

ABORDAGEM FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DO PANTANAL MATO GROSSO DO SUL

Adriana Oliveira de Sousa (PIBIC/CNPq-UNIDERP), e-mail: adrianadrica77@gmail.com.

Rosemary Matias (Orientadora), e-mail: rosemarymatiasc@gmail.com.

Ademir Kleber Morbeck de Oliveira (Co-orientação) e-mail: akmorbeckoliveira@gmail.com.

Karen Silva Santos (Co-orientação) e-mail: karensantos02@hotmail.com

Universidade UNIDERP / Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional

2.00.00.00-6 Ciências Biológicas 2.12.02.00-1 Microbiologia Aplicada

2.10.06.00-8 Etnofarmacologia

Introdução

Vários estudos já foram desenvolvidos avaliando a atividade fungicida e bactericida de extratos vegetais, na busca por novas substâncias biologicamente ativas, mais eficazes e com menos efeitos colaterais no controle e combate de doenças microbianas, tanto no âmbito da saúde humana, bem como na área agrícola (OLIVEIRA *et al.*, 2006). O uso de espécies vegetais neste tipo de atividade tem influência, em Mato Grosso do Sul, das comunidades tradicionais (pantaneiros, quilombolas, pescadores, povos indígenas, agricultores familiares e raizeiros) e normalmente acaba sendo o único recurso terapêutico para a população ribeirinha do Pantanal que ainda carecem de investigações (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial antimicrobiano dos extratos etanólicos das folhas de ipê-roxo, jatobá, aroeira e ipê-amarelo-do-cerrado usadas como medicinal pelos assentamentos rurais, município de Ladário, Mato Grosso do Sul e realizar análise fitoquímica.

Material e Métodos

Coleta, preparação do extrato e análise fitoquímica

As folhas de *Handroanthus impetiginosus* (Mart ex DC) Mattos (ipê-roxo), *Hymenaea courbaril* L. (jatobá), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira) e *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook f. ex S. Moore (ipê-amarelo-do-cerrado) foram coletadas em dois assentamentos rurais, município de Ladário/MS (19° 02' a 19° 10' Sul e 57° 37' a 57° 44'), acondicionadas separadamente em sacos plásticos transparentes e transportada para o laboratório de Produtos Naturais, Universidade Anhanguera – Uniderp.

As folhas secas em estufa (40 °C por 48 h), foram trituradas em moinho elétrico de facas e utilizadas para preparar os extratos aquosos (Ext_{H₂O}) e etanólicos (Ext_{E_tOH}) a 20%, separadamente. A extração ocorreu em banho de ultrassom, por dois dias (60 minutos), seguido por maceração (24 horas). Os extratos foram submetidos a triagem fitoquímica com bases nos procedimentos descritos por Matias (2015).

Teste fungicida

Dos extratos etanólicos secos de jatobá, ipê-amarelo-do cerrado, ipê-roxo e aroeira foram obtidos as soluções estoques hidroalcoólicas e uma alíquota foi incorporada em meio batata-dextrose-ágar (BDA) fundente ($\pm 45\text{ }^{\circ}\text{C}$), previamente auto clavado ($120\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1 atm por 15 minutos), para obter as concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e $2400\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, além do meio BDA, puro, como testemunha. Posteriormente, 10 mL do meio, com as diferentes concentrações, foi vertido, individualmente, em placas de Petri estéreis e, em seguida, depositado um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio, separadamente, de *Sclerotinia sclerotiorum* no centro de cada placa e incubadas em B.O.D. ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). O crescimento micelial foi avaliado diariamente por meio de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares), até atingirem a borda da placa (aproximadamente três dias), com o auxílio de paquímetro digital. A porcentagem de inibição do crescimento (PIC) foi obtida por meio da fórmula: $\text{PIC} = [(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento})/\text{diâmetro da testemunha}] \times 100$, para cada extrato em relação à testemunha. Os testes realizados em quadruplicatas para cada tratamento.

Teste bacteriano difusão em disco

O teste de difusão em disco foi realizado apenas com o extrato Ext_{EtOH} da aroeira e seguiu as recomendações do documento M02-A11 do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012). Foi utilizado discos de papel (Whatman) com 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 μL do extrato previamente dissolvidas em etanol:água nas concentrações de 10, 30, 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg L^{-1} . Foi preparada em NaCl 0,85% uma suspensão da cultura fresca de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, posteriormente semeada em placas estéreis de Petri contendo ágar Muller Hinton autoclavados, em seguidas os discos foram depositados sobre a superfície e incubadas em estuda de BOD a $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24h. Sendo avaliada a atividade bactericida medindo os halos de inibição existentes. Como controle positivo gentamicina® e controle negativo a solução hidroalcoólica (17%) e todos os teste realizados em triplicados.

Resultados e Discussão

Os resultados da análise fitoquímica demonstrou que o etanol foi o solvente que extraiu a maior diversidade de metabolitos secundários em relação a água para as quatro espécies estudadas e que o extrato etanólico de *T. aurea* possui o maior número de classes de fitoconstituintes (10 classes), seguido de *H. impetiginosus* e *M. urundeuva* com nove classes e do extrato de *H. courbaril* com 7 classes (Tabela1).

Os ensaios fungicidas realizados com os extratos etanólicos das espécies permitiram observar-se a inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* nas concentrações testadas de $2400\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de ipê-roxo e $2000\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$ de aroeira, apresentando porcentagens de controle de inibição de 7,2 e 18,7%, respectivamente.

Tabela 1: Resultados das análises fitoquímicas dos extratos $\text{Ext}_{\text{H}_2\text{O}}$ e Ext_{EtOH} de folhas de *H. impetiginosus*, *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea*, no município de Ladário-MS

Met. Sec.	<i>Handroanthus impetiginosus</i>		<i>Hymenaea courbaril</i>		<i>Myracrodruon urundeuva</i>		<i>Tabebuia aurea</i>	
	Ext _{H₂O}	Ext _{E_tOH}	Ext _{H₂O}	Ext _{E_tOH}	Ext _{H₂O}	Ext _{E_tOH}	Ext _{H₂O}	Ext _{E_tOH}
C. F.	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
T.	-	++	-	++	++	++	+	++
F.	+	+	+	+	+	+	+	+
Cum.	+	+	+	-	+	-	+	+
Ant.	+	++	-	++	-	++	++	++
Antraq.	+	-	+++	-	++	-	+	-
Est.		-	-	+	-	+	-	+
Trit.	-	+	-	+	-	+	-	+
Alc.	-	+	-	+	-	+	-	+
Glic. Card.	+	++	+	++	+	++	+	+
Aç. Red.	++	+	+++	-	±	±	+++	++
N. Cl.	7	9	6	8	7	9	8	10

Met. Sec.= metabólitos secundários. N. Cl.= número de classes de metabólitos secundários. C. F.= compostos fenólicos. T = taninos. F.= flavonoides. Cum.= cumarinas. Ant.= antocianinas. Antraq.= antraquinonas. Est.= esteroides. Trit.= triterpenos. Alc.= alcaloides. Glic. Card.= glicosídeos carditônicos. Aç. Red.= açúcares redutores. Intensidade dos resultados: (+) pouca intensidade; (++) média intensidade; (+++) grande intensidade; (-) negativo.

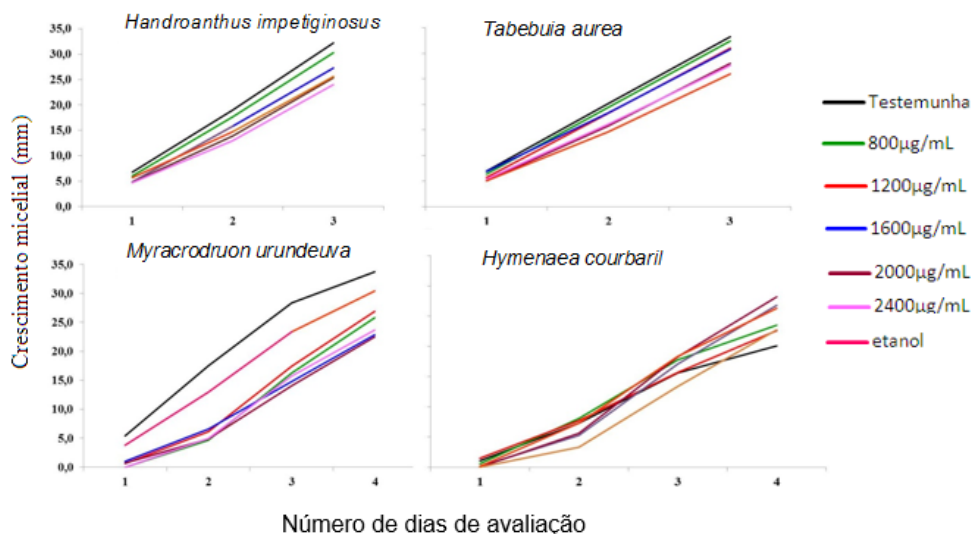
As concentrações avaliadas do extrato etanólico de aroeira frente à bactéria *S. aureus*, não apresentou halo de inibição apesar dos testes fitoquímicos demonstrarem a presença de compostos com potencial antimicrobiano.

Tabela 2: Porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes concentrações dos extratos Ext_{E_tOH} de *H. impetiginosus*, *H. courbaril*, *M. urundeuva* e *T. aurea*

Concentrações µg mL ⁻¹	<i>Handroanthus impetiginosus</i>	<i>Hymenaea courbaril</i>	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Tabebuia aurea</i>
800	0,7	0,0	17,3	1,7
1200	4,6	0,0	15,9	5,8
1600	3,9	0,0	7,4	3,0
2000	5,3	0,0	18,7	5,8
2400	7,7	0,0	14,6	5,6
Etanol	5,4	0,0	5,0	6,8

De uma forma geral o extrato de aroeira comportou em todas as concentrações testadas, os valores mais baixos de crescimento micelial do fitopatógeno em relação as concentrações dos extratos das outras plantas testadas no fitopatógeno, podendo propor um efeito fungistático. No entanto o extrato de jatobá não favoreceu o controle do fungo, já que, constatou um acréscimo no crescimento micelial. Este fato pode ser explicado pela existência de alguma substância ativadora do crescimento (Figura 1 e Tabela 2).

Figura 1: Influência de diferentes concentrações de extratos de *H. impetiginosus*, *T. aurea*, *M. urundeuva* e *H. courbaril* no crescimento micelial diário de *Sclerotinia sclerotiorum* “in vitro”



Conclusão

O presente estudo demonstrou que os extratos etanólico e aquosos obtidos das folhas das espécies avaliadas possuem fitoconstituintes com potencial antimicrobiano. O extrato da aroeira possibilitou a inibição do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* evidenciando um efeito fungistático e propiciou um incremento no crescimento micelial do mesmo fitopatógeno, o que permite propor que haja alguma substância ativadora, já para bactéria *S. aureus* foi inativa nas concentrações testadas.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC). E ao apoio financeiro do CNPq, CPP, INAU, FUNDECT e Universidade Anhanguera – Uniderp.

Referências

CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. Approved standard M07-A9. CLSI, Wayne, PA, 2012.

MATIAS, R. *Roteiro de análise fitoquímica*. Campo Grande: Universidade Anhanguera Uniderp, 2015.

OLIVEIRA, F.P. *et al.* Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. *Rev. Bras. Farm.*, v.16, n.4, p.510-516, 2006.



SEMINÁRIO DE

INICIAÇÃO CIENTÍFICA 2015

25/11

OLIVEIRA, A.K.M. *et al.* Ethnobotany and traditional medicine of the inhabitants of the Pantanal Negro sub-region and the raizeiros of Miranda and Aquidauna, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Braz. J. Biol.*, v.71, n.1, p.283-289, 2011.