II Congresso Internacional das Ciências Agrárias COINTER - PDVAgro 2017

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO ETANÓLICO DA MACROALGA MARINHA *Sargassum filipendula*

Apresentação: Comunicação Oral

Valéria Nayara Silva de Oliveira¹; Jorge Ricardo Silva do Couto Júnior²; Bárbara Monique de Freitas Vasconcelos³; Rui Sales Junior⁴; Juliana Rocha Vaez⁵

Resumo

O melão é da família cucurbitáceas, pertence ao gênero *Cucumis* e apesar de ser originário dos vales do Irã e no noroeste da Índia, apresenta grande relevância para a região Nordeste do Brasil. A cultura do melão sofre com problemas fitossanitários, os quais acarretam a grande perda da produtividade. O declínio da produção pode estar relacionado à ação de microorganismos fitopatogênicos como fungos e bactérias, sendo os fungos os fitopatogênicos mais prejudiciais à esta cultura. Atualmente, o controle desses microorganismos é feito com fungicidas químicos, no entanto, sabe-se que esse tipo de controle é prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana devido aos resíduos que podem permanecer nos alimentos. Uma alternativa para esse problema é o uso de produtos naturais como, por exemplo, extratos de algas marinhas. A alga *Sargassum filipendula* pertencente à ordem Phaeophytas, é mais comumente encontrada em regiões tropicais, é importante para as indústrias alimentícias, farmacêutica, cosmética e agronômica. Apesar da grande relevância industrial e da sua vasta aplicabilidade, poucos estudos têm sido realizados com a finalidade de gerar novos produtos oriundos desta alga. Neste contexto, avaliamos a atividade antifúngica do extrato etanólico obtidos a partir de *S. filipendula*. As amostras foram coletadas no município de Rio de Fogo (RN), secas, trituradas e foram preparados extratos etanólicos. A possível eficiência antifúngica foi testada contra o fungo e *Monosporascus cannonballus* nos intervalos de 24, 48 e 72 h. O extrato evidenciou potencial inibitório ao fungo *M. cannonballus*, reduzindo o crescimento em 100%, 100% e 68,01% a 24, 48 e 72 h. Diante dos dados obtidos, concluiu-se que o extrato etanólico de *Sargassum filipendula* inibiu eficientemente o fungo *Monosporascus cannonballus*.

Palavras-Chave: Algas marrons, extrato etanólico, *Monosporascus cannonballus*.

Introdução

O melão é uma espécie da família *cucurbitáceae*, gênero *Cucumis*, espécie *Cucumis melo* L., originário dos vales do Irã e do noroeste da Índia (FILGUEIRA, 2008;). No Nordeste brasileiro

¹ Agronomia, Ufersa, valeria-nayara@hotmail.com

² Agronomia, Ufersa, ricoutodn@hotmail.com

³ Mestre, UFRN, barbara.biotec1@gmail.com

⁴ Doutor, Ufersa, ruisales@ufersa.edu.br

⁵ Doutor, Ufersa, juvaez@ufersa.edu.br

os maiores pólos produtores são Vale do Jaguaribe no Ceará e o Agropolo Mossoró-Assu no Rio Grande do Norte. O motivo pelo qual essas regiões são as principais produtoras deve-se às condições de temperaturas elevadas ($> 28^{\circ}\text{C}$), os baixos índices pluviométricos ($\approx 600 \text{ mm ano}^{-1}$), a alta luminosidade e o uso de alta tecnologia adotada pelas fazendas produtoras.

A produção de melão irrigado cresceu substancialmente no Brasil nos últimos anos, a produção em 1995 era de cerca de 150.000 toneladas da fruta e em 2015 atingiu as 500.000, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015).

Apesar da cultura do melão ser de grande importância para essas regiões, vários problemas técnicos no processo produção-comercialização preocupam os produtores e demais pessoas envolvidas, dentre esses problemas os que mais se destacam são os fitossanitários, pois são os maiores responsáveis pelas perdas de produtividade e qualidade, consequentemente, trazendo grandes prejuízos aos produtores. (MOURA *et al.*, 2007).

As injúrias que provocam danos em pós-colheita podem ser mecânicas, fisiológicas e biológicas (fitopatógenos), sendo consequências de práticas indevidas na condução da cultura no campo e durante a colheita, transporte e/ou embalagem (KLUGE *et al.*, 2001). As injúrias mecânicas, por si só, não são capazes de inviabilizar os frutos, porém, elas fornecem uma porta de entrada de patógenos expondo os frutos às doenças pós-colheita.

A literatura relata que as doenças de origem fúngica e bacteriana na agricultura são responsáveis por enormes prejuízos todos os anos no Brasil e no mundo. De acordo com GULLINO (1994), as doenças fúngicas ocorrem com maior frequência, sendo responsáveis por 80 a 90% do total de danos ocasionados por fitopatógenos. Doenças radiculares destacam-se entre os principais motivos de diminuição de produção de culturas que têm uma grande importância alimentar.

O controle desses fitopatógenos é um tanto complexo, pois estes fungos evoluíram juntamente com as plantas por milhares de anos e estão altamente habituados ao ambiente subterrâneos em combinação com o hospedeiro. Ultimamente, as técnicas utilizadas para o controle de doenças pós-colheita fazem uso de fungicidas químicos, porém, estes podem aumentar as chances de intoxicação alimentar e a seleção de patógenos resistentes, devido a quantidades residuais destas substâncias que podem permanecer nos alimentos por um longo período de tempo (MOURA *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de métodos alternativos no controle de doenças é economicamente aceitável e indispensável (PRUSKY *et al.*, 2002). Com base nessa constatação, o uso de produtos à base de extratos de algas em associação com produtos químicos tradicionais, surge como uma excelente opção para não só o controle de fitopatógenos, mas também a promoção de crescimento e a indução de resistência em plantas (KOYAMA *et al.*, 2010).

O termo “alga” envolve os organismos que possuem clorofila “a” e um talo não diferenciado em raiz, caule ou folhas, com hábitos principalmente aquáticos, podendo ser encontradas em diversos ambientes terrestres e viverem associadas a outros organismos.

As algas produzem uma vasta quantidade de compostos antibacterianos e antifúngicos, podem ser cultivadas em larga escala e o uso de extratos de algas não envolve síntese química, essas características fazem com que esses organismos se apresentem como uma alternativa excelente e viável para uso como possíveis agentes controladores de fitopatógenos (KULIK, 1995).

O controle alternativo por meio de aplicação de extratos de macroalgas marinhas pode vir a colaborar no manejo integrado e/ou ecológico de pragas, o que impactará menos os ciclos biogeoquímicos e à saúde humana.

Visando ampliar os conhecimentos científicos, implantar novas tecnologias de controle fitossanitário e minimizar os impactos ambientais, o objetivo do presente trabalho é buscar uma alternativa sustentável, acessível e menos agressiva à saúde humana e ao meio ambiente para o controle de doenças fúngicas em plantas.

Fundamentação Teórica

Cultura do melão

O melão (*Cucumis melo* L.) é o fruto de uma olerícola muito apreciada e de popularidade crescente no Brasil e no mundo, sendo consumido em larga escala na Europa, Japão e Estados Unidos. O melão é rico em vitaminas A, B, B2, B5 e C, sais minerais como potássio, sódio e fósforo, apresenta valor energético relativamente baixo; é consumido *in natura* ou na forma de suco. O fruto maduro tem propriedades medicinais, sendo considerado calmante, refrescante, diurético e laxante. É recomendado no controle da gota, reumatismo, obesidade e prisão de ventre (SENAR, 2007).

Entre os estados nordestinos, os dois principais produtores são o Ceará e o Rio Grande do Norte (RN), que lideram o ranking nacional na produção e na quantidade exportada de melões, juntos respondem por praticamente 75% da produção brasileira (AQUINO & FREIRE, 2017).

O Estado do Rio Grande do Norte tem na fruticultura um dos setores que mais contribuiu para as mudanças na estrutura econômica regional. Particularmente, a cultura melão tem despontado em relação às demais frutas, destacando-se de modo significativo dentre as culturas exploradas temporariamente (MOTA, 2004).

Algas Marinhas

Algas marinhas são organismos avasculares, fotossintetizantes, não apresentam caules, folhas, raízes, flores e frutos (PÁDUA; FONTOURA; MATHIAS, 2004). As algas formam um grupo muito diversificado, contribuindo significativamente para elevar a biodiversidade marinha e podem ser divididas em microalgas e macroalgas. As macroalgas marinhas pertencem ao grupo não homogêneo de organismos denominado "Algae", que se encontra subdividido entre os Reinos Monera e Protista e aos filos Rhodophyta, Phaeophyta e Chlorophyta (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

O *Sargassum* é uma macroalga do filo Phaeophyta, pertencente à família Sargassaceae que apresenta aspecto flutuante, é um dos mais representativos dentre os 41 gêneros da ordem Fucales (*Phaeophyceae*, Heterokontophyta) sendo representado por 150 espécies. Estruturalmente, o gênero *Sargassum* é composto de apressórios, eixos principais e ramos laterais, de modo que estes se divergem a partir de eixos principais e compõem a maior parte do talo (COIMBRA, 2006).

As partes secas do *Sargassum* são empregadas em massas de biscoitos, sorvetes e outros produtos alimentícios (WANG *et al.*, 2010) por serem nutricionalmente ricas e por apresentarem fucanas com ampla capacidade antioxidante e antitumoral são utilizadas na indústria farmacêutica (RAGONESE *et al.*, 2014).

Fungos Fitopatogênicos

Patógenos radiculares podem ser definidos como organismos que passam grande parte do seu ciclo de vida no solo, contaminam órgãos subterrâneos das plantas. Têm capacidade de sobreviver no solo por um longo período na inexistência de seus hospedeiros, possuem predisposição de competição saprofítica e seus estádios de disseminação e sobrevivência são confinados ao solo, embora alguns possam produzir esporos disseminados pelo ar ou água (HILLOCKS, WALLER, 1997).

O fungo *Monosporascus cannonballus* foi descoberto no Brasil pela primeira vez em 2002 em áreas de cultivos de melão nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará (SALES JÚNIOR *et al.*, 2003). Esse fungo é um importante patógeno radicular, sendo um dos principais responsáveis pelo colapso do meloeiro e melanciaira, em regiões áridas e semi-áridas, em todo mundo (MARTYN & MILLER, 1996). *Monosporascus cannonballus* é um fungo habitante do solo, é um ascomiceto, pirenomiceto, homotático, com hifas septadas, hialinas, com largura entre 7,5 e 14 µm (WATANABE, 1979). De acordo com MARTYN, MILLER (1996), *M. cannonballus* é um fitopatógeno termófilo bem adaptado as condições áridas e semi-áridas, com temperatura ótima de

crescimento variando entre 25 e 35°C, sendo inibido em temperaturas acima de 40°C e abaixo de 15°C.

Metodologia

As algas foram coletadas no litoral do município de Rio do Fogo (RN), localizado na microrregião do Litoral Nordeste. Após a coleta, elas foram transportadas para o Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e secas. Após o processo de secagem, houve a produção do extrato etanólico 1:10 (p/v) da alga *Sargassum filipendula*, que após a eliminação do solvente, foi armazenado em um frasco escuro e mantido sob refrigeração.

O potencial antifúngico foi avaliado contra o fungo *Monosporascus cannonballus*, o qual foi isolado de frutos da família Cucurbitaceae, cedido pelo Laboratório de Fitopatologia II da UFERSA.

A atividade antifúngica foi observada por meio da inibição do crescimento micelial do fungo. O controle negativo foi formado por o disco do fungo cultivado em meio BDA sem a adição dos extratos. Foram usados quatro discos de 5 mm contendo micélios do fungo, esses foram devidamente distribuídos em cada placa. A avaliação do crescimento micelial foi realizada no intervalo de 24, 48 e 72 h, onde em cada período foi medido os eixos x e y dos micélios do fungo com o auxílio de um paquímetro digital, dos quais foi obtida média e submetida à estatística.

Os dados aprovados quanto à normalidade ($p > 0,05$, Shapiro-Wilk) foram submetidos à análise de variância, a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Resultados e Discussão

O extrato etanólico foi obtido numa concentração de 5,66 mg/mL. O crescimento micelial do fungo *Monosporascus cannonballus* diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) nos três tempos avaliados, 24, 48 e 72h do controle negativo, com isso observa-se que o crescimento micelial é inibido de forma eficiente já a partir de 24 h.

O potencial inibitório do extrato sobre o fungo é fortemente evidenciado pela redução do crescimento micelial em 100%, 100% e 68,01% em 24, 48 e 72 h, respectivamente (Figura 1). Viana *et al.*, (2008) na dose de 0,5 mg/mL de extrato etanólico em diferentes estruturas de *Senna alata* no controle de *M. cannonballu* apresentou porcentagens de inibição do crescimento micelial de 28,6% (caule), 36,7% (raiz) e 27,99% (vagem), resultados inferiores ao nossos.

Figura 1– Percentagem de inibição média do fungo *Monosporascus cannonballus* na presença do extrato etanólico de *Sargassum filipendula* durante 24, 48 e 72 h.

Apesar da composição química das algas ainda ser pouco estudada em relação às plantas terrestres, é sabido que as algas são ricas em carboidratos, proteínas e minerais, bem como compostos bioativos, como polifenóis, terpenóides, carotenóides e tocoferóis (GUPTA; ABUGHANNAM, 2011). A literatura relata que as algas produzem grandes variedades de compostos metabólicos que não são produzidos por plantas terrestres (PLAZA; CIFUENTES; IBÁÑEZ, 2008).

Estudos anteriores evidenciaram que extratos de algas marinhas, especialmente seus polifenóis possuem atividade antioxidante (CHANDINI; GANESAN; BHASKAR, 2008). Alcalóides também encontrados em algas demonstraram possuir propriedades antifúngicas (ZHU *et al.*, 2016). De acordo com JIANG *et al.* (2008), os flavonóides possuem atividade antiviral, antifúngica, dentre outras atividades biológicas. As saponinas possuem diversas propriedades, dentre elas, atividade antimicrobiana (XU *et al.*, 2000). Deste modo, a presença de compostos fenólicos, alcalóides, flavonóides, e saponinas, nos extratos bruto de *S. wightii* sugerem que essa alga pode ser utilizada como antimicrobianos (anti-viral, anti-fúngica e anti-bacteriana), dentre outros efeitos (MARIMUTHU *et al.*, 2012).

Os extratos da alga *S. tenerrimum* em diferentes solventes (metanol, clorofórmio, etanol, eter etílico, éter de petróleo, acetato de etila, acetona) apresentaram atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tetreus*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoformans* (MANIVANNAN *et al.*, 2011).

Ao que parece, extratos da *S. filipendula* possuem efeito mais adstringente contra fungos filamentosos, corroborando com os resultados observados em nossos ensaios, uma vez que o *M. cannonballus* é filamentoso.

Considerando os compostos presentes no gênero *Sargassum* e seus efeitos já estabelecidos na literatura, acredita-se que a atividade antifúngica observada pelo extrato etanólico de *Sargassum filipendula* atribui-se a presença de metabólitos secundários, principalmente compostos fenólicos e terpenóides.

Conclusões

Com isso, foi observado que o extrato etanólico inibiu eficientemente o fungo *Monosporascu cannonballus*.

Novos ensaios devem ser realizados com diferentes condições e solventes para melhor caracterização do potencial antifúngico (fungistático e fungicida) da espécie, assim como determinação do efeito dose-resposta e ensaios cromatográficos para determinação de quais componentes no extrato tem real atividade.

Referências

- AQUINO, J. R. & FREIRE, J. A. (2017) **Artigo publicado no jornal O Mossoroense**, Mossoró/RN, 09 de março de 2017, p. 11. Disponível em: <http://www.omossoroense.com.br/joacir-rufino-a-dinamica-da-producao-de-melao-no-rio-grande-do-norte/>. Acesso em: 08 de Out. 2017.
- CHANDINI SK, GANESAN P, BHASKAR N. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India, **Food Chemistry**, v. 107, p. 707-713, 2008.
- COIMBRA, C. S. **Inferências filogenéticas a ordem Fucales (Phaeophyceae), com ênfase no gênero Sargassum**. Tese (doutorado). Departamento de Botânica, Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, p. 75, 2006.
- SENAR. **Cultivo de melão**: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização/Serviço Nacional de Aprendizagem Rural -. SENAR – Brasília: SENAR, p. 104, 2007.
- FILGUEIRA, F. A. R. 2008. **Novo manual de Olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3 ed.: Editora UFV, Viçosa/MG, pp. 402.
- GULLINO, M. L. Lotta biológica a funghi agenti dimarciumi Del La frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatogico**, Bologna, v. 4, p. 5-13, 1994.
- GUPTA, Shilpi; ABU-GHANNAM, Nissreen. Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. **In novative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12, n. 4, p. 600-609, 2011.

HILLOCKS, R.J., WALLER, J.M. (Eds.) **Soilborne Diseases of Tropical Crops**. Wallingford. CAB International. 1997.

JIANG H. et al. Antioxidant activities of extracts and flavonoid compounds from *Oxytropis falcate* Bunge. **Natural Product Research**, v. 22, n. 18, p. 1650-1656, 2008.

KLUGE, R. et al. **Distúrbios fisiológicos em frutos**. Piracicaba: FEALQ, 58 p, 2001.

KOYAMA R. et al. Associação de extrato de algas, molibdênio e magnésio reduzindo danos de *Cercosporabeticol*. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. S2873-S2879, 2010.

KULIK, M. M. The potential for using cyanobacteria (blue-green algae) and algae in the biological control of plant pathogenic bacteria and fungi. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 101, p. 585-599. 1995.

MANIVANNAN, K. et al. Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 1, n. 2, p. 114-120, 2011.

MARIMUTHU, Johnson et al. Phytochemical characterization of brown seaweed *Sargassum wightii*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, p. S109-S113, 2012.

MARTYN, R. D.; MILLER, M. E. *Monosporascus* root rot and vine decline: na emerging disease of melons worldwide. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 80, n. 1, p.716- 725, 1996.

MOTA, JAEDSON CLÁUDIO ANUNCIATO. **Caracterização física, química e mineralógica, como suporte para o manejo, dos principais solos explorados com a cultura do melão na Chapada do Apodi-RN**, 2004.

MOURA, RENATA DAMASCENO et al. **Produtos biológicos e alternativos no controle de doenças pós-colheita em melão cantaloupe**, 2007.

PÁDUA, M.; FONTOURA, P. S. G.; MATHIAS, A. L. Chemical composition of *Ulva rioxysperma* (Kützinger) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 49-55, 2004.

PLAZA, M., CIFUENTES, A., IBÁÑEZ, E. In the search of new functional food ingredients from algae. **Trends in Food Science and Technology**, v. 19, p. 31–39, 2008.

PRUSKY, D. et al. The level of quiescent infection of *Alternaria alternata* in mango fruits at harvest determines the postharvest treatment applied for the control of rots during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.25, p.339-347, 2002.

RAGONESE, CARLA et al. Characterisation of lipid fraction of marine macroalgae by means of chromatography techniques coupled to mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 145, p. 932-940, 2014.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal** (7ª edição).-Ed. Guanabara Koogan. 2007.

SALES JÚNIOR, R.; OLIVEIRA, O. F.; SENHOR, R. F.; ALVES, M. Z. *Monosporascus cannonballus* agente causal do colapso em plantas de melão no Rio Grande do Norte. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 567, 2003.

WANG, C.-Y. et al. Two new natural keto-acid derivatives from *Sargassum pallidum*. **Chemistry of natural compounds**, v. 46, n. 2, p. 292-294, 2010.

WATANABE, T. *Monosporascus cannonballus*, an ascomycete from wilted melon roots described in Japan. **Transactions of the Mycological Society of Japan**, Kyoto, v. 20, n. 3, p. 312-316, 1979.

XU YX. et al. Three new saponins from *Tribulus terrestris*, **PlantaMedica**, v. 66, p. 545-550, 2000.

ZHU, YAN et al. Antifungal bromo pyrrole alkaloids from the South China Sea sponge *Agelas* sp. **Tetrahedron**, v. 72, n. 22, p. 2964-2971, 2016.