novos estudos com essa espécie, com o intuito de isolar moléculas antimicrobianas e testar a sua ação *in vivo* e *in vitro* contra esses e outros microrganismos de importância agrícola e médica.

#### REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P. C. B.; PIRES, M. M. A região cacaueira do sul do estado da Bahia (Brasil): crise e transformação. **Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 192-208, 2019. DOI: 10.15446/rcdg.v28n1.67437
- AL-REZA, S. M. *et al.* Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 2, p. 86-92, 2010. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.09.005
- ALRABAYAH, I. N. *et al.* Genus *Cestrum* therapeutic potential: An updated review of its phytochemical, pharmacological, and morphological features. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 375-393, 2024. DOI: 10.21608/ejchem.2023.214022.8048
- BAHGAT, D. M. *et al.* Biologically Active Saponins of Genus *Cestrum* L.: A Comprehensive Review. **Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 98-113, 2022. DOI: 10.21608/aps.2022.129734.1085
- CARVALHO, J. I. C.; SOARES NETO, H. F.; PINHEIRO, L. I. F. Da Vassoura-de-Bruxa à Fazenda de Chocolate: A Reconversão Produtiva no Sul da Bahia. **Desenvolvimento em Questão**, v. 18, n. 53, p. 245-265, 2020.
- ESPINAL, R. B. A. *et al.* Uncovering a complex virome associated with the cacao pathogens *Ceratocystis cacaofunesta* and *Ceratocystis fimbriata*. **Pathogens**, v. 12, n. 2, p. 287, 2023. DOI: 10.3390/pathogens12020287

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

- FERRAZ, P.; CÁSSIO, F.; LUCAS, C. Potential of yeasts as biocontrol agents of the phytopathogen causing cacao witches' broom disease: is microbial warfare a solution?. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 10, p. 1766, 2019. DOI:10.3389/fmicb.2019.01766
- FERRAZ, P. *et al.* Moniliophthora pernicioso, the causal agent of cacao witches' broom disease is killed in vitro by Saccharomyces cerevisiae and Wickerhamomyces anomalus yeasts. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 706675, 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.706675
- GOMES, L. H. *et al.* Alpha-Tomatina against Witches' Broom Disease. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2014, 2014. DOI:10.4236/ajps.2014.55074
- LESSA, I. Z. V. *et al.* Morphology and aggressiveness of isolates of Phytophthora palmivora from cacao trees in Bahia state. **Summa Phytopathologica**, v. 46, p. 228-235, 2020. DOI: 10.1590/0100-5405/222473
- MDEE, L. K.; MASOKO, P.; ELOFF, J. N. The activity of extracts of seven common invasive plant species on fungal phytopathogens. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 2, p. 375-379, 2009. DOI: 10.1016/j.sajb.2009.02.003
- NASR, S. M. *et al.* Phytochemical investigation and differential effects of Cestrum elegans isolated compounds as antimicrobial and virucidal against hepatitis A virus. **Egyptian Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 64, n. 7, p. 3729-3738, 2021. DOI: 10.21608/ejchem.2021.71934.3581
- NAYNIKA, P.; NIRALI, P.; MOHAN, J. S. S. Antimicrobial activity and phytochemical screening of crude extract from selected medicinal plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 582-591, 2023. Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives/2023/vol12issue1/PartE/12-1-41-511.pdf>. Acesso em: 04 set. 2024.
- OSUKOYA, O. *et al.* In vitro anthelmintic and antioxidant activities of the leaf extracts of Theobroma cacao L. **Agriculture & Food**, [S. l.], v. 4, n. 3, 2019. DOI: 10.3934/agrfood.2019.3.568.
- PALADINES-REZABALA, A. *et al.* Avances en la comprensión de la interacción entre Ceratocystis cacaofunesta y Xyleborus ferrugineus (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) en árboles de cacao. **Scientia Agropecuaria**, v. 13, n. 1, p. 43-52, 2022. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8672872>. Acesso em: 01 out. 2024.
- PERRINE-WALKER, F. Phytophthora palmivora–cocoa interaction. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 3, p. 167, 2020. DOI: 10.3390/jof6030167
- RAMOS-LIZARDO, G. N. *et al.* A repertoire of candidate effector proteins of the fungus Ceratocystis cacaofunesta. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 16368, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-43117-7
- RIBEIRO, P. R. V. *et al.* New epimeric spirostanol and furostanol-type steroidal saponins from Cestrum laevigatum L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 12, p. 2170-2180, 2016b. DOI: 10.5935/0103-5053.20160109
- RIBEIRO, P. R. V. *et al.* Spirostanol glucosides from the leaves of Cestrum laevigatum L. **Steroids**, v. 106, p. 35-40, 2016a. DOI: 10.1016/j.steroids.2015.12.006

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

SANTOS, A. S. *et al.* State of the art of the molecular biology of the interaction between cocoa and witches' Broom disease: A systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 2, n. 6, p. 5684, 2023. DOI: 10.3390/ijms24065684

SANTOS, E. C. *et al.* The pathogen *Moniliophthora perniciosa* promotes differential proteomic modulation of cacao genotypes with contrasting resistance to witches broom disease. **BMC Plant Biology**, v. 20, p. 1-21, 2020. DOI: /10.1186/s12870-019-2170-7

TA, C. A. K. *et al.* Antifungal saponins from the maya medicinal plant *Cestrum schlechtendahl* G. Don (Solanaceae). **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 3, p. 439-446, 2016. DOI: 10.1002/ptr.5545

UBIALI, D. G. *et al.* *Cestrum axillare* (Solanaceae) poisoning in ruminants. **Toxicon**, v. 218, p. 76-82, 2022. DOI: 10.1016/j.toxicon.2022.09.005

VALENCIA-MEJÍA, E. *et al.* Isolation and identification of Pennogenin Tetraglycoside from *Cestrum nocturnum* (Solanaceae) and its antifungal activity against *Fusarium kuroshium*, causal agent of *Fusarium dieback*. **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 1860, 2022. DOI: 10.3390/molecules27061860

VENTUROSOSO, L. R. *et al.* Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18–23, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/sp/a/467B75SNCjvbxHGGXP6xH/?format=pdf>. Acesso em: 04 set. 2024.

# CAPÍTULO 8

## ANÁLISES E POTENCIAL DE *Ipomoea imperati*: PLANTA DE RESTINGA, PARA PAISAGISMO E PRESERVAÇÃO AMBIENTAL

### ANALYSIS AND POTENTIAL OF *Ipomoea imperati*: RESTINGA'S PLANT, FOR LANDSCAPING AND ENVIRONMENTAL PRESERVATION

**Jonilson Ribeiro Trindade**   

Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém-PA, Brasil

**João Ubiratan Moreira dos Santos**   

Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Pesquisador no Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), Coordenação de Botânica (COBOT), Belém-PA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.875 



**Resumo:** O presente estudo tem como objetivo analisar o potencial de *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb., uma espécie vegetal nativa de áreas de restinga no Estado do Pará e na Amazônia (e outros biomas), para uso no paisagismo e na conservação ambiental. A pesquisa foi motivada pela escassez de estudos sobre o desenvolvimento dessa planta em ambientes de restinga na Amazônia, que são ecossistemas ameaçados por atividades antrópicas. O trabalho foi desenvolvido por meio de revisão bibliográfica e observações de campo, abrangendo aspectos biométricos e funcionais da espécie. Adicionalmente, foram realizados testes de germinação sob condições controladas, visando avaliar seu desenvolvimento. Os resultados indicaram que *Ipomoea imperati* apresenta elevada resistência a condições adversas, como alta salinidade, escassez hídrica e baixa fertilidade do solo, características típicas das restingas. Sua capacidade de cobertura do solo e de controle da erosão foi confirmada, demonstrando seu papel essencial. Além disso, suas flores vistosas e facilidade de manejo reforçam seu valor como espécie ornamental para projetos de paisagismo sustentável. Conclui-se que, *Ipomoea imperati* possui grande potencial para ser integrada em estratégias de restauração de áreas degradadas (principalmente costeiras) e em projetos paisagísticos. O estudo ressalta a importância de ampliar pesquisas sobre espécies nativas, para promover práticas que conciliem a conservação da biodiversidade e uso sustentável de recursos naturais.

**Palavras-chave:** Amazônia. Biodiversidade. Costa.

**Abstract:** This study aims to analyze the potential of *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb., a native vegetal species from restinga areas in the state of Pará located in the Amazonia (and other biomes), for use in landscaping and environmental conservation. The research was motivated by the lack of studies on the development of this plant in restinga environments, ecosystems threatened by anthropogenic activities. The work was conducted through a bibliographic review and field observations, covering biometrical and functional aspects of the species. Additionally, germination tests were performed under controlled conditions to assess its development. The results indicated that *Ipomoea imperati* shows high resistance to adverse conditions, such as high salinity, water scarcity, and low soil fertility, which are typical characteristics of restinga ecosystems. Its ability to provide ground cover and control erosion was confirmed, highlighting its essential role. Furthermore, its attractive flowers and ease of management reinforce its value as an ornamental species for sustainable landscaping projects. It is concluded that *Ipomoea imperati* has significant potential to be integrated into strategies for restoring degraded areas and landscaping projects. The study highlights the importance of expanding research on native species, to promote practices that reconcile biodiversity conservation and sustainable use of natural resources.

**Keywords:** Amazonia. Biodiversity. Coast.

## 1 INTRODUÇÃO

A restinga é um ecossistema costeiro caracterizado por solo arenoso, alta salinidade e solo com baixa disponibilidade de nutrientes, e abrigando diversas espécies rústicas adaptadas a essas condições extremas (Lins *et al.* 2014; Santos; Bastos, 2014).

**Figura 1** – Restinga.

Fonte: Autores, 2024.

Dentro deste bioma, *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb. (Figura 2), conhecida popularmente como cipó-de-praia ou ipomea-branca, é uma planta nativa que se destaca por seu papel essencial na estabilização de dunas e proteção contra a erosão, além de sua beleza natural. No entanto, essa espécie ainda é pouco estudada em termos de germinação, desenvolvimento e aplicações práticas.

**Figura 2** – *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb.

Fonte: Autores, 2024.

Diante da crescente degradação das áreas de restinga causada por atividades humanas, como o descarte inadequado de resíduos, há uma necessidade urgente de iniciativas que conciliem conservação ambiental e sustentabilidade (Sales *et al.*, 2022). Estudos sobre espécies nativas de restinga, como *I. imperati*, são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre seu potencial de uso, tanto em projetos paisagísticos quanto em restauração ecológica (Freire; Mussi-Dias, 2019).

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

O presente estudo apresenta uma análise das características biométricas e germinativas de *I. imperati*, com base em dados coletados em campo, e através de experimento de germinação conduzido em ambiente controlado. Além disso, aborda a importância da sustentabilidade na pesquisa científica, com o uso de materiais recicláveis e da utilização de componentes naturais para o cultivo da espécie. Sendo assim, o estudo busca contribuir para o manejo sustentável dessa, e possivelmente de outras espécies nativas de restinga na Amazônia (e além), a fim de promover sua integração em estratégias de conservação e uso paisagístico.

O objetivo principal foi avaliar as características morfológicas, biométricas e a capacidade de germinação de *Ipomoea imperati*, visando seu potencial paisagístico e de acordo com parâmetros biométricos anteriormente avaliados em outras espécies vegetais na Amazônia (Gurgel *et al.*, 2014; Trindade *et al.*, 2021).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Caracterização da pesquisa

É caracterizada como pesquisa experimental, de abordagem quantitativa e qualitativa, realizada no contexto de restinga costeira no Pará, Amazônia, Brasil. Com dados obtidos a partir de coletas em campo (Figura 3), via técnicas tradicionais em botânica (Martins-da-Silva *et al.*, 2014).

Figura 3 – Coleta em campo de restinga.



Fonte: Autores, 2024.

### 2.2 Área de estudo

As amostras são provenientes da localidade da praia de Crispim, no município de Marapanim (Coordenadas 00°35'59"S 47°39'21"W). E, experimento de germinação (Figura 4), realizado utilizando substrato de areia proveniente de restinga e materiais recicláveis, e demais análises desenvolvidas no Campus de Pesquisa do Museu Paraense Emílio Goeldi (Coordenadas

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

01°27'05"S 48°26'37"W), seguindo metodologias estabelecidas para avaliação de germinação de espécies vegetais na Amazônia (Albuquerque, 1993; Gurgel, 2009; Trindade, 2022).

**Figura 4** – Experimento de germinação em *Ipomoea imperati*.



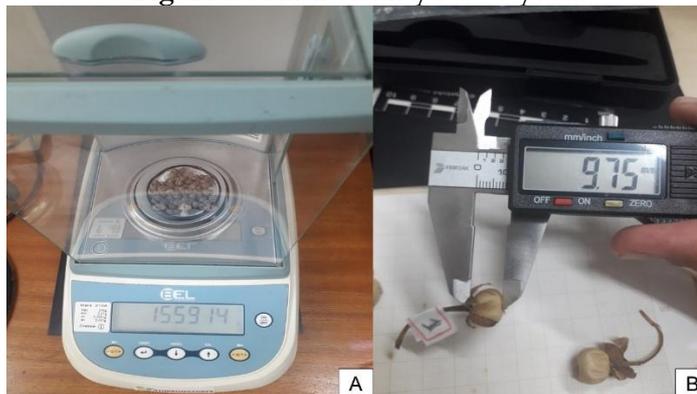
Fonte: Autores, 2024.

### 2.3 Metodologia da pesquisa

A metodologia incluiu as seguintes etapas:

Coleta de dados biométricos: Os frutos e sementes foram analisados (Figura 5) utilizando balança de precisão (Figura 5A) e paquímetro digital (Figura 5B), com registro das dimensões conforme normas do Ministério da Agricultura (Brasil, 2009a; Brasil, 2009b).

**Figura 5** – Análises em *Ipomoea imperati*.



Fonte: Autores, 2024.

Análise e interpretação dos dados: Foram utilizados em 100 copos plásticos (reciclados), preenchidos com areia de restinga, para avaliar a germinação, considerando conceito de germinação e demais terminologias adotadas pelo Ministério da Agricultura do Brasil (Brasil, 2009a; Brasil, 2009b). O monitoramento da germinação foi diário, durante período dos meses de agosto a setembro de 2024.

Figura 6 – Germinação em *Ipomoea imperati*.

Fonte: Autores, 2024.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados a seguir visam atender ao objetivo principal do estudo, que é avaliar as características biométricas, o comportamento germinativo, discutindo seu potencial paisagístico de *Ipomoea imperati*, uma espécie de restinga nativa no Estado do Pará. A seguir, apresentam-se os resultados obtidos nas diferentes etapas da pesquisa, juntamente com uma discussão fundamentada em literatura científica relevante.

#### 3.1 Características biométricas de frutos e peso de mil sementes

As sementes e frutos de *Ipomoea imperati* foram analisados quanto às suas dimensões, onde apresentaram para determinação os valores médios de: comprimento do fruto 9,85 cm; largura do fruto 11,99 cm; espessura do fruto 12,21 cm, e demais aspectos apresentados na Tabela 1. Já o peso médio de 1000 sementes calculado foi de 73,35 g.

**Tabela 1** – Características de frutos de *Ipomoea imperati*: valores de média, mínima, máxima, média e coeficiente de variação (CV) do comprimento, largura e espessura (frutos em cm e sementes em mm).

Determinações	Média (cm)	Mínima (cm)	Máxima (cm)	CV (%)
Comprimento do fruto	9,85	8,52	10,78	6,47
Largura do fruto	11,99	8,07	14,85	15,77
Espessura do fruto	12,21	7,79	15,05	12,81

Fonte: Autores, 2024.

Esses dados são até então inéditos para a espécie, bem como fornecem subsídios para o manejo mais eficiente da espécie, pois através de informações como as dimensões médias e suas

variações de frutos, bem como o peso estimado de mil sementes é possível planejar ações de seu cultivo de forma mais eficiente, bem como para formação de lotes para o envio e/ou armazenamento por tempo indeterminado de estruturas de reprodução (frutos e sementes) de *Ipomoea imperati*.

### 3.2 Germinação e desenvolvimento acompanhado

A germinação das sementes de *Ipomoea imperati* e a condução de seu acompanhamento aconteceu através de observações diárias, sendo que ao final do período de dois meses, tempo considerado necessário para o acompanhamento do desenvolvimento desta espécie, foi observada taxa de germinação de apenas 32%, para as 100 sementes cultivadas em solo arenoso, originário de restinga. Sendo que, é recomendado por Albuquerque (1993) o acompanhamento de germinação de espécies amazônicas em solo arenoso, por ser considerado neutro e sem aditivos químicos e/ou nutricionais que possam influenciar no desempenho da germinação observada.

Bem como, até então as informações que constam em literatura sobre a formações de mudas para a espécie *Ipomoea imperati*, são através de forma vegetativa com a retirada de estolões, segundo o “Manual de produção de mudas das Prefeitura do Rio de Janeiro (2020)”, onde suas mudas se formam inicialmente a partir de 30 dias (ou menos). E, também apresentaram taxa de sobrevivência inferior a 50%, assim como foi observada aqui taxa de germinação de apenas 32%.

### 3.3 Discussão sobre potenciais da espécie *Ipomoea imperati*

Os resultados indicam que *Ipomoea imperati* possui características adaptativas que a tornam ideal para o uso em paisagismo sustentável e recuperação de áreas degradadas em ecossistemas costeiros. Haja vista, que segundo Favacho *et al.* (2013) a questão do potencial paisagístico pode ser atribuída a diversas espécies vegetais, inclusive provenientes de restinga. Bem como, Ferreira *et al.* (2013) também chama atenção para utilização de vegetação de restinga da Amazônia no paisagismo.

No entanto, ocorre que no Brasil estudos em áreas de restinga e quanto ao seu potencial em paisagismo ainda são poucos, bem como se concentram na porção Sul e Sudeste do país (Freira, Mussi-Dias; 2019; Goebel *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2009). Sendo assim, necessários e válidos estudos como este, a cerca de espécies de restinga na Amazônia, como *Ipomoea imperati* e diversas outras.

Além de que, estudos para o melhor conhecimento de aspectos do desenvolvimento de espécies vegetais, são relevantes pela questão de que espécies como *Ipomoea imperati* podem

encerrar em si outros usos potenciais. Haja vista que, há diversas espécies próximas e da mesma família (*Convolvulaceae* Juss.) e do mesmo gênero *Ipomoea* L., que também ocorre em restinga (ou não), mas que apresentam propriedades medicinais comprovadas (Lorenzi; Matos, 2008; Vieira, 1992).

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo trouxe novas informações sobre a germinação de *Ipomoeae imperati* para condições climáticas do Estado do Pará (Amazônia), que são diferentes das até então apresentadas para o Rio de Janeiro (Mata Atlântica). No entanto, a baixa taxa de formação de mudas, relatada seja por forma reprodutiva (por sementes) neste estudo na Amazônia, ou por forma vegetativa (por estolões) quando comparado com informações para a Mata Atlântica, evidenciam a necessidade de maiores pesquisas acerca da espécie *Ipomoea imperati*, a fim de superar os desafios apresentados quanto a formação de suas mudas, possivelmente através de técnicas mais sofisticadas.

Portanto, conclui-se que *Ipomoea imperati* é uma espécie promissora para conservação ambiental e uso paisagístico, com aplicações potenciais em ecossistemas costeiros e urbanos. Novas investigações sobre dormência e propagação podem ampliar ainda mais as possibilidades de utilização desta planta nativa, contribuindo para a valorização da sociobiodiversidade amazônica.

#### Agradecimentos e Financiamento

Agradecimentos ao CNPq e ao MPEG que colaboraram com esta pesquisa, através de bolsa de pesquisa (concedida ao primeiro autor) e infraestrutura disponibilizada. E, a todas as pessoas que colaboraram de alguma forma para realização desta pesquisa, expressamos gratidão.

#### REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, J. M. **Identificação e germinação de sementes amazônicas**. 1. ed. Belém: FCAP, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Glossário ilustrado de morfologia**. Brasília: MAPA, 2009a. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/10829\\_glossario\\_ilustrado\\_morfologia-3.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/10829_glossario_ilustrado_morfologia-3.pdf). Acesso em: 09 dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfda/arquivos-publicacoes-laboratorio/regras-para-analise-de-sementes.pdf/view>. Acesso em: 08 dez. 2024.

FAVACHO, L. C. F.; JARDIM, M. A. G.; OLIVEIRA, F. G. (2013). Requerimentos ecológicos de espécies com potencial paisagístico da restinga de Maracanã, Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v. 8, n. 2, p. 15-19. DOI: <https://doi.org/10.5380/revsbau.v8i2.66363>

FERREIRA, N. M. M.; SANTOS, J. U. M.; FERREIRA, A. M.; GURGEL, E. S. C. Germinação de sementes e morfologia de plântula de *Myrcia cuprea* (O. Berg) Kiaersk (Myrtaceae) espécie da restinga com potencial de uso no paisagismo. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v. 8, n. 1, p. 27-38, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5380/revsbau.v8i1.66357>

FREIRE, M. D. G. M.; MUSSI-DIAS, V. Ornamental use of plants from the Restinga. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.14295/oh.v25i1.1452>

GOEBEL, G.; SILVEIRA, D.; DECHOUM, M.; CASTELLANI, T. **Guia sobre plantas nativas ornamentais de Restinga**. 1. ed. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/254156>. Acesso em: 08 dez. 2024.

GURGEL, E. S. C. **Morfoanatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae, Caesalpinoideae) nativas da Amazônia**. 2009. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Botânica). Programa Integrado de Pós-Graduação do INPA. Universidade Federal do Amazonas/ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2009. Disponível em: <https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/12818/1/Simone.pdf>. Acesso em: 08 dez. 2024.

LINS, A. L. F. A.; MARCELIANO, M. L. V.; MENDES, A. C.; GORAYEB, I. S. (Org.). **Amazônia, zona costeira: termos técnicos e populares**. 1. ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; SILVA, A. S. L.; FERNANDES, M. M.; MARGALHO, L. F. **Noções morfológicas e taxonômicas para identificação botânica**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/992543/nocoos-morfologicas-e-taxonomicas-para-identificacao-botanica>. Acesso em: 09 dez. 2024.

PREFEITURA DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO. **Manual de produção de mudas: Espécies nativas do bioma Mata Atlântica do Horto Municipal Carlos Toledo Rizzini**. 1. ed. Rio de Janeiro: Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: [https://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/91265/4304601/ManualdeMudas2020\\_web1.pdf](https://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/91265/4304601/ManualdeMudas2020_web1.pdf). Acesso em: 08 dez. 2024.

SANTOS, M. G.; FEVEREIRO, P. C. A.; REIS, G. L.; BARCELOS, J. I.; NEY, F. M. M. A. **Plantas da restinga: potencial econômico**. 1. ed. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2009.

SANTOS, J. U. M.; BASTOS, M. N. C. (Org.). **Flores e frutos das restingas do Estado do Pará**. 1. ed. Belém: UFRA, 2014.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

SALES, J. M. V. *et al.* Estudos sobre Asteraceae de restingas no litoral do estado do Pará, Amazônia, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 12, p. e465111234777, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34777>

TRINDADE, J. R. **PLANTAS ESPONTÂNEAS: ESTUDO DE CASO EM *Senna reticulata* (WILLD.) H. S. IRWIN & BARNEBY, “MATAPASTO” DA AMAZÔNIA.** 2022. 109 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia). Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2022.

TRINDADE, J. R. *et al.* Estudos biométricos em frutos, sementes e germinação de matapasto (*Senna reticulata*) da Amazônia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 17, p. e245101724807, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i17.24807>

VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia: Manual das plantas medicinais (A Farmácia de Deus).** 2. ed. São Paulos: Editora Agronômica Ceres, 1992.

# CAPÍTULO 9

## AGRICULTURA 4.0, BIOTECNOLOGIA, BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA: A UNIÃO TECNOLÓGICA CONTEMPORÂNEA

### AGRICULTURE 4.0, BIOTECHNOLOGY, BIOETHICS, AND BIOSAFETY: THE CONTEMPORARY TECHNOLOGICAL UNION

**Marília Fattori**   

Bacharela em Relações Internacionais (UNINTER)  
Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade da Universidade de São Paulo  
(EACH/USP), Brasil

**Marcelo Marini Pereira de Souza**   

Professor do Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade na Universidade de São Paulo  
(EACH/USP), Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.876 

**Resumo:** A Agricultura 4.0 consiste em um conjunto de tecnologias que buscam a otimização da produção e gestão agrícola em diferentes estágios, aprimorando o controle, o monitoramento e a forma de se trabalhar através da união de tecnologias variadas e automação, como Internet das Coisas (IoT), Inteligência Artificial (IA), Big Data, computação em nuvem, robótica, fabricação aditiva, dentre outras. Seu desenvolvimento é feito através de tecnologias integradas como softwares e outros sistemas a produção agrícola, podendo propiciar o aumento da produtividade das lavouras, desenvolvimento de plantas mais resistentes a pragas, monitoramento de operações agrícolas, redução de desperdício, análise de clima, melhor utilização dos insumos e ações voltadas à sustentabilidade. A biotecnologia é um campo interdisciplinar que combina biologia, física, química, engenharia e informações tecnológicas, unindo técnicas de biologia molecular para desenvolver produtos e soluções para o setor agrícola. A partir da pesquisa bibliográfica, o presente trabalho tem como objetivo discorrer sobre a potencialidade da Agricultura 4.0 e da biotecnologia conectadas, destacando a importância da bioética e da biossegurança nesse contexto. Concluiu-se que a combinação da Agricultura 4.0 com a biotecnologia, utilizadas com responsabilidade, são ferramentas promissoras para um desenvolvimento mais próximo do sustentável. No entanto, o trabalho enfatiza a importância da biossegurança, da ética e de políticas de inclusão social bem estruturadas, para que o avanço desses segmentos não tenha efeito reverso e corrobore para desigualdade e insustentabilidade socioambiental.

**Palavras-chave:** Agricultura 4.0. Biotecnologia. Ética.

**Abstract:** Agriculture 4.0 consists of a set of technologies aimed at optimizing agricultural production and management at different stages, enhancing control, monitoring, and methods of working through the integration of various technologies and automation, such as the Internet of Things (IoT), cloud computing, artificial intelligence (IA), big data, robotics, additive manufacturing, among others. Its development is carried out through integrated technologies, such as software and other systems, in agricultural production, which can lead to increased crop productivity, development of plants more resistant to pests, monitoring of agricultural operations, reduction of waste, climate analysis, better use of inputs, and actions aimed at sustainability. Biotechnology is an interdisciplinary field that combines biology, physics, chemistry, and engineering with technological information, uniting molecular biology techniques to develop products and solutions for the agricultural sector. Based on bibliographic research, this paper aims to discuss the potential of Agriculture 4.0 and biotechnology, as well as the importance of bioethics and biosafety in this context. It concludes that the combination of Agriculture 4.0 with biotechnology and good practices is a promising tool for more sustainable development; however, the paper emphasizes the importance of biosafety, ethics, and well-structured social inclusion policies to ensure that the advancement of these sectors does not have a reverse effect and contributes to socio-environmental inequality and unsustainability.

**Keywords:** Agriculture 4.0. Biotechnology. Ethics.

## 1 INTRODUÇÃO

O conceito Indústria 4.0 foi definido pela primeira vez pelo Instituto *Fraunhofer-Gesellschaft*, na Alemanha (2011), como um conjunto de tecnologias para fluxo de informação, automação e manufatura voltados para o avanço de processos industriais envolvendo: operação, engenharia, planejamento e controle de produção, logística e análise contínua durante todo o ciclo de vida de um produto. Esse foi o marco que inaugurou a chamada Quarta Revolução Industrial e primeira definição que evidenciou a Indústria 4.0. Uma de suas características mais fortes é a integração de

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

ferramentas e processos de diferentes elos da cadeia de valor de um produto ou serviço. Através de dessa integração vêm as abordagens conhecidas como engenharia ponta-a-ponta (do inglês *end-to-end engineering*), que visam dar à indústria a capacidade de customização em massa de seus produtos e serviços (Zamprônio, 2023).

O conceito de Agricultura 4.0 é a aplicação das tecnologias da Indústria 4.0 voltadas ao setor agrícola. Trata-se da aplicação de tecnologias digitais na agricultura com o objetivo de otimizar os processos, aumentar a eficiência e a produtividade. É marcada pelo desenvolvimento de máquinas com inteligência artificial (IA), conexão integrada 5G, softwares para tomada de decisão, sensores e robôs autônomos.

A integração de abordagens biotecnológicas na Agricultura 4.0, com estratégias tradicionais de conservação, representa uma via promissora para enfrentar os desafios contemporâneos. A colaboração e o engajamento entre cientistas, conservacionistas, formuladores de políticas e comunidades locais é fundamental para desenvolver soluções que promovam a conservação da biodiversidade de maneira efetiva e inclusiva. Projetos interdisciplinares e parcerias internacionais são de suma importância para compartilhar conhecimentos, recursos e tecnologias, amplificando o impacto positivo das iniciativas de conservação (Silva *et al.*, 2024).

A gestão de riscos de saúde e segurança na Agricultura 4.0 merece destaque e atenção para prevenir, minimizar e eliminar os riscos que possam prejudicar a saúde humana, dos animais e do meio ambiente. Os espaços laboratoriais devem ser seguros, com fiscalização da manipulação dos organismos geneticamente modificados (OGM) e conceitos fundamentados na bioética, respeitando o sistema ecológico envolvido. A biossegurança deve priorizar os impactos sobre a saúde humana, animal e vegetal, além de todas as peculiaridades ambientais, econômicas e culturais que lhe são inerentes (Mesquita *et al.*, 2023).

A biossegurança e a bioética são imprescindíveis na Indústria 4.0. A atividade industrial não pode se limitar a apenas resultados financeiros, pois, se de um lado a evolução biotecnológica contribui para o bem-estar da sociedade, do outro, gera questionamentos sobre segurança biológica e os limites éticos de seus avanços. Desempenha um papel fundamental na sustentabilidade e na mitigação do impacto das atividades, incluindo as questões de impactos que possam influenciar na saúde e em aspectos gerais do indivíduo e sociedade.

Na Agricultura 4.0, as comunidades de produtores locais e a agricultura familiar também podem e devem se beneficiar com as novas tecnologias, compartilhando seus conhecimentos tradicionais e criando pontes entre produtor e consumidor por meio de realidade virtual, promovendo uma transformação socioeconômica inclusiva. No entanto, para esse processo de

inclusão social acontecer, muitos desafios estão postos, pois o nível de qualificação para saber lidar com tecnologias precisa ser maior.

Tendo em vista esse cenário, é essencial o investimento em educação e capacitação para manter e tornar os profissionais atuantes na indústria, com o cuidado de não gerar um efeito reverso e fomentar ainda mais a desigualdade e a exclusão social. O trabalho tem como objetivo evidenciar a importância da Indústria 4.0 como um todo, destacando o setor agroindustrial integrado a biotecnologia e suas responsabilidades referente a bioética e a biossegurança. O estudo evidencia a necessidade de políticas nacionais de inclusão, que apoiem a produção da agricultura familiar e comunidades tradicionais com projetos de capacitação e parcerias consistentes, para que a Agricultura 4.0 se desenvolva com responsabilidade socioambiental e justiça social, alcançando esses produtores que são fundamentais para o país.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Metodologia de pesquisa**

O estudo utiliza a metodologia de pesquisa qualitativa com avaliação descritiva. O trabalho busca desenvolver compreensões que propiciem uma visão de totalidade, com o objetivo de descrever o que está acontecendo com mais detalhes, preenchendo as partes que faltam e expandindo a compreensão. Para isso, é feita uma análise minuciosa e descritiva dos objetos de estudo, de modo a fornecer informações para uma investigação mais precisa, visando construir uma maior proximidade com o tema. Foram coletadas informações, desenvolvendo integrações e análises.

Os estudos qualitativos contribuem de forma ímpar para a ciência, levando descobertas importantes em múltiplos sentidos. Dentro da abordagem qualitativa podemos encontrar os estudos descritivos que fornecem informações adicionais sobre o tema pesquisado, associando-se de forma eficaz à pesquisa exploratória. O escopo qualitativo é amplo e variado, contendo várias práticas de indagação e cabe ao pesquisador ser um sujeito pensante, que expressa interesse pelo que está pesquisando e se envolve, exercitando sua subjetividade (Cordeiro *et al.*, 2023).

### **2.2 Itinerário de pesquisa**

Este estudo segue um itinerário de pesquisa baseado em uma revisão bibliográfica sistemática, com o objetivo de compilar, analisar e sintetizar o conhecimento existente sobre a Indústria 4.0, biotecnologia e a importância da biossegurança, da ética e da responsabilidade social como um todo nestes segmentos. Desta forma, além de traçar um histórico sobre os

### **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

objetos de estudo, a pesquisa bibliográfica também ajudou a identificar contradições e respostas sobre questões indagadas.

Na seleção e organização das referências foi realizada uma triagem das referências coletadas. Os critérios de inclusão consideraram a relevância dos estudos para o tema proposto, a contribuição teórica e prática das obras, e a credibilidade dos autores e publicações. As referências selecionadas foram organizadas em categorias temáticas, como a Indústria 4.0 e a fusão promissora com a biotecnologia, políticas públicas, destacando a importância da biossegurança e da ética nestes segmentos.

A análise do conteúdo buscou identificar padrões, lacunas e pontos de convergência entre os estudos selecionados. A síntese do conteúdo permitiu construir uma visão integrada e coerente sobre a Indústria 4.0 e a plausível integração com a biotecnologia, porém, destacando os pontos essenciais para que essa fusão não caminhe na contramão da sustentabilidade socioambiental. Assim, houve destaque para a importância das políticas públicas, da biossegurança, da ética, da inclusão e da responsabilidade social, desenvolvendo tanto os aspectos teóricos quanto as implicações práticas. A elaboração do relatório de pesquisa foi estruturada seguindo uma lógica clara e argumentativa, começando pela introdução do tema, passando pela revisão da literatura e culminando nas discussões e conclusões.

Por fim, foi realizada uma reflexão crítica sobre os achados da pesquisa, considerando suas limitações. A revisão bibliográfica permitiu não apenas mapear o conhecimento existente, mas também identificar áreas que necessitam de maiores mudanças a nível político, sugerindo caminhos e alternativas. Este itinerário de pesquisa, centrado em uma revisão bibliográfica, fornece uma base sólida para compreender como a Indústria 4.0 integrada à biotecnologia pode ser um marco para um desenvolvimento mais próximo do sustentável no Brasil.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em uma época de transformações, a preocupação global para com o desenvolvimento, os novos modelos tecnológicos e em contrapartida a fome, a desigualdade social, as doenças, a violência contra os povos tradicionais, o processo acelerado de urbanização, a consequente destruição da diversidade biológica e o uso desenfreado de seus recursos, são algumas premissas que vêm avançando no decorrer da história (Barba; Santos, 2020).

A complexidade envolvida quando se trata de questões socioambientais geram discussões polarizadas entre duas perspectivas, sendo uma delas pautada na tecnologia e a outra em crítica e negacionismo. Toda atividade empresarial degrada o meio ambiente, assim sendo, toda empresa

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

possui responsabilidade social e deve cumprir sua função social. Portanto, é necessário unir inovação, tecnologia e lucratividade com responsabilidade.

O crescimento da população fez com que o uso de tecnologias agrícolas fosse necessário, entre eles, o cultivo de OGMs, especialmente de plantas transgênicas. Em âmbito mundial, o Brasil ocupa o segundo lugar entre os países produtores de transgênicos, conseqüentemente, a biotecnologia gera dúvidas em toda a população, uma vez que a biossegurança, rotulagem, benefícios e riscos dos alimentos transgênicos não possuem informações explicativas compreensíveis para o público geral (Paranhos, 2021).

O último século apresentou grande desenvolvimento na agricultura. O campo tradicional, do qual era dependente de extensivos trabalhos manuais, agora se baseia em um campo banhado de tecnologia, dentre essas tecnologias, os Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), sendo utilizado principalmente no melhoramento genético de plantas, sendo parte essencial da agricultura baseada na ciência. Houve avanços significativos nos métodos de recombinação de Ácido Desoxirribonucleico (DNA) para incorporá-los em plantas. As técnicas de transformação de plantas fazem parte da biotecnologia e tem como principal objetivo melhorar as plantas com genes de outros organismos, visando torná-las resistentes a insetos, doenças, herbicidas e estresses provenientes do ambiente nas lavouras (Paranhos, 2021).

A biotecnologia pode ser definida como uma alteração em processos biológicos ou em organismos vivos, direcionada a obtenção de um novo bem, processo ou produto. Entre as décadas de 1970 e 1980 deu-se início a biotecnologia moderna, unindo aos conhecimentos existentes as ferramentas tecnológicas e áreas diversas da ciência para buscar a inovação em diversos setores. A Biotecnologia atual envolve, principalmente, o uso do DNA, ou ADN na sigla em português (Ferro; Paixão; Silva, 2021).

Os Organismos Geneticamente Modificados (OGMs), também conhecidos como transgênicos, caracterizam uma das inovações da biotecnologia e da engenharia genética trazida pela “Revolução Verde” na década de 1960, nos Estados Unidos. Dentre os discursos e as expectativas dos idealizadores desta revolução no campo, destaca-se entre outras prerrogativas o uso de agrotóxicos e outros produtos químicos, aumento da produtividade, diminuição da fome mundial, preservação do meio ambiente, redução de custos para o produtor e preços dos alimentos mais acessíveis para a população (Silva *et al.* 2020).

A biotecnologia aplicada na agricultura propicia meios para fortalecer, melhorar e proteger as plantas contra a ação de intempéries, pragas e agentes patogênicos que poderiam afetar a planta no seu processo de desenvolvimento. A transformação genética das plantas pode trazer a possibilidade da validação funcional dos genes individualmente selecionados, como a

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

exploração direta dos transgênicos no melhoramento genético. Tendo em vista que o Brasil é um dos maiores produtores de alimentos transgênicos, a biotecnologia se tornou uma ferramenta auxiliar para o desenvolvimento da agricultura e pode gerar otimizações fazendo interação com a Agricultura 4.0 (Ferro; Paixão; Silva, 2021).

A agricultura 4.0 utiliza a tecnologia para otimização dos processos produtivos, visando um melhor aproveitamento na produtividade, reduzindo tempo e custos. Técnicas como edição genômica de safras, monitoramento por satélites de variáveis meteorológicas, softwares de gestão agrícola, sensores de controle de pesticidas e irrigação, mapeamento digitalizado de índices de fertilidade, umidade, temperatura e condições físico-geo-químicas do solo caracterizam a agricultura 4.0. Essas práticas têm se difundido há algum tempo nos países desenvolvidos, dado o incremento na produtividade que proporcionam. No entanto, o movimento dessa prática em potências agrícolas de renda média, como o Brasil ainda é recente (Viola; Mendes, 2022).

A chamada “aprendizagem de máquinas” se faz pelo fato de os sistemas produtivos altamente automatizados e comandados por sistemas ciberfísicos serem programados para transmitir dados e informações para fora do ambiente de produção e serem programados para compartilhar os dados e informações com o restante dos equipamentos em comunicação, denominados M2M, (comunicação entre duas máquinas). Isso pode ser realizado por meio de rede com ou sem fio, por meio de bluetooth ou cabos de rede de telefonia celular ou internet. Tais conceitos acima descritos são evidentes e se fazem presentes na indústria 4.0 no agronegócio, utilizados em: tratores autônomos, biotecnologia e drones (Santos *et al.*, 2023).

A biotecnologia pode contribuir para melhoria na colheita; diminuição da fome; produção de alimentos mais nutritivos; diminuição no uso de pesticidas e agrotóxicos; redução de energia no processo produtivo; uso de produtos com menor impacto ambiental e biodegradáveis; minimizar a produção de resíduos, dejetos e poluentes na atividade econômica; desenvolvimento de aparelhos e técnicas mais eficazes. Setores altamente tóxicos e nocivos pelo fluxo degradante do uso de recursos biológicos escassos, hoje, por meio de biotecnologias há uma melhora na produção primária industrial e um resultado de resíduos menos prejudiciais para o meio ambiente e para a saúde humana, por exemplo, o uso das biomassas e os biocombustíveis (Souza, 2019).

No entanto, é necessário uma fiscalização e um projeto de inclusão social para a biotecnologia ser aplicada de forma positiva para população, pois além dos benefícios econômicos, com o aumento da produtividade e a eficiência no controle de pragas, os alimentos geneticamente modificados têm maior valor nutricional que os alimentos convencionais e também apresentam maior tempo de armazenamento. Existem também algumas preocupações efetivas, como a possibilidade de poluição do solo e dos lençóis freáticos, o surgimento ou

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

desenvolvimento de plantas e animais resistentes a múltiplos pesticidas e a possibilidade de empresas multinacionais monopolizarem a tecnologia genética (Ferro; Paixão; Silva, 2021).

Onde quer que haja uma prática de biotecnologia, existe um risco biológico ligado a ela e seu impacto negativo pode atingir diversos seres vivos, incluindo os seres humanos. Tendo em vista este cenário, a cooperação de instituições neste campo resultou na criação dos conceitos e aplicações de biossegurança. Essas relações trouxeram a necessidade de processos regulatórios que equilibrassem o incentivo à produção biotecnológica e a biossegurança. Os padrões de normalização surgiram como uma estratégia para estabelecer normas visando a garantia de qualidade e segurança de produtos e dos recursos humanos presentes em ambiente laboratorial e empresas, especialmente interessantes para empresas de biotecnologia (Mesquita *et al.*, 2023).

A biotecnologia faz parte da evolução da sociedade, cada vez mais inserida em um mundo tecnológico, sendo capaz de trazer uma série de benefícios. No entanto, também podem ocorrer danos sociais, pois a sua potencialidade lesiva a longo prazo ainda é desconhecida. Deve-se fazer uma releitura da responsabilidade civil à luz dessas novas tecnologias, com ênfase não apenas na reparação ou redução dos danos, mas também na prevenção deles, pois é totalmente inviável a volta ao status quo anterior neste tipo de ilícito. Portanto, é imprescindível que a legislação brasileira aplique uma maior segurança inerente ao tema. Nesse contexto, o Direito assume um papel fundamental e deve se adaptar à realidade social, agindo de forma a tornar jurídico aquilo que uma vez era somente fático (Flumignan, 2020).

Na engenharia genética existem as aplicações práticas de transferência de células eucariontes com a intenção de compreender o genoma; a transgênese, que seria a modificação genética de organismos inteiros; e a terapia gênica. Estas atividades geram riscos, citando-se como exemplos os riscos de disseminação descontrolada de microrganismos, o risco à biodiversidade, os riscos alimentares, entre outros. Nesse contexto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) busca melhorar a comunicação entre os cientistas e o desenvolvimento dos produtos OGM e seus derivados por intermédio de etiquetagem dos alimentos geneticamente modificados, preocupações éticas e sociais, coexistência de práticas agrícolas, entre outros. No Brasil, o instrumento adequado, segundo a doutrina, seria o estudo e o relatório de impacto ambiental (EIA e o RIMA), onde se analisa os impactos ao meio ambiente, a transformação dos meios de produção e colheita, os efeitos à saúde humana, animal e vegetal e outras peculiaridades (Manual de Direito Ambiental, 2019).

A gestão da biossegurança em laboratórios de biotecnologia é uma atividade complexa que requer a avaliação de riscos, a definição de medidas preventivas e corretivas e a monitorização do ambiente de trabalho. A acreditação é imprescindível para garantir a segurança dos

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

trabalhadores, dos usuários e do meio ambiente. Ela também pode ser um fator determinante na escolha de fornecedores de serviços e produtos para empresas e instituições. Além disso, é um processo contínuo que necessita de constante atualização dos procedimentos de gestão de risco, biossegurança e manutenção dos padrões de qualidade. Já é evidente que a biotecnologia é uma área de grande importância para a produção de bens e serviços, no entanto, envolve riscos potenciais que devem ser evitados (Mesquita *et al.*, 2023).

Com os avanços da tecnologia, a ética, na biotecnologia caracterizada como bioética, é essencial para não violar normas morais que envolvam a vida de todos os seres envolvidos. É necessário que o Estado aperfeiçoe e reveja normas vigentes, além de criar novas, a fim de garantir que a ética seja a base principal. Além da biossegurança e da bioética serem fundamentais neste processo, programas de inclusão social também são imperativos.

A agricultura familiar deixou de ser conhecida somente como uma parte da população rural em que sua produção é destinada apenas para garantir a subsistência da família e da comunidade a que pertence, caracterizando uma importante força dentro da agropecuária nacional. Os conhecimentos tradicionais das comunidades locais, como a agricultura familiar, tribos indígenas e camponeses fazem parte da biodiversidade de uma determinada região ou localidade. Muitas vezes, esses conhecimentos ancestrais são utilizados por cientistas, contribuindo para produções científicas sobre determinado assunto. A atual proteção destes conhecimentos por meio da justa e equitativa repartição dos benefícios também é um avanço dos últimos tempos e que, deve estar presente no contexto da bioeconomia.

O Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar (PRONAF) foi uma conquista para esta categoria de produtores. Contudo, não basta apenas fornecer crédito para o produtor familiar, se ele não tiver os conhecimentos técnicos necessários para melhorar sua produção. Entre diversas medidas para o aprimoramento do PRONAF, inclui-se a Assistência Técnica e Extensão Rural (ATER). A literatura que relaciona a agricultura familiar com assistência técnica e extensão rural, relata que a presença de instituições de ATER são aliadas para alavancar a agricultura familiar. Dentre elas, a vantagem em possuir um auxílio na documentação necessária para se candidatar a um programa de crédito rural, o que, no caso do PRONAF, é um dos fatores que mais dificulta o acesso do agricultor ao empréstimo (SCImago Institutions Rankings, 2021).

O Brasil comporta uma pluralidade inigualável, como as diversas vilas, cidades, aldeias indígenas e povoados espalhados pelo país. Com sua vasta extensão de terra, a Amazônia Legal abriga 4.438 comunidades assim definidas pelo IBGE. Essas comunidades podem e devem participar dessa “nova economia da biodiversidade da floresta”. No entanto, não são poucas as dificuldades para implementar projetos que agreguem valor aos produtos da floresta, sejam eles

## **Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

minerais, agrícolas ou de cunho extrativista. Fatores como isolamento, falta de infraestrutura, dificuldade logística, processamentos complexos, volume de produção, garantia de qualidade, acesso a equipamentos, treinamento, mercados e experiência em fechar negócios de fato vantajosos são alguns dos desafios reais que se impõem e dificultam o desenvolvimento econômico do Brasil (Fundação FHC, 2019).

Algumas tecnologias podem ser montadas em tendas ou plataformas flutuantes, esses laboratórios de campo poderiam realizar pesquisas e propor soluções por meio da fusão interativa de conhecimentos tradicionais, científicos e tecnológicos. Membros das comunidades locais e estudantes seriam capacitados para trabalhar em parceria com professores, pesquisadores, empreendedores ligados a startups e especialistas em fomento e apoio a pequenos negócios e negócios sustentáveis, além de organizações de capacitação profissional. Esse grupo variado de pessoas reunido em um ambiente de capacitação, criação e prototipagem impulsionará o surgimento de uma bioindústria que aproveite ao máximo o potencial da biodiversidade (Fundação FHC, 2019).

A inclusão social deve ser promovida através de políticas governamentais bem estruturadas, ações empresariais e coletivas. A educação e capacitação inclusivas fazem parte da etapa principal, para que assim, as pessoas estejam capacitadas para o ambiente de trabalho. As empresas se beneficiam com projetos de empregos inclusivos, pois uma equipe que possui diversidade enriquece e favorece a criatividade e a inovação, uma vez que diferentes perspectivas têm lugar de atividade e representatividade, fortalecendo a responsabilidade social.

## **4 CONCLUSÃO**

O estudo concluiu que a Agricultura 4.0 e o conceito de Indústria 4.0 como um todo são instrumentos promissores para um desenvolvimento mais próximo do sustentável. Assim sendo, a Agricultura 4.0 tem potencial para alcançar uma série de vantagens através das inovações tecnológicas do Agro 4.0 como IoT, IA, Big data e robótica. Essas tecnologias têm potencial para revolucionar a agricultura, automatizando e simplificando processos, manufatura, promovendo a redução dos impactos ambientais negativos, a redução de consumo de energia e dos recursos naturais, além de ser economicamente viável, aumentando a precisão e a assertividade, reduzindo consideravelmente os custos, permitindo uma agricultura mais produtiva e próxima do sustentável.

Para a Indústria e a Agricultura 4.0 serem realmente benéficas para a economia do país como um todo, elas têm que ser inclusivas, sem dar margem para fomentar desempregos. Devem ter como ponto central a justiça e inclusão social, e em hipótese alguma colocarem em risco os

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

trabalhos tradicionais, como se estivessem obsoletos. Pelo contrário, a ideia deve ser de expansão, implementando novas tecnologias, criando maiores oportunidades e promovendo diversidades, como por exemplo, a inclusão de trabalhadores das áreas de ciências de dados, programação e manutenção de máquinas.

A evolução da tecnologia é transformadora e a diversidade é imprescindível para a inovação e o progresso do Brasil. No entanto, o investimento em educação e capacitação são essenciais para incluir nesta conexão os pequenos produtores, a agricultura familiar, as comunidades tradicionais e as pessoas em situação de vulnerabilidade, visando promover a justiça social e chegar cada vez mais próximo de um desenvolvimento sustentável. Assim, os avanços da Agricultura 4.0 juntamente com a biotecnologia, utilizadas com os preceitos da biossegurança, da bioética e de inclusão social são de suma importância para a conservação e manutenção da diversidade biológica e socioeconômica brasileira para as próximas décadas.

## REFERÊNCIAS

BARBA, R, Y, B; SANTOS. N. A Bioeconomia no Século XXI: reflexões sobre a biotecnologia e sustentabilidade no Brasil, 2020, **Revista de Direito e Sustentabilidade**, v.6, n.2, p. 26-42.

Disponível em: <https://indexlaw.org/index.php/revistards/article/view/7023/pdf>. Acesso em: 16/dez/2024.

CORDEIRO, F. N, C, S; CORDEIRO, H, P; PINTO, L, O, A, D; SEFER, C, C, I; LOBATO. S, E, V; MENDONÇA. T, L; SÁ, A, M, M. Estudos descritivos exploratórios qualitativos: um estudo bibliométrico. 2023. **Brazilian Journal of Health Review**. Disponível em:

<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/60412/43660>. Acesso em: 15/dez/2024.

FERRO, A, C; PAIXÃO, A, K, L; SILVA. A, J. Agricultura Transgênica como Ferramenta para o Desenvolvimento Sustentável e Econômico. **Diversitas Journal**. 2021. Disponível em:

[https://diversitasjournal.com.br/diversitas\\_journal/article/view/1775/1426](https://diversitasjournal.com.br/diversitas_journal/article/view/1775/1426). Acesso em: 17/dez/2024.

FLUMIGNAN, W, G, G. A responsabilidade civil no âmbito da biotecnologia e dos transgênicos. **Revista dos Tribunais Online**. 2020. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/331502439\\_A\\_responsabilidade\\_civil\\_no\\_ambito\\_da\\_biotecnologia\\_e\\_dos\\_transgenicos](https://www.researchgate.net/publication/331502439_A_responsabilidade_civil_no_ambito_da_biotecnologia_e_dos_transgenicos). Acesso em: 13/dez/2024.

**MANUAL DE DIREITO AMBIENTAL**. 7. ed. São Paulo. 2019. Disponível em:

<https://idoc.pub/documents/2019-manual-de-direito-ambiental-7a-edicao-terence-trennepohl-klzowygqkg4g>. Acesso em: 20/dez/2024.

MESQUITA, A. F, N; SALES, J, F, S; BANDEIRA, L, L; MARTINS, S, C, S; MARTINS, C, M. **Biotecnologia no Brasil: normas de biossegurança e acreditação de laboratórios**.

Enciclopédia Biosfera. Disponível em

<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2023A/biotecnologia.pdf>. Acesso em: 17/dez/2024.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

PARANHOS, C, J, C. Divulgação Científica Acerca dos Alimentos Transgênicos no Brasil. **Instituto CEUB de Pesquisa e Desenvolvimento – ICPD**. 2021. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/16152/1/Cezar%20Junio%20Coelho%20Paranhos.pdf>. Acesso em: 20/dez/2024.

PLATAFORMA DEMOCRÁTICA, FUNDAÇÃO FHC CENTRO EDELSTEIN. **Futuribles em português**. n. 2. São Paulo. Set/2019. ISSN 2674-8398. Disponível em: [https://fundacaofhc.org.br/arquivos/Futuribles2/Futuribles\\_PT\\_ED\\_02\\_F.pdf](https://fundacaofhc.org.br/arquivos/Futuribles2/Futuribles_PT_ED_02_F.pdf). Acesso em 19. dez. 2024.

SANTOS. G, E, A; FERREIRA, G, B; FERREIRA, M, Z, B. **Agricultura 4.0: estudo de caso sobre a eficiência da indústria 4.0 aplicada ao agronegócio**. Ciência & Tecnologia: FATEC-JB, Jaboticabal, SP, v.15, n.1, 2023. Disponível em: <https://publicacoes.fatecjaboticabal.edu.br/citec/article/view/274/237>. Acesso em: 19/dez/2024.

SCIMAGO INSTITUTIONS RANKINGS. **Acesso da agricultura familiar ao crédito e a assistência técnica no Brasil**. 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/resr/a/Vh4gyBhmFdqqMbMstWmBdGL/>. Acesso em: 19/dez/2024.

SILVA, M, S; LIMA, F, L, O; SILVA, C, D, C, M; SILVA, M, V, C, M. Alimentos transgênicos e segurança alimentar e nutricional no Brasil. **Brazilian Journal of Health Review**. 2020. Disponível em <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/16312/13340>. Acesso em: 18/dez/2024.

SILVA, P, V. S; JÚNIOR, A, F. M; FONSECA, M, B; MACHADO, P, A, S. A; SANTOS, J, C; JESUS. M, J, V; MENEZES, E, V; ROYO, V. A; BRANDÃO, M, M; OLIVEIRA. A, D. **Biotecnologia e Conservação: soluções inovadoras para a proteção da biodiversidade**. 2024. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/240717030.pdf>. Acesso em: 17/dez/2024.

SOUZA. O. **Biotecnologia Aplicada para o Desenvolvimento Sustentável Responsabilidade Social na Indústria 4.0**. Disponível em: <https://japao.uniara.com.br/arquivos/file/nidpbio/slides-palestra-orconnilda-souza.pdf>. Acesso em: 18/dez/2024.

VIOLA, E; MENDES, V. Agricultura 4.0 e mudanças climáticas no Brasil. **Ambiente & Sociedade**. São Paulo. Vol. 25, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asoc/a/Bwg7NVTs5kcrK6WRxbqh4LS/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 19/dez/2024.

ZAMPRONIO, D, K. **Indústria 4.0 e Biotecnologia: o encontro tecnológico do século**. 2023. Disponível em: <https://www.iastech.com/industria-4-0-e-biotecnologia-o-encontro-tecnologico-do-seculo>. Acesso em: 20 de dez 2024.

# CAPÍTULO 10

## ISOLAMENTO DE *Bacillus thuringiensis* DE AMBIENTES AQUÁTICOS E ATIVIDADE PATOGENICA EM LARVAS DE *Aedes aegypti*

### ISOLATION OF *Bacillus thuringiensis* FROM AQUATIC ENVIRONMENTS AND PATHOGENIC ACTIVITY IN *Aedes aegypti* LARVAE

**Maria Cleoneide da Silva**   

Doutora em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Docente do Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, Departamento de Química e Biologia, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Recife - PE, Brasil

**Alessandra Maria Silva Vidigal**   

Doutoranda em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luis-MA, Brasil

**Ludmila Miranda Alencar**   

Mestranda em Biodiversidade, Saúde e Meio Ambiente, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Andresa Soares da Costa Brito**   

Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

**Jeverson Renato Moraes Brito**   

Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Caxias-MA, Brasil

DOI: 10.52832/wed.146.889 

**Resumo:** A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) é mundialmente utilizada como bioinseticidas. Ela produz proteínas cristalinas (Cry e Cyt) com alta especificidade, capazes de atuar seletivamente no controle de insetos-praga na agricultura e vetores de doenças de importância na saúde pública humana. O *Aedes (Stegomyia) aegypti* é hoje um dos principais problemas em saúde pública, devido ao seu papel como transmissor dos vírus da dengue, febre amarela, zika e chikungunya. O Bt é uma alternativa viável para o controle das populações desse inseto, com o intuito de reduzir a utilização de inseticidas químicos que causam o desenvolvimento de resistência a inseticidas em insetos, poluição ambiental, riscos à saúde humana, danos a espécies não-alvo, etc. Este estudo teve como objetivo isolar Bt locais a partir de amostras de água e testar em laboratório sua atividade patogênica contra larvas de *Ae. aegypti*. No total, 52 amostras de água foram analisadas, onde a presença de Bt foi detectada em mais de 50% das amostras, com índice de Bt total de 0,5. Esse valor pode ser considerado alto quando comparado a outras pesquisas. O formato esférico do cristal foi o mais predominante em 98,66% dos 296 isolados de Bt. Dos 296 isolados de Bt, submetidos a bioensaios de patogenicidade, 12 ocasionaram mortalidade entre 60% e 100%. Contudo, para a adequada avaliação do potencial biotecnológico desses isolados, são necessárias análises complementares, incluindo testes de toxicidade, caracterização molecular detalhada e sequenciamento genômico.

**Palavras-chave:** Bactéria entomopatogênica. Ambiente aquático. Bioensaios seletivos.

**Abstract:** The bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) is used worldwide as a bioinsecticide. It produces crystalline proteins (Cry and Cyt) with high specificity, capable of acting selectively in the control of insect pests in agriculture and vectors of diseases of importance to human public health. *Aedes (Stegomyia) aegypti* is currently one of the main public health problems, due to its role as a transmitter of the dengue, yellow fever, zika and chikungunya viruses. Bt is a viable alternative for controlling populations of this insect, with the aim of reducing the use of chemical insecticides that cause the development of insecticide resistance in insects, environmental pollution, risks to human health, damage to non-target species, etc. This study aimed to isolate local Bt from water samples and test its pathogenic activity against *Ae. aegypti* larvae in the laboratory. A total of 52 water samples were analyzed, and the presence of Bt was detected in more than 50% of the samples, with a total Bt index of 0.5. This value can be considered high when compared to other studies. The spherical crystal shape was the most predominant in 98.66% of the 296 Bt isolates. Of the 296 Bt isolates subjected to pathogenicity bioassays, 12 caused mortality between 60% and 100%. However, for an adequate evaluation of the biotechnological potential of these isolates, additional analyses are necessary, including toxicity tests, detailed molecular characterization, and genomic sequencing.

**Keywords:** Entomopathogenic bacteria. Aquatic environment. Selective bioassays.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 *Bacillus thuringiensis*

Dentre os microrganismos empregados no controle biológico, à bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Berliner 1911) (Eubacteriales: Bacillaceae) é considerada o principal agente entomopatogênico do mundo, ou seja, é o microrganismo mais amplamente utilizado no controle biológico de insetos de importância agrícola e importância médica.

O Bt é uma bactéria gram-positiva, de crescimento aeróbio ou anaeróbio facultativo, mesófila e quimioheterotrófica, possui forma de bastonete de aproximadamente 1,1 µm de

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

largura por 4,0  $\mu\text{m}$  de comprimento, sendo capaz de se movimentar devido à presença de flagelos peritríquios (Habib; Andrade, 1998; Arantes *et al.*, 2002; Bobrowski *et al.*, 2003; Ibrahim *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2021).

Essa bactéria pode ser isolada de solo (Martin; Travers, 1989; Bernhard *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 2012; Lobo *et al.* 2018; Alemu *et al.* 2024), filoplano de espécies vegetais (Smith; Couche, 1991; Hansen *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2010), insetos vivos ou mortos e seus habitats (ITOUA-Apoyolo *et al.*, 1995; Bernhard *et al.*, 1997; Gobatto *et al.*, 2010, Merdan *et al.*, 2010), e a partir de amostras de água (Ichimatsu *et al.* 2000; Iriarte *et al.* 2000, Martínez; Caballero, 2002; KONECKA *et al.*, 2012, El-Kersh *et al.*, 2016; Alemu *et al.*, 2024).

Taxonomicamente a espécie Bt está classificada no domínio Bacteria, filo Firmicutes ou Bacillota, classe Bacilli, ordem Bacillales, família Bacillaceae e gênero *Bacillus* (VOS *et al.*, 2009; PARKS *et al.*, 2020). Atualmente, o Bt, *B. anthracis* e *B. cereus* estão agrupados no clado Cereus, *Bacillus cereus* sensu lato, que consiste em espécies patogênicas, bem como outras de importância na agricultura e na indústria (Crivelli *et al.*, 2024).

Essas espécies compartilham elevada similaridade genômica, que apresentam alta identidade na sequência de DNA, além de características fenotípicas e bioquímicas bastante próximas. No entanto, a distinção entre essas espécies pode ser feita com base em atributos específicos, como a presença de cristais protéicos parasporais em Bt, visíveis por microscopia, o que permite sua identificação e diferenciação (Kolsto *et al.*, 2009; Villarreal-Delgado, 2018; Monnerat *et al.*, 2020; Biggel *et al.*, 2022).

Esses cristais, visíveis por microscopia de fase ou eletrônica, são constituídos por  $\delta$ -endotoxinas (proteínas Cry e Cyt), as quais possuem atividade inseticida seletiva. Estas proteínas são ativadas por clivagem proteolítica no trato digestivo de insetos-alvo após ingestão, liberando domínios tóxicos que promovem a lise celular (Bravo; Gill; Soberón, 2007). As proteínas Cyt exibem atividade hemolítica e demonstram efeito sinérgico com as proteínas Cry, particularmente contra espécies de Diptera de importância médica, esta sinergia amplifica a ação entomopatogênica, aumentando a eficácia no controle de vetores (Pérez *et al.*, 2005; Cantón *et al.*, 2011; Onofre *et al.*, 2020).

A alta especificidade de Bt a determinadas ordens de insetos, aliada à baixa toxicidade para organismos não-alvo e ao reduzido impacto ambiental, torna essa bactéria uma ferramenta estratégica no manejo integrado de pragas agrícolas e no controle vetorial, como no combate ao *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L. 1762). Suas aplicações biotecnológicas têm sido amplamente exploradas, incluindo o desenvolvimento de formulações comerciais de bioinseticidas e a inserção de genes *cry* em culturas transgênicas para conferir resistência a insetos (Glare; O'callaghan, 2000;

Karim *et al.*, 2000; Bobrowski *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2003; Polanczyk; Alves 2003; Bravo; Gill; Soberón, 2007; Ferreira; Moscardi, 2012; Ncbi, 2025).

As proteínas produzidas por *Bt* são amplamente reconhecidas como ambientalmente seguras, devido ao seu modo de ação altamente específico e à rápida degradação em ambientes naturais, como o solo. Os mecanismos envolvidos em sua atuação conferem, de certa forma, um elevado nível de seletividade, assegurando segurança principalmente para seres humanos e organismos não-alvo, incluindo insetos benéficos (Capalbo *et al.*, 2005; Bravo; Gill; Soberón, 2007; Raymond; Federici, 2017; Liu *et al.*, 2021).

## 1.2 Proteínas inseticidas e mecanismo de ação de Bt

O *Bt* é amplamente reconhecido pela produção de uma diversidade de proteínas com atividade inseticida, cuja síntese varia de acordo com a fase do ciclo de crescimento bacteriano. Durante a fase vegetativa (crescimento exponencial), *Bt* secreta proteínas solúveis no meio de cultura, como as proteínas inseticidas vegetativas (Vips) e as proteínas inseticidas secretadas (Sips) Estruch *et al.*, 1996; Donovan *et al.*, 2006). Essas proteínas apresentam atividade entomopatogênica, sobretudo contra espécies das ordens Lepidoptera e Coleoptera.

Durante a fase estacionária ou de esporulação, *Bt* sintetiza inclusões cristalinas compostas por  $\delta$ -endotoxinas, principalmente as proteínas Cry e Cyt. As proteínas Cry são altamente específicas, atuando sobre receptores da membrana do epitélio intestinal de insetos suscetíveis — como caderina, aminopeptidase-N e fosfatase alcalina —, desencadeando lise celular após sua ativação no ambiente alcalino do intestino do inseto. Já as proteínas Cyt, com atividade citolítica mais ampla e menos dependente de receptores específicos, são particularmente eficazes contra dípteros vetores de doenças, como *Ae. aegypti*, *Anopheles spp.* e *Culex spp.* (Bravo; Gill; Soberón, 2007; Mendoza-Almanza *et al.*, 2020; Crickmore *et al.*, 2025).

As proteínas Cry, com massas moleculares variando entre 40 e 140 kDa, são os principais fatores responsáveis pela toxicidade de *Bt* contra insetos-alvo. Essas proteínas atuam no intestino médio das larvas, onde o ambiente alcalino do lúmen favorece sua solubilização e ativação por proteases intestinais. Após a ativação, elas reconhecem e se ligam a receptores específicos da membrana epitelial intestinal, como caderinas e aminopeptidases. Essa ligação promove a inserção da toxina na membrana e subsequente formação de poros, resultando em desequilíbrio osmótico, destruição celular, interrupção da alimentação e morte do inseto por inanição (Höfte; Whiteley, 1989; Bravo; Gill; Soberón, 2007; Bravo *et al.*, 2011).

As proteínas Cyt, com massa molecular em torno de 25 kDa, embora apresentem menor toxicidade individualmente, exercem papel fundamental na ação sinérgica com proteínas Cry,

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

potencializando sua eficácia (Pérez *et al.*, 2005; Bravo *et al.*, 2007). Essas proteínas são classificadas nos grupos Cyt1, Cyt2 e Cyt3 (Crickmore *et al.*, 2021).

Diversas pesquisas têm identificado isolados de Bt com potencial tóxico para larvas de *Ae. aegypti*, os quais apresentam grande diversidade de proteínas Cry e Cyt. Entre as proteínas Cry com especificidade para dípteros destacam-se Cry4, Cry10, Cry11, Cry16, Cry17, Cry19 e Cry20 (Crickmore, 2000; Van Frankenhuyzen, 2009, Van Frankenhuyzen; Tonon, 2013; Ben-Dov, 2014; Florez *et al.*, 2018). Em particular, Cry4A e Cry4B têm sido amplamente documentadas por sua ação contra mosquitos (Abdullah *et al.*, 2003; Beltrão; Silva-Filha, 2007; Otieno-Ayayo *et al.*, 2008; Elleuch *et al.* 2015; Bukhari *et al.* 2022). Da mesma forma, Cry11A e Cry11B apresentam expressiva atividade mosquitocida (Beltrão; Silva-Filha, 2007; Sun *et al.*, 2014; Park *et al.* 2013; Lai *et al.* 2023).

A proteína Cyt1Aa, por sua vez, pode inserir-se diretamente na membrana celular sem a necessidade de receptores específicos, além de atuar como receptor funcional para a proteína Cry11Aa, evidenciando forte sinergismo entre essas proteínas e elevada toxicidade contra *Ae. aegypti* (Pérez *et al.*, 2005; Anaya *et al.*, 2020). Essa sinergia é considerada um fator importante na prevenção da resistência do vetor às proteínas Cry, prolongando a eficácia do biocontrole (Crickmore *et al.*, 1995; Wirth *et al.*, 2005; Torres-Quintero *et al.*, 2018).

Adicionalmente, há evidências de que certas proteínas Cry, como Cry4A, Cry4B e Cry11A, apresentam ação sinérgica com proteínas Cyt, ampliando a eficácia no controle de larvas de mosquitos vetores (PÉREZ *et al.*, 2005; PROMDONKOY, B.; PROMDONKOY, P.; PANYIM, 2005; CANTÓN *et al.* 2011.LAI *et al.* 2023). Esse efeito combinado resulta em maior destruição do epitélio intestinal e acelera o processo de morte do inseto-alvo (BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007). Estudos demonstraram que a coexpressão de Cry4Ba e Cyt2Aa em *Escherichia coli* resultou em aumento significativo da toxicidade contra larvas de *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (Promdonkoy; Promdonkoy; Panyim, 2005).

A intoxicação causada por Bt nos insetos inicia-se após a ingestão das proteínas, levando a sintomas como perda de apetite, interrupção da alimentação, paralisia intestinal, vômito, diarreia, e, progressivamente, paralisia total e morte. Em larvas afetadas, observa-se escurecimento do tegumento e, após a morte, coloração negra característica das infecções provocadas por este microrganismo (Monnerat *et al.*, 2020).

Além da atividade inseticida, algumas estirpes de Bt também produzem metabólitos com propriedades bioestimulantes e biofertilizantes, como fitohormônios, proteínas solubilizadoras de fosfato e sideróforos. Esses compostos contribuem para a promoção do crescimento vegetal e

podem representar um diferencial no uso agrícola de Bt, reforçando seu papel como ferramenta multifuncional na agricultura sustentável (Monnerat *et al.*, 2020; Mendoza-Almanza *et al.*, 2020).

A elevada diversidade de genes codificadores de proteínas em *Bt* ainda não é completamente compreendida, embora se reconheça que fatores intrínsecos às espécies de insetos-alvo desempenhem um papel importante nesse processo. Entre esses fatores, destacam-se o pH do intestino médio, o perfil de proteases digestivas e os tipos de receptores presentes na membrana intestinal dos insetos, os quais podem atuar como agentes seletivos sobre as estirpes bacterianas, promovendo adaptações genéticas específicas (Bravo; Gill; Soberón, 2007; Palma *et al.*, 2014).

Além disso, é plausível que características geoclimáticas influenciem o conteúdo genético dos isolados de *Bt* (Uribe; Martínez; Cerón, 2003). O tipo de cultivo predominante em determinada região também pode exercer pressão seletiva sobre essas populações bacterianas, uma vez que diferentes sistemas agrícolas abrigam distintas comunidades de insetos-praga, com os quais as estirpes bacterianas interagem continuamente (Palma *et al.*, 2014).

Estudos demonstraram que isolados de *Bt* provenientes de ambientes aquáticos apresentam elevada toxicidade contra larvas de insetos da ordem Lepidoptera (Martínez; Caballero, 2002; Konecka *et al.*, 2012; Alemu *et al.*, 2024) e da ordem Diptera, especialmente aquelas pertencentes a espécies de importância médica e veterinária (Ichimatsu *Et Al.*, 2000; Iriarte *et al.*, 2000; El-Kersh *et al.*, 2016).

Vale destacar que o isolamento de *B. thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), uma cepa notavelmente entomopatogênica contra dípteros, foi realizado a partir de uma epizootia natural em criadouros de mosquitos, marcando um avanço significativo na utilização de biocontroladores no combate a vetores (Goldberg; Margalit, 1977; Margalit; Dean, 1985). Esta cepa tornou-se referência no controle biológico de mosquitos, como *Ae. aegypti*, *Anopheles spp.* e *Culex spp.*, sendo amplamente utilizada na formulação de bioinseticidas comerciais.

### 1.3 *Aedes aegypti*

Os dípteros da família Culicidae representam um grupo taxonômico de significativa importância médica, compreendendo mais de 3.600 espécies descritas globalmente (Wilke *et al.*, 2020; Harbach, 2022). Dentre estes, *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) destaca-se como vetor principal de arboviroses de impacto global, incluindo dengue, chikungunya, Zika e febre amarela urbana, (Paho, 2021; Who, 2022).

A dengue tem se tornado uma preocupação crescente de saúde pública global, com números alarmantes nos últimos anos. Em 2024, a Organização Mundial da Saúde (OMS)

registrou aproximadamente 13 milhões de casos de dengue em todo o mundo, incluindo cerca de 42 mil casos graves e mais de 8.700 mortes relacionadas à doença (Who, 2024).

Em 2024, foram registrados mais de 13 milhões de casos na região, quase o triplo do recorde anterior de 4,1 milhões em 2023. O Brasil liderou com 6,2 milhões de casos suspeitos, representando 82% do total mundial. Até agosto de 2024, o país contabilizava 4.961 mortes confirmadas pela doença, com outros 2.161 óbitos em investigação. O número de mortes por dengue em 2024 foi mais de quatro vezes superior ao registrado ao longo de todo o ano anterior, quando foram notificados 1.179 óbitos pela doença (Brasil, 2024).

Essa doença é causada pelo vírus dengue (DENV) que estão classificados cientificamente na família Flaviviridae e no gênero *Orthoflavivirus*. Até o momento são conhecidos quatro sorotipos – DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 –, que apresentam distintos materiais genéticos (genótipos) e linhagens. A presença simultânea de múltiplos sorotipos do vírus da dengue em regiões hiperendêmicas aumenta o risco de infecções concomitantes, nas quais um mesmo indivíduo é infectado por diferentes sorotipos, condição associada a formas mais graves da doença (Andrade *et al.*, 2016; Sirisena *et al.*, 2021).

A **plasticidade ecológica** e a **antropofilia** do *Ae. aegypti* são fatores determinantes para sua ampla colonização de ambientes urbanos e representam grandes desafios para o controle vetorial (Powell; Gloria-Soria; Kotsakiozi, 2018). A plasticidade ecológica permite que o mosquito se adapte a diferentes condições ambientais, utilizando diversos tipos de criadouros artificiais presentes nas cidades, como pneus, recipientes plásticos e caixas d'água. Além disso, ele consegue completar seu ciclo de vida em pequenas quantidades de água limpa e sobreviver em ambientes urbanos mesmo com variações de temperatura e umidade (Bermudi *et al.*, 2017).

Já a antropofilia, caracterizada pela preferência pelo sangue humano, favorece a permanência do vetor próximo às residências, aumentando a eficácia na transmissão de arboviroses como dengue, zika e chikungunya. Essas características tornam o controle do vetor mais complexo, pois exigem ações contínuas, participação ativa da população e estratégias integradas de vigilância, já que métodos tradicionais, como o uso de inseticidas, têm eficácia limitada em ambientes domésticos e de difícil acesso (POWELL; TABACHNICK, 2013).

#### 1.4 Controle Químico de *Aedes aegypti*

O controle químico, contínua sendo o principal método para controlar populações de *Ae. aegypti* em contextos epidemiológicos (Achee *et al.*, 2019; Who, 2022). E consiste no uso de inseticidas para eliminar insetos em diferentes estágios de vida, como larvas e adultos, levando em conta seus hábitos. Os produtos podem ser larvicidas, usados para eliminar larvas, ou adulticidas,

## Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.*

voltados ao combate de insetos adultos. Neste último caso, o controle pode ser feito por aplicação residual, onde os insetos morrem ao entrar em contato com superfícies tratadas, ou por nebulização espacial (fumacê), que dispersa partículas no ar para atingir os adultos presentes no momento da aplicação (Brasil, 2025).

Os piretróides, como deltametrina, cipermetrina e lambda-cialotrina, estão entre os inseticidas mais utilizados no controle de *Ae. aegypti*, atuando através da modulação dos canais de sódio no sistema nervoso, o que leva à paralisia e morte do inseto (Kumar *et al.*, 2021). Sua popularidade deve-se ao rápido efeito *knockdown* e relativa segurança para mamíferos, embora mutações no gene *kdr* (*knockdown resistance*) tenham reduzido significativamente sua eficácia em diversas populações do mosquito (Moreira; Mansur; Figueira-Mansur, 2012; Linss *et al.*, 2014). Já os organofosforados, representados principalmente pelo temefós (larvicida) e malation (adulticida), atuam inibindo a acetilcolinesterase, causando hiperexcitação neuromuscular (Hemingway *et al.*, 2016). Os carbamatos, como bendiocarb e propoxur, também inibem a acetilcolinesterase, porém de forma reversível (Corbel *et al.*, 2007), apresentando como principal limitação a toxicidade em humanos (Dusfour *et al.*, 2019).

A aplicação recorrente de inseticidas exerce forte pressão seletiva sobre as populações de *Ae. aegypti*, favorecendo indivíduos com características que conferem resistência aos compostos químicos utilizados. Como resultado, observam-se processos evolutivos mediados pela seleção natural, nos quais se destacam mecanismos adaptativos que reduzem a sensibilidade dos insetos aos inseticidas. Diversos estudos têm documentado a disseminação de resistência a múltiplas classes de inseticidas, como piretróides, organofosforados e carbamatos, em populações vetoriais distribuídas em regiões tropicais, o que compromete significativamente a eficácia das estratégias de controle (Dusfour *et al.*, 2019; Moyes *et al.*, 2021; Vera-Maloof *et al.*, 2022).

### 1.5 Controle Biológico de *Ae. aegypti*

O controle biológico de *Ae. aegypti* representa uma estratégia alternativa ao uso de inseticidas químicos convencionais, baseada na aplicação de organismos vivos ou de seus derivados com atividade entomopatogênica, com o objetivo de reduzir a população do vetor. Essa abordagem inclui o uso de parasitas, patógenos, predadores naturais e moléculas de origem biológica capazes de interferir no ciclo de vida do mosquito, destacando-se agentes como Bti, compostos bioativos como a espinosina, além de peixes predadores de larvas de mosquitos (Brasil, 2025).

Microrganismos entomopatogênicos, como fungos, oomicetos, bactérias, vírus e nematoides, desempenham um papel fundamental no controle de populações de insetos-praga,

por sua capacidade de causar doenças e levar os hospedeiros à morte. Esses agentes biológicos têm sido amplamente reconhecidos como alternativas ecologicamente sustentáveis aos pesticidas químicos, oferecendo vantagens como seletividade, segurança ambiental e menor impacto sobre espécies não-alvo (Domínguez-Arrizabalaga *et al.*, 2020; Deka, Baruah; Babu, 2021).

Nesse contexto, o uso de entomopatógenos no controle biológico de insetos vetores representa uma abordagem promissora e ambientalmente viável dentro dos programas de manejo integrado. Além de sua eficácia na intoxicação e eliminação do inseto-alvo, esses microrganismos promovem a redução da dependência de compostos sintéticos, contribuindo para a conservação da biodiversidade e para a sustentabilidade dos ecossistemas (Lacey *et al.*, 2015; Benelli; Beier, 2017; Deka; Baruah; Babu, 2021).

Dentre os organismos entomopatogênicos, a utilização de inseticidas biológicos à base de Bt no controle de vetores tornou-se uma excelente alternativa aos inseticidas químicos, em virtudes de vantagens como: alta especificidade, menor risco ambiental e à saúde humana, menor frequência de resistência nos insetos alvo e a possibilidade do entomopatógeno se multiplicar aumentando a sua permanência no ambiente (Alves, 1998, Brar *et al.*, 2006; Bravo *et al.*, 2011; Glare *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2020; Who, 2020).

Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo isolar Bt de ambientes aquáticos e investigar a patogenicidade desses isolados em larvas de *Ae. aegypti*. A finalidade é selecionar estirpes com novas proteínas inseticidas e com maior toxicidade, o que será importante para fornecer alternativas para lidar com o surgimento de populações de insetos resistentes, uma vez que linhagens de Bt isolados localmente são geralmente mais eficazes do que as importadas devido à maior especificidade no hospedeiro alvo, maior persistência em campo devido à maior adaptação ao ambiente natural e toxicidade em uma faixa de temperatura mais alta. E, com isso, buscar o desenvolvimento de formulações mosquitocidas biológicas eficazes e ambientalmente seguras, contribuindo para estratégias sustentáveis de controle vetorial, especialmente frente à crescente resistência de *Ae. aegypti* a inseticidas químicos convencionais.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Origem dos isolados de Bt**

Os isolados de Bt foram obtidos a partir de amostras de água coletadas em igarapés localizados na Área de Proteção Ambiental (APA) do Inhamum, no município de Caxias, estado do Maranhão, situada entre as coordenadas 04° 53' 30" S e 43° 24' 53" W. Essa região apresenta elevado potencial hídrico, caracterizado pela presença de diversos corpos d'água que formam

piscinas naturais ao longo de sua extensão (Fernandes *et al.*, 2007). As coletas foram realizadas nos seguintes pontos da APA: Inhamum (INH) (04°53'54,8" S / 43°25'61,1" W), Sumidouro do Padre II (SPII) (04°53'23,6" S / 43°25'53,2" W), Sumidouro do Padre I (SPI) (04°53'28,1" S / 43°25'52,3" W) e Soledade (SOL). Nesses pontos, buscou-se por ambientes aquáticos lênticos, preferencialmente, em locais de reprodução de mosquito (Goldberg; Margalit, 1977; Margalit; Dean, 1985), onde as amostras de água coletadas foram colocadas em tubos tipo Falcon de 50 mL estéreis e armazenadas em refrigerador a 4 °C até o processamento.

## 2.2 Isolamento e Identificação de Bt

O isolamento de Bt foi realizado no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas (BEMMOL) da Universidade Estadual do Maranhão, *campus* Caxias. Para a obtenção de Bt das amostras de água, mistura-se 10 mL de cada amostra com 40 mL de solução salina (0,006 mM FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,01 mM CaCO<sub>3</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,08 mM MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,07 mM MnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,006 mM ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) em um tubo tipo falcon de 50 mL. Posteriormente, as amostras foram agitadas a 250 rpm por 4 h a 30 °C e submetidas a 80 °C por 12 min e, em seguida, colocadas no gelo durante 5 min para eliminação de células vegetativas. As amostras foram diluídas 10 e 100 vezes e uma alíquota de 100 µL da última diluição é distribuída em placa de Petri contendo meio ágar nutriente e incubada a 30 °C por 24 e 48h.

As colônias de bactérias foram selecionadas, levando-se em consideração caracteres morfológicos, típicos de Bt, como a ausência de pigmentação, bordos ondulados e forma circular (Who 1985, Rampersad; Khan; Ammons *et al.*, 2002). Os isolados foram codificados com a sigla BtMAq (Bt do Maranhão provenientes de ambientes aquáticos), seguida pela numeração correspondente às colônias.

Os isolados foram submetidos à coloração de Gram (Newprov-Biolife, Porto Alegre, RS) e cultivados em ágar nutriente suplementado com penicilina G (100 mg/L), meio seletivo para Bt e *Bacillus cereus* (Sosa-Gómez; Tigano; Arantes, 1998).

A identificação de Bt incluiu a detecção de cristais proteicos por microscopia de contraste de fase, com classificação morfológica em bipiramidais, esféricos, esféricos irregulares, romboides, pontiagudos irregulares, retangulares e formas compostas (Schnepf *et al.*, 1998; WHO, 1999). Para visualização dos cristais, empregou-se coloração com verde malaquita a 5% segundo o método de Wirtz-Conklin, observada em microscópio de campo claro com objetiva de imersão em óleo (1000×). Os isolados obtidos estão armazenados, na Coleção de Bactérias Entomopatogênicas do Maranhão (CBENMA) no BEMMOL, de acordo com o método descrito por Monnerat; Silva, Silva-Werneck (2001), o qual consiste em estocá-los em fitas de papel filtro

(1,5 cm X 0,5 cm) em microtubos contendo água destilada impregnados com uma suspensão de esporos/cristais e armazenados a 4 °C.

### 2.3 Bioensaios de Patogenicidade

A suscetibilidade de larvas de *Ae. aegypti* a isolados de Bt foi avaliada em copos plásticos contendo 10 mL de água destilada potável, 10 larvas de 3º ínstar e 1 mL de suspensões de esporos/cristal. As suspensões de esporos/cristal foram preparadas com os isolados de Bt, incluindo Bti, sorotipo H-14 (VectorBac® WG), que foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura ágar nutriente e incubados a 30 °C durante cinco dias, permitindo a completa esporulação e liberação dos cristais. Após esse período, todo o conteúdo bacteriano foi transferido, com auxílio de alça de platina, para tubos Falcon contendo 10 mL de água destilada, autoclavada e 0,01% de Triton X-100 (espalhante adesivo).

Cada bioensaio foi conduzido em três repetições, o Bti foi utilizado como controle positivo e copos sem suspensões de esporos/cristal como controle negativo. A condução dos bioensaios foi realizada em condição ambiente e a leitura de sobrevivência das larvas foi feita em intervalos de tempo de 24 e 48 horas, registrando-se o número de larvas vivas e mortas em cada copo, obtendo desta forma o percentual de mortalidade dos indivíduos. Considerou-se com potencial larvicida os isolados que proporcionaram mortalidade igual ou superior a 50% às larvas dos insetos. Os dados de mortalidade obtidos nos bioensaios de patogenicidade foram corrigidos pela mortalidade do controle (Abbott, 1925) e determinado à percentagem de mortalidade das larvas de *Ae. aegypti*.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Isolamento e Caracterização dos Cristais de Bt de Água

No total, 52 amostras de água foram analisadas, das quais 31 (59,61%) apresentaram crescimento bacteriano, resultando em 597 colônias. A caracterização morfológica e a coloração de Gram permitiram identificar 320 colônias como potenciais Bt, das quais 296 foram confirmadas por microscopia de contraste de fase devido à presença de corpos parasporais cristalinos, característicos da espécie. Todos os igarapés amostrados apresentaram colônias de Bt, indicando sua ampla distribuição nos ambientes aquáticos da APA do Inhamum (Tabela 1).

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

**Tabela 1** – Relação dos igarapés (IG), número da amostra de água (NAG), colônia bacteriana (CB) colônias de Bt (CBt), índice de colônias de Bt (ICBt) e isolados da APA do Inhamum.

IG	NAG	CB	CBt	ICBt <sup>1</sup>	Isolados
INH <sup>2</sup>	1	18	9	0,5	BtMAq01 a BtMAq09
	5	6	3	0,5	BtMAq12, BtMAq13 e BtMAq17
	9	13	4	0,3	BtMAq36 a BtMAq39
	13	7	2	0,3	BtMAq55 e BtMAq56
	17	-	-	-	
	21	-	-	-	
	25	-	-	-	
	29	25	21	0,8	BtMAq69 a BtMAq89
	33	22	11	0,5	BtMAq149 a BtMAq159
	37	27	13	0,5	BtMAq197 a BtMAq208
	41	21	12	0,6	BtMAq263 a BtMAq274
	45	-	-	-	
	49	15	12	0,8	BtMAq287 a BtMAq296
<b>TOTAL</b>	<b>-</b>	<b>154</b>	<b>87</b>	<b>0,6</b>	
SP II <sup>3</sup>	2	7	1	0,1	BtMAq10
	6	3	1	0,3	BtMAq14
	10	6	2	0,3	BtMAq33 e BtMAq40
	14	19	9	0,5	BtMAq57 a BtMAq65
	18	-	-	-	
	22	-	-	-	
	26	-	-	-	
	30	30	20	0,7	BtMAq90 a BtMAq109
	34	41	15	0,4	BtMAq160 a BtMAq174
	38	39	17	0,4	BtMAq209 a BtMAq225
	42	-	-	-	
46	-	-	-		
50	-	-	-		
<b>TOTAL</b>	<b>-</b>	<b>145</b>	<b>65</b>	<b>0,4</b>	
3	29	17	0,6	BtMAq15 a BtMAq32	
7	9	1	0,1	BtMAq34	

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

	11	8	1	0,1	BtMAq41
	15	9	3	0,3	BtMAq66, BtMAq67 e BtMAq68
	19	-	-	-	
	23	-	-	-	
SP I <sup>4</sup>	27	-	-	-	
	31	40	21	0,5	BtMAq110 a BtMAq130
	35	11	9	0,8	BtMAq175 a BtMAq183
	39	20	11	0,5	BtMAq226 a BtMAq236
	43	41	15	0,4	BtMAq248 a BtMAq262
	47	-	-	-	
	51	-	-	-	
<b>TOTAL</b>	<b>-</b>	<b>167</b>	<b>78</b>	<b>0,5</b>	
	4	4	1	0,2	BtMAq11
	8	7	1	0,4	BtMAq35
	12	25	13	0,5	BtMAq42 a BtMAq54,
	16	-	-	-	
	28	-	-	-	
	20	-	-	-	
SOL <sup>5</sup>	24	-	-	-	
	32	25	18	0,7	BtMAq131 a BtMAq148
	36	27	13	0,5	BtMAq184 a BtMAq196
	40	18	11	0,6	BtMAq237 a BtMAq247
	44	-	-	-	
	48	-	-	-	
	52	25	15	0,5	BtMAq275 a BtMAq286
		<b>131</b>	<b>72</b>	<b>0,5</b>	
<b>TOTAL GERAL</b>	<b>-</b>	<b>597</b>	<b>296</b>	<b>0,5</b>	

Nota:<sup>1</sup>-Bt=n(Bt/CB); <sup>2</sup>- Inhamum; <sup>3</sup>- Sumidouro do Padre II; <sup>4</sup>- Sumidouro do Padre I; <sup>5</sup>- Soledade.

**Fonte:** Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas e Marcadores Moleculares, Uema *Campus* Caxias, Maranhão, 2025.

Vários estudos têm realizado isolamento de Bt a partir de ambientes aquáticos (Ichimatsu *et al.*, 2000; Iriarte *et al.*, 2000, Martínez; Caballero, 2002; Konecka *et al.*, 2012, El-Kersh *et al.*,

2016; Alemu *et al.*, 2024) visando o controle de insetos. Segundo Iriarte *et al.* (2000), ambientes aquáticos têm se mostrado uma boa fonte de Bt.

Neste estudo, a presença de Bt foi detectada em mais de 50% das amostras de água analisadas, com índice de Bt total de 0,5 (Tabela 1). Esse valor pode ser considerado alto quando comparado a outras pesquisas. Ichimatsu *et al.* (2000) investigaram a presença de Bt em amostras de águas doces em quatro áreas de Kyushu (Japão) e obtiveram índice de Bt total de 0,4. Já Iriarte *et al.* (2000) pesquisando por populações de Bt em diferentes habitats aquáticos da província espanhola de Navarra (Espanha) e Alemu *et al.* (2024) analisando amostras de solo e água para isolar Bt em Gondar do Norte e Dubeti (Afar), Etiópia, verificaram índice de Bt total de 0,2.

A quantidade de índice de Bt total da área de estudo em todo o mundo pode ser diferente, podendo estar relacionado ao clima, às condições geográficas e ao substrato investigado (Apaydin *et al.*, 2005; Alemu *et al.*, 2024). Esses resultados reforçam a capacidade de sobrevivência desse microrganismo em ambientes aquáticos (Menon; Mestral, 1985; Ichimatsu *et al.*, 2000).

A viabilidade de Bt nesse tipo de ambiente é influenciada por diversos fatores biológicos, químicos e físicos, como competição microbiana, presença de bacteriófagos, pH, aeração e disponibilidade de nutrientes (Argôlo-Filho; Loguercio, 2013). Estudos conduzidos por Ichimatsu *et al.* (2000) demonstraram que Bt é capaz de se desenvolver em ambientes aquáticos ricos em oxigênio e matéria orgânica, como os encontrados em estações de tratamento de esgoto.

Em relação à morfologia dos cristais parasporais, o formato esférico foi o mais predominante em 98,66% dos 296 isolados de Bt e os formatos romboide e esférico irregular foram visualizados nos isolados BtMAq-58 e BtMAq-59, respectivamente, ambos da amostra 14 proveniente do igarapé SP II.

Essas características morfológicas dos cristais são indicativas do potencial entomopatogênico dos isolados (Maeda *et al.*, 2000; Praça *et al.*, 2004; Federici; Park; Sakano, 2006). Estudos demonstram que diferentes morfologias estão associadas a proteínas tóxicas com especificidades variadas: cristais esféricos geralmente indicam proteínas ativas contra dípteros, podendo estar associados a proteínas Cry2, enquanto cristais rombóides podem estar associados a proteínas Cry11A, também com atividade inseticida contra esta ordem (Orduz *et al.*, 1998; Abo-Bakr *et al.*, 2020).

A ocorrência expressiva de isolados de Bt em ambientes aquáticos reforça sua característica ubíqua e evidencia a viabilidade de exploração desses habitats na prospecção de novas linhagens com atividade entomopatogênica. Além disso, tais isolados podem apresentar diversidade genética ainda não explorada, o que reforça sua importância como recurso

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva *et al.***

biotecnológico promissor para o desenvolvimento de bioinseticidas mais eficientes, sobretudo para o controle de vetores de doenças.

Os bioensaios de patogenicidade realizados com os 296 isolados de *Bt* contra larvas de *Ae. aegypti* revelaram taxas de mortalidade variando entre 0% e 100%. Dentre os isolados testados, 131 (44,26%) não apresentaram efeito larvicida, 153 (51,69%) promoveram mortalidade entre 3,3% e 43,3%, três isolados (1,01%) ocasionaram mortalidade entre 60% e 96,6% e nove isolados de *Bt* proporcionaram 100% de mortalidade. Os isolados que apresentaram atividade mosquitocida  $\geq 60\%$  contra larvas de *Ae. aegypti* podem ser considerados os mais promissores para a busca de novos agentes de controle biológico de insetos vetores (Tabela 2).

**Tabela 2** – Taxa de patogenicidade dos isolados de *Bacillus thuringiensis*, da Coleção de Bactérias Entomopatogênicas do Maranhão, obtidos de ambientes aquáticos, contra larvas de *Aedes aegypti*.

Isolados	Mortalidade (%)	
	24 h	48 h
Bti	100	100
BtMAq-156	90	90
BtMAq-201	100	100
BtMAq-210	100	100
BtMAq-214	60	60
BtMAq-219	100	100
BtMAq-220	100	100
BtMAq-237	100	100
BtMAq-244	100	100
BtMAq-246	100	100
BtMAq-248	100	100
BtMAq-260	100	100
BtMAq-293	96,6	96,6

Nota: Bti - *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* BtMAq - *Bacillus thuringiensis* do Maranhão.

**Fonte:** Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas e Marcadores Moleculares, Uema *Campus* Caxias, Maranhão, 2025.

Testes de patogenicidade são amplamente utilizados para demonstrar a capacidade de microrganismos causarem doenças em insetos, sendo a primeira etapa de várias pesquisas com o objetivo de selecionar novos isolados de *Bt* para o controle biológico de vetores e insetos-praga (Ichimatsu *et al.*, 2000; Iriarte *et al.*, 2000; Martínez; Caballero, 2002; Konecka *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2012; El-Kersh *et al.*, 2016, Lutfiana; Gama, 2017; Alemu *et al.*, 2024).

Os isolados BtMAq-201, BtMAq-210, BtMAq-219, BtMAq-220, BtMAq-237, BtMAq-244, BtMAq-246, BtMAq-248 e BtMAq-260 que apresentaram 100% de mortalidade inseticida contra larvas de *Ae. aegypti* podem ser considerados os mais promissores para a busca de novos agentes de controle biológico de insetos vetores.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

A ocorrência de isolados de *Bt* de ambiente aquático com atividade tóxica contra larvas de insetos da ordem Diptera também foi verificada em outros trabalhos (Ichimatsu *et al.*, 2000; Iriarte *et al.*, 2000; El-Kersh *et al.*, 2016; Alemu *et al.*, 2024). Todos esses autores também reportaram baixo número de isolados de *Bt* de ambiente aquáticos com alta taxa de mortalidade contra larvas de dípteros.

Apesar do baixo número de isolados de *Bt* de ambiente aquáticos com atividade mosquitocida a larvas de *Ae. aegypti*, neste estudo, alguns autores demonstraram que isolados de água são mais eficientes contra dípteros do que isolados de *Bt* de solo. Martínez e Caballero (2002) verificaram que dos 62 isolados (provenientes de ambientes terrestres e aquáticos) testados contra *T. oleracea*, sete isolados de água foram altamente tóxicos a esse inseto. Já El-Kersh *et al.* (2016) testaram 68 isolados de diversos substratos incluindo solo e água, contra *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae), e o isolado mais tóxico foi o Bt63, proveniente de água.

Muitas pesquisas mostram que isolados de *Bt* ativos a larvas de *Ae. aegypti* são provenientes de solo (Costa *et al.*, 2010; Campanini *et al.*, 2012; Soares-Da-Silva *et al.*, 2015; Lobo *et al.*, 2018) e a maioria desses trabalhos também relatam baixo número de isolados de *Bt* com alta taxa de mortalidade contra larvas de *Ae. aegypti* (Praça *et al.*, 2004; Soares-Da-Silva *et al.*, 2015; Lobo *et al.*, 2018), sendo que, dentre esses autores citados, Soares-da-Silva *et al.* (2015) obtiveram o maior número de isolados (8,7%) com alta taxa de mortalidade contra larvas de *Ae. aegypti*.

Estudos demonstraram que isolados de *Bt* provenientes de ambientes aquáticos apresentam elevada toxicidade contra larvas de insetos da ordem Lepidoptera (Martínez; Caballero, 2002; Konecka *et al.*, 2012; Alemu *et al.*, 2024) e da ordem Diptera, especialmente aquelas pertencentes a espécies de importância médica e veterinária (Ichimatsu *et al.*, 2000; Iriarte *et al.*, 2000; El-Kersh *et al.*, 2016).

A ação tóxica desses isolados pode ter relação com o formato do cristal onde neste estudo todos são esféricos e de acordo com Schnepf *et al.* (1998), o formato esférico do cristal pode estar associado a presença das proteínas Cry4A e Cry4B que tem ação tóxica contra dípteros (Angsuthanasombat; Crickmore; Ellar, 1992; Poncet *et al.*, 1995; Abdullah *et al.*, 2003; Beltrão; Silva-Filha, 2007; Otieno-Ayayo *et al.*, 2008).

Ichimatsu *et al.* (2000), ao testar isolados de *Bt* de ambientes aquáticos contra larvas de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) (Linnaeus, 1758) e *Clogmia albipunctatus* (Diptera, Psychodidae) (WILLISTON, 1893), observaram que aqueles que apresentaram toxicidade contra esses insetos exibiam cristais esféricos ou irregulares. No entanto, Iriarte *et al.* (2000) observaram que os isolados tóxicos a *Tipula oleracea* (Diptera: Tipulidae) (Linnaeus, 1758) eram bipiramidal.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo revelaram 12 isolados de Bt provenientes de ambientes aquáticos com atividade entomopatogênica contra larvas de *Ae aegypti*. Contudo, para a adequada avaliação do potencial biotecnológico desses isolados, são necessárias análises complementares, incluindo testes de toxicidade, caracterização molecular detalhada e sequenciamento genômico. Essas informações são essenciais para a seleção de cepas promissoras visando o desenvolvimento de bioinseticidas eficientes, ambientalmente seguros e com aplicação estratégica no controle de vetores de relevância para a saúde pública.

#### Agradecimentos e Financiamento

Agradecemos à UEMA, Universidade Estadual do Maranhão, pela infraestrutura e auxílio na concessão de bolsas de PIBIC e BATI, e à FAPEMA, Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento do Maranhão, pelo apoio financeiro concedido a diversos projetos que proporcionaram a obtenção desses resultados.

#### REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p. 265-266, 1925. DOI: 10.1093/jee/18.2.265a.
- ABDULLAH, M. A. *et al.* Introduction of *Culex* toxicity into *Bacillus thuringiensis* Cry4Ba by protein engineering. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, p. 5343–5353, 2003. DOI: 10.1128/AEM.69.9.5343-5353.
- ABO-BAKR, A. *et al.* Isolation and characterization of the local entomopathogenic bacterium, *Bacillus thuringiensis* isolates from different Egyptian soils. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, p. 1-9, 2020. DOI: 10.1186/s41938-020-00250-z.
- ACHEE, N. L. *et al.* Correction: Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, p.7275, 2019. DOI:10.1371/journal.pntd.0007275
- ALEMU, F. *et al.* Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* from soil and water and laboratory testing of their insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae) in Gondar, North Western Ethiopia. 2024. **EAS Journal of Biotechnology and Genetics**, v. 6, p. 108-125, 2024. DOI: 10.36349/easjbg.2024.v06i06.001.
- ALVES, S. B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. (ORG.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: Fealq, p. 308-310, 1998.
- ANAYA, P. *et al.* Oligomerization is a key step for *Bacillus thuringiensis* Cyt1Aa insecticidal activity but not for toxicity against red bloods cells. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 1748, p. 1-27, 2020. DOI: 10.1016/j.ibmb.2020.103317.

ANDRADE, E. H. *et al.* Spatial-temporal co-circulation of dengue virus 1, 2, 3, and 4 associated with coinfection cases in a hyperendemic area of Brazil: A 4-week survey. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, p. 1080-4, 2016. DOI: 10.4269/ajtmh.15-0892.

ANGSUTHANASOMBAT, C.; CRICKMORE, N.; ELLAR, D. J. Comparison of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* CryIVA and CryIVB cloned toxins reveals synergism *in vivo*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 94, p. 63-68, 1992. DOI: 10.1016/0378-1097(92)90584-b.

APAYDIN, O. *et al.* Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from different grain habitats in Turkey. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, p. 285–292, 2005. DOI: 10.1007/s11274-004-3633-y.

ARANTES, O. M. N.; VILAS-BÔAS, L. A.; VILAS-BÔAS, G. T. *Bacillus thuringiensis*: Estratégias no controle biológico. **Biotecnologia: Avanços na Agricultura e Agroindústria. EDUCS**, v. 2, p. 269-293, 2002.

ARGÔLO-FILHO, R. C.; LOGUERCIO, L. L. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. **Insects**, v. 5, p. 62-91, 2013. DOI: 10.3390/insects5010062.

BELTRÃO, H. B. M.; SILVA-FILHO, M. H. N. L. Interaction of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* Cry toxins with binding sites from *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae midgut. **FEMS Microbiology Letters**, v. 266, p. 163-169, 2007. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00527.x.

BEN-DOV, E. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins. **Toxins**, v. 6, p. 1222-1243, 2014. DOI: 10.3390/toxins6041222.

BENELLI, G.; BEIER, J. C. Current vector control challenges in the fight against malaria. **Acta Tropical**, v. 174, p. 91-96, 2017. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.06.028.

BERMUDI, P. M. M. *et al.* Criadouro de *Aedes aegypti* em reservatório subterrâneo de água da chuva: um alerta. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, p. 122, 2017. DOI: 10.11606/S1518-8787.2017051000087

BERNHARD, K. *et al.* Natural isolates of *Bacillus thuringiensis*: worldwide distribution, characterization, and activity against insect pests. **Journal of invertebrate pathology**, v. 70, p. 59-68, 1997. DOI: 10.1006/jipa.1997.4669.

BIGGEL, M. *et al.* Recent paradigm shifts in the perception of the role of *Bacillus thuringiensis* in foodborne disease. **Food microbiology**, v. 105, p. 104025, 2022. DOI: 10.1016/j.fm.2022.104025.

BOBROWSKI, V. L. *et al.* Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v. 33, p. 843-850, 2003. DOI: 10.1590/S0103-84782003000500008.

BRAR, S. K. *et al.* Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 323-342, 2006. DOI: 10.1016/j.procbio.2005.07.015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 55: **Monitoramento dos casos de dengue, chikungunya e zika até agosto de 2024**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-11.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual Técnico para o Controle de *Aedes aegypti***. Brasília: MS, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigilancia/guia-de-vigilancia-em-saude-volume-1-6a-edicao>. Acesso em: 25 mai. 2025.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 15, p. 49, 2007. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022.

BRAVO, A. *et al.* *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, p. 423-31, 2011. DOI: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006.

BUKHARI, D. A. *et al.* The potential mosquitocidal activity of *cry4A* toxic region crystal protein gene from local isolates of *Bacillus thuringiensis* against *Aedes aegypti*. **Journal of King Saud University - Science**, v 34, p. 102191, 2022. DOI: 10.1016/j.jksus. 2022.102191.

CAMPANINI, E. B. *et al.* Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains that contain Dipteran-specific *cry* genes from Ilha Bela (São Paulo, Brazil) soil samples. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 243-247, 2012. DOI: 10.1590/s1519-69842012000200003.

CANTÓN, P. E. *et al.* Binding of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cry4Ba to Cyt1Aa has an important role in synergism. **Peptides**, v. 32, p. 595-600, 2011. DOI: 10.1016/j.peptides.2010.06.005.

CAPALBO, D. M. F.; ARANTES, O. M. N.; SUZUKI, M. T. *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 8, p. 76-83, 2005.

CORBEL, V. *et al.* Evidence for inhibition of cholinesterases in insecticide-resistant malaria vectors. **BMC Biology**, v. 5, p. 1-10, 2007. DOI: 10.1186/1741-7007-7-47.

COSTA, J. R. *et al.* Atividade tóxica de isolados de *Bacillus thuringiensis* a larvas de *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 757-766, 2010. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000500015.

COUCHE, T. L. Industrial fermentation and formulation of entomopathogenic bacteria. In: CHARLES, J. F. (Org.). Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field applications. **New York: Kluwer Academic Publishes**, p. 297-316, 2000.

CRICKMORE, N. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. Disponível em: [http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_CRICKMORE/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_CRICKMORE/Bt/). Acesso em: 05/05/2025.

CRICKMORE, N. *et al.* Contribution of individual components of the d-endotoxin crystal to the mosquitocidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 131, p. 249-254, 1995. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07784.x.

CRICKMORE, N. The diversity of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxins. In: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX, C. (Editors). **Entomopathogenic Bacteria: from laboratory to field application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p. 65-79, 2000.

CRICKMORE, N. *et al.* A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. **Journal of invertebrate pathology**, v. 186, p. 107438, 2021. DOI: 10.1016/j.jip.2020.107438.

CRIVELLI, X. B. *et al.* The complex and changing genus *Bacillus*: A diverse bacterial powerhouse for many applications. **Bacteria**, v. 3, p. 256–270, 2024. DOI: /10.3390/bacteria3030017.

DEKA, B.; BARUAH, C.; BABU, A. Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, p. 1-8, 2021. DOI: 10.1186/s41938-021-00466-7.

DOMÍNGUEZ-ARRIZABALAGA. *et al.* Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* proteins against coleopteran pests. **Toxins**, v. 12, p. 430, 2020. DOI: 10.3390/toxins12070430.

DONOVAN, W. P. *et al.* Discovery and characterization of Sip1A: a novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran larvae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 72, p. 713–719, 2006. DOI: 10.1007/s00253-006-0332-7.

DUSFOUR, I. *et al.* Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses: Advances and challenges. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, p. e0007615, 2019. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007615.

ELLEUCH, J. *et al.* Cry4Ba and Cyt1Aa proteins from *Bacillus thuringiensis israelensis*: Interactions and toxicity mechanism against *Aedes aegypti*. **Toxicon**, v. 104, p. 83e90, 2015. DOI: /10.1016/j.toxicon.2015.07.337.

EL-KERSH, T. A. *et al.* Isolation and characterization of native *Bacillus thuringiensis* strains from Saudi Arabia with enhanced larvicidal toxicity against the mosquito vector *Anopheles gambiae* (s.l.). **BioMed Central**. v.9, p.1-14, 2016. DOI: 10.1186/s13071-016-1922-6.

ESTRUCH, J. J. *et al.* Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, p. 5389–5394, 1996. DOI: 10.1073/pnas.93.11.5389.

FEDERICI, B. A.; PARK, H. W.; SAKANO, Y. **Insecticidal Protein Crystals of *Bacillus thuringiensis***. In: SHIVELY, J. M. (eds) Inclusions in Prokaryotes. Microbiology Monographs, vol 1. Springer, Berlin, Heidelberg. 2006. DOI: 10.1007/3-540-33774-1\_8.

FERNANDES, R. S. *et al.* Diversidade florística de pteridófitas da área de proteção ambiental do inhamum, Caxias, Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 411-413, 2007. FERREIRA, H. C.; MOSCARDI, F. ***Bacillus thuringiensis*: aplicações e perspectivas no controle biológico de insetos-praga**. Brasília: Embrapa, 2012.

GLARE, T. *et al.* Have biopesticides come of age?. **Trends in biotechnology**, v. 30, p. 250-258, 2012. DOI:10.1016/j.tibtech.2012.01.003.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester, John Wiley & Sons, 350p. 2000.

GOBATTO, V. *et al.* *Bacillus thuringiensis* isolates entomopathogenic for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, p. 1039-1046, 2010. DOI: 10.1590/s1519-69842010000500018.

GOLDBERG, L.; MARGALIT, J. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. **Mosquito News**, v. 37, p. 355-358, 1977.

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. E. S. Bactérias Entomopatogênicas. In: ALVES, S.B. (Org.). **Controle Microbiano de Insetos**, p. 383-446, 1998.

HANSEN, B. M. *et al.* Molecular and Phenotypic Characterization of *Bacillus thuringiensis* Isolated from Leaves and Insects. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 71, p. 106-114, 1998. DOI: 10.1006/jipa.1997.4712.

HARBACH, R. **Mosquito Taxonomic Inventory**. 2022. Disponível em: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6045>. Acesso em: 13 abr. 2025).

HEMINGWAY, J. *et al.* Averting a malaria disaster: Will insecticide resistance derail malaria control? **The Lancet**, v. 387, p. 1785-1788, 2016. DOI: 10.1006/jipa.1997.4712.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H.R. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 53, p. 242–255, 1989. DOI: 10.1128/mr.53.2.242-255.1989.

IBRAHIM, M. A.; GRIKO, N. B.; BULLA Jr. L. A. The Cry4B toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* kills Permethrin-resistant *Anopheles gambiae*, the principal vector of malaria. **Experimental Biology and Medicine**. v. 238, p. 350–359, 2013. DOI: 10.1177/1535370213477973.

ICHIMATSU, T. *et al.* Occurrence of *Bacillus thuringiensis* in Fresh Waters of Japan. **Current Microbiology**, v. 40, p. 217-220, 2000. DOI: 10.1007/s002849910044.

IRIARTE, J. *et al.* Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from aquatic environments in Spain. **Current Microbiology**, v. 40, p. 402-408, 2000. DOI: 10.1007/s002840010078.

ITOUA-APOYOLO, C. *et al.* Isolation of multiple subspecies of *Bacillus thuringiensis* from a population of the European sunflower moth, *Homoeosoma nebulella*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 4343-4347, 1995. DOI: 10.1128/aem.61.12.4343-4347.

KARIM, S. *et al.* Determination of receptor binding properties of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxins to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) and pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) midgut brush border membrane vesicles. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.67, p. 198–216, 2000. DOI: 10.1006/pest.2000.2491.

KOLSTO, A. B.; TOURASSE, N. J.; OKSTAD, O. A. What sets *Bacillus anthracis* apart from other *Bacillus* species? **Annual Review of Microbiology**, v. 63, p. 451-476, 2009. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073255.

KONECKA, E. *et al.* Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Strains isolated from soil and water. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 01-05, 2012. DOI: 10.1100/2012/710501.

KUMAR, K. K. *et al.* Microbial biopesticides for insect pest management in India: Current status and future prospects. **Journal of invertebrate pathology**, v. 165, p. 74-81, 2019. DOI:10.1016/j.jip.2018.10.008.

KUMAR, P. *et al.* *Bacillus thuringiensis* as microbial biopesticide: uses and application for sustainable agriculture. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, p. 1-7, 2021. DOI: 10.1186/s41938-021-00440-3.

LACEY, L. A. *et al.* Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 132, p. 1-41, 2015. DOI: 10.1016/j.jip.2015.07.009.

LAI, L. *et al.* *Bacillus thuringiensis* Cyt proteins as enablers of activity of Cry and Tpp toxins against *Aedes albopictus*. **Toxins**, v. 15, p. 211, 2023. DOI:/10.3390/toxins15030211.

LINSS, J. G. B. *et al.* Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys kdr mutations in *Aedes aegypti*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, p. 2683, 2014. DOI: 10.1186/1756-3305-7-25.

LIU, J. *et al.* Environmental fate of Bt proteins in soil: Transport, adsorption/desorption and degradation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 226, p. 112805, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112805.

LOBO, K. S. *et al.* Isolation and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* found in soils of the Cerrado region of Brazil, and their toxicity to *Aedes aegypti* larvae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, p. 5-12, 2018. DOI: /10.1016/j.rbe.2017.11.004.

LUTFIANA, N.; GAMA, Z. P. Potency of *Bacillus thuringiensis* isolates from bareng Tenes Malang City as a biological control agent for suppressing third instar of *Aedes aegypti* larvae. **AIP Conference Proceedings**, v. 1908, 050005, 2017. DOI: /10.1063/1.5012729.

MAEDA, M. *et al.* Recovery of *Bacillus thuringiensis* from marine sediments of Japan. **Current Microbiology**, v. 40, p. 413–422, 2000. DOI: 10.1007/s002840010080.

MARTIN, P.A.; TRAVERS, R. S. Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, p. 2437-42, 1989. DOI: 10.1128/aem.55.10.2437-2442.1989.

MARGALIT, J.; DEAN, D. The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 1, p. 305–325, 1985.

MARTÍNEZ, C.; CABALLERO, P. Contents of *cry* genes and insecticidal toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains from terrestrial and aquatic habitats. **Journal of applied microbiology**, v. 92, p. 745-752, 2002. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2002.01579.x.

MENDOZA-ALMANZA, G. *et al.*, The cytotoxic spectrum of *Bacillus thuringiensis* toxins: from insects to human cancer cells. **Toxins**, v. 12, p. 301, 2020. DOI: 10.3390/toxins12050301.

MENON, A. S.; MESTRAL, J. Survival of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in waters. **Water, Air, Soil Pollut**, v. 25, p. 265-274, 1985. DOI: 10.1007/BF00208453.

MERDAN, A. *et al.* *Bacillus thuringiensis* isolates from soil and diseased insects in Egyptian cotton fields and their activity against lepidopterous insects. **Arch Phytopathol Plant Protect**, v. 43, p.1165–1176. 2010. DOI: 10.1080/03235400802366750.

MONNERAT, R. G.; SILVA, S. F. SILVA-WERNECK, J. O. Catálogo do Banco de Germoplasma de Bactérias Entomopatogênicas do gênero *Bacillus*. Brasília-DF, EMBRAPA, 2001, 65 p.

MONNERAT, R. *et al.* Manual de produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de bactérias do gênero *Bacillus* para uso na agricultura. 1ª ed. DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 46 p. 2020.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; FIGUEIRA-MANSUR, J. Resistência e inseticidas: estratégias, desafios e perspectivas no controle de insetos. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, Rio de Janeiro: INCT, 2012.

MOYES, C. L. *et al.* Correction: Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 19, p. 9084, 2021. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009084.

NCBI – NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Bacillus thuringiensis* taxonomy. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1428>. Acesso em: 15 maio 2025. Acesso em: 16 abr. 2025.

OLIVEIRA, J. V.; NEVES, P. M. O. J. Controle biológico de insetos: Panorama atual e perspectivas. In: Neves, P. M. O. J (org.). **Princípios de Entomologia Aplicada**. Curitiba: UFPR, 2020.

ONOFRE, J. *et al.* The Cyt1Aa toxin from *Bacillus thuringiensis* inserts into target membranes via different mechanisms in insects, red blood cells, and lipid liposomes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, p. 9606-9617, 2020. DOI: 10.1074/jbc.RA120.013869.

ORDUZ, S. *et al.* Sequence of the *cry11Bb1* gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *medellin* and toxicity analysis of its encoded protein. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1388, p. 267-272, 1998. DOI: 10.1016/s0167-4838(98)00168-x.

OTIENO-AYAYO, Z. N. *et al.* Variations in the mosquito larvicidal activities of toxins from *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis*. **Environmental Microbiology**, v. 10, p. 2191–2199, 2008. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2008.01696.x.

PAHO - Pan American Health Organization. **Guidelines for the surveillance, prevention and control of *Aedes aegypti***. Pan American Health Organization. Washington, D. C.; 2021. Disponível em: [iris.paho.org/handle/10665.2/55254](https://iris.paho.org/handle/10665.2/55254). Acesso em: 22 abr. 2025.

PALMA, L. *et al.* *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins**, v. 6, 3296-3325, 2014. DOI: 10.3390/toxins6123296.

PARKS, D. H, *et al.* A complete domain-to-species taxonomy for Bacteria and Archaea. **Nature Biotechnology**, v. 3, p. 1079–1086, 2020. DOI:10.1038/s41587-020-0501-8.

PARK, H. W. *et al.* Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* enhances Mosquitocidal activity of *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 against *Aedes aegypti* but not *Culex quinquefasciatus*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 23, p. 88 - 91 2013 DOI: /10.4014/jmb.1207.070612013.

PÉREZ, C. *et al.* *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cry11Aa and Cyt1Aa toxins interactions support the synergism-model that Cyt1Aa functions as membrane bound receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, p. 18303-18318, 2005. DOI: 10.1073/pnas.0505494102.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. **Agrociência**, v. 7, p. 1-10, 2003. DOI:10.31285/AGRO.07.1043.

PONCET, S. *et al.* Evaluation of synergistic interactions among the CryIVA, CryIVB, and CryIVD toxic components of *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* crystals. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 66, p. 131-135, 1995. DOI: 10.1006/jipa.1995.1075.

POWELL, J. R.; GLORIA-SORIA, A.; KOTSAKIOZI, P. Recent history of *Aedes aegypti*: vector genomics and epidemiology records. **Bioscience**, v. 68, p. 854-860, 2018. DOI: 10.1093/biosci/biy119.

POWELL, J. R.; TABACHNICK, W. J. History of domestication and spread of *Aedes aegypti*-a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 11-17, 2013. DOI: 10.1590/0074-0276130395.

PRAÇA, L. B. *et al.* Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 11-16, 2004. DOI: 10.1590/S0100-204X2004000100002.

PROMDONKOY, B.; PROMDONKOY, P.; PANYIM, S. Co-expression of *Bacillus thuringiensis* Cry4Ba and Cyt2Aa2 in *Escherichia coli* revealed high synergism against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae. **FEMS Microbiology Letters**, v. 252, n. 1, p. 121-126, 2005. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.08.038.

RAYMOND, B.; FEDERICI, B. A. In defence of *Bacillus thuringiensis*, the safest and most successful microbial insecticide available to humanity - a response to EFSA. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, p. fix084, 2017. DOI: 10.1093/femsec/fix084.

SCHNEPF, E. *et al.* *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, p. 775-806, 1998. DOI: 10.1128/MMBR.62.3.775-806.

SILVA, M. C. *et al.* *Bacillus thuringiensis* isolates from northeastern Brazil and their activities against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biocontrol Science and technology**, v. 22, n. 5, p. 583-599, 2012. DOI:10.1080/09583157.2012.670802.

SIRISENA, P. D. N. N. *et al.* Concurrent dengue infections: Epidemiology & clinical implications. **Indian J Med Res**, v. 154, p. 669-679, 2021. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR\_1219\_18.

- SMITH, R. A.; COUCHE, G. A. The Phylloplane as a Source of *Bacillus thuringiensis* Variants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, p. 311-5, 1991. DOI: 10.1128/aem.57.1.311-315.1991.
- SOARES-DA-SILVA, J. *et al.* Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 59, p. 1-6, 2015. DOI: 10.1016/j.rbe.2015.02.001.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; TIGANO, M. S.; ARANTES, O. M. N. Caracterização de entomopatógenos. In: Alves, S. B. (Org.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: **Fealq**, p. 731-763, 1998.
- SUN, Y. *et al.* Construction and characterization of the interdomain chimeras using Cry11Aa and Cry11Ba from *Bacillus thuringiensis* and identification of a possible novel toxic chimera. **Biotechnology Letters**, v. 36, n. 1, p. 105-111, 2014. DOI: 10.1007/s10529-013-1330-3.
- TORRES-QUINTERO, M. C.; GÓMEZ, I.; PACHECO, S. Engenharia da especificidade da toxina Cyt1Aa de *Bacillus thuringiensis* em relação à toxicidade de dípteros para lepidópteros. **Scientific Reports**, v. 8, p. 4989, 2018. DOI: 0.1038/s41598-018-227409.
- URIBE, D.; MARTINEZ, W.; CERON, J. Distribution and diversity of *cry* genes in native strains of *Bacillus thuringiensis* obtained from different ecosystems from Colombia. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 82, n. 2, p. 119-127, 2003. DOI: 10.1016/S0022-2011(02)00195-7.
- VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 1, p. 1-16, 2009. DOI: 10.1016/j.jip.2009.02.009.
- VAN FRANKENHUYZEN, K.; TONON, A. Activity of *Bacillus thuringiensis* Cyt1Ba crystal protein against hymenopteran forest pests. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 113, p. 160–162, 2013. DOI: 10.1016/j.jip.2013.03.007.
- VERA-MALLOOF, F. Z. *et al.* Coevolution of the Ile1, 016 and Cys1, 534 mutations in the voltage gated sodium channel gene of *Aedes aegypti* in Mexico. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, p. 4263, 2015. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004263.
- VILLARREAL-DELGADO, M. F. *et al.* El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. **Revista mexicana de fitopatología**, v. 36, n. 1, p. 95-130, 2018. DOI:10.18781/r.mex.fit.1706-5.
- VOS, P. *et al.* (eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 3, Springer-Verlag, New York, NY. 2009. DOI: 10.1007/978-0-387-68489-5.
- WALKER, K. *et al.* The Role of Microbial Bt Products in U.S. Crop Protection. **Journal of New Seeds**, v. 5, p. 31–51, 2003. DOI:10.1300/J153v05n01\_03.
- WHO- World Health Organization Informal consultation the development of *Bacillus sphaericus* as a microbial larvicide. Geneva: UNDP/World Bank/ WHO. Special Programme For Research and Training in Tropical Diseases. p.24, 1985.

**Pesquisas em Biotecnologia: inovações, técnicas e aplicações | Silva et al.**

WHO. World Health Organization. *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* for mosquito control, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240003763>. Acesso em: 13 mai. 2025.

WHO. World Health Organization. Global strategy for dengue prevention and control 2021–2030. **Geneva**, 2022. Disponível em: [www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue). Acesso em: 13 mai. 2025.

WHO. World Health Organization. **Global dengue surveillance in 2024**. Disponível em: [https://worldhealthorg.shinyapps.io/dengue\\_global/](https://worldhealthorg.shinyapps.io/dengue_global/). Acesso em: 10 mai. 2025.

WHO. World Health Organization. Microbial pest control agent *Bacillus thuringiensis*. **Environmental Health Criteria**, 125 p. Geneva, 1999.

WILKE, A. B. B. *et al.* Proliferation of *Aedes aegypti* in urban environments mediated by the availability of key aquatic habitats. **Scientific Reports**, v. 10, p. 12925, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-69759-5.

WIRTH, M. C. *et al.* Cyt1A of *Bacillus thuringiensis* subsp. delays evolution of resistance to Cry11A in the mosquito *Culex quinquefasciatus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 1, p. 185-189, 2005. DOI: 10.1128/AEM.71.1.185-189.2005.

ZHANG, L. *et al.* A novel mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* strain LLP29 isolated from the phylloplane of *Magnolia denudate*. **Microbiological Research**, v. 165, p. 133-141, 2010. DOI: 10.1016/j.micres.2009.03.002.

## Informações sobre a Editora

Wissen Editora

Homepage: [www.editorawissen.com.br](http://www.editorawissen.com.br)

Teresina – Piauí, Brasil

E-mails: [contato@wisseneditora.com.br](mailto:contato@wisseneditora.com.br)

[wisseneditora@gmail.com](mailto:wisseneditora@gmail.com)

## Siga nossas redes sociais:



@wisseneditora



