II Congresso Internacional das Ciências Agrárias COINTER - PDVAgro 2017

PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *GRACILARIA BIRDIAE* NO CONTROLE DO FUNGO *FUSARIUM PALLIDOROSEUM*

Apresentação: Comunicação Oral

Gabriel de Lima Batista¹; Bárbara Monique de Freitas Vasconcelos²; Jorge Ricardo Silva do Couto Júnior³ & Maria Helena de Freitas Câmara⁴

Resumo

O Brasil é classificado como o terceiro maior produtor de frutas no mundo, sendo o melão o grande destaque pelo seu potencial de produção e exportação, principalmente na região Nordeste. Devido à necessidade de alternativas para controle de doenças do melão, com menos prejuízos ao meio ambiente, têm-se feito pesquisas com algas marinhas e seus compostos bioativos, capazes de substituir o uso indiscriminado de pesticidas. Nesse cenário, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico bruto de *Gracilaria birdiae* no fungo transmissor da doença de podridão, *Fusarium pallidoroeseum*, recorrente na cultura do melão (*Cucumis melo*). A alga vermelha *Gracilaria birdiae* foi coletada na praia de Pitangui, localizada em Extremoz (RN), e foi feita a secagem e produção do extrato hidroalcoólico. Na triagem fitoquímica da alga realizou-se testes para os compostos bioativos alcalóides, taninos, esteroides, saponinas, antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Por conseguinte, o teste antifúngico do extrato da *Gracilaria birdiae* em fungo *Fusarium pallidoroeseum* foi determinado pelo teste de inibição de halo nas concentrações de 100 µL L⁻¹ e 1000 µL L⁻¹. Os resultados obtidos na triagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico demonstraram a presença de compostos bioativos alcalóides e esteroides. A presença ou ausência de fitoquímicos demonstram que dependendo do solvente utilizado, o perfil dos compostos bioativos extraídos difere. Diante dos resultados do presente estudo, evidenciou-se que o extrato hidroalcoólico bruto de *Gracilaria birdiae* não promoveu atividade antifúngica frente ao fungo *Fusarium pallidoroeseum*, o que pode estar relacionado à alta quantidade de carboidratos (manose) presente no extrato. Dessa forma, apesar do solvente hidroalcoólico ter um baixo custo e toxicidade, o extrato hidroalcoólico favoreceu o crescimento do microrganismo testado, ocasionando resultados insatisfatórios para o controle do fungo *Fusarium pallidoroeseum*. Sendo assim, sugere-se que, por meio desta pesquisa, futuros trabalhos possam testar a aplicabilidade do extrato de *Gracilaria birdiae* usando uma variedade maior de solventes para obter um perfil diferente de compostos e realizar novos testes antifúngicos.

Palavras-Chave: *Gracilaria birdiae*, *Fusarium pallidoroeseum*, Compostos bioativos, Extrato hidroalcoólico.

¹ Bacharel em Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN), E-mail: gabrielimabatista@hotmail.com

² Pós-graduanda em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), E-mail: barbara.biotec1@gmail.com

³ Graduando em Agronomia, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), E-mail: ricoutodn@hotmail.com

⁴ Mestra em Ciências, área de concentração de Solos e Nutrição de Plantas, Universidade Federal de Lavras (UFLA), E-mail: mara-fc@hotmail.com

Introdução

O Brasil é um grande produtor mundial de frutas, classificado como o terceiro maior produtor do mundo (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2015). Uma das frutas que se destacam pelo seu grande potencial de produção e exportação é o melão, tendo o Nordeste do país como principal pólo produtor, principalmente o Rio Grande do Norte, Pernambuco e Ceará. Seu diferencial é a capacidade de produção o ano inteiro, principalmente por volta do período de setembro a março, e a rapidez na qual a fruta chega a ser colhida em relação aos outros países (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2015). No Brasil, segundo Anuário Brasileiro da Fruticultura (2016), a quantidade de melão produzida entre os anos de 2014 e 2015 foi de 589.930 toneladas, sendo exportada no ano de 2015 a quantidade de 223.746.193 quilogramas da fruta. O valor gerado pelas exportações para a Europa foi de US\$ 154.298.760,00 milhões, e a venda aumentou 1,63%, o que comprova a excelente qualidade dos frutos produzidos.

No entanto, as doenças e pragas nas plantações podem comprometer a produção de melão, gerando queda significativa e prejuízos econômicos. Com o clima mais quente e seco a partir de outubro, a incidência de doenças e pragas aumenta nas lavouras do Rio Grande do Norte, Pernambuco e do Ceará, elevando os custos com pesticidas e gerando redução na produtividade da fruta (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2015). Além disso, a incidência do fungo *Fusarium pallidoroeseum* acarreta doenças na pós-colheita do melão, fazendo com que o fruto apodreça e fique impróprio para consumo (DIAS; TERAPO, 2006 *apud* COUTINHO; GAGLIARDI e OOTANI, 2015).

Atualmente, usa-se pesticidas no tratamento dos fitopatógenos nas plantações de melão. Porém, os pesquisadores têm se preocupado em procurar novos recursos de reduzir o uso de fungicidas e substâncias químicas (BARKAI-GOLAN, 2001). Estas substâncias químicas agredem indiscriminadamente o ecossistema de forma direta e indireta. Por isso, tem-se aumentado a busca de alternativas para o controle dessa doença por meio de extratos naturais (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Nos últimos anos, já vêm sendo utilizadas, por alguns países, espécies de algas na agricultura como bioestimulantes e fertilizantes, nos quais se tem evidenciado aumento da resistência das plantas em relação às doenças causadas por microrganismos. Porém, o uso das macroalgas nesse setor ainda é limitado, uma vez que há baixa exploração significativa das mesmas no comércio de produtos naturais agrícolas (SEPÚLVEDA, 2015).

Nesse espectro, observa-se a variedade de substâncias presentes nas algas, bem como a possibilidade da exploração e manipulação de compostos bioativos com ação antifúngica encontrados nas mesmas (SILVA, 2005). Para estes fins, a alga utilizada nesse estudo foi a

Gracilaria birdiae, uma macroalga marinha de cor vermelha (*Rhodophytas*) que é encontrada principalmente na costa Nordeste do Brasil e coletada em grande quantidade para a extração de ágar (COSTA; PLASTINO, 2001). No contexto atual, a *Gracilaria birdiae* ainda é pouco explorada nos estudos relacionados à ação antifúngica, apesar de ser abundante no litoral norte-riograndense. Portanto, a escolha dessa alga se deve à falta de estudos nessa vertente e o alto potencial da *Gracilaria birdiae* ainda não explorado.

Ademais, houve a necessidade de utilizar o fungo *Fusarium pallidorozeum* devido à sua grande nocividade ao ser humano, tendo em vista que é um patógeno capaz de produzir toxinas altamente prejudiciais que se manifestam no organismo quando ingeridas por meio de um melão infectado. Além disso, a contaminação pós-colheita, doença causada por esse patógeno, gera grandes perdas das frutas e, conseqüentemente, acarreta perdas econômicas no setor de produção e exportação (GADELHA, 2002).

Portanto, sabendo que a podridão-do-pedúnculo causa perdas na pós-colheita do melão, foi necessário buscar alternativas de controle que reduzam essas epidemias, a fim de melhorar e conservar a qualidade dos frutos. Com base nessa problemática, propusemos realizar uma pesquisa experimental para verificar se no extrato hidroalcoólico bruto da alga vermelha *Gracilaria birdiae* estão contidas compostos bioativos, tais como as alcalóides, saponinas, taninos, esteróides, antocianinas, antocianidinas e flavonoides, substâncias naturais capazes de inibir o crescimento do fungo *Fusarium pallidorozeum* no tratamento pós-colheita na cultura do melão (*Cucumis Melo*), de modo a diminuir as perdas nas plantações de forma sustentável e ecológica, bem como prevenir a degradação do meio ambiente.

Fundamentação Teórica

O meloeiro é uma hortaliça pertencente à família botânica *Cucurbitaceae*, espécie *Cucumis Melo*, que produz frutos globulares, polpa clara ou alaranjada e sabor adocicado (FILGUEIRA *et al.*, 2013).

O melão tem grande expressão econômica e social para o Brasil, principalmente para a região Nordeste, na qual se encontram aproximadamente 95% do total de 589.939 toneladas produzidas no país entre os anos de 2014 e 2015 numa área de 22.001 hectares (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2016). Segundo essa fonte, os estados do Rio Grande do Norte, Ceará, Pernambuco e Bahia destacam-se como os produtores mais efetivos. Desse modo, houve uma diminuição nas produções e exportações de melão devido à incidência de doenças em pós-colheita do melão, tais como a podridão-do-pedúnculo, por exemplo, que causa perdas na cultura desse fruto.

A maior parte de doenças pós-colheita do melão consiste em contaminação que ocorrem

ainda no campo ou no ambiente em que o fruto se encontra em contato com o solo (pré-colheita). Porém, a contaminação pós-colheita, epidemia que ataca principalmente as raízes do meloeiro, tem sido recorrente em diversas plantações. Consequentemente, as grandes perdas por doenças pós-colheita têm sido analisadas no Estado do Rio Grande do Norte desde 1999 (COLARES, 2000). O principal fungo causador ao apodrecimento do fruto do melão é denominado *Fusarium pallidoroseum* (GADELHA, 2002).

O *Fusarium pallidoroseum* é um fungo mitospórico, o qual se refere à subclasse *Hyphomycetidae*. Frequentemente, o fungo está localizado no solo e em vestígios de plantas, em áreas tropicais e subtropicais.

Na atualidade, utiliza-se pesticidas para o controle de fitopatógenos na pós-colheita do melão. Porém, a população tem se preocupado em buscar novas formas de diminuir a utilização de fungicidas e substâncias sintéticas (BARKAI-GOLAN, 2001). Estas substâncias sintéticas causam danos de forma indiscriminada ao meio ambiente e ao ser humano (direta e indiretamente). Logo, tem-se buscado alternativas ecológicas para o controle desses microrganismos por meio de extratos bioativos (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Ao procurar novas formas de controle que diminuam a agressão ao meio ambiente, tem-se buscado novos compostos bioativos provindos do mar, destacando-se as macroalgas marinhas.

As macroalgas marinhas podem ser definidas como um grupo diversificado de organismos fotossintetizantes, pertencentes ao reino protista, sendo encontradas em sua maioria em regiões oceânicas de águas frias, embora também sejam localizadas no solo (CASTRO; HUBER, 2012). Segundo McHugh (2003) e Mendez (2002), esses organismos autotróficos podem ser classificados em três grupos: algas verdes (*Chlorophytas*), algas vermelhas (*Rhodophytas*) e algas pardas (*Phaeophytas*).

Um dos gêneros de macroalga marinha que apresenta coloração vermelha é a *Gracilaria* (*Rhodophyta*). A sua cor pode ter diferentes tonalidades de vermelho. Também há uma variação em seu comprimento, podendo variar entre 0,1 a 5 metros (PLASTINO & COSTA, 1999). A *Gracilaria birdiae* é uma alga economicamente importante e cultivada em grande escala no litoral nordestino do Brasil, uma vez que a mesma é uma produtora efetiva do extrato de ágar. (COSTA & PLASTINO, 2001). As algas de forma geral possuem compostos bioativos responsáveis pelas suas bioatividades (PÉREZ; FALQUÉ; DOMÍNGUEZ, 2016).

Os alcaloides são compostos que se dão naturalmente no reino vegetal e possuem características básicas. Em sua maioria, são oxigenados, aparentando ser sólidos e cristalinos, já os não oxigenados têm forma líquida. (CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003).

Kumar, Greeshma e Murugan (2016) realizaram estudos nos quais os alcaloides purificados

(como *solasodina* e *caulophyllumine-A* da planta *S. mauritianum* Scop.) possuem ação antifúngica contra fungos fitopatógenos.

Os taninos são substâncias complexas encontradas em diversos vegetais, estando presentes em raízes, cascas, folhas, frutos, sementes e seiva e apresentam alto peso molecular. Os taninos são classificados em hidrolisáveis e condensados, de modo que os hidrolisáveis são gerados por diversas moléculas de ácidos fenólicos. Dando continuidade, no estudo de T Morey *et al.* (2016), confirmou-se que taninos condensados de *S. adstringens* possuem efeito contra o desenvolvimento *in vitro* e *in vivo* do fungo *C. tropicalis*, apresentando uma ação antifúngica com concentração inibitória mínima oscilando de 0,5 a 8,0 µg/mL.

Os esteróides são compostos que apresentam anéis com 28 ou 29 carbonos, com a presença de uma ramificação metila ou etila adicional na cadeia carbônica (PEREIRA; DAS GRAÇAS CARDOSO, 2012). De acordo com Favel *et al.* (2005), o extrato bruto de glicosídeos esteroidais de flores de *Yucca gloriosa*, apresenta atividade antifúngica e, foi investigado *in vitro* contra a ação de fungos fitopatógenos. Os resultados encontrados apontam que os principais glicosídeos esteroidais como *tigogenilo*, *yuccaloeside B* e *yuccaloeside C* obtiveram um controle do crescimento do fungo, sendo a concentração inibitória mínima entre 0,39 e 6,25 µg/mL para todas as leveduras testadas.

As saponinas fazem parte de um grupo de compostos, caracterizadas pela presença de uma aglicona triterpenóide ou esteroide e uma ou mais cadeias glicosídicas (SPARG *et al.*, 2004). Além disso, segundo o estudo de Kannabiran *et al.* (2009) citado por Moghimipour *et al.* (2014), constatou-se que saponina isolada de *S. xanthocarpum* e *C. asiatica* possui atividade antifúngica capaz de inibir fungos como *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigates*, por exemplo.

As antocianinas e antocianidinas tem como estrutura básica o cátion flavila (2-fenilbenzopirilium). Nas antocianinas, as posições 3, 5 e 7 contêm hidroxilas, de modo que uma ou mais dessas hidroxilas estão conectadas a açúcares, que, por sua vez, podem estar relacionados a ácidos fenólicos (BOBBIO, 1992). No estudo de Schaefer, Rentzsch e Breuer (2008) citado por Mendoza *et al.* (2013), foi relatado que extratos naturais como as antocianinas têm ação antifúngica, uma vez que reduzem a podridão de frutos em diversidades de uva, contaminadas com o fungo *Botrytis cinerea*. Porém, há poucas informações da ação antifúngica das antocianinas em combate ao fungo *B. cinerea*.

Os flavonoides são os pigmentos dos vegetais, diferenciando-se pela coloração amarela (chalconas, auronas e os flavonoides amarelos), vermelha, azul e violeta (antocianósidos) que são regularmente protegidas por flavonóis incolores (CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003).

De acordo com a pesquisa de Kanwal *et al.* (2011), constata-se que extratos naturais como os flavonoides têm a possibilidade de diminuir o desenvolvimento de fungos fitopatógenos. Os

resultados obtidos demonstram que a *liquintigenina* e a *isoliquntigenina* isoladas da madeira de Amboyna são ativas contra o fungo *F. oxysporum*, *A. niger* e *P. italicum*.

De acordo com o estudo de Silva (2009), nos extratos aquosos de duas algas, evidenciou-se atividade antifúngica, sendo uma delas a *G. birdiae*, alga marinha vermelha utilizada também nesse presente estudo. O método utilizado pela autora seguiu os padrões determinados pela NCCLS (National Committee Clinical Laboratory Standards), através dos procedimentos: para o fungo diplóide *C. albicans* foram testadas três diluições do extrato de *G. birdiae*. Os resultados apresentaram um controle no crescimento do fungo, sendo a CIM (concentração inibitória mínima) equivalente a 0,5 µg/mL. Já para o fungo *C. parapsilosis*, a análise foi feita com quatro diluições do extrato de *G. birdiae*, tendo um controle no crescimento do fungo a partir de uma CIM equivalente a 1,0 µg/mL.

Diante do que foi observado, recomenda-se uma investigação mais aprofundada acerca dos compostos biologicamente ativos que apresentam ação antifúngica, bem como a avaliação de outras espécies de patógenos, uma vez que há uma importância significativa de tais estudos na área agrícola e médica (SILVA, 2009).

Conforme os estudos apresentados, é notório que os compostos bioativos provindos dos extratos das algas marinhas são capazes de inibir ou controlar doenças causadas por microrganismos. Diante disso, há um interesse em analisar se o extrato de *G. birdiae* poderia ter atividade antifúngica.

Materiais e Métodos

Na primeira etapa, foram feitos os procedimentos de coleta e transporte da alga vermelha *Gracilaria birdiae*. Inicialmente, a coleta da alga *G. birdiae* foi realizada no cultivo de macroalgas na praia de Pitangui, localizada no município de Extremoz (RN). O cultivo da macroalga se dá em estruturas de cano de policloreto de vinila (PVC) ligados por cordas nas quais as algas são fixadas e se reproduzem, conforme descrito por Vasconcelos (2015).

Ao serem coletadas manualmente da cultura, as algas foram mantidas em caixas térmicas com água do mar e gelo para serem transportadas ao Laboratório de Bioquímica, Departamento de Agrotecnologia e Ciências Sociais da UFERSA. No laboratório, foi feita a lavagem das algas com água corrente e, em seguida, foram mantidas por 10 minutos em uma solução a base de hipoclorito de sódio (cloro ativo 0,96% p/p, Marca Pury Vitta®) diluída em água (1:6) para purificação e retirada de resíduos advindos do mar.

Na segunda etapa, foi realizado a desidratação da alga *Gracilaria birdiae* por meio de dois procedimentos tecnológicos: estufa de secagem com circulação (1-2 m/s) e renovação de ar (temperatura constante de 60°C) com o intervalo de 30 minutos.

Dando continuidade ao preparo do material experimental, na terceira etapa, foi efetuado a produção do extrato hidroalcoólico da *Gracilaria birdiae*. A alga desidratada foi pesada na proporção de 1:10 (p/v) e imersa em solução hidroalcoólica a 50 % (50 % de etanol e 50 % de água destilada). Para preparar o extrato hidroalcoólico (EHA) da *G. birdiae*, houve uma pesagem de 200g da alga. Posteriormente, esse material foi triturado sucessivamente, acrescentando-se 500 mL de álcool etílico e 500 mL de água destilada, de modo a obter a solução hidroalcoólica a 50 %.

O extrato hidroalcoólico (EHA) foi mantido em repouso por 72 h em frasco fechado e protegido da luz. Após esse período, o extrato foi coado por papel filtro. O solvente (etanol) foi eliminado por meio de rotoevaporação a vácuo, utilizando um rotoevaporador e, por fim, o extrato foi armazenado em um frasco escuro e mantido sob refrigeração a 6 °C.

Na quarta etapa do procedimento, o extrato passou por uma triagem fitoquímica, para que fossem detectadas as principais classes de metabólitos secundários presentes na matéria prima da alga por meio de reações químicas que pudessem resultar no desenvolvimento da cor e/ou precipitado, característica de determinada classe de substância (MATOS, 1997). De acordo com as hipóteses deste trabalho, procura-se evidenciar, no extrato analisado, compostos bioativos tais como os alcalóides, saponinas, taninos, esteróides, antocianinas, antocianidinas e flavonóides. Para tanto, foram necessários diferentes procedimentos de testes para cada um dos compostos.

Por fim, foi realizado o teste antifúngico do extrato da *Gracilaria birdiae* em fungo *Fusarium pallidoroseum*, o qual foi isolado de frutos de melão com indicação de podridão-*por-Fusarium* que, ao serem identificados, foram colocados em uma placa de vidro no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), e utilizou-se o meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) sintético numa proporção de 39g para 1 litro. Em seguida, após o meio BDA ter sido feito, foi colocado 100 ml do mesmo em um Erlenmeyer (o volume foi conferido com proveta para que a dosagem fosse igual em todas as placas). A identificação do patógeno foi comprovada por meio de “postulados de Kock” (AMORIM E SALGADO, 1995).

Inicialmente, foi feito o isolamento do fungo removendo-se fragmentos da área de transição entre o tecido que não apresenta o fungo e o tecido já doente. Os fragmentos foram desinfestados superficialmente com uso de álcool 70% e solução de hipoclorito de sódio 4% (NaClO). Finalizado esse procedimento, o material foi lavado duas vezes sucessivas com água destilada e esterilizada e mantido em placas de Petri com o meio BDA. Depois de conter a colônia, o fungo foi reinoculado em frutos sadios com o propósito de averiguar a presença dos mesmos sintomas aos anteriormente analisados. Em seguida, foram removidos discos de 5 mm das bordas das culturas e transferidos para placas de Petri com o mesmo meio para o experimento. Ademais, uma outra parte foi mantida em água destilada e armazenada na coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia,

Departamento de Ciências Vegetais da UFERSA.

A ação antifúngica das concentrações do extrato hidroalcoólico bruto da alga *Gracilaria birdiae* foi analisada por meio do impedimento do crescimento micelial do fungo. É importante destacar que foi utilizado, para cada extrato hidroalcoólico bruto da *Gracilaria birdiae*, as concentrações de 100 µL L⁻¹ e 1000 µL L⁻¹, inseridas em meio de cultura determinado (BDA). O grupo de controle foi constituído do disco do fungo cultivado em meio BDA sem a adição de extrato hidroalcoólico. Ao esfriarem, em uma temperatura de aproximadamente 50° C, o extrato foi pipetado diretamente no meio BDA antes de gelificar, e foi mexido por 60 segundos no agitador magnético.

Ademais, o meio batata-dextrose-água foi vertido em placas de 15x100 mm, e os discos de meio BDA contendo o fungo foram repicados após o meio gelificar. Os discos de meio batata-dextrose-água tinham um diâmetro de 15 mm. As placas foram fechadas, identificadas e incubadas em câmara DBO (demanda bioquímica de oxigênio) à temperatura de 25°C sob fotoperíodo em de 12h por 8 dias. Destaca-se que o experimento foi realizado inteiramente em duplicata para ser validado estatisticamente.

Resultados e Discussão

Os resultados adquiridos da prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico de *Gracilaria birdiae* demonstraram presença de alcaloides e esteroides. Considerando que a maioria dos compostos bioativos como taninos, saponinas, antocianinas, antocianidinas e flavonoides não foram encontrados (Quadro 1).

Quadro 1: Triagem fitoquímica qualitativa do extrato hidroalcoólico de *Gracilaria birdiae*

Fitoquímicos	Extrato Hidroalcoólico
Alcaloides	+
Taninos	-
taninos hidrolisáveis	-
taninos condensados	-
Esteroides	+
Antocianinas	-
Antocianidinas	-
Flavonoides	-

(+) = presença; (-) = ausência

Fonte: Própria.

Uma vez que não foram encontrados na literatura estudos anteriores a respeito de triagem fitoquímica de extrato hidroalcoólico bruto do gênero *Gracilaria*, não é possível apresentar resultados com esse tipo de extrato para fins de comparação. No entanto, os estudos de Balakrishman, Jenifer e Esakkilingam (2013) evidenciaram os solventes metanólico, etanólico, éter de petróleo e acetona de *Gracilaria corticata*. Os resultados adquiridos para os extratos metanólico e de acetona indicou um número maior de presença de fitoquímicos como alcalóides, flavonóides, esteroides e taninos, apontando mais eficiência em relação aos extratos etanólico e éter de petróleo.

Além disso, no estudo de Prabha, Prakash e Sudha (2013), foram feitas as análises fitoquímicas de extratos etanólico, metanólico e acetona de alga vermelha *K. alvarezii*. Os resultados obtidos para os extratos etanólico, metanólico e de acetona, confirmam a presença dos constituintes fitoquímicos alcalóides e flavonóides. No entanto, constatou-se que não possui formação de saponinas para os extratos etanólico e metanólico, menos no extrato de acetona. Ademais, observou-se também que apresenta ausência do composto bioativo taninos nos extratos etanólico e de acetona, exceto no extrato metanólico.

Esses resultados demonstram que dependendo do solvente usado, o perfil de compostos ativos extraídos difere. Ou seja, foram observadas mudanças quantitativas dos compostos bioativos alcaloides e esteroides, que apresentam boa solubilidade em extratos como o metanólico e de acetona. Diante dos resultados, é possível afirmar que os extratos metanólico e de acetona possuem uma eficiência maior do que o extrato hidroalcoólico.

Neste trabalho, não foi possível apresentar estudos para comparação de resultados de prospecção fitoquímica de extrato hidroalcoólico bruto de gênero *Gracilaria*, visto que o extrato ainda não foi suficientemente testado. Esse fato, além de distinguir esta pesquisa das demais, também demonstra a necessidade de realizar futuros estudos a respeito do extrato hidroalcoólico de gênero *Gracilaria*, especialmente pelo caráter inovador desse extrato, pois o mesmo apresenta um baixo custo e um impacto ambiental menor para o ecossistema (HUBER *et al.*, 2012), ao contrário do extrato metanólico que, além de possuir um alto custo, é um extrato mais poluente ao meio ambiente (FINKELSTEIN; VARDI, 2002).

O ensaio antifúngico de extrato hidroalcoólico de *G. birdiae* foi analisado com o microrganismo *Fusarium pallidoroseum*. No entanto, diante dos resultados obtidos comparados com a testemunha, é possível constatar que não houve inibição do fungo pelas moléculas de extrato hidroalcoólico de *Gracilaria birdiae* em nenhuma concentração. Ao contrário do que se esperava, o extrato promoveu um crescimento mais acelerado ao fungo, invés de inibir ou retardar o seu aumento micelial. Ademais, observa-se que o extrato hidroalcoólico de *Gracilaria birdiae* não possui uma concentração mínima de produto capaz de causar a inibição do crescimento dos fungos.

Logo, pelos resultados alcançados, verifica-se que ambas as concentrações do extrato não promoveram a diminuição no desenvolvimento, mesmo com uma super dosagem de 1000 microlitros.

Segundo Kantachumpoo *et al.* (2010), o solvente hidroalcoólico é altamente rico em monossacarídeos, especialmente a manose (um açúcar, da série de carboidratos de seis carbonos), o que pode ser uma justificativa para o favorecimento do crescimento do fungo, uma vez que esse carboidrato é uma fonte energética para microrganismos, e assim, ocasionou um efeito contrário ao desejado no teste antifúngico realizado. Isso pode ser um indicativo de que o extrato hidroalcoólico bruto de *Gracilaria birdiae* utilizado nesse estudo não foi eficiente no combate ao fungo *Fusarium pallidoseum*, devido ao alto teor de manose presente no extrato, de modo a promover o crescimento acelerado do microrganismo testado.

Em suma, não foi possível extrair substâncias suficientes com o uso do extrato hidroalcoólico de gênero *Gracilaria* para atividade antifúngica, o que promove uma discussão sobre a necessidade de futuras pesquisas sobre os compostos biologicamente ativos eficazes no controle do crescimento de microrganismos fitopatogênicos.

Conclusões

Ao realizar todas as etapas descritas na metodologia, conclui-se que na triagem fitoquímica do solvente hidroalcoólico mostra resultados satisfatórios apenas para os compostos bioativos alcaloides e esteroides. Com base nos resultados, as moléculas do extrato hidroalcoólico bruto da alga vermelha *Gracilaria birdiae*, nas condições empregadas neste experimento, não promoveram atividade antifúngica frente ao microrganismo *Fusarium pallidoseum* testado.

Por fim, os experimentos realizados nesta pesquisa evidenciam que apesar do extrato hidroalcoólico bruto de *Gracilaria birdiae* possuir um caráter diferenciado, inovador, ser de baixo custo e de toxicidade, necessita de estudos futuros para testar a aplicabilidade do solvente em relação a outros tipos de extratos com ação antifúngica.

Referências

AMORIM, L. & SALGADO, C. L. Diagnose. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, h. & Amorim, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Agronômica: Ceres. 1995. p.224-231.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Brazilian Fruit Yearbook. **Santa Cruz do Sul:** Editora Gazeta Santa Cruz, 2015.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Brazilian Fruit Yearbook. **Santa Cruz do Sul:** Editora Gazeta Santa Cruz, 2016.

BALAKRISHNAN, C. P.; JENIFER, P.; ESAKKILINGAM, M. Algal documentation and Phytochemical studies of red algae *Gracilaria corticata* of Manapad Coast, Tamil Nadu. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 4, 2013.

BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Amsterdam: Elsevier, 2001. 432p.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O.; **Química do processamento de alimentos**, 2. ed. Varela: Campinas, 1992.

CASTRO, P; HUBER, M. E. **Biologia Marinha**. AMGH Editora, 2012.

COLARES, J. S. **Uso de defensivos naturais no tratamento pós-colheita do pedúnculo do melão**. 2000. 23 f. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

COSTA V. L. & PLASTINO, E. M. Histórico de via de espécimes selvagens e variantes cromáticas de *Gracilaria* sp. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. suppl, p. 491-500, 2001.

COUTINHO, I. B. L.; GAGLIARD, P. R.; OOTANI, M. A. ATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *Fusarium pallidum* (Cooke) Sacc EM MELOEIRO. **Essentia-Revista de Cultura, Ciência e Tecnologia da UVA**, v. 16, n. 2, 2015.

CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.

FAVEL, A. et al. Antifungal activity of steroidal glycosides from *Yucca gloriosa* L. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 2, p. 158-161, 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3 ed. Viçosa-MG: UFV, 2013. 412p.

FINKELSTEIN, Y; VARDI, J. Progressive parkinsonism in a young experimental physicist following long-term exposure to methanol. **Neurotoxicology**, v. 23, n. 4, p. 521-525, 2002.

GADELHA, J. C. **Controle preventivo e curativo da podridão pós-colheita de frutos de melão com produto alternativo**. 2002. 37 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

HUBER, K. et al. Caracterização química do resíduo agroindustrial da manga Ubá (*Mangifera indica* L.): uma perspectiva para a obtenção de antioxidantes naturais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, n. 1, 2012.

KANTACHUMPOO, A. et al. Components and antimicrobial activity of polysaccharides extracted from thai brown seaweeds. **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 44, n. 2, p. 220-233, 2010.

KANWAL, Q. et al. Antimicrobial activity screening of isolated flavonoids from *Azadirachta indica* leaves. **Serbian Chemical Society. Journal**, v. 76, n. 3, p. 375-384, 2011.

KUMAR, J. K.; GREESHMA, GM.; MURUGAN, K. FUNGICIDAL POTENTIAL OF PURIFIED ALKALOIDS: SOLASODINE AND CAULOPHYLLUMINE-A FROM *Solanum mauritianum* Scop. AGAINST SOME PHYTOPATHOGENIC FUNGI. **International**

Journal Of Pharma And Bio Sciences, Trivandrum, Kerala, v. 7, n. 3, p.84-88, jul. 2016. Disponível em: <<http://www.ijpbs.net/abstract.php?article=5158>>. Acesso em: 25 out. 2016.

MATOS FJ. Introdução à fitoquímica experimental. 2.ed. Fortaleza: Edições UFC; 1997. 141p.
MENDES, G. S.; BRAVIN, I. C.; Yoneshigue-Valentin, Y.; YOKOYA, N. S.; VILLELA, M. T. Anti-HSV activity of *Hypnea musciformis* cultured with different phytohormones **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22(4), p. 789-794, 2012.

MC HUGH, D.J. **A guide to the seaweed industry**. Rome: Food and Agriculture Organization of The United Nations, FAO Fisheries Technical Paper 441, 2003. 111 p.

MENDEZ, L. T. **Guia de Biodiversidad: Macrofaunas y Algas Marinas**. CREA, v.1, nº 4 2002.

MENDOZA, L. et al. EVALUATION OF ANTIFUNGAL PROPERTIES AGAINST THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *BOTRYTIS CINEREA* OF ANTHOCYANIN RICH-EXTRACTS OBTAINED FROM GRAPE POMACES. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 58, n. 2, p. 1725-1727, 2013.

MOGHIMIPOUR, ESKANDAR et al. In vitro screening of anti-candida activity of saponins extracted from *Glycyrrhiza glabra* and *Quillaja saponaria*. **Asian J Pharm Clin Res**, v. 7, n. 1, p. 160-162, 2014.

PEREIRA, R. J.; DAS GRAÇAS CARDOSO, M. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

PÉREZ, María José; FALQUÉ, Elena; DOMÍNGUEZ, Herminia. Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. **Marine drugs**, v. 14, n. 3, p. 52, 2016.

PRABHA, V.; PRAKASH, D. J.; SUDHA, P. N. Analysis of bioactive compounds and antimicrobial activity of marine algae *Kappaphycus alvarezii* using three solvent extracts. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, n. 1, p. 306, 2013.

PLASTINO, E.M & COSTA, V.L. Ultrastructure of vegetative branches of the red macroalgae *Gracilaria* sp. (Gracilariales). **Acta Microscopica** 8: 793-794, 1999.

SEPÚLVEDA, M. C. **Produtos das macroalgas marinhas**. 2015. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/revistas/15/macroalgas.asp>>. Acesso em: 24 out. 2016.

SILVA, M. B. Desenvolvimento de produtos a base de extratos de plantas para o controle de doenças e plantas. In: VENEZON, M.; PAULA, J.R., PALINI, A. (Eds.). In: **Controle alternativo de pragas e doenças**. Vicosa: EPAIG/CTZM, p. 221-246, 2005.

SILVA, P. M. **Atividades Biológicas de Extratos de Algas Marinhas**. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências (Bioquímica). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SPARG, SG et al. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**. 2004; 94: 219-243.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V(Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis, CCA/UFSC. p. 45-62, 2004.

T MOREY, A. et al. Antifungal Activity of Condensed Tannins from *Stryphnodendron adstringens*: Effect on *Candida tropicalis* Growth and Adhesion Properties. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 365-375, 2016.

VASCONCELOS, B. M. F. **Utilização da Macroalga *Gracilaria birdiae* no desenvolvimento de produtos alimentícios**. 2015. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2015.