

EFEITOS DOS EXTRATOS DE GUACO (*Mikania glomerata* S.) E MIL-FOLHAS (*Achillea millefolium* L.) SOBRE O CRESCIMENTO DE *Pleurotus ostreatus* “Florida” EM CULTURA SUBMERSA

Josyane Mendes Murilho*

Stella Lopes de Faria**

Fábio Rogério Rosado***

RESUMO: Os efeitos biológicos associados às moléculas produzidas por plantas medicinais têm sido pesquisados em diversas plantas, tanto no Brasil quanto em outros países. Um grande número de pessoas em todo o mundo faz uso dessas plantas de forma empírica. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano do extrato aquoso bruto de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) e guaco (*Mikania glomerata* S.) em duas diferentes concentrações sobre o crescimento e produção de biomassa do fungo micelial *Pleurotus ostreatus* “florida” cultivado em cultura submersa, objetivando analisar a influência desses extratos frente a este microrganismo. O fungo foi cultivado em meio de cultura BD (batata-dextrose), período em que esteve em contato com os extratos. Aparentemente, o extrato aquoso de mil-folhas promoveu um aumento na produção de biomassa de *Pleurotus ostreatus* “florida”, como pode ser confirmado pelo aumento da biomassa ($x_{\text{controle}} = 2.0$ g/l; $x_{\text{extrato}} = 2.4$ g/l). O extrato de guaco influenciou negativamente o crescimento de *P. ostreatus* “florida” nas condições do ensaio ($x_{\text{controle}} = 2.3$ g/l; $x_{\text{extrato}} = 1.33$ g/l). Experimentos complementares serão desenvolvidos para a confirmação destes resultados.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas Medicinais; Antimicrobiano; Extrato Bruto.

EFFECTS OF GUACO (*Mikania glomerata* S.) AND MIL-FOLHAS (*Achillea millefolium* L.) EXTRACTS ON *Pleurotus ostreatus* “Florida” GROWTH IN SUBMERGED CULTURE

ABSTRACT: Biological effects associated with molecules produced by medicinal herbs have been the object of research in Brazil and in other countries since many people worldwide use these plants in every practical way. The current research evaluates the influence of the crude aqueous extract of *Achillea millefolium* L. and *Mikania glomerata* S., popularly known as “mil-folhas” and “guaco”, respectively, in two different concentrations, with regard to the growth and production of mycelial fungus *Pleurotus ostreatus* “florida” variation, cultivated in an immersed culture. The biological effects of the extracts on the microorganism are thus analyzed. The extracts were cultivated in a potato dextrose culture and put in contact with the aqueous extracts of the plants throughout the whole period. The aqueous extract of *Achillea millefolium* L. seems to have caused an increase in biomass production of *Pleurotus ostreatus* “florida”, since $x_{\text{control}} = 2.0$ g/l increased to $x_{\text{extract}} = 2.4$ g/l. On the other hand, the *Mikania glomerata* S. extract seems to negatively influence the growth ($x_{\text{control}} = 2.3$ g/l; $x_{\text{extract}} = 1.33$ g/l) of *Pleurotus ostreatus* “florida” within assay conditions. Complementary assays will be undertaken to confirm above results.

KEYWORDS: Medicinal Herbs; Antimicrobial; Crude Extract.

* Licenciatura em Ciências Biológicas no Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. E-mail: josybiologia@hotmail.com

** Licenciatura em Ciências Biológicas no Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. E-mail: stella.biologia@bol.com.br

*** Pos - Doutorando no Institut National de la Recherche Agronomique – INRA; Docente Doutor do departamento de Ciências Biológicas no Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. E-mail: fabiorosado.bio@gmail.com

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com propriedades medicinais e os conhecimentos relacionados com tais práticas são uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Desde os primórdios da civilização, o homem utiliza plantas medicinais buscando tratamento de suas doenças (SARTÓRIO et al., 2000). Contudo, pela ampla diversidade de organismos vegetais, criou-se no homem a necessidade de classificá-los com o fim de acumular conhecimentos sobre eles (OLIVEIRA; AKISUE, 2003).

A partir de uma perspectiva histórica, a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças começaram com o uso de plantas medicinais (SCHULZ; HÄNSEL; TYLER, 2002). Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Durante milênios, o homem veio demonstrando uma ligação entre o uso das plantas e sua evolução, aprofundando, assim, seus conhecimentos empíricos a fim de obter melhoria na condição de alimentação e cura de suas enfermidades (MIGUEL; MIGUEL, 2000).

A origem do conhecimento do homem sobre as virtudes das plantas é muito diversa e curiosa (MORGAM, 1986). O homem utilizou várias técnicas e recursos para descobrir que determinada espécie de planta seria útil na cura das mais diversas enfermidades e na prevenção das mesmas. Porém, um dos principais procedimentos usados pelo homem para a descoberta das virtudes terapêuticas das espécies vegetais se deu na observação do comportamento de animais domésticos. Quando um cão ou qualquer outro animal da mata parecia estar acometido por algum mal, comia gramíneas, raízes, folhas ou outra parte da planta buscando resolver seu problema (DI STASI, 1996; SARTÓRIO et al., 2000).

Outro procedimento importante para a origem desse conhecimento foi a observação dos mecanismos de defesa das plantas contra seus predadores, como fungos, bactérias, insetos, etc. Ao serem agredidas por algum desses agentes agressores, logo sintetizavam substâncias de defesa. Substâncias essas que só eram produzidas logo após a agressão do invasor com a capacidade de inibir o crescimento do mesmo (HAENEN, 1985 apud YUNES; CALIXTO, 2001).

O homem também deve ter avaliado por si mesmo, através de experimentação empírica, várias espécies que de alguma forma sugeriram a potencialidade de uso para amenizar seus

problemas, seja como medicamento, seja como alimento ou produção de ferramentas e artesanato (DI STASI, 1996).

Quando se procura obter substâncias ativas de plantas, um dos principais aspectos que deve ser observado consiste nas informações da medicina popular. Dados da literatura revelam que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo seu uso na medicina popular do que em plantas escolhidas ao acaso (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Até a década de 50, a humanidade utilizava de forma intensiva as plantas medicinais. No entanto, esta prática foi sendo distanciada do homem pelo fato do advento da indústria farmacêutica. Porém, nas últimas décadas, por motivos diversos – como intoxicação por medicamentos, preço alto, busca de uma vida mais saudável e natural e também pelo fato de os efeitos colaterais das plantas, quando comparados aos dos remédios químicos, serem mínimos – o crescimento do uso de plantas medicinais tem sido impulsionado (SARTÓRIO et al., 2000).

O incentivo ao uso das plantas medicinais e seus derivados faz com que um grande número de pessoas – mesmo desconhecendo as espécies em uso, a dosagem correta e a forma de administração – venha a utilizá-los por conta própria em substituição ao atendimento médico e, por sua vez, da terapêutica adequada, expondo-se ao risco de intoxicação. Portanto, o uso inadequado e sem controle pela população constitui um sério risco à saúde pública (MIGUEL; MIGUEL, 2000).

Diferentes culturas dos mais distintos lugares, desenvolvidas ou não, conhecem e utilizam o potencial terapêutico dos vegetais no tratamento de doenças, práticas estas que acompanham o homem desde a pré-história e que evoluíram com ele ao longo dos anos e constituíram a medicina do homem primitivo (COUTINHO et al., 2004). Porém, nas últimas décadas a procura por novos agentes antimicrobianos, a partir de plantas, é intensa devido à crescente resistência de microrganismos patogênicos frente aos produtos sintéticos (AMARAL; BARA, 2005). Segundo Yunes e Calixto (2001), o uso de substâncias com atividade antimicrobiana só foi intensificado de forma mais científica após estudos feitos por Louis Pasteur e Robert Koch. Contudo, muitas substâncias químicas que foram testadas no início da pesquisa, apesar de terem apresentado uma ação eficaz contra os microorganismos, não poderiam ser utilizadas devido à toxicidade que provocavam na célula hospedeira.

Posteriormente, com a intensificação das pesquisas, foi possível descobrir que as substâncias em concentrações adequadas eram capazes de destruir os microorganismos sem causar danos a células hospedeiras (YUNES; CALIXTO, 2001).

Em 1929, com a descoberta da penicilina por Alexander Fleming a partir do fungo do gênero *Penicillium*, os estudos tiveram um grande impulso, o qual contribuiu para a descoberta de novas substâncias com potencial atividade antimicrobiana contra as mais variadas espécies de bactérias, fungos e parasitas (PELCZAR, 1980 apud YUNES; CALIXTO, 2001).

Desde 1977, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer, ao mesmo tempo, os riscos de seu uso indevido (LOGUERCIO et al., 2005). Em 1978, a OMS começou a incentivar também as entidades de saúde a avaliarem métodos naturais, pois se acreditavam que eram métodos de cura ideal, os quais estariam ao alcance de toda a população, desde os de baixa renda até os que têm cultura e posses econômicas e que estariam preocupados com a elevada quantidade de produtos químicos e sintéticos usados nas formulações de medicamentos (FRANCO, 1999).

No Brasil, os estudos sobre pesquisas antimicrobianas de origem vegetal tiveram início com Cardoso e Santos (1948 apud YUNES; CALIXTO, 2001). Os autores avaliaram extratos de 100 plantas usadas na terapêutica medicamentosa como cicatrizantes e antiinflamatórias (YUNES; CALIXTO, 2001).

Atualmente, as plantas medicinais não estão sendo utilizadas somente pela população que por si mesma tenta resgatar a cultura da qual fazem parte. Elas também passam a ser objetivo de grande interesse dos cientistas (MIGUEL; MIGUEL, 2000).

Segundo Yunes e Calixto (2001), muitos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de isolar e elucidar compostos químicos produzidos por plantas com potencial antimicrobiano de grande interesse para a indústria farmacêutica.

Como os microorganismos sofrem pressão de seleção, ou seja, o crescimento microbiano vem se tornando resistente aos compostos químicos disponíveis para tratamento clínico, tornam-se importantes as pesquisas que investigam o potencial das plantas medicinais para o controle de doenças de origem microbiana (FAGUNDES; MAURO, 2004).

O gênero *Pleurotus* é cosmopolita, desenvolvendo-se bem ao redor do mundo. Por se tratar de um gênero de basidiomicetes com muitas espécies comestíveis, constitui um bom organismo para testes de crescimento micelial.

Estudos relacionados à cultura submersa de basidiomicetes podem fornecer informações para a sua utilização para diversos fins (KIRCHHOFF; LELLEY, 1991 apud YUNES; CALIXTO, 2001; KAWAI, 1995 apud ROSADO, 1997).

O guaco (*Mikania glomerata* S.) é uma planta da família das compostas, também conhecida popularmente como erva-de-serpente, cipó-catinga, erva-de-cobra, entre outros. É originária da América do Sul, já utilizada pelos índios como contraveneno para serpentes. Desenvolve-se como um arbusto lenhoso e cheio de ramos, apresentando flores brancas e folhas opostas, simples e ovais, de cor verde escura na face principal e mais clara na reversa e que exalam um aroma agradável quando partidas ou esfregadas. Sua propriedade medicinal é expectorante e broncodilatadora, combate tosse, asma, bronquites e ronquidão além de problemas do aparelho respiratório (OKA; ROPERTO, 2000).

Segundo a pesquisadora Vera Lúcia Garcia Rehder, do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), há muito a medicina popular receita o guaco para problemas respiratórios. Através de suas pesquisas, foram comprovados os efeitos do guaco contra câncer, úlcera e infecção por microorganismo, além de prevenção da cárie e da placa bacteriana do dentes (ESTUDO..., 2006).

Mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), da família das compostas, é uma planta de origem europeia, provavelmente trazida ao Brasil há séculos por imigrantes. Suas folhas são compostas e finamente repartidas, com coloração verde-acinzentada, e apresenta uma floração branca. É também conhecida popularmente como mil-em-ramas, erva de carpinteiro, cento em ramos, entre outros. É utilizada para uma infinidade de situações devido a sua riqueza de constituintes químicos. Pode ser utilizada como diurética, anti-inflamatória, para cólicas menstruais, renais e no tratamento de diarreias (OFICINA DE ERVAS, 2006).

Embora estudos mais detalhados sobre o uso terapêutico das plantas medicinais sejam necessários, é esperado que as informações obtidas através desta pesquisa possam corroborar com outros trabalhos que investigam o potencial desses extratos vegetais e também sirvam como base de dados, visando fornecer possibilidades naturais para o controle de doenças de origem microbiana ou, ainda, fornecer ferramentas biológicas para controle do crescimento de microorganismos em processos biotecnológicos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do extrato aquoso bruto em diferentes concentrações de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) e guaco (*Mikania glomerata* S.) sobre o crescimento e desenvolvimento do fungo micelial *Pleurotus ostreatus* "florida".

2 METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Botânica, Geologia, Microbiologia e Biologia Molecular do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR.

2.1 MATERIAL VEGETAL

Foram obtidas folhas de *Achillea millefolium* L. e *Mikania glomerata* S., conhecidas popularmente como mil-folhas e guaco, respectivamente, cultivadas no Horto Didático de Plantas Medicinais do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, coletadas em 28 de Julho de 2006 entre 15h00 e 16h00 (Figuras 1 e 2).

2.1.1 PREPARO DO EXTRATO BRUTO

Para a obtenção do extrato bruto (EB), as folhas dos vegetais foram lavadas em água corrente e secas à temperatura ambiente. Após secagem, foram pesados em balança analítica 100 gramas de cada vegetal e colocados em balões de vidro volumétrico separadamente. Em cada balão foi adicionado 500 mL de água destilada e os mesmos foram submetidos à fervura em manta térmica a 140°C durante 30 minutos, contados a partir do início da fervura. Após o tempo de extração, esperou-se 1 hora para o resfriamento e cada extrato foi filtrado em um béquer com auxílio de papel filtro e funil de vidro. O volume final foi 350 mL e 390 mL para as plantas *Mikania glomerata* S. e *Achillea millefolium* L., respectivamente. O material resultante foi vedado com papel filme para evitar contaminações e acondicionado em geladeira a 4°C (Figuras 3 e 4).

2.2 MATERIAL BIOLÓGICO FÚNGICO

Utilizou-se um isolado de *Pleurotus* obtido no banco de germoplasma de fungos medicinais e comestíveis do CESUMAR.

2.3 PREPARO DO MEIO DE CULTURA BDA (FIDALGO; BONONI, 1984).

Quadro 1 Composição

Composição Química	
Batata inglesa	140 g
Dextrose ou sacarose	10 g
Ágar	20 g
Água destilada	1000 mL

A batata foi picada e cozida em um béquer, já contendo a dextrose e a água destilada, durante 40 minutos. Fundiu-se o ágar em 500 mL de água destilada em banho-maria, agitando-se para que ocorresse a sua completa dissolução. Em seguida, acrescentou-se ao ágar fundido a água de batata filtrada em gaze. Após, adicionou-se a sacarose previamente dissolvida em 20 mL de água destilada, completando com água destilada até o volume final de 1000 mL. O meio de cultura foi levado à esterilização em autoclave à temperatura de 121°C. Em seguida, o meio de cultura foi distribuído em placas de petri. Para verter o meio BDA nas placas de petri, utilizou-se a capela de fluxo laminar esterilizada por UV durante 30 minutos, conservando o meio asséptico para o recebimento do inóculo.

2.4 ISOLAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO (FUNGO *Pleurotus ostreatus* "florida")

A partir da matriz do fungo *Pleurotus*, foi realizada a inoculação do micélio. Com auxílio de uma alça em L devidamente flambada, foi retirado um pequeno fragmento do micélio e inoculado no centro de cada placa de petri contendo o meio de cultura BDA (batata-dextrose-agar) para obter o microrganismo purificado. Após a inoculação, as placas de petri foram devidamente identificadas contendo o nome e data do inóculo. Em seguida, as mesmas foram vedadas individualmente com papel filme e depois envolvidas em papel laminado, permanecendo no escuro para o crescimento do micélio (incubação). As placas foram mantidas em estufa bacteriológica à temperatura de 25°C por 14 dias para obtenção do isolado purificado.

2.5 PREPARO DO MEIO DE CULTURA BD (MEIO LÍQUIDO)

A mesma metodologia utilizada para o preparo do meio de cultura BDA foi utilizada para o preparo do meio líquido (BD), contudo, retirando-se o ágar (item 2.3). Após o preparo, foram distribuídos 5 mL deste meio em 90 tubos de ensaio.

Para cada extrato vegetal foram testadas duas concentrações, denominadas tratamentos 2, 3, 4 e 5, e 1 (controle), que consistiu no meio de cultura não contendo o extrato vegetal.

As diluições para os tratamentos 1, 2, 3, 4 e 5 foram:

- Tratamento 1 (controle): Meio de cultura puro (sem extrato)
- Tratamento 2: Extrato de mil-folhas a 10%
- Tratamento 3: Extrato de mil-folhas a 1%
- Tratamento 4: Extrato de guaco a 10%
- Tratamento 5: Extrato de guaco a 1%

2.6 PREPARO DO INÓCULO DO FUNGO *Pleurotus ostreatus* “florida”

O inóculo foi preparado contendo em sua composição uma parte do extrato de uma das plantas utilizadas no trabalho.

Preparou-se 45 tubos de ensaio por planta, contendo 5 mL de meio BD. Quinze receberam 0,5 mL do tratamento 2, 15 receberam 0,5 mL do tratamento 3 e 15 foram utilizados como controle. Esse processo foi feito também com os tratamentos 4 e 5. Em seguida, todos os tubos foram autoclavados à temperatura de 121°C.

2.6.1 Inóculo do Fungo *Pleurotus Ostreatus* “Florida” em Tubos de Ensaio

Os tubos de ensaio contendo meio de cultura BD + extratos vegetais foram inoculados com discos de 9 mm de diâmetro de meio BDA contendo o micélio do fungo em sua superfície. O inóculo foi transferido assepticamente para todos os tratamentos. O procedimento foi realizado na capela de fluxo laminar contínuo após 30 minutos de esterilização por UV, permanecendo o meio asséptico, evitando, assim, contaminações. Após a inoculação, os tubos foram mantidos em estufa bacteriológica à temperatura de 25°C por 7 dias.

2.6.2 Cultivo do Fungo *Pleurotus ostreatus* “Florida” em Erlenmeyers

Para o crescimento do fungo nos erlenmeyers preparou-se meio de cultura BD. Após seu resfriamento, o meio foi distribuído em 36 erlenmeyers, sendo 45 mL do meio em 6 erlenmeyers para tratamento 1 (controle), 40 mL em 6 erlenmeyers para os demais tratamentos. Para o tratamento controle utilizou-se os 6 erlenmeyers contendo os 45 mL do meio de cultura e acrescentou-se mais 5 mL do meio de cultura líquido (inóculo).

Para o tratamento 2, utilizou-se 30 mL do extrato vegetal, distribuindo-se uniformemente 5 mL nos 6 erlenmeyers já contendo 40 mL do meio de cultura BD e acrescentou-se mais 5 mL do meio contendo o inóculo nos tubos de ensaio (tratamentos 2). Para o tratamento 3, utilizou-se 0,5 mL do extrato vegetal e acrescentou-se este volume a 45 mL de água destilada. Distribuiu-se 5 mL dessa solução em cada erlenmeyer, considerando-se o tratamento 3. Em seguida, acrescentou-se mais 5 mL do meio contendo o inóculo nos tubos de ensaio (tratamentos 3), ambos resultando em um volume final de 50 mL. Todos os erlenmeyers foram autoclavados, antes da inocula-

ção, em condições assépticas. Posteriormente, os erlenmeyers foram transferidos para o SHAKER INCUBATING (incubadora) à temperatura média de 31 oC. e 160 RPM, permanecendo por um período de 6 dias (Figura 6).

A mesma metodologia de incubação foi adotada para os tratamentos 4 e 5.

2.7 PRODUÇÃO DE BIOMASSA

A média para produção de biomassa foi realizada com base na quantidade de biomassa produzida após seis dias de crescimento dos cultivos desenvolvidos nos erlenmeyers. Cada frasco, após este período, foi submetido à filtração com auxílio de papel filtro (Nhatman no 1) disposto sobre funil de porcelana conectado à uma bomba de vácuo. Cada papel filtro foi seco em estufa (40 °C; 10 min.) antes da filtração para obter o peso seco do papel e após a filtração (40 °C; 24 horas), obtendo o peso seco do papel + peso seco da biomassa.

A diferença entre o peso final e o peso inicial foi considerada o valor de peso seco da biomassa.

3 RESULTADOS PRELIMINARES DOS INÓCULOS FEITOS EM TUBOS DE ENSAIO

3.1 CRESCIMENTO DO INÓCULO

Os resultados preliminares indicam que o meio de cultura utilizado para o início do cultivo submerso em erlenmeyers foi adequado para o desenvolvimento das culturas. Em todos os tubos de ensaio utilizados no procedimento foi observado vigoroso crescimento micelial, com uma quantidade significativa de biomassa produzida na cultura submersa estática. Alguns tubos apresentaram desenvolvimento da biomassa no interior do meio de cultura, onde as hifas aproveitavam de maneira eficiente os nutrientes presentes no meio. Alguns tubos (nos dois tratamentos) apresentaram crescimento vigoroso na superfície do meio de cultura, um tipo de crescimento aparentemente buscando uma região com maiores níveis de oxigênio.

No caso dos tratamentos onde se utilizou o extrato de mil-folhas, nas duas concentrações, o crescimento superficial parece ter sido estimulado.

3.2 CRESCIMENTO SUBMERSO EM MEIO DE CULTURA BD – EXTRATO DE MIL-FOLHAS

O crescimento observado nos erlenmeyers preparados contendo meio de cultura BD e extrato aquoso de mil-folhas, nas duas concentrações, foi vigoroso em todos os frascos preparados. Dados relacionados com o peso da biomassa produzida em cada um dos tratamentos indicam que houve um estímulo no crescimento micelial dos tratamentos que receberam o extratos de mil-folhas. A adição do extrato aquoso da planta levou a um ligeiro aumento no crescimento micelial e, conseqüentemente, na produção de biomassa fúngica (Quadro 2). Este aumento de crescimento pode estar relacionado com a "suplementação química" do meio de cultura BD causada pela adição dos extratos vegetais.

Nos frascos que receberam adição do extrato aquoso de mil-folhas (tratamento 2 e 3), ocorreu um escurecimento característico dos meios de cultivo (Anexo - Figura 7). Provavelmente, substâncias presentes no extrato aquoso estimularam a biossíntese de algum composto fúngico no cultivo.

Experimentos complementares, utilizando-se outras concentrações de mil-folhas no mesmo sistema de cultivo, estão sendo desenvolvidos e auxiliarão a esclarecer qual é a substância que está sendo produzida.

Quadro 2 Peso seco da biomassa (g) de *Pleurotus ostreatus* "florida" cultivado em erlenmeyers contendo extrato aquoso de mil-folhas, após 6 dias de crescimento

TRATAMENTOS		
1 (CONTROLE)	TRATAMENTO 2	TRATAMENTO 3
Média: 0,10 gramas	Média: 0,12 gramas	Média: 0,11 gramas

3.3 CRESCIMENTO SUBMERSO EM MEIO DE CULTURA BD – EXTRATO DE GUACO

Ao contrário do observado nos experimentos contendo extratos de mil-folhas, ocorreu inibição do crescimento micelial e produção de biomassa nos erlenmeyers preparados contendo meio de cultura BD e extrato aquoso de guaco. Dados relacionados com o peso seco da biomassa produzida em cada um dos tratamentos indicam que a adição do extrato aquoso de guaco levou a uma inibição significativa na produção da biomassa (Quadro 3).

A inibição do crescimento fúngico e da conseqüente diminuição da produção de biomassa pode ter ocorrido pela presença de algum composto com ação fungicida presente no extrato do guaco (Figura 8). Segundo a literatura, na composição química do guaco encontram-se os seguintes compostos: glicosídeos, resinosas e tanínicas, óleo essencial (principalmente diterpe-

nos: ácido caurenóico, ácido cinamiol, ácido grandiflorico), esteróis, cumarinas livres e traços de saponina (glicosídeos).

Uma das indicações terapêuticas para o guaco, além dos conhecidos efeitos para tosse, gripe, e rouquidão, é a indicação para o controle de dermatites e micoses. Assim sendo, os compostos químicos presentes na planta devem apresentar ação fungicida, o que provavelmente causou inibição do crescimento de *Pleurotus ostreatus* "florida". A composição química e indicações terapêuticas são citadas por Silva e colaboradores (1995).

Testes complementares referentes aos efeitos biológicos das duas plantas serão desenvolvidos para confirmação da ação das mesmas sobre o crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus* "florida", além da influência no metabolismo deste fungo.

Quadro 3 Peso seco da biomassa (g) de *Pleurotus ostreatus* "florida" cultivado em erlenmeyers contendo extrato aquoso de guaco, após 6 dias de crescimento

TRATAMENTOS		
1 (CONTROLE)	TRATAMENTO 4	TRATAMENTO 5
Média: 0,11 gramas	Média: 0,06 gramas	Média: 0,06 gramas

3.4 ANÁLISE DOS DADOS

O crescimento micelial realizado na presença do extrato aquoso de mil-folhas a 10% e a 1% não diferiram entre si, assim como não diferiram do grupo controle. No entanto, diferiram significativamente quando comparados aos cultivos realizados na presença do extrato de guaco a 10% e a 1% (Quadro 4).

Quadro 4 Valores médios do peso seco da biomassa (g) de *Pleurotus ostreatus* "florida" cultivado em erlenmeyer contendo extrato aquoso de mil-folhas e extrato aquoso de guaco em duas concentrações, após 6 dias de crescimento

Tratamentos	Peso seco (g)*
Controle	0,105 a
Extrato aquoso Mil-folhas 10%	0,125 a
Extrato aquoso Mil-folhas 1%	0,113 a
Extrato aquoso Guaco 10%	0,062 b
Extrato aquoso Guaco 1%	0,067 b

*Letras iguais nas colunas representam tratamentos iguais pelo teste de Tukey a 5% de significância

4 CONCLUSÕES

Através dos dados obtidos podemos concluir que:

- Ambos os extratos aquosos vegetais (mil-folhas e guaco) influenciaram no metabolismo de *Pleurotus ostreatus* “florida” cultivado em meio BD, em cultivo submerso.
- O extrato aquoso de mil-folhas atuou estimulando a produção de biomassa de *Pleurotus ostreatus* “florida”, possivelmente devido ao “enriquecimento” do meio de cultivo.
- O extrato aquoso de guaco atuou inibindo a produção de biomassa de *Pleurotus ostratus* “florida” possivelmente devese à presença de uma (ou mais) substância (s) química (s) no extrato da planta com atividade fungicida.
- Ambas as plantas apresentaram potencial para análises complementares, já que atuam sobre o metabolismo do fungo basidiomicete.
- Estas substâncias poderiam ser utilizadas como estimulantes ou inibidores do crescimento para o desenvolvimento de produtos ou processos biotecnológicos envolvendo basidiomicetes (cultivo de cogumelos comestíveis, biorremediação de efluentes).

REFERÊNCIAS

- AMARAL, Mônica Franco Zannini Junqueira; BARA, Maria Tereza Freitas. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatogénico. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2005. Suplemento.
- CECHINEL FILHO, Valdir; YUNES, Rosendo A. Estratégia para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos à partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
- COUTINHO, Henrique Douglas M. et al. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**, n.10, p. 77-85, 2004.
- DI STASI, Luiz Cláudio. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo Inerdiciplinar. São Paulo, SP: Editora UNESP, 1996.
- ESTUDO da Unicamp comprova propriedade de cura do Guaco (*Mikania glomerata* e *Mikania laevigata*). **Jardim de flores**. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/ERVAS/a20unicampcomprova.htm>>. Acesso em: 03 set. 2006.
- FAGUNDES, Daniele. V. M.; MAURO, Rosa T. G. **Susceptibilidade in vitro da Cepa Padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Frente ao Extrato Etanólico Bruto de Alfavaca (*Ocimum Basilicum L.*) Labiatae**. 2004. 20f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Paranaense de Paranavaí, PR, 2004.
- FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. **Manual prático de coleta, herborização e preservação**. São Paulo, SP: Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, 1984.
- FRANCO, Lelington L. **As Sensacionais 50 Plantas Medicinais: Campeãs de Poder Curativo**. Curitiba, PR: Editora “O Naturalista”, 1999.
- VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Ângelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- LOGUERCIO, Andréa P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.
- MIGUEL, Marilis D.; MIGUEL, Obdulio G. **Desenvolvimento de Fitoterápicos**. São Paulo, SP: Robe Editorial, 2000.
- MORGAM, René. **Enciclopédia da Ervas e Plantas Medicinais: Doenças, Aplicações, Descrição e Propriedades**. São Paulo, SP: Editora hemus, 2004.
- OFICINA de Ervas, 2006. Disponível em: <<http://www.oficinadeervas.com.br>>. Acesso em: 03 set. 2006.
- OKA, Cristina; ROPERTO, Afonso. **Herbário aquiléa**. São Paulo, 18 set. 2000. Disponível em: <<http://www.cotianet.com.br/eco/herb/guaco.htm>>. Acesso em: 03 set. 2006.
- OLIVEIRA, Fernando de; AKISUE, Gokithi. **Fundamentos de Farmacobotânica**. São Paulo, SP: Editora Atheneu, 2003.
- ROSADO, Fábio Rogério. **Metodologias Alternativas para a Produção de Inóculo e de Matrizes do Cogumelo Comestível *Pleurotus ostreatoroseus* Sing**. 1997. 41f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Maringá-PR, 1997.

SARTÓRIO, Maria L. et al. **Cultivo Orgânico de plantas medicinais**. Viçosa, MG: Editora Aprenda Fácil, 2000.

SCHULZ, Volker; HÄNSEL, Rudolf; TYLER, Varro E. **Fitoterapia Racional**: Um guia de fitoterapia para as ciências da saúde. São Paulo, SP: Editora Manole Ltda, 2002.

SILVA, Irenice et al. **Noções Sobre o Organismo Humano e Utilização de Plantas Medicinais**. São Paulo, SP: Editora Educativa, 1995.

YUNES, Rosendo Augusto; CALIXTO, João Batista. **Plantas Medicinais**: sob a ótica da Química Medicinal Moderna. Chapecó, RS: Editora Argos, 2001.

Recebido em: 03 março 2007

Aceito em: 05 dezembro 2008