

Zimbra**rodrigo.gheno@uffs.edu.br**

Re: Comprovantes prestação de contas projeto de pesquisa

De : Nessana Dartora
<nessana.dartora@uffs.edu.br>

seg, 23 de ago de 2021 17:08

 5 anexos

Assunto : Re: Comprovantes prestação de contas
projeto de pesquisa

Para : Rodrigo Celso Gheno
<rodrigo.gheno@uffs.edu.br>

Prezado Rodrigo.
Segue em anexo os documentos solicitados.
Att,

De: "Rodrigo Celso Gheno" <rodrigo.gheno@uffs.edu.br>
Para: "Nessana Dartora" <nessana.dartora@uffs.edu.br>
Enviadas: Segunda-feira, 23 de agosto de 2021 14:08:11
Assunto: Re: Comprovantes prestação de contas projeto de pesquisa

Profª Nessana

Obrigado pelo seu breve retorno.

Com a afirmativa da participação de bolsistas, peço que seja enviado o Plano de Trabalho dos estudantes bolsistas bem como o Relatório de Atividades dos bolsistas.

Grato
Rodrigo

De: "Nessana Dartora" <nessana.dartora@uffs.edu.br>
Para: "Rodrigo Celso Gheno" <rodrigo.gheno@uffs.edu.br>
Enviadas: Segunda-feira, 23 de agosto de 2021 11:54:08
Assunto: Re: Comprovantes prestação de contas projeto de pesquisa

Prezado Rodrigo.
Tudo bem sim, obrigada. E você?
Não havia me tocado sobre este ítem e sobre a obrigatoriedade de colocá-lo na prestação de contas.
Em anexo envio os comprovantes, mas se necessário posso incluí-los na prestação.
Conforme verificará, foram indicados dois bolsistas (Samuel e Alessandra).
O resumo foi enviado para a JIC, com a participação de ambos os bolsistas.

Me coloca a disposição para quaisquer esclarecimentos.

Att,

De: "Rodrigo Celso Gheno" <rodrigo.gheno@uffs.edu.br>

Para: "Nessana Dartora" <nessana.dartora@uffs.edu.br>

Cc: "Coordenacao Adjunta de Pesquisa e Pos Graduacao, Campus Cerro Largo" <cappg.cl@uffs.edu.br>, "Diretoria de Pesquisa UFFS" <dir.dpe@uffs.edu.br>

Enviadas: Segunda-feira, 23 de agosto de 2021 11:41:55

Assunto: Comprovantes prestação de contas projeto de pesquisa

Olá Profª Nessana, tudo bem?

Como membro do Concur estou realizando a relatoria da prestação de contas referente ao projeto "Avaliação do perfil de metabólitos secundários de Lantana Fucata Lindl. (Verbenaceae) submetida ao processo de cobre".

Considerando o disposto no item 4, subitem 4.1, alínea A do Termo de Outorga e ainda o disposto no item 7.4 do Edital 459/GR/UFFS/2019 onde cita-se que "Os resultados finais da pesquisa deverão ser submetidos aos Anais da X Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica (JIC) da UFFS, mencionando-se o apoio recebido da UFFS ao desenvolvimento do subprojeto e o número registro no sistema Prisma".

Gostaria de sua confirmação se houve a indicação de bolsista para o projeto e ainda se houve a submissão dos resultados aos Anais da JIC conforme já disposto acima pois não localizei comprovantes ou menção ao tema na prestação de contas apresentada.

Grato
Rodrigo

--

Profa. Dra. Nessana Dartora

Universidade Federal da Fronteira Sul
Av. Jacob Reinaldo Haupenthal, s/n
Cerro Largo/RS - CEP 97900-000
Fone: (55) 3359-4246

--

Profa. Dra. Nessana Dartora

Universidade Federal da Fronteira Sul
Av. Jacob Reinaldo Haupenthal, s/n
Cerro Largo/RS - CEP 97900-000

Fone: (55) 3359-4246

 **Plano_de_Trabalho_do_bolsista - Samuel.pdf**
268 KB

 **Plano_de_Trabalho_do_bolsista_Alessandra.pdf**
43 KB

 **Relat_rio_final_das_atividades_ex_bolsista_Samuel_Chitolina.pdf**
402 KB

 **Relat_rio_Vers_o_Final.pdf**
758 KB

 **Relatorio_de_Atividades_Volunt_rios_e_Bolsistas_Samuel.pdf**
832 KB

Orientações



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

Dados gerais do projeto

Registro: PES-2019-0609

Origem: Pesquisa

Modalidade: Pesquisa - Subprojeto

Chamada: UFFS – FOMENTO À PESQUISA COM ÊNFASE NO FORTALECIMENTO DOS PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU DA UFFS (EDITAL Nº 459/GR/UFFS/2019)

Proponente: NESSANA DARTORA

Coordenador atual: NESSANA DARTORA

Campus: Cerro Largo

Situação: Projeto em execução

Etapa atual: Proposta deferida

Identificação

Título: Avaliação do perfil de metabólitos secundários de *Lantana fucata* Lindl. (Verbenaceae) submetida a solo com excesso de cobre

Início: 01/09/2019

Fim: 31/08/2020

NUP processo:

Outras informações:

Projeto sigiloso: Não

O projeto envolve pesquisas com seres humanos - Pareceres do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Não

O projeto envolve pesquisas com animais (vertebrados, excetuando-se seres humanos) - Pareceres da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA): Não

O projeto envolve pesquisas com a construção, experimentação, cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo armazenamento, liberação e descarte de OGM e derivados (Parecer CIBio): Não

O projeto envolve inovação tecnológica - Parecer do Núcleo de Inovação Tecnológica (NIT): Não

Grupo de pesquisa: Biociências

Área de Conhecimento CNPQ

Grande Área CNPQ: 20000006 - CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Área CNPQ: 20800002 - BIOQUÍMICA

Sub-área CNPQ: 20801009 - QUÍMICA DE MACROMOLÉCULAS

Especialidade: 20801033 - GLICÍDEOS

Projeto-Pai

Título: Avaliação do potencial fitorremediador de plantas nativas em solo com excesso de cobre

Origem: Pesquisa

Modalidade: Pesquisa - Guarda-chuva: Projeto Interno

Chamada: Fluxo Contínuo

Proponente: CARLA MARIA GARLET DE PELEGRIN

Campus: Cerro Largo

Início: 12/03/2019

Fim: 31/08/2023

Resumo



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

Descrição: Espécies da família Verbenaceae têm sido amplamente estudadas, devido as suas propriedades antioxidantes antimicrobianas e antivirais. Existe interesse científico no desenvolvimento de tecnologias para a potencialização de sistemas de produção das plantas medicinais, tendo em vista que a baixa concentração dos compostos bioativos representa um dos maiores obstáculos para a sua exploração econômica. Trabalhos com algumas espécies têm demonstrado que os metais traços, como o cádmio, cobre e zinco, atuam como eliciadores abióticos, influenciando de forma direta na produção de substâncias bioativas. *Lantana fucata* Lindl, a espécie a ser investigada neste estudo, é uma planta que apresenta várias propriedades medicinais atribuídas principalmente aos compostos fenólicos e flavonoides presentes em suas folhas. Levando em consideração a existência de estudos promissores sobre o potencial fitorremediador de outras espécies do gênero e que a presença dos metais absorvidos por este processo desencadeia o aumento na concentração de metabólitos secundários em plantas, o presente projeto de pesquisa busca avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no solo, sobre o perfil de metabólitos de folhas de *L. fucata*. A instalação do experimento será realizada em casa de vegetação, os propágulos serão obtidos a partir de estacas e as mudas obtidas cultivadas em solo. O solo utilizado será coletado no município de Cerro Largo, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, será realizada a análise físico-química do solo antes do cultivo. Após a realização da análise, o solo será tratado com diferentes concentrações de cobre, onde cada tratamento será replicado cinco vezes, e cada unidade amostral se constituirá de cinco plantas. Posteriormente serão realizadas as análises de composição química estrutural, utilizando as técnicas de cromatografia e espectrometria de massas. Pesquisas nesta linha podem gerar novas perspectivas para a utilização comercial dessa espécie, subsidiar programas de melhoramento e melhorar sistemas de cultivo.

Objetivo

Objetivos gerais: - Avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no perfil de metabólitos secundários de folhas de *Lantana fucata*.

Objetivos específicos: - Obter extratos hidroalcoólicos de *L. fucata* submetida ou não (controle) ao crescimento em solo com excesso de cobre;

- Localizar, extrair e caracterizar estruturalmente metabólitos secundários das folhas de *L. fucata*;
- Verificar se há alteração no perfil de metabólitos secundários das folhas de *L. fucata* submetidas ao estresse por excesso de cobre no solo;
- Desenvolver técnicas de separação cromatográfica e detecção visando maior sensibilidade e velocidade com menor consumo de solventes;
- Desenvolver técnicas de ionização que permitam obter diferentes informações sobre a estrutura das moléculas pela formação de diferentes íons e fragmentos;

Palavras Chave

- Compostos bioativos
- Metais pesados
- Plantas medicinais
- Produtos naturais
- Química de macromoléculas

Participantes

Vínculo	Função no projeto	Nome	CH Sem.	Data de início	Data de fim	Situação
Aluno	Bolsista	EDUARDO HENRIQUE ROBE	20h			Anulada
Aluno	Bolsista	ALESSANDRA ROCKENBACH MIELKE	20h	01/08/2020	31/08/2020	Encerrado
Docente	Coordenador	NESSANA DARTORA		12/08/2019		Ativo
Aluno	Bolsista	SAMUEL FRANCISCO CHITOLINA	20h	01/09/2019	31/07/2020	Encerrado
Aluno	Bolsista	ALESSANDRA ROCKENBACH MIELKE	20h			Anulada

Publicações



AVALIAÇÃO DO PERFIL DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE *LANTANA FUCATA* LINDL. (VERBENACEAE) SUBMETIDA A SOLO COM EXCESSO DE COBRE

SAMUEL FRANCISCO CHITOLINA^{1,2*}, ALESSANDRA ROCKENBACH MIELKE^{2,3},
CARLISE PATRÍCIA PIVETTA^{2,4}, CARLAMARIA GARLET DE PELEGRIN^{2,5}, NESSANA
DARTORA^{2,6}

1 Introdução

A *Lantana fucata* é um pequeno arbusto que produz flores rosa ou roxas e é encontrado em regiões temperadas tropicais e subtropicais das Américas. É conhecida como erva daninha e planta ornamental, e as folhas têm sido utilizadas na medicina tradicional brasileira como carminativas e anti-inflamatórias e para tratar resfriados e bronquites, na forma de infusões, decocções e tinturas (JULIÃO *et al.*, 2009).

Como outros representantes da família Verbenaceae, *L. fucata*, demonstra elevado potencial farmacêutico e econômico, mas tem sido pouco contemplada com estudos que viabilizem sua exploração econômica de forma sustentável e poucos são os trabalhos relacionados ao seu metabolismo secundário. As pesquisas realizadas com a folha de *Lantana* evidenciaram a presença de compostos fenólicos (flavonoides), triterpenóides e lantadenos (HUSSAIN *et al.*, 2011).

Uma das maiores dificuldades na exploração dos metabólitos secundários é a sua baixa concentração nos tecidos vegetais. Consequentemente, existe um interesse no reconhecimento de agentes que estimulem a síntese destes compostos em plantas medicinais, como a *L. fucata*. O estresse provocado por metais tem sido investigado e demonstra resultados promissores, sendo verificada capacidade de desencadear alterações fisiológicas diversas, as quais incluem maior produção dos compostos bioativos (NASIM; DHIR, 2010). Portanto considerando que *L. fucata* é uma espécie medicinal, é possível que a produção de seus metabólitos secundários ativos seja influenciada pelo estresse provocado por metais.

1 Graduando em Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Cerro Largo, Bolsista IC-UFFS, contato: samelfchitolina00@gmail.com

2 Grupo de pesquisa: Biociências

3 Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Cerro Largo, Bolsista IC-UFFS.

4 Mestranda do Programa de Mestrado em Ambiente e Tecnologia Sustentáveis, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo.

5 Prof.^a Dr.^a, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo. Colaboradora.

6 Prof.^a Dr.^a, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Cerro Largo. Orientadora.

PLANO DE TRABALHO DO ESTUDANTE BOLSISTA - SUBPROJETO

1 Descrição

Registro no Sistema Prisma: Projeto_PES_2019_0609		
Título do subprojeto: Avaliação do perfil de metabólitos secundários de <i>Lantana fucata</i> Lindl. (Verbenaceae) submetida a solo com excesso de cobre		
Nome do bolsista: Samuel Francisco Chitolina		
Curso: Agronomia	Período/Fase: segunda	Desempenho acadêmico (Média): 8,2
Nome do orientador: Nessana Dartora		

2 Detalhamento do Plano de Trabalho

Resumo

Espécies da família Verbenaceae têm sido amplamente estudadas, devido as suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antivirais. Existe interesse científico no desenvolvimento de tecnologias para a potencialização de sistemas de produção das plantas medicinais, tendo em vista que a baixa concentração dos compostos bioativos representa um dos maiores obstáculos para a sua exploração econômica. Trabalhos com algumas espécies têm demonstrado que os metais traços, como o cádmio, cobre e zinco, atuam como eliciadores abióticos, influenciando de forma direta na produção de substâncias bioativas. *Lantana fucata* Lindl, a espécie a ser investigada neste estudo, é uma planta que apresenta várias propriedades medicinais, atribuídas principalmente aos compostos fenólicos e flavonoides presentes em suas folhas. Levando em consideração a existência de estudos promissores sobre o potencial fitorremediador de outras espécies do gênero e que a presença dos metais absorvidos por este processo desencadeia o aumento na concentração de metabólitos secundários em plantas, o presente projeto de pesquisa busca avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no solo, sobre o perfil de metabólitos de folhas de *L. fucata*. A instalação do experimento será realizada em casa de vegetação, os propágulos serão obtidos a partir de estacas e as mudas obtidas cultivadas em solo. O solo utilizado será coletado no município de Cerro Largo, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, será realizada a análise físico-química do solo antes do cultivo. Após a realização da análise, o solo será tratado com diferentes concentrações de cobre, onde cada tratamento será replicado cinco vezes, e cada unidade amostral se constituirá de cinco plantas. Posteriormente serão realizadas as análises de composição química estrutural, utilizando as técnicas de cromatografia e espectrometria de massas. Pesquisas nesta linha podem gerar novas perspectivas para a utilização comercial dessa espécie, subsidiar programas de melhoramento e melhorar sistemas de cultivo.

Palavras-chave: Compostos bioativos, metal pesado, plantas medicinais, química de

macromoléculas, produtos naturais.

1. Objetivos/Finalidades das atividades que serão realizadas

Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no perfil de metabólitos secundários de folhas de *Lantana fucata*. Para alcançar este objetivo geral, alguns objetivos específicos serão desenvolvidos:

- Obter extratos hidroalcoólicos de *L. fucata* submetida ou não (controle) ao crescimento em solo com excesso de cobre;
- Localizar, extrair e caracterizar estruturalmente metabólitos secundários das folhas de *L. fucata*;
- Verificar se há alteração no perfil de metabólitos secundários das folhas de *L. fucata* submetidas ao estresse por excesso de cobre no solo;
- Desenvolver técnicas de separação cromatográfica e detecção visando maior sensibilidade e velocidade com menor consumo de solventes;
- Desenvolver técnicas de ionização que permitam obter diferentes informações sobre a estrutura das moléculas pela formação de diferentes íons e fragmentos;

2. Justificativa (relevância das atividades que serão realizadas pelo bolsista para o desenvolvimento do projeto de pesquisa do orientador)

As plantas medicinais são utilizadas por comunidades tradicionais em todo o mundo como principal meio terapêutico conhecido para o tratamento de muitos males. Em muitos países em desenvolvimento, uma grande proporção da população depende exclusivamente das plantas medicinais, para sanar problemas de saúde (OMS, 2010). Algumas comunidades, mesmo possuindo acesso à medicina moderna, mantêm o uso das plantas por razões históricas e culturais (MAFIMISEBI et al., 2013).

Ao nível mundial o mercado de produtos derivados de plantas, que inclui fragrâncias, fármacos e ingredientes aromatizantes, também é valioso e ultrapassa vários bilhões de dólares por ano (UPRETY et al., 2012). No Brasil, de forma semelhante, o comércio destas espécies está em expansão devido ao surgimento de novos segmentos de mercado, como o dos fitoterápicos bem como da incorporação de plantas medicinais e seus produtos no Sistema Único de Saúde (SUS).

Uma variedade de produtos, tais como comprimidos, cápsulas, chás e óleos surgem frequentemente a partir do processamento de plantas aromáticas e medicinais (SOUZA et al., 2012).

Levando em consideração estes aspectos, a domesticação das plantas medicinais e aromáticas pode ser considerada um tema crucial, já que possibilita uniformidade de cultivo, qualidade e produtividade de metabólitos secundários. A maximização da produção destas substâncias é desejável e ao mesmo tempo necessária. Programas de cultivo comercial destas espécies devem contemplar um conhecimento elevado sobre o crescimento e o desenvolvimento, bem como sobre os processos fisiológicos associados à biossíntese dos compostos ativos (MMA, 2002).

Fazendo parte do rol de famílias botânicas com espécies medicinais encontra-se a família Verbenaceae, que compreende cerca de 98 gêneros e 2614 espécies no mundo (CRESPAM, 2010). No Brasil, esta família se destaca por sua ampla distribuição geográfica, mas também por sua importância econômica, uma vez que suas espécies são usadas para paisagismo, na indústria química para obtenção de cosméticos e na indústria farmacêutica para obtenção de remédios, devido suas propriedades bioativas (CORRÊA, 1984; MENTZ *et al.* 1997; GARLET, IRGANG 2001; MARIDUB, BAPTISTA, 2002; RITTER *et al.* 2002; DELAPORTE *et al.* 2005; COSTA *et al.* 2006; GOLENIOWSKI *et al.* 2006; VERDRUSCULO, MENTZ 2006; BARROS *et al.* 2007; NEVES *et al.* 2007; MARTINES, 2008; BARRETO *et al.* 2010.) Como outros representantes deste grupo, *Lantana fucata* Lindl, a espécie alvo deste estudo, demonstra elevado potencial farmacêutico e econômico, mas tem sido pouco contemplada com estudos que viabilizem sua exploração econômica de forma sustentável e poucos são os trabalhos relacionados ao seu metabolismo secundário. As pesquisas realizadas com a folha de *Lantana* evidenciaram a presença de compostos fenólicos (flavonoides), triterpenóides, lantadenos e a ausência de diterpenóides, sendo os triterpenos e flavonas os metabólitos secundários mais frequentes no gênero e fornecidos em grandes quantidades (HUSSAIN et al., 2011).

Uma das maiores dificuldades na exploração dos metabólitos secundários é a sua baixa concentração nos tecidos vegetais, desde que este caráter limita a possibilidade de cultivo. Consequentemente, existe um interesse no reconhecimento de agentes que estimulem a síntese destes compostos nas plantas. Estresses ambientais abióticos como temperatura extrema, seca, salinidade, tem sido relacionados com o aumento da produção e a indução da síntese de novo de

metabólitos secundários vegetais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

O estresse provocado por metais também tem sido investigado e demonstra resultados promissores, sendo verificada capacidade de desencadear alterações fisiológicas diversas, as quais incluem maior produção dos compostos bioativos (NASIM E DHIR, 2010). Plantas de *Rosmarinus officinalis* L., expostas ao cobre (Cu), apresentaram um aumento nos teores de óleo essencial (DEEF, 2007). Esta tendência também foi verificada em plantas de *Matricaria chamomilla* L. expostas ao mesmo metal (GREJTOVSKY et al., 2006). Adicionalmente, em *Salvia miltiorrhiza* Bunge, cultivadas em solos contendo elevadas concentrações de cádmio (Cd), foram verificados acúmulo de compostos bioativos hidrossolúveis e lipossolúveis (LI et al., 2013). Apesar da explicação para estes efeitos provocados pelo estresse por metais ainda carecer de maiores estudos (NASIM; DHIR, 2010), estas observações demonstram que estes elementos podem ser úteis como elicitores em plantas que apresentam metabolismo especial.

Outro aspecto que deve ser discutido no contexto das plantas expostas a ambientes contaminados por metais, é o seu potencial em extrair estes elementos do ambiente. De fato algumas espécies vegetais apresentam elevada capacidade de extrair e concentrar grandes quantidades de metais nos tecidos. Com o auxílio destes organismos os elementos podem ser removidos de locais poluídos, sendo o mecanismo denominado fitorremediação (HAMEED et al., 2012). Tal processo tem sido bastante investigado por ser considerado eficiente e de baixo custo quando comparado aos meios usuais de remediação (VAMERALI et al., 2010). Neste sentido, muitos representantes da família Verbenaceae figuram entre as plantas potencialmente reconhecidas como fitorremediadoras, a literatura traz dados sobre o potencial fitorremediador para metais de *Lantana camara* (ALARIBE; AGAMUTHU, 2019; LIU et al., 2019; PANDEY et al., 2015; ALARIBE, AGAMUTHU, 2015; WAOO et al., 2014) e *Verbena officinalis* (ANWAR SAJAD et al., 2019).

Assim, considerando que *L. fucata* é uma espécie medicinal, é possível que a produção de seus metabólitos secundários ativos seja influenciada pelo estresse provocado por metais. Além disso, como espécie pertencente à família Verbenaceae, existe uma expectativa sobre seu potencial para a fitorremediação. Neste sentido, este estudo tem como objetivo principal, avaliar o efeito do estresse de altos teores de cobre em favorecer a produtividade de compostos oriundos do metabolismo secundário de *L. fucata*. Sendo assim, o aluno bolsista poderá vir a colaborar para que

este objetivo seja alcançado, já que dedicará 20 horas semanais para o desenvolvimento do projeto. O bolsista contribuirá então, ativamente no desenvolvimento de todas as etapas descritas abaixo.

3. Descrição detalhada das atividades que serão realizadas pelo estudante

Os experimentos propostos a seguir serão desenvolvidos pelo docente orientador, mas com a colaboração do estudante, tanto para a realização dos experimentos como na interpretação dos resultados.

3.1 Obtenção de material vegetal

A instalação do experimento será realizada na Casa de Vegetação da área Experimental da UFFS/Cerro Largo e o solo utilizado será coletado também no município de Cerro Largo, nas dependências da UFFS. Serão realizadas análises físico-químicas do solo antes do cultivo. Após a análise, o solo será tratado com diferentes concentrações de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (250, 500, 750 e 1000 mg.kg⁻¹), sendo realizado experimento controle (sem adição).

Cada tratamento será replicado cinco vezes, e cada repetição constará de grupos de cinco plantas, totalizando 125 plantas. A obtenção das mudas será via estacas obtidas a partir de plantas matrizes coletadas no município de Nova Palma, Rio Grande do Sul. A densidade de plantio será de uma planta por vaso e a distribuição dos vasos plásticos será totalmente aleatória sobre as bancadas da casa de vegetação. A coleta das amostras de folhas para as análises histoquímicas e de metabólitos ocorrerá após 90 dias do plantio e será realizada com duas plantas de cada repetição.

3.2 Processamento do material vegetal

Após a coleta, o material vegetal será submetido inicialmente à testes histoquímicos, com o objetivo de verificar a localização de diferentes classes de metabólitos secundários nas folhas. Para tanto, serão realizadas seções transversais, longitudinais e paradérmicas do material vegetal, obtidas a mão livre e em material embebido. Posteriormente, serão submetidas a testes histoquímicos, para detecção de diferentes constituintes celulares como por exemplo Lugol para detecção de amido, Azul Brillante de Coomassie para proteínas totais, Vermelho de Rutênio para pectinas, Sudan III para lipídeos, Ácido Periódico/ Reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos totais, Reagente de Nadi para terpenóides, Reagente de Wagner para alcalóides e Vanilina clorídrica para taninos (compilados por THADEO et al., 2009).

3.3 Extração dos metabólitos secundários

Folhas secas e trituradas (de cada uma das repetições, item 4.1) serão submetidas a extrações com solução de etanol 70% (v/v) a 100 °C, sob refluxo, por um período de 3 horas, repetidos por 3 vezes. Os extratos hidroalcoólicos obtidos serão filtrados, concentrados em evaporador rotativo até pequeno volume, precipitados com 3 volumes etanol (v/v) e centrifugados para a separação dos compostos de alta massa molecular. Os compostos solúveis em etanol serão concentrados até pequenos volumes, então liofilizados e mantidos em frascos fechados em atmosfera de nitrogênio e armazenados em freezer para posterior análises.

3.4 Fracionamento dos extratos por partição líquido-líquido

As amostras serão particionadas entre diferentes solventes buscando obter frações ricas nos compostos desejados. Para tanto, os extratos hidroalcoólicos serão solubilizados em água e então submetidos a partição líquido-líquido com os seguintes solventes: clorofórmio, acetato de etila, butanol e água, em ordem crescente de polaridade.

3.5 Métodos analíticos

3.5.1 Análise por cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos e frações obtidas por partição líquido/líquido serão analisados por CCD, utilizando solventes apropriados. A visualização dos compostos será realizada pelo método do orcinol-H₂SO₄, para detecção dos glicosídeos; por vapor de iodo, ou aquecimento a 100 °C das placas previamente tratadas com solução contendo 10% de H₂SO₄ em etanol (v/v), que permite a detecção dos demais compostos.

3.5.2 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Análises por HPLC serão realizadas em cromatógrafo 2020 Shimadzu. As frações serão analisadas em colunas analíticas de acordo com as características de cada extrato e a detecção será realizada por detector evaporativo de espalhamento de luz, arranjo de fotodiodos ou, nas análises *online*, por espectrometria de massas do tipo electrospray. As condições gerais de análise, como tipo de solvente, tipo de gradiente a ser adotado, fluxo do solvente e temperatura de análise serão

otimizadas para cada tipo de coluna, bem como para cada tipo de extrato.

3.5.3 Análises por espectrometria de massas (ESI-MS)

Esta técnica será utilizada para a identificação e caracterização dos compostos presentes nos extratos e frações, através obtenção dos íons e também dos perfis de fragmentação, obtidos por dissociação induzida por colisão (CID) de cada composto isolado ou em misturas. Os experimentos de MS serão realizados online, associados à HPLC.

3.5.4 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)

A análise de GC-MS será realizada em cromatógrafo Shimadzu, modelo GC-210 Plus. As amostras analisadas serão identificadas pelos seus tempos de retenção relativos e perfis de fragmentação de massas. As condições gerais do equipamento serão adaptadas para cada grupo de compostos analisados.

4 Resultados/produtos esperados

Com a conclusão do projeto espera-se:

- Avaliar se é possível que a produção de metabólitos secundários ativos de *Lantana fucata* seja influenciada pelo estresse provocado por excesso de cobre no solo de crescimento.
- Implantar na UFFS/ *Campus* Cerro Largo uma linha de pesquisa com ênfase na avaliação do potencial fitorremediador e melhoramento de sistemas de cultivo de espécies vegetais nativas, com o objetivo de maximização de metabólitos secundários;
- Formação de recursos humanos qualificados nessa área do conhecimento;

Além disso, o projeto propiciará ao bolsista fundamentalmente ganhos no sentido de acúmulo de experiência de pesquisa, essencial para um futuro ingresso em programa de pós-graduação *stricto sensu*, caso deseje, além de desenvolver atividades de ensino e aprendizagem, que representam ganho também em termos de perspectivas de inserção no mercado de trabalho. Os resultados obtidos neste projeto serão descritos em Relatório Técnico Final. Havendo tempo hábil também serão divulgados em congressos, na forma de pôsteres, palestras e resumos ou ainda convertidos em manuscritos e submetidos para publicação científica em periódicos especializados.

PLANO DE TRABALHO DO ESTUDANTE BOLSISTA - SUBPROJETO

1 Descrição

Registro no Sistema Prisma: Projeto_PES_2019_0609		
Título do subprojeto: Avaliação do perfil de metabólitos secundários de <i>Lantana fucata</i> Lindl. (Verbenaceae) submetida a solo com excesso de cobre		
Nome do bolsista: Alessandra Rockenbach Mielke		
Curso: Ciências Biológicas - Licenciatura	Período/Fase: oitava	Desempenho acadêmico (Média): 7,6
Nome do orientador: Nessana Dartora		

2 Detalhamento do Plano de Trabalho

Resumo

Espécies da família Verbenaceae têm sido amplamente estudadas, devido as suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antivirais. Existe interesse científico no desenvolvimento de tecnologias para a potencialização de sistemas de produção das plantas medicinais, tendo em vista que a baixa concentração dos compostos bioativos representa um dos maiores obstáculos para a sua exploração econômica. Trabalhos com algumas espécies têm demonstrado que os metais traços, como o cádmio, cobre e zinco, atuam como eliciadores abióticos, influenciando de forma direta na produção de substâncias bioativas. *Lantana fucata* Lindl, a espécie a ser investigada neste estudo, é uma planta que apresenta várias propriedades medicinais, atribuídas principalmente aos compostos fenólicos e flavonoides presentes em suas folhas. Levando em consideração a existência de estudos promissores sobre o potencial fitorremediador de outras espécies do gênero e que a presença dos metais absorvidos por este processo desencadeia o aumento na concentração de metabólitos secundários em plantas, o presente projeto de pesquisa busca avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no solo, sobre o perfil de metabólitos de folhas de *L. fucata*. A instalação do experimento será realizada em casa de vegetação, os propágulos serão obtidos a partir de estacas e as mudas obtidas cultivadas em solo. O solo utilizado será coletado no município de Cerro Largo, nas dependências da Universidade Federal da Fronteira Sul, será realizada a análise físico-química do solo antes do cultivo. Após a realização da análise, o solo será tratado com diferentes concentrações de cobre, onde cada tratamento será replicado cinco vezes, e cada unidade amostral se constituirá de cinco plantas. Posteriormente serão realizadas as análises de composição química estrutural, utilizando as técnicas de cromatografia e espectrometria de massas. Pesquisas nesta linha podem gerar novas perspectivas para a utilização comercial dessa espécie, subsidiar programas de melhoramento e melhorar sistemas de cultivo.

Palavras-chave: Compostos bioativos, metal pesado, plantas medicinais, química de

macromoléculas, produtos naturais.

1. Objetivos/Finalidades das atividades que serão realizadas

Este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito do estresse causado por excesso de cobre no perfil de metabólitos secundários de folhas de *Lantana fucata*. Para alcançar este objetivo geral, alguns objetivos específicos serão desenvolvidos:

- Obter extratos hidroalcoólicos de *L. fucata* submetida ou não (controle) ao crescimento em solo com excesso de cobre;
- Localizar, extrair e caracterizar estruturalmente metabólitos secundários das folhas de *L. fucata*;
- Verificar se há alteração no perfil de metabólitos secundários das folhas de *L. fucata* submetidas ao estresse por excesso de cobre no solo;
- Desenvolver técnicas de separação cromatográfica e detecção visando maior sensibilidade e velocidade com menor consumo de solventes;
- Desenvolver técnicas de ionização que permitam obter diferentes informações sobre a estrutura das moléculas pela formação de diferentes íons e fragmentos;

2. Justificativa (relevância das atividades que serão realizadas pelo bolsista para o desenvolvimento do projeto de pesquisa do orientador)

As plantas medicinais são utilizadas por comunidades tradicionais em todo o mundo como principal meio terapêutico conhecido para o tratamento de muitos males. Em muitos países em desenvolvimento, uma grande proporção da população depende exclusivamente das plantas medicinais, para sanar problemas de saúde (OMS, 2010). Algumas comunidades, mesmo possuindo acesso à medicina moderna, mantêm o uso das plantas por razões históricas e culturais (MAFIMISEBI et al., 2013).

Ao nível mundial o mercado de produtos derivados de plantas, que inclui fragrâncias, fármacos e ingredientes aromatizantes, também é valioso e ultrapassa vários bilhões de dólares por ano (UPRETY et al., 2012). No Brasil, de forma semelhante, o comércio destas espécies está em expansão devido ao surgimento de novos segmentos de mercado, como o dos fitoterápicos bem como da incorporação de plantas medicinais e seus produtos no Sistema Único de Saúde (SUS).

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DIRETORIA DE PESQUISA

Rodovia SC 484 - Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899 49 2049-3743/49
20493748

dir.dpe@uffs.edu.br, www.uffs.edu.br

Uma variedade de produtos, tais como comprimidos, cápsulas, chás e óleos surgem frequentemente a partir do processamento de plantas aromáticas e medicinais (SOUZA et al., 2012).

Levando em consideração estes aspectos, a domesticação das plantas medicinais e aromáticas pode ser considerada um tema crucial, já que possibilita uniformidade de cultivo, qualidade e produtividade de metabólitos secundários. A maximização da produção destas substâncias é desejável e ao mesmo tempo necessária. Programas de cultivo comercial destas espécies devem contemplar um conhecimento elevado sobre o crescimento e o desenvolvimento, bem como sobre os processos fisiológicos associados à biossíntese dos compostos ativos (MMA, 2002).

Fazendo parte do rol de famílias botânicas com espécies medicinais encontra-se a família Verbenaceae, que compreende cerca de 98 gêneros e 2614 espécies no mundo (CRESPAM, 2010). No Brasil, esta família se destaca por sua ampla distribuição geográfica, mas também por sua importância econômica, uma vez que suas espécies são usadas para paisagismo, na indústria química para obtenção de cosméticos e na indústria farmacêutica para obtenção de remédios, devido suas propriedades bioativas (CORRÊA, 1984; MENTZ *et al.* 1997; GARLET, IRGANG 2001; MARIDUB, BAPTISTA, 2002; RITTER *et al.* 2002; DELAPORTE *et al.* 2005; COSTA *et al.* 2006; GOLENIOWSKI *et al.* 2006; VERDRUSCULO, MENTZ 2006; BARROS *et al.* 2007; NEVES *et al.* 2007; MARTINES, 2008; BARRETO *et al.* 2010.) Como outros representantes deste grupo, *Lantana fucata* Lindl, a espécie alvo deste estudo, demonstra elevado potencial farmacêutico e econômico, mas tem sido pouco contemplada com estudos que viabilizem sua exploração econômica de forma sustentável e poucos são os trabalhos relacionados ao seu metabolismo secundário. As pesquisas realizadas com a folha de *Lantana* evidenciaram a presença de compostos fenólicos (flavonoides), triterpenóides, lantadenos e a ausência de diterpenóides, sendo os triterpenos e flavonas os metabólitos secundários mais frequentes no gênero e fornecidos em grandes quantidades (HUSSAIN et al., 2011).

Uma das maiores dificuldades na exploração dos metabólitos secundários é a sua baixa concentração nos tecidos vegetais, desde que este caráter limita a possibilidade de cultivo. Consequentemente, existe um interesse no reconhecimento de agentes que estimulem a síntese destes compostos nas plantas. Estresses ambientais abióticos como temperatura extrema, seca, salinidade, tem sido relacionados com o aumento da produção e a indução da síntese de novo de

metabólitos secundários vegetais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

O estresse provocado por metais também tem sido investigado e demonstra resultados promissores, sendo verificada capacidade de desencadear alterações fisiológicas diversas, as quais incluem maior produção dos compostos bioativos (NASIM E DHIR, 2010). Plantas de *Rosmarinus officinalis* L., expostas ao cobre (Cu), apresentaram um aumento nos teores de óleo essencial (DEEF, 2007). Esta tendência também foi verificada em plantas de *Matricaria chamomilla* L. expostas ao mesmo metal (GREJTOVSKY et al., 2006). Adicionalmente, em *Salvia miltiorrhiza* Bunge, cultivadas em solos contendo elevadas concentrações de cádmio (Cd), foram verificados acúmulo de compostos bioativos hidrossolúveis e lipossolúveis (LI et al., 2013). Apesar da explicação para estes efeitos provocados pelo estresse por metais ainda carecer de maiores estudos (NASIM; DHIR, 2010), estas observações demonstram que estes elementos podem ser úteis como elicitores em plantas que apresentam metabolismo especial.

Outro aspecto que deve ser discutido no contexto das plantas expostas a ambientes contaminados por metais, é o seu potencial em extrair estes elementos do ambiente. De fato algumas espécies vegetais apresentam elevada capacidade de extrair e concentrar grandes quantidades de metais nos tecidos. Com o auxílio destes organismos os elementos podem ser removidos de locais poluídos, sendo o mecanismo denominado fitorremediação (HAMEED et al., 2012). Tal processo tem sido bastante investigado por ser considerado eficiente e de baixo custo quando comparado aos meios usuais de remediação (VAMERALI et al., 2010). Neste sentido, muitos representantes da família Verbenaceae figuram entre as plantas potencialmente reconhecidas como fitorremediadoras, a literatura traz dados sobre o potencial fitorremediador para metais de *Lantana camara* (ALARIBE; AGAMUTHU, 2019; LIU et al., 2019; PANDEY et al., 2015; ALARIBE, AGAMUTHU, 2015; WAOO et al., 2014) e *Verbena officinalis* (ANWAR SAJAD et al., 2019).

Assim, considerando que *L. fucata* é uma espécie medicinal, é possível que a produção de seus metabólitos secundários ativos seja influenciada pelo estresse provocado por metais. Além disso, como espécie pertencente à família Verbenaceae, existe uma expectativa sobre seu potencial para a fitorremediação. Neste sentido, este estudo tem como objetivo principal, avaliar o efeito do estresse de altos teores de cobre em favorecer a produtividade de compostos oriundos do metabolismo secundário de *L. fucata*. Sendo assim, o aluno bolsista poderá vir a colaborar para que

este objetivo seja alcançado, já que dedicará 20 horas semanais para o desenvolvimento do projeto. O bolsista contribuirá então, ativamente no desenvolvimento de todas as etapas descritas abaixo.

3. Descrição detalhada das atividades que serão realizadas pelo estudante

Os experimentos propostos a seguir serão desenvolvidos pelo docente orientador, mas com a colaboração do estudante, tanto para a realização dos experimentos como na interpretação dos resultados.

3.1 Obtenção de material vegetal

A instalação do experimento será realizada na Casa de Vegetação da área Experimental da UFFS/Cerro Largo e o solo utilizado será coletado também no município de Cerro Largo, nas dependências da UFFS. Serão realizadas análises físico-químicas do solo antes do cultivo. Após a análise, o solo será tratado com diferentes concentrações de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (250, 500, 750 e 1000 mg.kg⁻¹), sendo realizado experimento controle (sem adição).

Cada tratamento será replicado cinco vezes, e cada repetição constará de grupos de cinco plantas, totalizando 125 plantas. A obtenção das mudas será via estacas obtidas a partir de plantas matrizes coletadas no município de Nova Palma, Rio Grande do Sul. A densidade de plantio será de uma planta por vaso e a distribuição dos vasos plásticos será totalmente aleatória sobre as bancadas da casa de vegetação. A coleta das amostras de folhas para as análises histoquímicas e de metabólitos ocorrerá após 90 dias do plantio e será realizada com duas plantas de cada repetição.

3.2 Processamento do material vegetal

Após a coleta, o material vegetal será submetido inicialmente à testes histoquímicos, com o objetivo de verificar a localização de diferentes classes de metabólitos secundários nas folhas. Para tanto, serão realizadas seções transversais, longitudinais e paradérmicas do material vegetal, obtidas a mão livre e em material embebido. Posteriormente, serão submetidas a testes histoquímicos, para detecção de diferentes constituintes celulares como por exemplo Lugol para detecção de amido, Azul Brilhante de Coomassie para proteínas totais, Vermelho de Rutênio para pectinas, Sudan III para lipídeos, Ácido Periódico/ Reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos totais, Reagente de Nadi para terpenóides, Reagente de Wagner para alcalóides e Vanilina clorídrica para taninos (compilados por THADEO et al., 2009).

3.3 Extração dos metabólitos secundários

Folhas secas e trituradas (de cada uma das repetições, item 4.1) serão submetidas a extrações com solução de etanol 70% (v/v) a 100 °C, sob refluxo, por um período de 3 horas, repetidos por 3 vezes. Os extratos hidroalcoólicos obtidos serão filtrados, concentrados em evaporador rotativo até pequeno volume, precipitados com 3 volumes etanol (v/v) e centrifugados para a separação dos compostos de alta massa molecular. Os compostos solúveis em etanol serão concentrados até pequenos volumes, então liofilizados e mantidos em frascos fechados em atmosfera de nitrogênio e armazenados em freezer para posterior análises.

3.4 Fracionamento dos extratos por partição líquido-líquido

As amostras serão particionadas entre diferentes solventes buscando obter frações ricas nos compostos desejados. Para tanto, os extratos hidroalcoólicos serão solubilizados em água e então submetidos a particionamento líquido-líquido com os seguintes solventes: clorofórmio, acetato de etila, butanol e água, em ordem crescente de polaridade.

3.5 Métodos analíticos

3.5.1 Análise por cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos e frações obtidas por particionamento líquido/líquido serão analisados por CCD, utilizando solventes apropriados. A visualização dos compostos será realizada pelo método do orcinol-H₂SO₄, para detecção dos glicosídeos; por vapor de iodo, ou aquecimento a 100 °C das placas previamente tratadas com solução contendo 10% de H₂SO₄ em etanol (v/v), que permite a detecção dos demais compostos.

3.5.2 Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Análises por HPLC serão realizadas em cromatógrafo 2020 Shimadzu. As frações serão analisadas em colunas analíticas de acordo com as características de cada extrato e a detecção será realizada por detector evaporativo de espalhamento de luz, arranjo de fotodiodos ou, nas análises *online*, por espectrometria de massas do tipo electrospray. As condições gerais de análise, como tipo de solvente, tipo de gradiente a ser adotado, fluxo do solvente e temperatura de análise serão

otimizadas para cada tipo de coluna, bem como para cada tipo de extrato.

3.5.3 Análises por espectrometria de massas (ESI-MS)

Esta técnica será utilizada para a identificação e caracterização dos compostos presentes nos extratos e frações, através obtenção dos íons e também dos perfis de fragmentação, obtidos por dissociação induzida por colisão (CID) de cada composto isolado ou em misturas. Os experimentos de MS serão realizados online, associados à HPLC.

3.5.4 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS)

A análise de GC-MS será realizada em cromatógrafo Shimadzu, modelo GC-210 Plus. As amostras analisadas serão identificadas pelos seus tempos de retenção relativos e perfis de fragmentação de massas. As condições gerais do equipamento serão adaptadas para cada grupo de compostos analisados.

4 Resultados/produtos esperados

Com a conclusão do projeto espera-se:

- Avaliar se é possível que a produção de metabólitos secundários ativos de *Lantana fucata* seja influenciada pelo estresse provocado por excesso de cobre no solo de crescimento.
- Implantar na UFFS/ *Campus* Cerro Largo uma linha de pesquisa com ênfase na avaliação do potencial fitorremediador e melhoramento de sistemas de cultivo de espécies vegetais nativas, com o objetivo de maximização de metabólitos secundários;
- Formação de recursos humanos qualificados nessa área do conhecimento;

Além disso, o projeto propiciará ao bolsista fundamentalmente ganhos no sentido de acúmulo de experiência de pesquisa, essencial para um futuro ingresso em programa de pós-graduação stricto sensu, caso deseje, além de desenvolver atividades de ensino e aprendizagem, que representam ganho também em termos de perspectivas de inserção no mercado de trabalho. Os resultados obtidos neste projeto serão descritos em Relatório Técnico Final. Havendo tempo hábil também serão divulgados em congressos, na forma de pôsteres, palestras e resumos ou ainda convertidos em manuscritos e submetidos para publicação científica em periódicos especializados.

RELATÓRIO DE ATIVIDADES DO ESTUDANTE^{1,2}

01 – Dados do projeto “guarda-chuva” ou subprojeto

Número do Registro no Prisma: PES-2019-0609
Título: Avaliação do perfil de metabólitos secundários de <i>Lantana fucata</i> Lindl. (Verbenaceae) submetida a solo com excesso de cobre
Coordenador do projeto “guarda-chuva”: Carla Maria Garlet de Pelegrin
Orientador (se for o mesmo, deixar em branco): Nessana Dartora
Coorientador (somente para editais de Ensino Médio):
E-mail: nessana.dartora@uffs.edu.br

02 – Dados do Estudante [x] Bolsista [] Voluntário

Nome do estudante: Samuel Francisco Chitolina
Campus: Cerro Largo
Edital: 881/GR/UFFS/2019
Período de Execução (mês/ano): Setembro/2019 a Julho/2020
Horas semanais: 20
Horas Totais (apenas para voluntários de projetos “guarda-chuva”):

03 – Participação em eventos e atividades do projeto

Nº de encontros com o orientador realizados no período 50
Nº de encontros do grupo de pesquisa de que participou no período 20
Participação em eventos no período: 2 Tipo de participação [x] ouvinte [] apresentador

04 – Descrição das atividades realizadas pelo estudante

Descrição detalhada das atividades e as contribuições dessas atividades para o subprojeto de pesquisa Inicialmente fez-se leituras de artigos científicos, periódicos e demais materiais de literatura científica, buscando melhor entendimento dos assuntos estudados neste projeto. Após revisão bibliográfica, deu-se início às partes experimentais, quais seguiram:

¹Para agilizar o fluxo de trabalho, ao inserir o documento no sistema Prisma, por favor informar à CAPPG do campus via e-mail.

²Para bolsistas, este relatório deve ser entregue na metade do período de execução. Aos voluntários, quando houver o pedido de certificação.

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

1) Coleta de plantas e plantio

Realizou-se inicialmente a coleta de plantas de *Lantana fucata* de modo a selecionar as mais vigorosas e saudáveis e que não apresentassem manchas foliares causadas por doenças ou insetos. Em seguida, as mudas coletadas, foram colocadas em uma bolsa plástica e umedecidas com um pequeno borrifador de água, com o intuito de reduzir a perda do vigor. Para a produção de mudas, foram selecionados os ramos mais novos, contando-se três folhas (junto da folha do ápice) e com o auxílio da tesoura de poda foram feitos cortes transversal no caule do ramo selecionado (Figura 1A).

Após o preparo dos propágulos, os mesmos seguiram para plantio em viveiro sob condições de alta umidade e calor. A estrutura do solo em que as mudas (propágulos) ficaram até o desenvolvimento radicular, era composta por uma porção de terra, uma porção de areia e duas porções de substrato comercial de casca de arroz carbonizado. As mudas já cortadas, foram acondicionadas em um copo de plástico descartável (100 ml), contendo o solo e a ponta mais velha do ramo (Figura 1B) foi enriquecida em um enraizador industrial de ácido indolbutírico em pó.

Ao término do processo, as mudas foram colocadas em cima de uma bancada de metal, protegidas com uma estrutura de sombrite, ficando ali em média de vinte a trinta dias, coincidindo com o seu enraizamento.

2) Contaminação do solo com diferentes concentrações de sobre

2.1) Contaminação do solo - Experimento 1

A contaminação do solo foi realizada dentro da área experimental da UFFS *Campus* Cerro Largo, sendo o solo utilizado para tanto, deste mesmo local. Primeiramente, foi realizado uma análise química do solo (Figura 1C), sendo este, em seguida, peneirado com peneira de madeira contendo uma fina tela de arame. Nesta ocasião, deixava-se o solo secar ao sol para evitar o surgimento de agregados. Posteriormente, no solo já seco realizou-se a aferição de sua massa, em uma balança (precisão de 10 gramas), separando-o em 50 kg de solo branco (ausência de cobre), que posteriormente foi utilizado para contaminação em cada tratamento, sendo estes, T 0, T 250, T 500 e T 1000.

Assim, os 50 kg de solo branco foram levados à uma betoneira onde marcou-se o tempo de

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

10 minutos e adicionou-se gradativamente a solução de sulfato de cobre penta hidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) diluídos em 1 litro de água. Para o tratamento zero (T 0), adicionou-se somente 1 litro de água, sendo em seguida, (após os 10 minutos) o solo retirado e colocado em três bolsas de plástico branca (Figura 1D).

O mesmo processo foi realizado para os tratamentos T 250, T 500, T 700, T 1000. No entanto, no T 250 foram diluídos 250 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (63,546 mg/kg de Cu, para cada kg de solo) em 1 litro de água; no T 500, diluídos 500 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ para cada kg de solo (127,25 mg/kg de Cu, para cada kg de solo); no T 750, diluídos 750 mg/kg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (190,88 mg/kg de Cu, para cada kg de solo); e já no T 1000, foram diluído 1000 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (254,51 mg/kg de Cu, para cada experimento).

Após a contaminação, o solo foi levado ao laboratório onde ficou armazenado por um período de 30 dias, sendo que durante esse período o mesmo era remexido uma vez por dia, evitando assim a formação de coloide e conseqüentemente deixando-o mais homogêneo.

2.2) Contaminação do solo - Experimento 2

Um novo experimento de contaminação no solo foi conduzido (experimento 2) com o intuito de verificar como as plantas se comportariam com o aumento de três vezes na concentração de cobre no solo. Assim, a segunda contaminação ocorreu de forma muito similar ao experimento 1, sendo realizados também cinco tratamentos, T 0, T 250, T 500, T 750 e T 1000. A obtenção do solo, seguiu-se da mesma maneira, mas foram peneirados 200 kg de solo, sendo 40 kg para cada contaminação.

Para o tratamento T 250, 826,075 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (210,244 mg/kg de Cu, para cada kg de solo) foram diluídos em 1 litro de água; no T 500, foram diluídos 1685,675 mg/kg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (420,876 mg/kg de Cu, para cada kg de solo); no T 750, foram diluídos 2475,65 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (630,077 mg/kg de Cu, para cada kg de solo); e no T 1000, foram diluídos 3300,00 mg/kg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (839, 882 mg/kg de Cu, para cada kg de solo). Os solos, já contaminados foram conduzidos ao laboratório, ficando armazenados por igual período de tempo e remexido, assim como procedeu-se no experimento 1.

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
 UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
 GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
 dir.dpe@uffs.edu.br



A

Amostra Nº	Área Ra	Matrícula da Área	Prof.	Gleba	Argila %	pH H ₂ O	Índice SMP	P mg dm ⁻³	K mg dm ⁻³	M.O. %	Alum. cmol _d dm ⁻³
1	3	2886	0-20 cm	-	66	5,7	6,1	19,5	306	3,2	0,0
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Argila determinada pelo método do densímetro; pH em água 1:1; P, K, Zn e Cu determinados pelo método Mallich; S, MO por digestão úmida; Ca, Mg, Al, Mn e Na trocáveis extraídos com KCl 1 mol L⁻¹; E-SO₄ extraídos com CaHPO₄ 600 mg L⁻¹ de P; 0,1 mol L⁻¹; B extraído com água quente.

Amostra Nº	Ca ²⁺ cmol _d dm ⁻³	Mg ²⁺ cmol _d dm ⁻³	H + Al cmol _d dm ⁻³	CTC cmol _d dm ⁻³	% SAT de CTC BASES	Al	S mg dm ⁻³	Zn mg dm ⁻³	Cu mg dm ⁻³	B mg dm ⁻³	Mn mg dm ⁻³	Fe g dm ⁻³
1	6,4	1,2	3,9	12,0	67,7	0,0	18,5	16,7	14,9	0,6	89	nd
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CTC a pH 7,0. UNIDADES: % = massa/volume; mg dm⁻³ = ppm (peso/volume); cmol_d dm⁻³ = meq 100⁻¹ lit

Consulte um Engenheiro Agrônomo para obter as Recomendações de Adubação e Catagem.
 CGL Tec - Tecnologia com Rentabilidade



B



D



C



E



F



G



H



I



J

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

Figura 1. Algumas atividades realizadas pelo bolsista durante o projeto. A. Obtenção das mudas de *L. fucata*. B. Plantio. C. Análises prévias do solo. D. Contaminação do solo. E. Transplante de mudas. F. Aferição de umidade. G. Implantação dos experimentos 1 e 2. H. Processo de extração de componentes vegetais. I. Liofilização dos extratos. J. Extrações em triplicada de cada um dos tratamentos.

2.2.1) Construção do piloto da contaminação do experimento 2

A construção de um teste piloto foi elaborada para monitorar o desenvolvimento das mudas quando submetidas ao excesso de cobre (triplo de concentração). Cada tratamento (T 250, T 500, T 750 e T 1000) continha uma duplicada de pilotos (A e B), havendo no total oito pilotos com uma planta em cada.

Os pilotos foram plantados em vasos de capacidade de 2 litros e a quantidade de solo utilizado variou dependendo de cada tratamento. Após o plantio, os pilotos foram acondicionados em estufa, realizando-se uma regas diárias para que sua umidade mantivesse-se em torno de 80 %.

3) Transplante de mudas enraizadas para um recipiente maior

O transplante das mudas que estavam no viveiro sob a proteção de sombrite (descritas no item 1, deste relatório) ocorreu após seu enraizamento, cerca de 30 dias depois. Para tanto, retiraram-se as mudas do copo descartável de capacidade de 100 ml, colocando-as em um copo maior, agora, com 500 ml, o qual teve seu volume completado com substrato industrial (Figura 1E). Durante este procedimento, realizou-se a retirada das folhas doentes, de modo a evitar a propagação de fungos.

4) Revolvimento, umedecimento do solo contaminado e monitoramento da fase de incubação

As atividades de revolvimento e umedecimento do solo foram realizadas todos os dias durante a fase de incubamento, correspondente aos trinta dias após a contaminação, com o objetivo de reduzir a quantidade de agregados de solo e homogeneizar as concentrações de cobre. Primeiramente apalpava-se o solo manualmente em cada bolsa, na ordem de menor contaminação para a maior, de forma de verificar a umidade do solo (Figura 1F). Caso o mesmo não estivesse na condição friável, acrescentava-se um pequeno volume de água (equivalente a uma média de 3 ml de água) com um pulverizador de capacidade de três litros. Assim, em seguida, os solos dos

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

experimentos 1 e 2 eram mexidos/revolvidos, deixando-os mais homogêneos, quanto a concentração de cobre (Cu) e quanto a sua umidade.

5) Aplicação de fertilizantes e inseticidas biológicos nas mudas transplantadas e sistema de rega

A aplicação do fertilizante foi inicialmente realizada uma semana após o transplante das mudas para o copo de maior dimensão (500 ml), sendo posteriormente aplicada uma vez por semana. Os fertilizantes usados foram: nitrato de potássio (KNO_3 - 290 g), fosfato monopotássico (KH_2PO_4 - 450 g), nitrato de cálcio (CaNO_3 - 260 g) e sulfato de magnésio (MgSO_4 - 210g), sendo esta dosagem referente para cada mil litros de água. Dessa forma, cada planta recebia em média de 20 a 30 ml de solução com o fertilizante, por semana.

Além disso, também optou-se pela aplicação do inseticida biológico óleo de neem, na concentração de 15 ml por litro de água. Porém, como tornou-se evidente que esta concentração não estava surtindo efeito, duplicou-se a dosagem para 30 ml/litro de água. A aplicação deste inseticida foi realizada no intuito de combater artrópodes pragas, como tripes (*Frankliniella schultzei*), ácaros (*Tetranychus urticae*) e pulgões (Hemiptera).

6) Homogeneização e aferição da umidade gravimétrica do solo contaminado/incubado:

A homogeneização do solo para equalização da umidade ocorreu após o período de incubamento de 30 dias do solo, sendo então aferida a umidade gravimétrica do solo e determinando-se a quantidade de solo necessária em cada floreira de implantação dos experimentos 1 e 2. Para tanto, os tratamentos T 0, T 250, T 500, T 750 e T 1000, foram despesajados separadamente em cinco pedaços de lona plástica de dimensão 3m x 4m respectivamente, e então foram destoroados os agregados de solo e homogeneizado a solução. Posteriormente, foi retirado uma alíquota de solo de cada tratamento para as análises.

Dessa maneira, nas cinco latas de alumínio correspondente a cada um dos tratamentos foi aferida a massa de solo úmido (MU), e levadas para a estufa de circulação forçada na temperatura de 105° C, durante um período de 48 horas, sendo então aferida a massa novamente para

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

determinação do solo seco (MS). Para determinação da massa de solo a ser colocado em cada floreira utilizou-se da equação:

$$\text{Úmidade Gravimétrica (UG)} = 100 \times (\text{MU}-\text{MS})/\text{MS}$$

Por sua vez, após a aferição da umidade gravimétrica, determinou-se que o solo T 0 e o T 750 apresentavam a umidade de 75% quando solo úmido, e 25% de umidade após a secagem; o T 250; T 500 e T1 000 estavam com 74% quando úmido e 26% após a secagem.

7) Implantação do experimento 1 e sistema de irrigação por gotejamento controlado por arduíno

A implantação do experimento 1 ocorreu logo após que as análises de umidade. Primeiramente foram separadas 125 mudas já enraizadas para o transplante e 25 floreiras com capacidade de 14 litros, onde haviam cinco repetições de cada tratamento, sendo R 1, R2, R3, R4 e R5 (Figura 1G).

As floreiras continham cinco mudas enraizadas em cada, sendo que o solo havia sido disposto para 7 kg de solo seco. Nos tratamentos T 0 e T 750, foram colocados 9,3 kg de solo úmido enquanto que os demais (T 250, T 500 e T 1000) foram colocados 9,5 kg de solo úmido. Ao final do processo as plantas foram regadas manualmente, de modo a reduzir o estresse e também foram dispostas na bancada por meio de um sorteio aleatório, sendo este realizado a cada duas semanas para troca de posição das floreiras.

Também, nesta mesma data, implantou-se um sistema de irrigação por gotejamento, monitorado pelo sistema de arduino. Esse sistema foi disposto em oito linhas de mangueiras de cinco metros de comprimento com espaçamento de 30 cm entre os furos dos gotejos (Figura 8), sendo que as floreiras de dimensão 17cm x 50 cm de comprimento, foram colocadas na horizontal em referência da bancada de metal de dimensão 1,20 m x 6,0 m.

Apartir disso, foi definido que haveriam quatro mangueiras de gotejamento em cada floreira, também foi colocado os furos de gotejo para cima evitando que o cloro da água os fechem. Conforme mencionado acima, o sistema é controlado por um programa de computação

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

arduíno, que estava programado com sensores de luminosidades, ou seja, ligava quando havia luminosidade e desligava caso contrário. Assim, ele iniciava a irrigação a cada duas horas ficando ligado apenas 45 segundos, tendo no total em média de cinco a seis irrigações (dependendo do prolongamento do dia), e vazão de 150 ml de água por furo de gotejo.

Cerca de 30 dias após a implantação do experimento 1, ocorreu a implantação do experimento 2, de modo semelhante, onde novamente, foram utilizadas 125 mudas já enraizadas para o transplante e 25 floreiras com capacidade de 14 litros, onde haviam cinco repetições de cada tratamento, sendo R1, R2, R3, R4 e R5.

8) Auxílio na condução dos delinamentos

Durante este período de desenvolvimento do projeto, diariamente a umidade do solo foi monitorada, com o auxílio de um aferidor (Figura 9), incorporado no solo, e sempre que as floreiras estivessem com menos de 80% de umidade, regava-se somente o solo.

Além disso, também observava-se a presença de insetos e aracnídeos e das pragas citadas acima (item 5), sendo aplicado óleo de neem na concentração de 30 ml/litro de água a cada cinco dias. Foi feita a desfolha de folhas doentes e a retirada de ervas daninhas, que poderiam interferir no desenvolvimento dos experimentos.

9) Coleta e preparo das amostras

Após 100 dias de acompanhamento as plantas dos experimentos 1 e 2 foram coletadas, no período da manhã, sendo acondicionadas em redes de tecido e conduzidas ao laboratório, onde as plantas intactas foram lavadas com água destilada e imersas em Na₂EDTA 20 mM por 15–20 min para remover o cobre aderido à superfície das raízes. Na sequência, as plantas foram lavadas três vezes com água destilada e, finalmente, divididas em raízes, caules e folhas. As folhas estão sendo analisadas quanto à sua composição de metabólitos secundários, enquanto as raízes e caules que não foram analisados neste estudo, foram armazenados em freezer.

Assim, as folhas referentes as plantas de cada tratamento foram agrupadas, totalizando 10 grupos amostrais, onde por exemplo, as folhas das 5 plantas das 5 repetições do tratamento T 0 do experimento 1 formaram um grupo amostral, denominado E1T0. Em seguida, as folhas de cada

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

grupo amostral foram secas em estufa a 50 °C por aproximadamente 2 dias.

10) Extração dos componentes vegetais

Folhas secas e trituradas (2g) referentes a cada um dos grupos amostrais foram submetidas a extração hidroalcolica (etanol 70 %) (20 ml) sob refluxo por duas horas, sendo este processo repetidos por três vezes (Figura 1H). Após o tempo de extração, o material foi filtrado e os extratos combinados e concentrados, reduzidos até pequeno volume, sendo em seguida liofilizados (Figura 1I). Obtendo-se assim, os extratos brutos hidroalcolicos, de cada tratamento. Este processo foi realizado em triplicata, ou seja, para cada grupo amostral foram feitas três extrações exaustivas (Figura 1J).

11) Métodos analíticos

11.1) Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – *high performance liquid chromatography*) está sendo usada para identificação e quantificação de metabólitos nos extratos obtidos para cada tratamento. A cromatografia vem sendo realizada em um sistema LC-MS-2020 (Shimadzu), composto por uma bomba binária, amostrador automático e forno de coluna. A detecção foi realizada por detector de arranjo de diodos (DAD) ou, nas análises *online*, por espectrometria de massas do tipo electrospray (ESI-MS – *electrospray ionization mass spectrometry*).

Durante as análises já realizadas, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente (~22 °C) e a temperatura da coluna foi de 40 °C. As separações foram desenvolvidas em coluna C18 (Shimadzu) com 150 mm x 4.6 mm i.d. e 3.0 µm de tamanho da partícula. A fase móvel consistiu em água (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambas contendo 0,1 % e ácido fórmico. Dois sistemas de gradiente linear foram desenvolvidos, após várias tentativas de acerto e erro:

1) Aumento da concentração do solvente B, de 0 a 28% em 8 min, seguido do aumento da concentração do solvente B a 100%, dos 8 aos 18 min, mantido por mais 3 min e retornando para a condição inicial (100% A) em 21 min. O fluxo utilizado foi de 600 µL/min e a coluna foi reequilibrada por 3 min antes de cada injeção.

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

2) Aumento da concentração do solvente B, de de 0 a 28% em 8 min, seguido do aumento da concentração do solvente B a 100%, dos 8 aos 18 min, mantido por mais 3 min e retornando para a condição inicial (100% A) em 21 min. O fluxo utilizado foi de 800 $\mu\text{L}/\text{min}$ e a coluna foi reequilibrada por 3 min antes de cada injeção.

As amostras foram preparadas em MeOH-H₂O (1 mg/mL), sendo que 10 μL de cada amostra foi injetado. A detecção foi realizada por DAD (190 – 400 nm) e por ESI-MS. Para as análises quantitativas, curvas padrões foram preparadas com padrões de ácido benzoico, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumarico, ácido vanílico, betulina, luteolina, lupeol acetato, quercitina, teobromina, teofilina e rutina nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, e 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

11.2) ESI-MS (*electrospray ionization mass spectrometry*)

As amostras (~10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram solubilizadas em MeOH-H₂O (1:1, v/v), e submetidas a ionização positiva e negativa em pressão atmosférica (API – *atmospheric pressure ionization*). As análises *online* foram realizadas em um espectrômetro de massas LC-MS-2020, simples quadrupólo com nitrogênio como gás de nebulização e dessolvatação e utilizando o HPLC como sistema de injeção. As análises *offline* vem sendo conduzidas por injeção direta das amostras, utilizando uma bomba de infusão (KDSscientific) a um fluxo de 10 $\mu\text{L}/\text{min}$. Espectros de MS₂ também tem sido obtidos por fragmentação induzida por colisão (CID - *collision induced dissociation*), usando argônio como gás de colisão. A aquisição e o processamento de dados foram realizados utilizando o software MassLynx 3.5 e as análises vem sendo obtidas em modo de scan contínuo.

12) Atividades adicionais realizadas durante a suspensão das atividades acadêmicas

Foram realizadas reuniões virtuais quinzenais com os integrantes do grupo de pesquisa envolvendo os professores orientadores e os alunos bolsistas, onde foram apresentados seminários sobre artigos científicos e técnicas relacionadas a área da fitorremediação.

Salienta-se que devido a pandemia da COVID-19, alguns procedimentos de laboratório que demandavam de mais pessoas neste ambiente ao mesmo tempo, não foram realizados ainda. Como

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

por exemplo, a discussão e interpretação dos resultados.

Resultados obtidos

Até o presente momento, passaram-se 11 meses de implantação de bolsa no projeto, sendo cumpridas todas as etapas previstas no cronograma de execução. Além disso, a execução do experimento 2 encontra-se adiantada. Sendo assim, os principais resultados alcançados foram:

- Coleta e confecção de mudas de *Lantana fucata*, as quais apresentaram bom desenvolvimento e enraizamento, podendo ser transferidas para solo contaminado, para posterior análise.
- Coleta e tratamento do solo com diferentes doses de sulfato de cobre. A incubação do solo por 30 dias. Inclusive diferente do que estava no projeto, realizou-se uma segunda contaminação com doses maiores de cobre.
- Implementação dos experimentos 1 e 2, com o desenvolvimento das plantas sendo observado.
- Confecção de sistema de irrigação para desenvolvimento do projeto.
- Coleta e preparo das amostras dos experimentos 1 e 2.
- Obtenção dos extratos vegetais de cada tratamento.
- Padronização e otimização dos métodos de análise por HPLC e ESI-MS.
- Identificação e quantificação de metabólitos secundários.
- Participação de eventos científicos.
- Devido a Pandemia da COVID-19 ainda não foi possível interpretar e discutir os resultados obtidos até o momento. Assim, como a confirmação de alguns metabólitos por meio de ESI-MS-MS. Assim que possível isto será providenciado

Auto-avaliação do estudante

O projeto de pesquisa vem sendo realizado consoante estipulado no plano de pesquisa, estando nas fases finais da condução de obtenção e análise dos resultados. Os horários semanais foram cumpridos com muita responsabilidade e dedicação para com todos.

Quanto ao aprendizado, pude por em prática a teoria passada em reuniões com o orientador e aprimorar conhecimentos ao decorrer da realização dos delineamentos e da revisão bibliográfica.

Avaliação do orientador sobre o desempenho do estudante

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
GABINETE DO REITOR

Avenida Fernando Machado, 108-E, Centro, Chapecó-SC, CEP 89802-112, 49 2049-3700
dir.dpe@uffs.edu.br

Durante a execução do projeto, o aluno bolsista tem se mostrado responsável e dedicado, comparecendo a todas as reuniões marcadas e se propondo a executar todas as etapas descritas no cronograma.

É estudioso e busca soluções para auxiliar o desenvolvimento do projeto, além de contribuir com o grupo de pesquisa em que está inserido.

Comentários (opcional)

Local e data: Cerro Largo, 31 de julho de 2020.