



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE REALEZA
CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

GLEISY COSER DE BRITO

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATO AQUOSO DA CASCA
DE NOZ-PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]

REALEZA
2015

23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

GLEISY COSER DE BRITO

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATO AQUOSO DA CASCA
DE NOZ-PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**

Artigo científico apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas – Licenciatura da Universidade Federal da
Fronteira Sul – *campus* Realeza/PR, como requisito
parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de
Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Carvalho de Moura
Co-orientadora: Profa. Dra. Dalila Moter Benvegnú

**REALEZA
2015**

51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96

GLEISY COSER DE BRITO

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATO AQUOSO DA CASCA
DE NOZ-PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**

Trabalho de conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para
obtenção de grau de Licenciada em Ciências Biológicas da Universidade Federal
da Fronteira sul, *campus* Realeza/PR.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Carvalho de Moura
Co-orientadora: Profa. Dra. Dalila Moter Benvegnú

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
_____/_____/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Carvalho de Moura – UFFS

Profa. Dra. Izabel Aparecida Soares – UFFS

Prof. Dr. Letiére Cabreira Soares - UFFS

97 **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATO AQUOSO DA CASCA DE**
98 **NOZ-PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**
99

100 **ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PECAN NUT SHELLS**
101 **EXTRACT AQUEOUS [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]**

102 Gleisy Coser de Brito¹, Alexandre Carvalho de Moura²; Dalila Moter Benvegnú²

103 ¹Acadêmica de Ciências Biológicas – Licenciatura da Universidade Federal da Fronteira Sul
104 (UFFS) – *campus* Realeza, Paraná, Brasil; gleisybrito@hotmail.com
105

106 **Resumo**

107 A crescente incidência de doenças infecciosas, causadas pelo surgimento de microrganismos
108 multirresistentes às medicações alopáticas, provoca pesquisadores e profissionais da área da
109 saúde a buscar terapias antimicrobianas alternativas, como a utilização de extratos vegetais
110 que revertam esse quadro. O presente trabalho visou avaliar o potencial antibacteriano do
111 extrato aquoso em quatro concentrações diferentes da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis*
112 (Wangenh.) C. Koch] sobre 2 cepas bacterianas gram-positivas e 3 gram-negativas, uma vez
113 que são escassos estudos quanto sua atividade antimicrobiana. O extrato vegetal bruto das
114 cascas de *C. illinoensis* foi obtido e avaliado sobre os microrganismos por meio dos métodos
115 de Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), Determinação da Concentração
116 Bactericida Mínima (CBM) e Difusão em Poço (DP). Verificou-se que o extrato da casca de
117 noz-pecã apresentou atividade bactericida para todas as cepas bacterianas testadas nas
118 concentrações de 15% (v/v) e 20% (v/v), com exceção da bactéria *Staphylococcus aureus*,
119 cujo efeito foi bacteriostático a 15% (v/v). O potencial do extrato aquoso na terapêutica de
120 doenças infecciosas é evidenciado e incentiva novos estudos que busquem testar as
121 propriedades deste inóculo natural e acessível com outros microrganismos, assim como seus
122 possíveis mecanismos de ação.

123 **Palavras chave:** Multirresistência bacteriana, Doenças infecciosas, Extrato vegetal.

124 **Abstract**

125 The increasing incidence of infectious diseases, caused by the emergence of multiresistant
126 microorganisms to allopathic medications, induce researchers and health professionals to seek
127 alternative antimicrobial therapies such as the use of plant extracts to reverse this situation.
128 This study aimed to evaluate the antibacterial potential of the aqueous extract in four different
129 concentrations of nut shells pecans [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] against 2 gram-
130 positive bacterial strains and 3 gram-negative, since there are few studies as their
131 antimicrobial activity. The gross plant extract of nut shells *C. illinoensis* was obtained and
132 evaluated against microorganisms using the methods Determination of Minimum Inhibitory
133 Concentration (MIC), Determination of Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and
134 Diffusion in Well (DP). It was found that the nut shell pecan extract showed bactericidal
135 activity for all bacterial strains tested in concentrations of 15% (v/v) and 20% (v/v), an result
136 was obtained exception of *Staphylococcus aureus*, which bacteriostatic effect was 15% (v/v).
137 The potential of the aqueous extract in the treatment of infectious diseases is evident and
138 encourages new studies that seek to test the properties of this natural innocuous and accessible
139 with other microorganisms, as well as their possible mechanisms of action.

² Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – *campus* Realeza, Paraná, Brasil
Docente da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – *campus* Realeza, Paraná, Brasil

140 **Keywords:** Multiresistant bacterial, Infectious diseases, Plant extract.

141 1. INTRODUÇÃO

142 As doenças infecciosas mostravam-se como principal causa de morbidade e
143 mortalidade em humanos, principalmente antes da descoberta e uso de agentes
144 antimicrobianos, conforme aponta a World Health Organization (WHO) (2014). A partir da
145 descoberta da penicilina, por volta dos anos 30, muitos outros antibióticos com espectros de
146 ação variada, foram descobertos e empregados ao tratamento de doenças infecciosas
147 (TORTORA et al., 2012). No entanto, em grande parte dos países em desenvolvimento, as
148 infecções ainda se apresentam como uma das principais causas de morte, especialmente
149 devido ao surgimento de microrganismos multirresistentes (WHO, 2014).

150 Conforme relatório de verificação global da resistência antimicrobiana da WHO
151 (2011), o surgimento de superbactérias ou bactérias multirresistentes, mostra-se como um fato
152 global e que está pondo em risco o tratamento de infecções de importância médica comuns
153 principalmente em ambientes hospitalares. Sem ações urgentes e coordenadas, deduz-se que
154 futuramente infecções comuns e ferimentos leves, anteriormente tratáveis, poderão voltar a
155 causar óbitos (WHO, 2014).

156 A problemática da multirresistência possui crescente interesse, decorrente
157 principalmente de introduções de genes de resistência seguida de constante seleção,
158 proveniente do uso indiscriminado de antimicrobianos. Diversos trabalhos demonstram a
159 origem plasmidial dos principais genes de resistência bacteriana aos antimicrobianos que
160 podem ser transferidos entre as bactérias, conferindo a estas resistências a antibióticos
161 (ANVISA, 2007; FIGUEIRÊDO, 2008).

162 Deste modo, alguns cuidados devem ser tomados na tentativa de reduzir tal situação,
163 como: controle na administração de antibióticos, novos estudos buscando o entendimento dos
164 mecanismos genéticos de resistência, e pesquisas para desenvolvimento de novos
165 medicamentos, sintéticos ou naturais para o combate de patógenos, principalmente aqueles
166 com perfil de multirresistência (NASCIMENTO et al., 2000; WHO, 2011).

167 Nesse sentido, a demanda por novos estudos de compostos antimicrobianos configura-
168 se como um desafio aos pesquisadores, que crescentemente buscam fármacos alternativos,
169 como os de origem vegetal, visando um efeito antimicrobiano sobre os agentes infecciosos de
170 importância médica (SANDES, DI BLASI, 2000; NOVAIS et al., 2003; DUARTE, 2006).

171 A obtenção de antimicrobianos de origem vegetal pode advir de diferentes partes, tais
172 como: caule, raiz – tubérculos, folhas, flores, frutos, cascas e até mesmo da planta inteira

173 (TORO-VAZQUEZ et al., 1999; PRETTO, 2005; ARAÚJO, 2011; PRADO et al., 2009;
174 PRADO, 2013). Entretanto, vale salientar que variações no rendimento e na composição
175 química dos extratos essenciais podem ser influenciadas por questões ambientais,
176 técnicas/metodológicas e genéticas do espécime (ARAÚJO, 2011; CASTRO et al., 2008;
177 MILLEZI et al., 2014).

178 Na literatura estão descritos muitos estudos *in vitro* que envolvem a utilização de
179 substâncias com atividades antimicrobianas de origem vegetal, em especial óleos essenciais,
180 cujos resultados evidenciam as discrepâncias descritas acima. SILVA et al. (2009), indicaram
181 atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela sobre as cepas de *S. aureus* e
182 *Escherichia coli* isoladas de humanos com sinais clínicos. Santurio (2011), constatou maior
183 atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano e menor atividade para o óleo essencial
184 de canela frente aos demais óleos estudados para a *E. coli* isolados de suínos, aves e bovinos.

185 A atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço foi testada frente a
186 sorogrupos de *E. coli* enteropatogênicas (EPEC) isolados de alfaces orgânicas e hidropônicas.
187 Todos os sorogrupos testados apresentaram sensibilidade frente a ação do óleo essencial
188 (MARTINS et al., 2010). A eficácia da ação antibacteriana dos óleos essenciais também varia
189 significativamente em função do microrganismo (PRETTO, 2005; SILVA et al., 2009;
190 SANTURIO, 2011). Ademais, os resultados *in vitro* são promissores e estimulam a utilização
191 de óleos vegetais no tratamento de doenças infecciosas, contudo, são necessários novos
192 estudos que comprovem a eficácia destes produtos naturais *in vivo* bem como as vias de ação
193 destes óleos sobre a fisiologia e/ou estruturas das células bacterianas (SILVA et al., 2009;
194 MARTINS et al., 2010).

195 Novos trabalhos destacam o potencial de extratos de noz-pecã ou noz-americana
196 [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] quanto sua atividade antimicrobiana. Pertencente à
197 família Juglandaceae, é uma árvore frutífera exótica à flora brasileira cultivada doméstica ou
198 comercialmente no Sul e Sudeste do país. Nativa do sul dos Estados Unidos, pode atingir uma
199 altura entre 15-25 metros. Seus frutos amadurecem e caem sem o exocarpo no outono e a
200 semente ou amêndoa (noz) é envolta por tegumento (LORENZI et al., 2006).

201 Segundo Prado (2013), durante o processamento industrial das nozes-pecã há uma
202 grande sobra de cascas, as quais são embaladas e comercializadas como chá. As pessoas
203 residentes no sul do Brasil costumam consumir o produto considerando-o benéfico para
204 saúde, cujos motivos certamente referem-se ao potencial antioxidante, já estudados pela
205 autora (PRADO, 2008; PRADO et al., 2009).

206 O extrato aquoso de cascas de nozes-pecã evidenciou redução de danos oxidativos,
207 induzidos pela exposição à fumaça do cigarro e dos sintomas ocasionados pela sua retirada
208 (RECKZIEGEL et al., 2011). A solução aquosa, também apresentou potencial no tratamento
209 de doenças hepáticas ligadas ao consumo de etanol (MULLER et al., 2013).

210 Los Angeles et al., (2012) e Cruz-Vega et al., (2008), estudaram e constataram
211 atividade antibacteriana do extrato hexânico da casca de noz-pecã sobre o *Mycobacterium*
212 *tuberculosis*. Para este último trabalho, os extratos aquosos comparados com outros solventes
213 utilizados, não foram considerados aconselháveis para obtenção de princípios
214 antimicobacterianos de espécies vegetais.

215 Cano-cabrera et al., (2009) estudaram o extrato aquoso da casca de noz-pecã (*C.*
216 *illinoensis*), e evidenciaram seu considerável potencial fungicida em 100% para *Fusarium*
217 *oxysporum*, *Penicillium pinophylum*, *Aspergillus ustus*, *Aspergillus fumigatus* e *Mucor*
218 *griseocyanu*. Osorio et al., (2010) ao avaliarem extratos polifenólicos da casca de noz-pecã
219 constataram sua eficácia de 100% para inibição do crescimento fúngico de *Pythium sp.*,
220 *Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium sambucinum*, *Rhizoctonia*
221 *solani*, 75% de inibição para *Fusarium solani* e 50% para *Alternaria alternata* e *Fusarium*
222 *verticillioides*.

223 Prado (2013) identificou e avaliou a atividade antimicrobiana de compostos fenólicos
224 da casca de noz-pecã. Todos os extratos, inclusive o aquoso, apresentaram potencial
225 bactericida para *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* e
226 *Bacillus cereus*.

227 Apesar de evidências do alto potencial antioxidante dos extratos de casca de nozes-
228 pecã, estudos sobre a atividade antimicrobiana são escassos, no entanto, apontam uma
229 alternativa terapêutica para o tratamento de infecções. Desse modo, o presente trabalho
230 avaliou o potencial antibacteriano do extrato aquoso da casca de noz-pecã sobre um grupo de
231 diferentes cepas (linhagens) bacterianas gram-positivas e gram-negativas.

232

233 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

234 **2.1 Microrganismos utilizados**

235 Os microrganismos testados foram adquiridos pelo laboratório de Microbiologia da
236 UFFS campus Realeza/PR, sendo 2 cepas de bactérias gram-positivas (*Bacillus cereus* ATCC
237 14579 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e 3 gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC
238 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).

239 **2.2 Obtenção do Extrato Aquoso Bruto**

240 As cascas de noz-pecã foram gentilmente doadas pela empresa Pecantea Divinut, de
241 Cachoeira do Sul – RS.

242 O extrato bruto das cascas foi obtido no laboratório de Química Orgânica e
243 Bioquímica da UFFS *campus* Realeza/PR. Primeiramente as cascas foram lavadas com água
244 corrente e posteriormente mantidas em uma estufa de secagem e esterilização com circulação
245 e renovação de ar (modelo AL-102/480 da marca AmericanLab) durante 24 h a 60 °C. As
246 cascas foram trituradas em um moinho de facas tipo Willye (AL-032S) em peneira de 20
247 *mesh*, até obtenção de um pó finíssimo, que foi pesado a 50% (m/v) e mantido por infusão em
248 água destilada durante 5 h pelo método de extração soxhlet. Durante este processo, o extrato
249 foi mantido ao abrigo de luz e armazenado em frasco âmbar. Esta metodologia foi baseada em
250 Trevisol et al., (2011), com algumas adaptações relacionadas à temperatura de secagem e
251 método de extração.

252

253 **2.3 Avaliação antibacteriana do extrato**

254 Após obtenção do extrato bruto das cascas, a atividade antibacteriana foi avaliada pelo
255 método de Difusão em Poço (DP) e microdiluição em caldo para a determinação da
256 Concentração Inibitória Mínima (CIM) (DE BONA et al., 2014).

257 A CIM foi realizada conforme a metodologia descrita no documento *National*
258 *Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS* (2003). As diferentes cepas
259 bacterianas foram inoculadas em meio de enriquecimento *Brain Heart Infusion* (BHI) e
260 incubados 35 ± 2 °C por 24 horas. Em seguida, foram diluídas em solução salina 0,9% até
261 atingir a escala de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml de MacFarland. A partir deste momento, diluiu-se em
262 1:100 em caldo *Müller-Hinton* (MH). Distribui-se caldo MH em poços de uma placa de
263 microdiluição de 96 poços. Os extratos foram diluídos para as concentrações finais nos poços
264 de 5% (v/v), 10%(v/v), 15% (v/v), e 20% (v/v) e 10 µL da bactéria anteriormente preparada.
265 Como controle positivo foram adicionados cloranfenicol na concentração de 30 mg/mL ao
266 caldo MH; e para o controle negativo, 120 µL de água destilada esterilizada no lugar do
267 extrato. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, em condições de aerobiose e o
268 teste feito em triplicata conforme metodologia descrita por De Bona et al., (2014), com
269 adaptações descritas acima.

270 Após incubação, analisou-se e relacionou-se a turbidez do meio com o crescimento
271 microbiano, onde a presença de turvação equivaleu ao crescimento bacteriano e ausência de

272 turvação representou o não crescimento (BLACK, 2002; ANVISA, 2006; DE BONA et al.,
273 2013; TORTORA et al., 2012). A CIM foi descrita como a quantidade mínima do extrato
274 vegetal suficiente para uma ação bactericida ou bacteriostática (AYRES et al., 2008).

275 A determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizada segundo
276 Santúrio et al., (2007), a qual foi retirado 10 µL dos poços onde não haviam turvação aparente
277 e semeou-se na superfície do ágar MH. Incubou-se as placas a 37°C por 48 horas. Desse
278 modo, definiu-se a CBM como a menor concentração do extrato analisado capaz de matar a
279 cepa bacteriana como 15% (v/v).

280 O teste de DP foi feito com base nos dados do *Clinical and Laboratory Standards*
281 *Institute* - CLSI (2009), com modificações. Este método consistiu na realização de seis
282 orifícios de 6 mm de diâmetro no meio de cultura ágar MH em placas de Petri, utilizando-se
283 de um molde para formar os poços.

284 As placas foram inoculadas na superfície com os microrganismos com o uso de um
285 suabe esterilizado e os poços foram preenchidos com 40 µL do extrato na concentração a ser
286 testada. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Por fim, mediu-se com régua
287 milimétrica o halo de inibição do crescimento (DE BONA et al., 2014). As médias dos
288 valores observados nos ensaios de difusão em ágar foram avaliadas conforme seus respectivos
289 desvios padrões.

290 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

291 Os resultados do bioensaio da CIM, indicam que dentre as quatro concentrações
292 testadas do extrato aquoso de *C. illinoensis* sobre as diferentes cepas bacterianas, as
293 concentrações de 15% (v/v) e 20% (v/v) apresentaram atividade antibacteriana em 80% e
294 100% das cepas testadas, respectivamente. Em relação às concentrações de 5% (v/v) e 10%
295 (v/v), não foram observadas atividades antibacterianas, não havendo inibição de crescimento
296 dos microrganismos. Houve atividade bactericida para todas as cepas bacterianas, exceto para
297 *S. aureus*, o qual apresentou atividade bacteriostática na concentração de 15% (v/v) do extrato
298 (Tabela1). Em relação à atividade antibacteriana nos diferentes grupos de bactérias (Gram + e
299 Gram -), não houve diferença significativa a 5% de significância.

300 Todas as concentrações de 15% (v/v) e 20% (v/v) mostraram atividade antibacteriana
301 para as cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. cereus* e *P. aeruginosa*. Prado (2013) também
302 analisou a CIM para a metodologia de infusão, para *S. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *B.*
303 *cereus*, a qual mostrou-se efetiva sobretudo para *V. parahaemolyticus*. No entanto, a autora

304 utilizou o solvente orgânico, dimetilsulfóxido (DMSO) para diluir os extratos. O DMSO,
305 aprótico e altamente polar, “apresenta alta afinidade por hidrogênios em ligações polares,
306 formando ligações com estes mais fortes que as formadas entre as moléculas de água”
307 (CARDOSO, 2011, p.344), o que provavelmente explica ausência de precipitação do extrato
308 analisado neste estudo e sua ação mais efetiva contra os microrganismos.

309 Ao descrever o perfil de compostos fenólicos contidos nos diferentes extratos (infusão,
310 infusão seca em *spray dryer* e extrato etanólico) da casca de noz-pecã através de
311 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Prado (2013) identificou três ácidos
312 fenólicos (gálico, clorogênico, *p*-didroxibenzoico) e dois compostos da classe dos
313 flavonoides, subclasse flavan-3-ol (epigallocatequina e epicatequina galato), sugerindo a
314 possibilidade de existência de outros compostos. Também foram identificados altos teores de
315 compostos fenólicos totais e taninos condensados na infusão de casca de noz-pecã (PRADO
316 et al., 2009)

317 O processo de obtenção de extratos vegetais requer atenção em aspectos, como:
318 características do material vegetal, solvente escolhido e a metodologia. A água e as misturas
319 hidroalcoólicas estão entre os solventes mais utilizados e os tipos de substâncias comumente
320 extraídos por estes são, saponinas e taninos (CHOZE, 2004).

321 Diferentes trabalhos, com outros extratos vegetais apontam a relação entre a presença
322 de compostos fenólicos e atividade antimicrobiana. Nascimento et al., (2000) indicaram ação
323 antibacteriana de extratos hidroalcoólicos vegetais e fitofármacos, constatando uma atividade
324 efetiva principalmente para os extratos de jambolão, cravo, romã e tomilho, para *S. aureus*, *K.*
325 *pneumoniae* e *P. aeruginosa*, devido aos elevados teores de taninos e flavonoides em suas
326 composições. Contudo, *E. coli* mostrou-se resistente aos extratos de plantas testados, sendo
327 suscetível apenas para os ácidos benzoico e cinâmico.

328 Assim como o presente estudo, Ferreira et al., (2011), através da CIM, obtiveram
329 resultados bastante efetivos do extrato da casca de *Rhizophora mangle* para as cepas Gram-
330 negativas, ao avaliar o potencial antibacteriano de extratos brutos (casca, folha e raiz) sobre
331 microrganismos diversos, dentre eles: *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. A
332 capacidade antibacteriana de *R. mangle* coincide com dados da literatura de outro membro da
333 família Rhizophoraceae, no qual são relatados, em particular na casca, uma grande quantidade
334 de compostos, como: taninos hidrosolúveis, polifenóis, epicatequina, catequina, ácidos
335 clorogênico, gálico, elágico, além de taninos condensados. Sendo todos estes grupos efetivos
336 na atividade antimicrobiana, inclusive para *S. aureus*.

337 Além de sua já conhecida ação antioxidante, os flavonoides que fazem parte de um
338 grande grupo de metabólitos secundários de plantas, principalmente dentre as superiores,
339 caracterizam-se como compostos polifenólicos, havendo estudos que confirmam sua atividade
340 antimicrobiana para os microrganismos *S. aureus* e *P. aeruginosa* comuns a esta pesquisa
341 (RAUHA et al., 2000). Ahmad e Beg (2001), ao avaliarem extratos etanólicos de vegetais
342 tradicionalmente utilizados na medicina, identificaram dentre os extratos ativos, a presença de
343 fenóis, taninos e flavonoides como principais componentes ativos.

344 Nota-se associação entre a ação antimicrobiana e a presença de compostos fenólicos
345 como os taninos e flavonoides na maioria dos referenciais, cuja literatura já tenha identificado
346 tais compostos nos extratos avaliados. De uma forma sucinta, os taninos aparentam interferir
347 no crescimento bacteriano de diferentes modos, como: na inibição de enzimas extracelulares
348 microbianas, através de danos na membrana, na privação de substratos essenciais para seu
349 crescimento, na ação direta sobre o seu metabolismo por meio da vedação da fosforilação
350 oxidativa e complexação de íons metálicos em ambiente de crescimento bacteriano
351 (SERRANO et al., 2009; SCALBERT et al, 1991).

352 No teste de DP, houve inibição do crescimento bacteriano para todas as cepas
353 estudadas, inclusive para as concentrações de 5% (v/v) e 10% (v/v), as quais não haviam
354 demonstrado efetividade no teste CIM. Ao comparar os resultados obtidos da ação
355 antibacteriana entre as diferentes cepas bacterianas obteve-se halos de inibição variando de
356 9,16 mm a 10,8 mm para o grupo das Gram positivas e 8,88 mm a 10,6 mm para Gram
357 negativas, não havendo diferença significativa dentro de cada grupo. Também não houve
358 diferença significativa na ação antibacteriana quando comparados os halos de inibição do
359 extrato sobre as bactérias dos dois grupos (Tabela 2).

360 Para ambas as metodologias testadas, têm-se interesse em trabalhar com maiores
361 concentrações do extrato aquoso, a fim de comparar sua real efetividade na ação
362 antibacteriana.

363 No presente trabalho foram observados diâmetros de inibição menores do que os
364 encontrados por Prado (2013) para o teste de DP, uma vez que as médias dos diâmetros de
365 maior inibição das concentrações de 15% (v/v) e 20% (v/v) ficaram entre 4,6 a 5 mm.
366 Enquanto que a autora observou diâmetros médios de halos de inibição entre 7 a 11 mm, com
367 um grupo diferenciado de microrganismos, dentre eles: *Staphylococcus aureus* e *Bacillus*
368 *cereus* comuns a esta pesquisa.

369 As discrepâncias observadas entre o presente estudo e o de Prado (2013), podem estar
370 relacionadas, além dos períodos e métodos de processamento das nozes, ao fato de o extrato

371 ter apresentado baixa diluição em água, levando-o a precipitar no fundo dos poços e
372 consequentemente reduzir a solubilidade de seus compostos fenólicos no solvente utilizado,
373 sugerindo escassez dos componentes ativos capazes de inibir o crescimento bacteriano nas
374 concentrações testadas. Outros fatores que podem estar relacionados às divergências nos
375 resultados, dizem respeito às diferenças na metodologia experimental, como: a ordem de
376 alguns procedimentos, além de temperaturas e períodos de incubação diferenciados.

377 **5. CONCLUSÕES**

378 Por meio deste estudo, pode-se observar o potencial antibacteriano do extrato aquoso
379 da casca de noz-pecã *C. illinoensis* frente às bactérias testadas. Os resultados *in vitro*
380 obtidos sugerem uma possível utilização deste extrato na terapêutica de doenças infecciosas,
381 incentivando novos estudos que busquem testar as propriedades deste inóculo natural e de
382 fácil acesso, assim como estratégias metodológicas que visem contribuir para uma exatidão
383 no seu estudo e avaliação frente a outros microrganismos. Portanto, esta pesquisa está sujeita
384 a continuidade com a realização de novos bioensaios.

385 **AGRADECIMENTOS**

386 Os autores agradecem à Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – *campus*
387 Realeza/PR por ceder os laboratórios para realização dos bioensaios e à empresa Pecantea
388 Divinut, de Cachoeira do Sul – RS, pelo fornecimento das cascas de nozes-pecã para
389 realização desta pesquisa.

390 Obs.: Este artigo científico está configurado conforme as “Instruções aos autores” da Revista
391 Arquivos do Instituto Biológico (Anexo 1).

392 **REFERÊNCIAS**

- 393 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. *Controle interno da*
394 *Qualidade para testes de sensibilidade a Antimicrobianos. Termo de Cooperação 37*. 2006.
395 Agência Nacional de Vigilância Sanitária / Ministério de Saúde e a Organização Pan-Americana
396 da Saúde/Organização Mundial da Saúde. Disponível em:
397 <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/manuais/manual_testes_antimicrobianos.pdf>. Acesso
398 em: 15 out. 2014.
- 399 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Mod. 3. *Resistência*
400 *microbiana e impacto clínico*, 2007. Disponível em:
401 <http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo
402 [3/mecanismos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm)>. Acesso em: 24 jun. 2014.

- 403 AHMED, M. K.; BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal
404 plants against multi-drugs resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick,
405 v. 74, p. 113-123, 2005.
- 406 ARAÚJO, I. S.. *Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no estado do*
407 *Pará*. 2011, 103p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de
408 Santana, Feira de Santana – BA, 2011.
- 409 AYRES, M. C.C; BRANDÃO, M. S.; VIEIRA-JUNIOR, G. M. MENOR, J. C. A. S.; SILVA,
410 H. B; SOARES, N. J. S.; CHAVES, M. H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e
411 constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. *Rev. Bras. Farmacogn.* vol.18, n.1, p.
412 90-97, 2008. ISSN 0102-695X.
- 413 BLACK, J.G (4 Ed.). *Microbiologia: fundamentos e perspectivas*. Rio de Janeiro: Guanabara
414 Koogan, 2002. 829 p.
- 415 CANO-CABRERA, J. C.; ALVARADO-ESPINOSA, J.; ILINA, A.; AGUILAR-GONZÁLES,
416 C. N.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J. L.. Efecto de extractos acuosos de *Larrea tridentata*, *A.*
417 *lecheguilla* Y cáscara de nuez (*Carya illinoensis*) contra micro-organismos fúngicos. In:
418 CONGRESSO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA Y BIOINGENIERÍA, 2009.
- 419 CARDOSO, M. F. C. Métodos de Preparação Industrial de Solventes e Reagentes
420 Químicos Dimetilssulfóxido (CAS No. 67-68-5). *Revista Virtual de Química*. vol. 3, n. 4, p. 344-
421 352, 2011. ISSN 1984-6835.
- 422 CASTRO, N. E. A.; CARVALHO, G. J.; CARDOSO, M. G.; PIMENTEL, F. A.; CORREA, R.
423 M.; GUIMARÃES, L. G. L.. Avaliação de rendimento e dos constituintes químicos do óleo
424 essencial de folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em
425 municípios de Minas Gerais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.10, n.1, p.70-75, 2008. Disponível
426 em: < http://sbpmed.org.br/download/issn_08_1/artigo10_v10_n1_p70a75.pdf>. Acesso em: 19
427 abr. 2015.
- 428
- 429 CHOZE, R. *Técnicas de Separação e Identificação Empregadas na Análise de Produtos*
430 *Naturais de Plantas*. 2004, 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) –
431 Universidade Federal de Santa Maria – RS, 2004.
- 432 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI. *Padrões de*
433 *desempenho para testes de suscetibilidade antimicrobiana em disco*; Aprovado 10 Edição pelo
434 Standand. Wayne, CLSI documento M02-A10, 2009.
- 435
- 436 CRUZ-VEGA, D. E.; VERDE-STAR M. J.; SALINAS-GONZÁLEZ, N.; ROSALES-
437 HERNÁNDEZ, B.; ESTRADA-GARCÍA, I.; MENDEZ-ARAGÓN, P.; CARRANZA-
438 ROSALES, P.; GONZÁLEZ-GARZA, M.T.; CASTRO-GARZA, J. Antimycobacterial activity
439 of *Juglans regia*, *Juglans mollis*, *Carya illinoensis* and *Bocconia frutescens*. *Phytotherapy*
440 *Research*, v. 22, p. 557-559, 2008.
- 441 DE BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. da S.; BORGES, A. M. C.; SCUR, M. C.; FRUET, T. K;
442 WEBER, L. D.; ALVES, L. F. A.; MOURA, A. C. DE. Avaliação da Atividade Antimicrobiana
443 de Extratos Vegetais Frente a Sorovares de *Salmonella* spp. de Origem Avícola. *UNOPAR Cient*
444 *Ciênc Biol Saúde*. v.15, n. 1, p.41-46, 2013. DOI: 10.1590/1808-1657001192012.

- 445 DE BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. da S.; FRUET, T. K; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. de.
446 Comparação de Métodos para Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Determinação da
447 Concentração Inibitória Mínima (CIM) de Extratos Vegetais Aquosos e Etanólicos. *Arq. Inst.*
448 *Biol.*, v.81, n.3, p. 218-225, 2014. DOI: 10.1590/1808-1657001192012. Disponível em:
449 <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v81_3/218-225.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 450 DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no
451 Brasil. *MultiCiência: construindo a história dos produtos naturais*, p.1-16, 2006. Disponível em:
452 <https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 453 FERREIRA, F.S.; SANTOS, S. C.; BARROS, T. F.; ROSSI-ALVA, J. C.; FERNANDEZ, L. G.
454 Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos de *Rhizophora mangle* L.. *Rev. bras. plantas med.*
455 2011, v.13, n.3, p. 305-310. ISSN 1516-0572. Disponível em:
456 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722011000300009>. Acesso
457 em: 19 abr. 2015.
- 458 FIGUEIRÊDO, F. V. *Susceptibilidade a antimicrobianos e resistência plasmidial de cepas de*
459 *Salmonella spp isoladas de dois estuários do Estado do Ceará, Brasil*. 2008. 54f. Tese
460 (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da Unesp,
461 Jaboticabal – SP, 2008.
- 462 LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S.. *Frutas brasileiras e Exóticas*
463 *Cultivadas (de consumo in natura)*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora. 2006,
464 640 p.
- 465 LOS ANGELES, S. E. M.; ROCÍO, A. R.; ROCÍO, C. R.; RICARDO, G. F.; ADRIANA, N. R.
466 M.; GALINDO, R. S. A.; ABELARDO, C. M.. Actividad antituberculosa del extracto de *Carya*
467 *illinoensis*. *Rev Mex Cienc Farm.* v. 43, n. 3, p. 36-44, 2012. ISSN: 1870-0195. Disponível em:
468 <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57928310004>>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 469 MARTINS, A. G. L. de A.; NASCIMENTO, A. R.; FILHO, J. E. M.; FILHO, N. E. M.;
470 SOUZA, A. G.; ARAGÃO, N. E.; SILVA, D. S. V. DA. Atividade antibacteriana do óleo
471 essencial do manjericão frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de
472 alfaces. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.8, p.1791-1796, 2010. ISSN 0103-8478. Disponível
473 em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v40n8/a676cr2539.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 474 MILLEZI, A.F.; BAPTISTA, N. N.; CAIXETA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.;
475 PICCOLI, R. H.. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de
476 plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Rev. bras.*
477 *plantas med.*, v.16, n.1, p.18-24, 2014. ISSN 1516-0572. Disponível em:
478 <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722013000300010&script=sci_arttext>. Acesso
479 em: 19 abr. 2015.
- 480 MÜLLER, L. G.; PASE, C. S.; RECKZIEGEL, P.; BARCELOS, R. C.; BOUFLEUR, N.;
481 PRADO, A. C.; FETT, R.; BLOCK, J. M.; PAVANATO, M. A.; BAUERMANN, L. F.; DA
482 ROCHA, J. B.; BURGER, M. E.. Hepatoprotective effects of pecan nut shells on ethanol-
483 induced liver damage. *Elsevier - Experimental and Toxicologic Pathology*. n. 65, p. 165–171,
484 2013.
- 485 NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L.. Antibacterial
486 activity of plants extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J Microbiol*,
487 v. 31, n.4, p. 247-256, 2000. ISSN 1517-8382. Disponível em:

- 488 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822000000400003>. Acesso
489 em: 19 abr. 2015.
- 490 NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS – NCCLS.
491 *Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobiana por diluição para bactéria de*
492 *crescimento aeróbio*. Norma aprovada. Brasília: ANVISA; 2003.
- 493 NOVAIS, T. S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANÇA,
494 F.; GIULIETTI, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R.. Atividade antibacteriana em alguns
495 extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. *Rev. Bras. Farmacogn.*, Maringá. v. 13, p. 05-08,
496 2003. Suplemento 2. ISSN: 0102-695X003. Disponível em:
497 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2003000400003>. Acesso
498 em: 19 abr. 2015.
- 499 OSÓRIO, E.; FLORESA, M., HERNÁNDEZA, D., VENTURAB, J.; RODRÍGUEZ, R.;
500 AGUILARB, C.. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (*Carya*
501 *Illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata*
502 *Cov.*) against plant pathogenic fungi. *Industrial Crops and Products*. v. 31, p. 153–157, 2010.
503 Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669009001861?np=y>>.
504 Acesso em: 19 abr. 2015.
- 505 PRADO, A. C. P. *Avaliação da atividade antioxidante da casca e torta de noz-pecã [Carya*
506 *illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. 2008. 131f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos
507 Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina – SC, 2008.
- 508 PRADO, A. C. *Identificação e avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de*
509 *compostos fenólicos da casca de noz-pecã [Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. 2013.
510 243f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina,
511 Florianópolis – SC, 2013.
- 512 PRADO, A. C. P.; ARAGÃO, A. M.; FETT, R.; BLOCK, J. M.. Compostos fenólicos e
513 atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C.
514 Koch]. *Braz. J. Food Technol.*, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009. DOI:
515 10.4260/BJFT2009800900028. Disponível em:
516 <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/html/busca/PDF/v12n4397a.pdf>>. Acesso em: 19 abr.
517 2015.
- 518 PRETTO, J. B. *Potencial antimicrobiano de extratos, frações e compostos puros obtidos de*
519 *algumas plantas da flora catarinense*. 2005. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências
520 Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí –SC, 2005.
- 521 RAUHA, J. P.; REMES, S.; HEIMONEN, M.; HOPIA, A.; KAHKONEN, M.; KUJAL, T.;
522 PIHLAJA, K.; VUORELA, P. Antimicrobial effects os finnish plants extrats containing
523 flavonoids and outhers phenolic compounds. *International Journal os Food Microbiology*, v. 56,
524 p. 3-12, 2000.
- 525 RECKZIEGEL, P.; BOUFLEUR, N.; BARCELOS, R. C.; BENVENÚ, D. M.; PASE, C. S.;
526 MULLER, L. G.; TEIXEIRA, A. M.; ZANELLA, R.; PRADO, A. C.; FETT, R. BLOCK, J. M.;
527 BURGER, M. E.. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive
528 cigarette smoke in mice: Beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut
529 industry. *Elsevier - Ecotoxicology and Environmental Safety*, n. 74, p. 1770–1778, 2011.
530 Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21531023>>. Acesso em: 19 abr. 2015.

- 531 SANDES, A. R. R.; DI BLASI, G. Biodiversidade e Diversidade Química e Genética.
532 *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.13. p. 28-32, 2000. Disponível em:
533 <<http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio30/extincao.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 534 SANTURIO, Janio Morais et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano,
535 tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. *Cienc. Rural*.
536 2007, v.37, n.3, p. 803-808. ISSN 0103-8478. Disponível em:
537 <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n3/a31v37n3.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 538 SANTURIO, D. F. *Atividade antibacteriana de óleos essenciais de condimentos sobre E. coli*
539 *isoladas de suínos, aves e bovinos*. 2011. 56f. Dissertação (Dissertação em Ciência e Tecnologia
540 dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2011.
- 541 SERRANO, J.; PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; DAUER, A.; AURA, A-M.; SAURA-CALIXTO, F.
542 Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects.
543 *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 53, p. 310-S329, 2009. Disponível em:
544 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19437486> >. Acesso em: 19 abr. 2015.
- 545 SILVA, M.T.N.; USHIMARU, P. I.; BARBOSA, L. N.; CUNHA, M. L. R. S.; FERNANDES,
546 JUNIOR, A.. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de
547 *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. *Rev. Bras. Pl.*
548 *Med.*, Botucatu, v.11, n.3, p.257-262, 2009. Disponível em:
549 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000300005>. Acesso
550 em: 19 abr. 2015.
- 551 SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v. 30, p. 3875-3883, 1991.
552 Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229183426L>>. Acesso
553 em: 19 abr. 2015.
- 554 TORO-VAZQUEZ, J.F.; CHARÓ-ALONSO, M. A.; PÉREZ-BRICEÑO, F.. Fatty Acid
555 Composition and Its Relationship with Physicochemical Properties of Pecan (*Carya illinoensis*)
556 Oil. *JAOCs*, v. 76, n. 8, p. 957-965, 1999.
- 557 TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.(10 Ed.). *Microbiologia*. Porto Alegre: Artmed,
558 2012. 934 p.
- 559 TREVISOL, F.; BENVENÚ, D. M.; BARCELOS, R. C. S.; PASE, C. S.; SEGAT, H. J. DIAS,
560 V. T.; DOLCI, G. S.; BOUFLEUR, N.; RECKZIEGEL, P.; BURGER, M. E. Comparative study
561 between two animal models of extrapyramidal movement disorders: Prevention and reversion by
562 pecan nut shell aqueous extract. *Behavioural Brain Research*.v. 221, p. 13-18, 2011. DOI:
563 10.1016/j.bbr.2011.02.026. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21356248>>.
564 Acesso em: 19 abr. 2015.
- 565 WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. *Combat Antimicrobial Resistance*. World
566 Health Day 2011.
- 567 WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. *Public Health Importance of Antimicrobial*
568 *Resistance*. Disponível em: <http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/en/>. Acesso
569 em: 12 set. 2014.

571 **TABELAS**

572 **Tabela 1.** Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida
 573 mínima (CBM) ($\mu\text{L/mL}$) do extrato vegetal bruto das cascas de *C. illinoensis* frente as cinco
 574 cepas bacterianas estudadas e porcentagem de inibição.

Microorganismos	CIM ($\mu\text{L/mL}$)			
	5%	10%	15%	20%
<i>S. aureus</i>	-	-	130*	110
<i>E. coli</i>	-	-	130	110
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	130	110
<i>B. cereus</i>	-	-	130	110
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	130	110
% de inibição	0%	0%	80%	100%

576 Legenda: *= Atividade bacteriostática; - = Ausência de inibição nas concentrações testadas.

577

578

579 **Tabela 2.** Comparação entre as médias das medidas dos halos de inibição do crescimento das
 580 bactérias Gram + e Gram - obtidas pela metodologia de Difusão em Poço (DP), utilizando extrato
 581 aquoso em 4 concentrações diferentes.

Concentrações do Extrato	Tamanho do halo de inibição (mm)	
	Gram +	Gram-
5%	9,16 \pm 0,98 a	8,88 \pm 1,45 A
10%	10,3 \pm 0,51 a	9,55 \pm 1,33 A
15%	10,8 \pm 0,75 a	10,1 \pm 1,36 A
20%	10,8 \pm 0,75 a	10,6 \pm 1,58 A

582 Legenda: mm = milímetro – unidade de medida utilizada;

583 Letras distintas na mesma coluna representam grupos bacterianos diferentes (gram-positivas e gram-negativas).

584

585

586

587

588

589

590

591

592

593

594

595

596

597

598

599

600

601

602

603

Instruções aos autores

606 **Apresentação:** os trabalhos deverão ser digitados em Word 97 ou versão superior, página A4, com
607 margens de 2,5 cm, fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e páginas numeradas em
608 seqüência.

609 As linhas deverão ser numeradas de forma contínua, utilizando a ferramenta Layout em
610 Configurar Página. O máximo de páginas será 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos
611 e 10 para comunicação científica, incluindo tabelas e figuras.
612

613 **Artigo científico:** compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do
614 primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título
615 em inglês, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões,
616 agradecimentos e referências.
617

618 **Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética e Biossegurança:** quando o trabalho envolver
619 estudos em animais de experimentação e/ou organismos geneticamente modificados, incluir o
620 número do processo no trabalho e encaminhar uma cópia da aprovação fornecida pelo respectivo
621 Comitê responsável da Instituição de origem do primeiro autor.
622

623 **Idioma:** o trabalho poderá ser redigido em português, inglês ou espanhol. Quando escrito em
624 português, o resumo deverá ter uma versão em inglês. No caso de artigo escrito em inglês ou
625 espanhol deverá ter um resumo em inglês ou espanhol e outro em português.
626

627 **Título:** embora breve, deverá indicar com precisão o assunto tratado no artigo, focalizando bem a
628 sua finalidade principal.
629

630 **Endereço(s) do(s) autor(es):** abaixo do(s) nome(s) do(s) autor(es), com chamada numérica.
631 Descrever endereço postal (Instituição/Universidade, Centro/Faculdade, Laboratório/Departamento,
632 estado, país) e eletrônico do autor principal. No rodapé da primeira lauda descrever somente a
633 Instituição e Departamento dos demais autores.
634

635 **Resumo:** deverá apresentar concisamente o objetivo do trabalho, material e métodos e conclusões,
636 em um único parágrafo. Não ultrapassar 250 palavras.
637

638 **Palavras-chave:** abaixo do resumo e separado por um espaço, citar no máximo cinco palavras-
639 chave, separadas por vírgula. Evitar termos que apareçam no título.
640

641 **Abstract:** apresentar uma tradução para o inglês, do título do trabalho e do resumo. A seguir,
642 relacionar também em inglês (ou espanhol) as mesmas palavras-chave (key words, palabras-clave)
643 já citadas. Não ultrapassar 250 palavras.
644

645 **Introdução:** descrever a natureza e o objetivo do trabalho, sua relação com outras pesquisas no
646 contexto do conhecimento existente e a justificativa da pesquisa feita.
647

648 **Material e Métodos:** apresentar descrição breve, porém suficiente para permitir uma repetição do
649 trabalho. Técnicas e processos já publicados, exceto quando modificados, deverão ser apenas
650 citados. Nomes científicos de espécies, bem como drogas, deverão ser citados de acordo com regras
651 e padrões internacionais.

652

653 **Resultados:** apresentá-los acompanhado de tabelas e/ou figuras, quando necessário. As tabelas e
654 figuras devem ser inseridas após as referências.

655

656 **Discussão:** discutir os resultados obtidos comparando-os com os de outros trabalhos publicados
657 (resultados e discussão poderão fazer parte de um único item).

658

659 **Tabelas e Figuras:** incluir título claro e conciso que possibilite o seu entendimento sem consultas
660 ao texto. As tabelas não deverão conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig.
661 3). As figuras devem estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e esquemas) e com tamanho
662 inferior a 500 Kb. As figuras originais ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o
663 aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e nomeadas de acordo com o número da figura.

664 Exemplos: Fig1.gif, Fig2.jpg.

665

666 **Conclusões:** serão citadas em ordem de importância. Poderão constituir um item à parte ou serem
667 incluídas na discussão.

668

669 **Agradecimentos:** poderão ser incluídos a pessoas ou instituições. Referências e citações no texto:
670 citações no texto e referências estão diretamente vinculadas. Todos os autores citados devem figurar
671 nas referências, exceção para informações obtidas por canais informais que deverão ser citadas
672 apenas no texto: (JUNQUEIRA, comunicação pessoal), (JUNQUEIRA, informação verbal). A
673 referência no texto deve seguir o sistema sobrenome do autor e ano de publicação e deverá estar em
674 caixa alta reduzida ou versalete, tal como: 1 autor - ALLAN (1979) ou (ALLAN, 1979); 2 autores –
675 LOPES; MACEDO (1982) ou (LOPES; MACEDO, 1982); mais de 2 autores - BESSE et al. (1990)
676 ou (BESSE et al., 1990); coincidências de autoria e ano de publicação - (CURI, 1998a), (CURI,
677 1998b) ou (CURI, 1998a, 1998b). As referências deverão ser baseadas na Norma NBR 6023/2002,
678 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e estar em ordem alfabética de primeiro
679 autor. A exatidão dos dados nas referências é da responsabilidade dos autores.

680

681 Veja alguns exemplos que servirão de diretriz para a formatação e apresentação das referências:

682

683 **A) Artigo de periódico / Periodical article**

684 ANDRÉA, M.M.; PETTINELLI JUNIOR, A. Efeito de aplicações de pesticidas sobre a biomassa e
685 a respiração de microrganismos de solos. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.67, n.2,
686 p.223-228, 2000.

687

688 **Suplemento ou número especial / Supplement or special issue**

689 HENNEN, J.F.; HENNEN, M.M.; FIGUEIREDO, M.B. Índice das ferrugens (Uredinales) do
690 Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.49, p.1-201, 1982. Suplemento 1.

691

692 **B) Artigo de periódico em meio eletrônico / Article in periodical published on Internet or CD-** 693 **ROM**

694 FELÍCIO, J.D.; SANTOS, R. da S.; GONÇALES, E. Componentes químicos de *Vitis vinifera*
695 (Vitaceae). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, n.1, p.47-50, 2001. Disponível em:
696 <http://www.biologico.br/arquivos/v68_1/9>. Acesso em: 5 mar. 2002.

697

698 **C) Dissertações, Teses e Trabalhos Acadêmicos / Dissertations, Theses and Academic Works**

699 PERES, T.B. *Efeito da aplicação de pesticidas na atividade microbiana do solo e na dissipação*
700 *do 14C-Paration Metílico*. 2000. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Área de Tecnologia
701 Nuclear - Aplicações) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2000.

702 SIMONI, I.C. *Utilização de diferentes linhagens celulares para propagação do vírus da doença*
703 *infecciosa da bursa*. 2001. 77f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular - Área de
704 Microbiologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

705 AZEVEDO, L.A. *Produção gráfica: tecnologia, processos e aplicações*. 1989. 20f. Trabalho de
706 Graduação (Disciplina Projeto de Produto IV) – Curso de Desenho Industrial, Setor de Ciências
707 Humanas, Letras e Artes, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1989.

708 **Obs.:** A primeira data nas dissertações e teses corresponde ao ano de depósito e a segunda ao ano
709 da defesa.

710

711 **D) Dissertação/Tese, em meio eletrônico / Dissertation/Thesis, published on Internet or CD-**
712 **ROM**

713 BATISTA, A.S. *Saccharomices cerevisiae em milho armazenado e o efeito na redução de*
714 *aflatoxinas*. 2001. 96p. Dissertação (Mestrado – Microbiologia Agrícola) – Escola
715 Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
716 Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>>. Acesso em: 28 jun. 2005.

717

718 **E) Documento técnico, em meio eletrônico / Technical document, published on Internet or**
719 **CD-ROM**

720 RAGA, A.; COSTA, V.A. *Mosca negra dos citros*. São Paulo: Instituto Biológico, 2008.
721 9p. (Documento Técnico 001). Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/dt/mosca_negra.pdf>. Acesso em: 17 set. 2008.

722

723

724 **F) Livros no todo, folhetos etc. / Entire books, brochures, etc.**

725 BECKMANN, N. (Ed.). *Carbon-13 NMR spectroscopy of biological systems*. San Diego: Academic
726 Press, 1995. 334p.

727

728 **G) Livro em meio eletrônico / Book published on Internet or CD-ROM**

729 SULLIVAN, J.T. *Electronic atlas of parasitology*. New York: McGraw Hill, 2000. 1 CDROM.

730

731 **H) Parte de livro (capítulo, trecho, fragmento etc.) / Part of a book (chapter, passage,**
732 **fragment, etc.)**

733 ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. Cell junctions,
734 cell adhesion, and the extracellular matrix. In: . *Molecular biology of the cell*. 3th.ed. New York:
735 Garland Publications, 1994. 1294p. Chap. 19.

736 **Capítulo ou parte sem autoria específica – autor da parte é o mesmo autor da obra / Chapter**
737 **or part without specific authorship – author of the part is the same author as the overall work**

738 ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: . *Controle microbiano dos insetos*. Piracicaba:
739 FEALQ, 1998. p.289-370.

740 **Parte com autoria específica / Part with specific authorship**

741 BANIJAMALI, A. Thyroid function and thyroid drugs. In: FOYE, W.O.; LEMKE, T.L.;
742 WILLIAMS, D.A. (Ed.). *Principles of medicinal chemistry*. 4th.ed. Philadelphia: Lippincot
743 Williams & Wilkins, 1995. chap.30, p.688-704.

744 **Sem autoria e título da parte / Without authorship and title for the part**

745 PUPO, N.I.H. *Pastagens e forrageiras: pragas, doenças, plantas invasoras e tóxicas, controles*.
746 Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1977. p.166-167.

747

748 **I) Trabalhos apresentados em eventos (Congressos, Reuniões etc.) / Works presented at events**
749 **(conferences, meetings, etc.)**

750 ALEXANDRE, M.A.V.; DUARTE, L.M.L.; RIVAS, E.B.; MATOS, M.F.; CHAGAS, C.M.A
751 Tobamovirus in commercial impatiens. In: ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA, 7., 1994,
752 São Lourenço, MG. *Resumos*. São Lourenço: 1994. p.14.

753

754 **J) Trabalhos apresentados em eventos, divulgados em periódicos / Works presented at events,**
755 **published in periodicals**

756 RIVAS, E.B.; ALEXANDRE, M.A.V.; DUARTE, L.M.L.; GALLETI, S.R. Infecção natural de
757 “dasheen mosaic virus” em *Dieffenbachia* sp. *Summa Phytopathologica*, v.24, n.1,
758 p.71, 1998. Trabalho apresentado no CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 21.,
759 1998, Botucatu. Resumos.

760

761 **L) Trabalhos apresentados em eventos, divulgados em suplemento de revistas / Works**
762 **presented at events, published as supplements to journals**

763 BRAGGIO, M.M.; FÁVARO, O.C.N.; OLIVEIRA, M.M. Atividade antineoplásica da ficocianina.
764 *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.57, p.65, 1990. Suplemento. Trabalho apresentado na
765 REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 3., 1990, São Paulo. Resumo 096.

766

767 **M) Trabalho apresentado em evento e divulgado em meio eletrônico / Work presented at an**
768 **event and published on Internet or CD-ROM**

769 SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação.
770 In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. Anais. Recife:
771 UFPe, 1996. Disponível em:

772 <<http://www.propes.ufpe.br/anais/educ/ceo4.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

773 GALLETI, S.R.; MIYAI, T.; DUARTE, L.M.L.; RIVAS, E.B.; ALEXANDRE, M.A.V. Aspectos
774 ultraestruturais dos mitocôndrios de *Eucharis* sp. (Amaryllidaceae) infectada por um Potyviridae.
775 *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, 2001. Suplemento. Trabalho apresentado na
776 REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. Resumo 47. 1 CD-
777 ROM.

778 MENDES, M.C.; BRAGGIO, M.M.; HARAGUCHI, M. Eficácia do extrato etanólico da
779 leguminosa *Sesbania sesban* em fêmeas do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini,
780 1887). *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, 2001. Suplemento. Trabalho apresentado
781 na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. Resumo 110.
782 Disponível em: <http://www.biologico.br/arquivos/v68_suplemento/index.htm>. Acesso em: 24
783 mar. 2002.

784

785 **N) Proceedings com título próprio e editoria / Proceedings were their own title and editors**

786 ARNASON, J.T.; MATA, R.; ROMEO J.T. (Ed.). *Phytochemistry of medicinal plants*. Proceedings
787 of the 34th Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America of Medicinal Plants,
788 1994, Mexico city, Mexico. New York: Plenum Press, 1995. 364p. (Recent Advances in
789 Phytochemis try, 29).

790

791 **O) Citação de citação (apud) (Menção a documento ao qual não se teve acesso direto, por**
792 **inacessibilidade ou dificuldade de tradução) / Citation of a citation (mention of a document to**
793 **which author does not have direct access, due to an accessibility or difficulty in translation)**

794 TAKACS, A.P.; RAUSCHER, E. [Virus infection of potato tubers showing necrotizing rings.]
795 Gyurusnekrozist mutato burgonyagumok virusfertozottsegenek vizsgalata. *Novenytermeles*, v.49,
796 n.3, p.221-225, 2000. apud *CAB Abstracts* on CD-ROM,

797 2000/08-2002/01.

798

799 **P) Trabalho no prelo** (todos os dados devem estar presentes na referência) / **Work accepted for**
800 **publication but not yet published** (all the data should be present in the reference)

801 ALMEIDA, M.M.G. O enfermeiro no planejamento familiar. *Revista Brasileira de Enfermagem*,
802 v.38, n.3, p.215-230, 1985. [No prelo].

803