

POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Solanum crinitum* SOBRE *Fusarium oxysporum* *in vitro*

Renato Abreu Lima

Doutorando em Biodiversidade e Biotecnologia na
Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus,
AM; E-mail: renatoabreu07@hotmail.com

Diego Raine Brito Leal Figueiredo

Acadêmico da Faculdade de São Lucas, Porto Velho,
RO.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antifúngico do extrato etanólico das folhas de *Solanum crinitum* contra *Fusarium oxysporum*. Para isto, discos de 5 mm de diâmetro de culturas de isolados do fungo foram colocados no centro de placas de Petri contendo meio (BDA), sendo que, na área periférica das placas, foram dispostos simetricamente quatro discos de papel-filtro, cada um contendo 1mL de extrato vegetal, extraído por maceração. Como controle positivo, utilizou-se discos sem o extrato vegetal e como controle negativo, utilizou-se discos com produto químico. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições (placas) por tratamento. A avaliação consistiu verificar o crescimento do fungo, a cada 24 horas, durante seis dias, medindo as colônias. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Após 114h de experimento, observou-se que o extrato etanólico das folhas de *S. crinitum* apresentou potencial fungicida sobre *F. oxysporum* em comparação com outros controles testados.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos; Jurubeba; Potencial de Inibição.

ANTIFUNGUS POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACT OF THE LEAVES OF *Solanum crinitum* AGAINST *Fusarium oxysporum* *in vitro*

ABSTRACT: Current research evaluated the antifungus potential of ethanol extract of *Solanum crinitum* leaves against *Fusarium oxysporum*. 5-mm diameter discs with cultures of fungus isolates were placed in the middle of petri dishes with medium BDA, while four discs of filter paper with 1 mL of the vegetal extract, produced by maceration, were symmetrically placed on the periphery. Positive control consisted of discs without the vegetal extract, whereas negative control contained the chemical compound. Experiment was randomized with three replications (plates) for each treatment. Fungus growth was verified every 24 hours during 6 days, by measuring the colonies. Data underwent analysis of variance and means were compared by Tukey's test at 5%. After 114 hours, the ethanol extract of the *S. crinitum* leaves had a fungicide potential on *F. oxysporum* when compared with other tested controls.

KEY WORDS: Fungus; Jurubeba; Inhibition Potential.

INTRODUÇÃO

A agricultura brasileira é notadamente destacada na economia mundial, por suas grandes extensões e temperaturas propícias para plantios e cultura das mais variadas espécies agrícolas. Essas

dinâmicas climáticas em algumas regiões promovem o desenvolvimento de diversos espécimes de fungos em específico nas áreas de clima quente e úmido peculiar da região Amazônica Brasileira. O uso intensivo de agrotóxicos no combate a essas pragas fúngicas causa danos aos ecossistemas envolvidos e encarece a produção, diminuindo os lucros da produção, ou seja, a aplicação de um recurso alternativo no objetivo de reduzir o crescimento e manifestação dessas patologias na produção agrícola Brasileira.

As espécies do gênero *Fusarium* possuem classificação baseada nas suas características morfológicas. As principais características consideradas para designar espécies são: morfologia da colônia, pigmentação e taxa de crescimento, especificidade de hospedeiros e perfil de metabólitos secundários (THARANE, 1990). Apresenta em torno de 775 espécies e subespécies (ZIPCODEZOO, 2010).

Fusarium oxysporum são frequentemente encontradas em herbáceas mortas, da observação de seu crescimento em meio de cultura, onde podem ser observados conídios curvados, septados, estreitas e frequentemente, pequenas projeções na base formando os chamados “foot-cells” (pés de célula). Os conídios, fáceis de serem observados, formam massas limosas de cor rosa ou laranja, em forma de almofadas, as chamadas esporodóquios, as quais, sob a forma simples, ou seja, isoladas, são incolores (ELLIS; ELLIS, 1997).

Solanaceae é uma das maiores famílias entre as Angiospermas, com cerca de 2.300 espécies subordinadas a 96 gêneros. Apresenta ampla distribuição geográfica e está concentrada principalmente na América do Sul, onde há um grande centro de diversidade (SOARES et al. 2007) e a presença de aproximadamente 50 gêneros endêmicos. Para o Brasil, não existe nenhuma avaliação recente no que diz respeito à diversidade de espécies desta família, porém no início deste século foram reconhecidos 27 gêneros, com base em pesquisas bibliográficas e visitas aos herbários (CARVALHO; BOVINI, 2006).

O principal gênero da família Solanaceae é o gênero *Solanum*, considerado um dos mais amplos e complexos entre as Angiospermas, sendo constituídos por cerca de 1.500 espécies e pelo menos 5.000 epítetos já descritos (SILVA et al., 2005). Este gênero é bem

representado no Brasil com cerca de 350 espécies (SILVA et al., 2008), é amplamente distribuído do Norte ao Sul em vários tipos de ecossistemas (SILVA et al., 2005).

Solanum crinitum tem distribuição na América do Sul, desde o Sul do Brasil até a Colômbia. Geralmente são encontradas em regiões de baixada e alagados (CORNELIUS et al., 2004). É uma espécie rara e bastante ameaçada na Paraíba, com grande expansão imobiliária (AGRA; KIRIAKI; BERGER, 2009). É uma espécie pioneira na invasão de clareiras em floresta, pastos e áreas agrícolas abandonadas na Amazônia brasileira, sendo a fácil aclimação uma das características da espécie (DIAS-FILHO, 1997).

O Brasil é um país que se destaca na produção de alimentos, apresentando sempre necessidade de produtos inovadores, para que assim possa produzir em quantidade e qualidade suficiente para manter tanto o mercado interno quanto as exportações. Dentre esses produtos destacam-se os agrotóxicos, que frente à alta do dólar, deve colocar o Brasil no primeiro lugar ultrapassando os Estados Unidos, com crescimento em 10% no mercado brasileiro, com vendas de aproximadamente R\$ 12,4 bilhões (SBERA, 2011). A grande preocupação com o meio ambiente tem levado inúmeros pesquisadores a buscarem alternativas viáveis, efetivas e seguras no controle de pragas e doenças que acometem culturas de plantas de interesse comercial (KIMATI et al., 1997).

Dentro desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antifúngico do extrato etanólico das folhas de *S. crinitum* sobre *F. oxysporum* in vitro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 A PLANTA E A PREPARAÇÃO DO EXTRATO

A planta utilizada para a obtenção do extrato foi coletada na BR 364 km 9,5, próximo da Universidade Federal de Rondônia, em Porto Velho (RO). A identificação da espécie foi realizada pelo envio de uma exsicata ao Herbário do Instituto de Pesquisa da Amazônia – INPA, Amazonas, a qual foi registrada sob o nº de 216631.

No laboratório de fitoquímica da Faculdade

São Lucas, as folhas foram pesadas frescas, obtendo-se 850g de material e em seguida, colocadas para secar em temperatura ambiente por 72 horas. Para obtenção do extrato bruto, a amostra foi triturada, obtendo-se 320g de material, que foi colocado em Erlenmeyer contendo 2L de etanol, por sete dias, em uma repetição. Posteriormente, o material foi filtrado e evaporado em evaporador rotatório, obtendo-se aproximadamente 60 mL de extrato bruto das folhas.

2.2 CULTURA DO FUNGO *Fusarium oxysporum*

No Laboratório de Microbiologia da Faculdade São Lucas, o fungo *F. oxysporum* foi mantido em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA). Para realização dos testes, discos de culturas de *F. oxysporum* com 5 mm de diâmetro mantidas a 25°C, durante sete dias, foram transferidas para placas de Petri, contendo discos de papel de filtro previamente autoclavados embebidos com 1mL de extrato vegetal. No controle positivo, não utilizou-se extrato vegetal, sendo os discos embebidos com água destilada estéril e discos embebidos com produto químico Kasumin® na concentração de 1 mL (controle negativo). Após esse processo, as placas foram incubadas a 25°C durante seis dias. A avaliação consistiu em medir o diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) iniciadas após 24 horas de incubação, perdurando os seis dias, ou seja, até o momento em que as colônias fúngicas do controle positivo atingiram toda a superfície da placa.

O emulsificante Kasumin®, um surfactante não-iônico, tem sido muito empregado como agente dispersante na preparação de soluções, produzindo um procedimento mais confiável na preparação do inóculo. Entretanto, os surfactantes podem interagir com organismos e drogas afetando a atividade *in vitro* de agentes antimicrobianos. Nenhuma quantidade padrão desse agente tem sido empregada na maioria das publicações até agora (NASCIMENTO et al., 2008).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico de folhas de *S. crinitum* apresentou ação fungicida sobre *F. oxysporum*, demonstrando significativo potencial em relação ao produto químico (controle negativo) nas médias finais no percurso experimental, esse comparado com água destilada (controle positivo) apresentando desempenho semelhante ao produto químico em análise (Tabela 1).

O gênero *Solanum* é conhecido pela presença de altas concentrações de alcalóides, solasonina e solamargina são dois heterosídeos alcaloídicos (comumente denominado glicoalcalóides) encontrados em pelo menos 100 espécies de *Solanum* (BLANKEMEYER et al., 1998), favorecendo os resultados positivos encontrados em nosso estudo.

Tabela 1. Contenção média (mm) do fungo *F. oxysporum* submetidos à exposição do extrato vegetal das folhas de *S. crinitum* *in vitro* durante 144 horas. Porto Velho (RO), 2012.

Tratamentos	Horas						Médias
	24	48	72	96	120	144	
Extrato vegetal	1,2a	1,5a	1,8a	2,1a	2,1a	2,3a	1,83a
Produto químico	2,7a	3,8aB	4,2aB	4,6aB	5,0C	5,4C	4,28aB
Água destilada	2,6a	3,6a	4,5aB	4,8aB	5,7C	6,5C	4,61aB
Médias	2,16a	2,96a	3,5aB	3,83aB	4,26aB	4,73aB	3,57aB

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e mesma letra minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. Cada repetição será constituída por uma placa de Petri.

Heterosídeos alcaloídicos são metabólitos secundários que têm finalidade de proteger a planta da agressão de fitopatógenos e de predadores. Em alguns casos

podem ser tóxico para o homem e outros mamíferos (CHAM, 2007; FRIEDMAN; MCDONALD, 1997; HARAGUCHI et al., 1978; JADHAV; SHARMA; SALUNKHE, 1981).

A mistura de solasonina e solamargina demonstrou sinergismo na citotoxicidade em células tumorais em alguns trabalhos realizados com *Solanum*. Esse efeito similar foi descrito em alguns protistas e em estudos de avaliação antifúngica (CHAM, 2007; CHAM; DAUNTER, 1990; FEWELL; RODDICK; WEISSENBERG, 1994).

Estudos pioneiros com extratos de *S. crinitum* foram realizados com protozoários e outros microrganismos, onde os extratos inibiram em aproximadamente 100% o crescimento de *Escherichia coli* e *Trypanosoma cruzi*, após quatro horas de cultivo, apresentando inibição superior a 70% na forma promastigota de *Leishmania* e inibindo entre 50-69% o crescimento de fungos. Em maior ou menor proporção, todos os microrganismos estudados foram sensíveis aos extratos brutos, indicando ação inespecífica contra a integridade celular, provavelmente por exercer ação lítica sobre a membrana plasmática (MEDEIROS, 2003).

Segundo Souza et al. (2002), diversas espécies do gênero *Solanum* apresentam glicoalcalóides e flavonóides com grande variedade de atividades biológicas. O flavonóide tilirosídeo, uma fração rica em glicoalcalóides denominada GB e o glicoalcalóide solasonina foram obtidos dos tricomas de galhos jovens e frutos de *S. crinitum*.

Bender et al. (2009) realizaram um estudo fitoquímico do caule de *S. crinitum* utilizando reagentes específicos de reconhecimento para alcalóides (Mayer, Wagner e Dragendorff), glicosídeos cardiotônicos (Salkowski, Kedde, Keller-Killiani e Liebermann Burchard), cumarinas voláteis, flavonóides, taninos (acetato de chumbo e cloreto de ferro III) saponinas, triterpenos (Liebermann-Burchard e Salkowski) e verificaram derivados antracênicos livres (Börntraeger). Os resultados obtidos foram positivos para alcalóides, glicosídeos cardiotônicos, triterpenos, flavonóides e saponinas, e negativos para derivados antracênicos livres, taninos e cumarinas voláteis.

Silva (2007), no estudo fitoquímico utilizando a cromatografia de coluna do extrato etanólico dos frutos de *S. crinitum*, detectou aproximadamente 13 compostos.

Destacando as Solamargina, Tomatidenol, Diosgenina, Yucogenina, Tigogenina, Nuatigenina e Yamogenina.

Resultados semelhantes foram encontrados por Freitas (2009), na qual observou resultados positivos em testes biológicos realizados com as concentrações de 5; 2,5; 0,10; 0,5 e 0,1 μ l/mL de extratos de frutos de *S. crinitum* contra insetos imaturos do vetor da dengue, *Aedes aegypti*, atingindo até 100% de mortalidade, sendo recomendados como uma alternativa no controle vetorial da dengue no estado de Rondônia.

Gonçalves (2003), testando extratos das folhas e frutos de *S. crinitum* e *S. rugosum* Dunal contra larvas de *Aedes aegypti*, *Anopheles darlingi* e *Culex quinquefasciatus*, observou que as concentrações de 10 e 5mg/mL do extrato de *S. crinitum* provocaram mortalidade de 100% das larvas desses mosquitos, assim como o extrato de *S. rugosum*.

Azevedo et al. (2004) avaliaram o potencial antioxidante do extrato etanólico do fruto de *S. acanthodes*, *S. crinitum*. Os resultados mostraram que os dois extratos foram eficazes contra o agente oxidante DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), utilizando-se o método do radical livre estável.

Na avaliação do extrato de *S. crinitum* observou-se um estável desenvolvimento crescente em comparação às amostras de água destiladas com médias finais proporcionais ao tempo em horas de experimento.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos para atividade antifúngica do extrato etanólico de folhas de *S. crinitum*, aplicado na concentração de 1 mL, destaca-se o aumento significativo da ação antifúngica sobre as colônias sendo que o controle positivo apresentou melhor desenvolvimento ao decorrer do tempo, atingindo as respostas objeto desse trabalho, porém, novos métodos e concentrações precisam ser testados, para então, esta planta ser empregada em programas de manejo integrado de pragas na fitopatologia.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Fitoquímica e Microbiologia da Faculdade São Lucas pelo auxílio na produção dos extratos.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; KIRIAKI, N. S.; BERGER, L. R. Flora da Paraíba, Brasil: *Solanum* L. (*Solanaceae*). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 3, p. 826-842, 2009.
- AZEVEDO, M. S.; VALE, C. A. S.; SANTOS, O. A.; SOARES, P. Atividade larvídica de frutos de *S. stramonifolium* contra *Anopheles darlingi*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS, 18, 2004, Manaus. **Anais...** Manaus, AM: [s.n.], 2004. p. 119.
- BENDER, L. M. S. et al. Estudo fitoquímico do extrato etanólico do caule de *Solanum crinitum* Lam. In: SIMPÓSIO IBEROAMERICANO DE PLANTAS MEDICINAIS, 4, 2009, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Ribiofar, 2009. 40p.
- BLANKEMEYER, J. T. et al. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. **Food Chemistry Toxicology**, v. 36, n. 2. p. 383-389, 1998.
- CORNELIUS, M. T. F. et al. Solasonina e flavonóides isolados de *Solanum crinitum* Lam. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 85, n. 2, p. 57-59, 2004.
- CARVALHO, L. F.; BOVINI, M. G. Solanaceae na Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro - Brasil. **Rodriguésia**, v. 57, n. 1, p. 75-98, 2006.
- CHAM, B. E.; DAUNTER, B. Solasodine glycosides: Selective cytotoxicity for cancer cells and inhibition by rhamnose in mice with sarcoma 180. **Cancer Letters**, v. 55, n. 3, p.221-225, 1990.
- CHAM, B. E. Solasodine rhamnosyl glycosides specifically bind cancer cell receptors and induce apoptosis and necrosis. Treatment for skin cancer and hope for internal cancer. **Research Journal of Biological Science**, v. 2, n. 4 p.503-504,2007
- DIAS-FILHO, M. B. **Physiological response of *Solanum rugosum* to contrasting light environments**. [s.l.]: Embrapa Semi-árido, 1997. 50p.
- ELLIS, M. B.; ELLIS, J. P. **Plurivorous fungi on herbaceous plants: microfungi on land plants: an identification handbook**. England: [s.n.], 1997. 293p.
- FEWELL, A. M.; RODDICK, J. G.; WEISSENBERG, M. Interactions between the glycoalkaloids solasonine and solamargine in relation to inhibition of fungal growth. **Phytochemistry**, v. 37, n. 1, p. 1007-1011, 1994.
- FREITAS, M. Z. **Avaliação da atividade larvídica do extrato etanólico de frutos de *Solanum crinitum* Lam., em diferentes concentrações para controle de imaturos de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) Linnaeus, 1762, em Porto Velho-RO**. 2009. 49f. Monografia (Conclusão de curso) - Faculdade São Lucas, Porto Velho, RO.
- FRIEDMAN, M.; MCDONALD, G. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 16, n. 1, p. 55-132, 1997.
- GONÇALVES, H. P. **Avaliação da atividade larvídica do *Solanum crinitum* Lam. e *Solanum rugosum* Dunal frente a larvas de *Aedes aegypti*, *Anopheles darlingi* e *Culex quinquefasciatus***. 2003. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) – Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho.
- HARAGUCHI, M. et al. Aproveitamento dos esteróides dos frutos da lobeira. **Ciência e Cultura**, v. 32, n. 2, p. 81-82,1978.
- JADHAV, S. J.; SHARMA, R. P.; SALUNKHE, D. K. Naturally occurring toxic alkaloids in foods. **Toxicology**, v. 9, n. 1, p. 21-104, 1981.
- MEDEIROS, P. S. M. **Produtos vegetais ativos contra agentes microbianos: estudos metodológicos particulares de ação contra *Trypanosoma cruzi***. 2003. 101f. Dissertação (Mestrado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, RO.
- NASCIMENTO, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2,

p. 108-113, 2008.

Aceito em: 12 de julho de 2013

SBERA. Sociedade Brasileira dos Especialistas em Resíduos das Produções Agropecuária e Agroindustrial. **Venda de agrotóxicos no Brasil**. 2011. Disponível em: <<http://www.sbera.org.br/pt/2011/07/venda-de-agrotoxicos-cresce-no-brasil/>>. Acesso em: 20 set. 2011

SILVA, T. M. S. et al. Molluscicidal Activity of Some Brazilian *Solanum* spp. (Solanaceae) Against *Biomphalaria glabrata*. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 99, n. 4, p. 419-425, 2005.

SILVA, J. B. **Estudo Fitoquímico das Folhas de *Solanum crinitum* Lam.** 2007. 44f. Monografia (Conclusão de curso) - Faculdade São Lucas, Porto Velho, RO.

SILVA, T. M. S. et al. Steroidal Glycoalkaloids and Molluscicidal Activity of *Solanum asperum* Rich. Fruits. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 5, p. 1048-1052, 2008.

SOARES, E. L. C. et al. *Solanaceae* nativas no Rio Grande do Sul, Brasil: Listagem I. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 1050-1052, 2007.

SOUZA, A. E. et al. Cytotoxic activities against Erlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 6, p. 838-842, 2002.

THARANE, U. Grouping *Fusarium* section *Discolor* isolates by statistical analysis of quantitative high performance liquid chromatographic data on secondary metabolite production. **Journal of Microbiological Methods**, v. 12, n. 1, p. 23-39, 1990.

ZIPCODEZOO. 2010. Disponível em: <<http://www.zipcodezoo.com>>. Acesso em: 22 out. 2010.

KIMATI, H. et al. **Guia de fungicidas agrícolas: recomendações por cultura**. Jaboticabal, SP: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997.

Recebido em: 03 de fevereiro de 2013