

# Produção e Controle de Produtos Naturais

Natiéli Piovesan  
Vanessa Bordin Viera  
(Organizadoras)

some

 **Atena**  
Editora

Ano 2018

**NATIÉLI PIOVESAN**  
**VANESSA BORDIN VIERA**  
(Organizadores)

# **Produção e Controle de Produtos Naturais**

Atena Editora  
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Geraldo Alves e Natália Sandrini

**Revisão:** Os autores

#### **Conselho Editorial**

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
P964	Produção e controle de produtos naturais [recurso eletrônico] / Organizadoras Natiéli Piovesan, Vanessa Bordin Viera. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-85107-59-8 DOI 10.22533/at.ed.598181510  1. Biodiversidade. 2. Plantas – Cultivo e manejo. I. Piovesan, Natiéli. II. Viera, Vanessa Bordin.  CDD 577.27
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

O Brasil possui uma das floras mais ricas e diversificadas do mundo – quase 19% da flora mundial. Nosso conhecimento sobre a diversidade, o cultivo e os benefícios que as plantas, frutos e sementes podem proporcionar ainda são incompletos. Dessa forma ressaltamos a importância de se continuar a explorar e conhecer o potencial que a flora brasileira possui.

Nesse intuito o e –book Produção e Controle de Produtos Naturais é composto por 13 artigos científicos que abordam assuntos de extrema importância relacionados à flora brasileira. O leitor irá encontrar assuntos que abordam temas como a atividade toxicológica de fungos, a composição química, biológica, atividade antioxidante, alelopática, citotóxica, anticitotóxica, teor de fenólicos totais e teor de flavonoides totais de plantas, além de fatores que podem ter influência sobre esses aspectos.

O e-book Produção e Controle de Produtos Naturais também apresenta artigos com intuito de orientação e incentivo ao uso, cultivo e manejo de plantas medicinais, além de temas relacionados à Gestão Ambiental e Sustentabilidade.

Diante da importância de discutir a biodiversidade, os artigos relacionados neste e-book, visam disseminar o conhecimento acerca da constituição da flora brasileira e promover reflexões sobre os temas. Por fim, desejamos a todos uma excelente leitura!

Natiéli Piovesan e Vanessa Bordin Viera

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ANIDROCOCHLIOQUINONA A E ATIVIDADE ANTAGONISTA DO FUNGO ENDOFÍTICO <i>BIPOLARIS</i> SP. ASSOCIADO A <i>CYMBOPOGON NARDUS</i>	
<i>Vanessa Mara Chapla</i> <i>Sara Bruna Sousa Dantas</i> <i>Gabriel Leda de Arruda</i> <i>Aloísio Freitas Chagas Junior</i>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
A PODA DO SISTEMA RADICULAR MELHORA A QUALIDADE DAS PLANTAS DE CACAU ( <i>THEOBROMA CACAO</i> L.; MALVACEAE)	
<i>Luana Linhares Negreiro</i> <i>Dheyson Prates da Silva</i> <i>Iselino Nogueira Jardim</i>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>15</b>
ATIVIDADE ALELOPÁTICA E ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DE <i>METRODorea nigra</i> A. ST. HILL	
<i>Rodrigo de Souza Miranda</i> <i>Roberto Carlos Campos Martins</i> <i>Naomi Kato Simas</i> <i>Anne Caroline Candido Gomes</i>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>29</b>
AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO DE COPAÍBA ( <i>COPAIFERA</i> SP.) COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE MARABÁ-PARÁ POR GC-MS	
<i>Danielle Rodrigues Monteiro da Costa</i> <i>Simone Yasue Simote Silva</i> <i>Sebastião da Cruz Silva</i> <i>João Marcos Dichtl Oliveira</i> <i>Ianara Viana Vieira</i> <i>Mayra Ellen dos Santos Neres</i>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>42</b>
<i>BAUHINIA</i> SP. SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE SAZONALIDADE INDUZ ATIVIDADE ANTICÂNCER EM SARCOMA-180 <i>IN VITRO</i>	
<i>Judá Ben-Hur de Oliveira</i> <i>Jean Carlos Vencioneck Dutra</i> <i>Suiany Vitorino Gervásio</i> <i>Mirieli Bernardes Xavier</i> <i>Paula Roberta Costalonga Pereira</i> <i>Mainã Mantovanelli da Mota</i> <i>Maria do Carmo Pimentel Batitucci</i>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>60</b>
CHEMICAL PROFILE OF CRUDE EXTRACTS OF <i>ARTHROSPIRA PLATENSIS</i> BIOMASSES CULTIVATED IN DIFFERENT CULTURE MEDIA	
<i>Laura Patrício de Almeida Nunes Cavalcanti</i> <i>Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira</i> <i>Roberto Carlos Campos Martins</i>	
<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>69</b>
<i>CORIANDRUM SATIVUM</i> EM ESTÁDIO VEGETATIVO E FLORAÇÃO INDUZ ATIVIDADE ANTICÂNCER <i>IN VITRO</i>	
<i>Vanessa Silva dos Santos</i> <i>Jean Carlos Vencioneck Dutra</i>	

*Suíany Vitorino Gervásio*  
*Paula Roberta Costalonga Pereira*  
*Mainã Mantovanelli da Mota*  
*Patrícia Carara dos Santos*  
*Maria do Carmo Pimentel Batitucci*

**CAPÍTULO 8 ..... 83**

CULTIVO E USO DAS PLANTAS MEDICINAIS TRADICIONAIS NA COMUNIDADE IPAMERINA, GOIÁS

*Marcos Vinícios Faleiro*  
*Wesley Costa Silva*  
*Mateus de Sousa Mendes Alves do Nascimento*  
*Alcione da Silva Arruda*  
*Nivaldo Estrela Marques*

**CAPÍTULO 9 ..... 97**

FUNGOS DE SEDIMENTOS MARINHOS DA ANTÁRTICA: PRODUÇÃO DE EXTRATOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CONTRA *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV. *PASSIFLORAE*

*Daiane Cristina Sass*  
*Gabrielle Vieira*  
*Jelena Puríc*  
*Vítor Rodrigues Marin*

**CAPÍTULO 10 ..... 106**

IRIDOIDES E CUMARINAS DO CAULE DE *TOCOYENA HISPIDULA*

*Elcilene Alves de Sousa*  
*Mariana Helena Chaves*  
*Luanda Ferreira Floro da Silva*  
*Gerardo Magela Vieira Júnior*  
*Buana Carvalho de Almeida*  
*Ruth Raquel Soares de Farias*

**CAPÍTULO 11 ..... 120**

O GÊNERO *VIROLA* NO BRASIL: NEOLIGNANAS E ATIVIDADE BIOLÓGICA

*Luana Carvalho Batista*  
*Maria Raquel Garcia Vega*

**CAPÍTULO 12 ..... 137**

PADRONIZAÇÃO DO EXTRATO EM N-HEXANO DE FOLHAS DE *PIPER SOLMSIANUM* C.DC. E AVALIAÇÃO CONTRA LARVAS DE *AEDES AEGYPTI*

*Arthur Ladeira Macedo*  
*Rodrigo Coutinho Duprat*  
*Larissa Ramos Guimarães da Silva*  
*Davyson de Lima Moreira*  
*Maria Auxiliadora Coelho Kaplan*  
*Thatyana Rocha Alves Vasconcelos*  
*Laine Celestino Pinto*  
*Raquel Carvalho Montenegro*  
*Norman Arthur Ratcliffe*  
*Cícero Brasileiro Mello*  
*Alessandra Leda Valverde*

**CAPÍTULO 13 ..... 153**

UMA INTER-RELAÇÃO POSSÍVEL: PLANTAS MEDICINAIS, GESTÃO AMBIENTAL, DESENVOLVIMENTO E SUSTENTABILIDADE

*Viviane Mallmann*  
*Lucas Wagner Ribeiro Aragão*  
*Roberta Fernanda Ribeiro Aragão*

*Edineia Messias Martins Bartieres*  
*Valdeci José Pestana*  
*Shaline Séfara Lopes Fernandes*  
*Rogério César de Lara da Silva*

<b>SOBRE AS ORGANIZADORAS.....</b>	<b>169</b>
------------------------------------	------------

## FUNGOS DE SEDIMENTOS MARINHOS DA ANTÁRTICA: PRODUÇÃO DE EXTRATOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CONTRA *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV. *PASSIFLORAE*

### **Daiane Cristina Sass**

Professora do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP.

e-mail: daiane\_sass@rc.unesp.br

### **Gabrielle Vieira**

Mestre em Microbiologia Aplicada, Instituto de Biociências de Rio Claro - UNESP.

### **Jelena Purić**

Mestre em Microbiologia Aplicada, Instituto de Biociências de Rio Claro - UNESP

### **Vítor Rodrigues Marin**

Graduado em Ciências Biológicas, Instituto de Biociências de Rio Claro - UNESP

**RESUMO:** O Brasil desempenha um importante papel no agronegócio mundial, liderando a produção em várias culturas, como o maracujá-amarelo. No entanto devido a dispersão da espécie *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, causadora da bacteriose do maracujá, a produção é reduzida. A doença costuma ser controlada pelo uso de produtos químicos cúpricos e antibióticos, entretanto eles têm causado desenvolvimento de bactérias mais resistentes e um acúmulo de substâncias no ambiente que são nocivas a natureza e a saúde humana, fato que torna necessário o desenvolvimento de alternativas sustentáveis. Metabólitos secundários são apontados como possíveis alternativas já que são produtos naturais

de alta especificidade, com potencial atividade microbicida e que possuem meia-vida curta no ambiente. Neste contexto, este trabalho avaliou a potencial atividade de extratos produzidos por 47 fungos isolados de sedimentos marinhos da Antártica contra a bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Os resultados mostraram que 22 fungos produziram extratos que inibiram, em mais de 90%, o crescimento bacteriano. Os fungos bioativos, em sua maioria, são dos gêneros *Pseudogymnoascus* e *Penicillium*. O estudo indica que fungos de sedimentos marinhos antárticos apresentam potencial para produção de compostos bioativos no combate a bacteriose do maracujá.

**PALAVRAS-CHAVE:** Maracujá, bacteriose, metabólitos secundários, fungos.

**ABSTRACT:** Brazil plays an important role in world agribusiness, leading production in various crops, such as yellow passion fruit. However, due to the dispersion of the species *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, which causes passion fruit bacteriosis, production is reduced. The disease is usually controlled by the use of cupric chemicals and antibiotics, but they have caused the development of more resistant bacteria and an accumulation of substances in the environment that are harmful to nature and human health, which makes it necessary to develop sustainable alternatives.

Secondary metabolites are indicated as possible alternatives since they are natural products of high specificity, with potential microbicidal activity and have short half-life in the environment. In this context, this work evaluated the potential activity of extracts produced by 47 fungi isolated from marine Antarctic sediments against the bacterium *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. The results showed that 22 fungi produced extracts that inhibited, by more than 90%, bacterial growth. Bioactive fungi, for the most part, are of the genus *Pseudogymnoascus* and *Penicillium*. The study indicates that fungi of Antarctic marine sediments present potential for the production of bioactive compounds in the fight against passion fruit bacteriosis.

**KEYWORDS:** Passion fruit, bacteriosis, secondary metabolites, fungi.

## 1 | INTRODUÇÃO

O maracujá pertence ao gênero *Passiflora*, o mais importante economicamente e que apresenta o maior número de espécies da família Passifloraceae (BERNACCI et al., 2003; NUNES e QUEIROZ, 2006). No Brasil já foram encontradas cerca de 130 espécies (CERVI et al., 2010), sendo o maracujá-amarelo ou azedo (*P. edulis*) a espécie mais cultivada no país (FREITAS, 2011; MELETTI, 2011).

Atualmente o Brasil é um dos maiores produtores de maracujá do mundo, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013) a produção brasileira foi superior a 800.000 toneladas em 2013, cultivada em uma área de aproximadamente 60.000 hectares, destacando-se as regiões Nordeste, Norte e Sudeste como maiores produtoras do maracujá-amarelo.

O maracujá-amarelo é o mais conhecido, cultivado e comercializado devido à qualidade de seus frutos e ao seu maior rendimento industrial (FALEIRO et al., 2005). A importância econômica se dá majoritariamente pelo consumo da fruta fresca e da produção de sucos, mas há grande interesse de indústrias farmacêuticas na extração de compostos que são utilizados como calmantes, vitaminas, entre outros (ISHIDA e HALFED-VIEIRA, 2009).

Ospomares de maracujá têm sido afetados por doenças causadas por fungos, vírus e bactérias. Destacam-se: virose do endurecimento dos frutos (woodness), bacteriose (*X. axonopodis* pv. *passiflorae*) e fusariose (*Fusarium oxysporum*) (MELETTI, 2011).

A bacteriose ou mancha oleosa, causada pela bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae* é uma das doenças mais severas (MUNHOZ et al., 2015) a bactéria é transmitida pela semente e a doença é caracterizada pelo aparecimento de pequenas lesões nas folhas e deixa os frutos impróprios para o consumo (Figura 1) (TORDIN, 2016).



Figura 1. Sintomas da bacteriose em folha e fruto de maracujazeiro-amarelo  
(Fonte: ISHIDA e HALFELD-VIEIRA, 2009).

No Brasil a doença foi confirmada inicialmente no final da década de 1960 na cidade de Araraquara – SP e atualmente está disseminada em todas as regiões do país onde se produz a fruta. No estado de São Paulo, devido ao clima quente e úmido, a disseminação da doença se tornou um empecilho grave no cultivo ou até mesmo na obtenção de indivíduos sadios (FALEIRO et al, 2011; ISHIDA e HALFELD-VIEIRA, 2009; NAKATANI et al, 2008).

A bacteriose, causada pela *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, costuma ser controlada pelo uso de produtos químicos (cúpricos) e de antibióticos, porém, com aplicações recorrentes, o microrganismo causador adquire resistência rapidamente e a prática muitas vezes é ineficaz, prejudicial ao meio ambiente e de alto custo (TORDIN, 2016; ECONOMOU e GOUSIA, 2015). Diante do exposto torna-se necessária a busca por novas alternativas de controle desta praga, principalmente aquelas menos nocivas ao meio ambiente e ao ser humano.

O interesse pelo emprego na agricultura de metabólitos bioativos produzidos por micro-organismos e plantas, como alternativa aos produtos químicos sintéticos e com nenhum ou mínimo impacto ambiental tem se tornado crescente nos últimos anos (DAYAN et al., 2009; FURBINO 2014; NEWMAN e CRAGG, 2016).

A obtenção de substâncias de fontes naturais é importante visto a variabilidade de tais produtos. De maneira geral, moléculas naturais apresentam estruturas mais complexas quando comparadas a compostos químicos sintéticos, além de apresentarem maior diversidade estrutural e como são frutos de um metabolismo secundário é comum que possuam diversas funções bioativas (DAYAN et al., 2009; FEHER e SCHMIDT, 2002).

Na literatura vem sendo relatados diversos estudos de atividade antibacteriana de metabólitos secundários, produzidos por micro-organismos, contra bactérias fitopatogênicas do gênero *Xanthomonas* (MURATE, et al., 2015; SPAGO et al., 2014; DE OLIVEIRA et al., 2011).

Dentre os micro-organismos que tem demonstrado capacidade de combate a *Xanthomonas*, estão os isolados de ambientes extremos, como a Antártica

(DANILOVICH et al, 2018; ENCHEVA et al., 2014; SILBER et al., 2013). Estes micro-organismos podem ser fontes ricas de novos produtos naturais baseados em estruturas químicas únicas (TIAN et al., 2017; FURBINO, 2014).

Assim, considerando a necessidade atual de novas alternativas no controle da *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, que visam substituir os produtos químicos sintéticos e ao mesmo tempo minimizar danos ao meio ambiente, o presente trabalho contribui para a descoberta de novos compostos produzidos por fungos isolados de sedimentos marinhos da Antártica que apresentem potencial ação contra a bacteriose do maracujá. Para isto foi avaliada a atividade antibacteriana de extratos produzidos por fungos isolados de sedimentos marinhos da Antártica contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, causadora da bacteriose no maracujá.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Fungos

Os micro-organismos utilizados neste trabalho (47 fungos filamentosos) foram disponibilizados pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lara Durães Sette (UNESP, Rio Claro) e foram isolados de sedimentos marinhos coletados em diversos locais na Antártica durante a fase IV da OPERANTAR XXXIII (Janeiro de 2015) no âmbito do projeto PROANTAR/CNPq intitulado “A vida microbiana na criosfera antártica: mudanças climáticas e bioprospecção - MICROSFERA” sob a coordenação da Profa. Vivian Pellizari (IO/USP). Os micro-organismos fazem parte do acervo de fungos da coleção de pesquisa da Central de Recursos Microbianos da UNESP (CRM- UNESP).

### 2.2. Linhagem da *X. axonopodis* pv. *passiflorae*

A linhagem da bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (isolado LM4a) foi isolada de maracujá azedo em Limeira/SP, este isolado foi gentilmente cedido pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Carneiro Vieira da Esalq/USP.

### 2.3. Obtenção dos extratos brutos

Os 47 fungos foram reativados em placas de Petri contendo meio malte ágar 2% e incubados em B.O.D. a 15°C por um período de aproximadamente 10 dias para crescimento. Discos de 5 mm de ágar com micélio foram transferidos para erlenmeyers contendo 150 mL do meio líquido malte 2% e foram mantidos pelo período de 20 dias em agitação constante (150 rpm) a 15°C. Em seguida o sobrenadante foi separado da biomassa por filtração a vácuo e submetido à extração líquido-líquido com acetato de etila. A fração orgânica foi concentrada em um evaporador rotativo.

## 2.4. Avaliação da atividade antibacteriana contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*

A análise de atividade antibacteriana contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi realizada pelo método REMA (*resazurin microtiter assay*), que consiste em um ensaio de microtitulação com resazurina ( $C_{12}H_7NO_4$ ) (SILVA et al., 2013).

Os extratos brutos foram dissolvidos em solução 10% de dimetilsulfóxido (DMSO), em seguida foram diluídos em meio NYG (0,3% extrato de levedura, 0,5% peptona bacteriológica, 2% glicerol). A concentração máxima testada foi de 3,00 mg/ml e a partir dela foi realizada microdiluição seriada até a concentração de 0,02 mg/mL. Em todas os testes a concentração de DMSO não ultrapassasse 1% (concentração do controle de veículo).

Em seguida foi adicionado o inóculo bacteriano ( $10^5$  UFC/mL). Observação: as células bacterianas foram cultivadas em meio NYG líquido a 29°C sob rotação de 200 rpm por 12 horas, até atingir a densidade ótica (DO) de 0,8 (lido no espectrofotômetro a 600 nm) que corresponde a  $10^8$  UFC/mL e fase log do crescimento da bactéria.

As placas foram incubadas a 29°C por aproximadamente 16 horas e em seguida foi adicionada uma solução de resazurina (0.1 mg/mL) para uma nova incubação a 29°C por aproximadamente 1 hora. Após este período foi realizada a medida da fluorescência através do aparelho Biotek Synergy H1MFD leitor de microplacas (comprimento de onda de excitação: 530 nm; comprimento de onda de emissão: 590 nm). O ensaio foi realizado em triplicata.

## 2.5. Avaliação da atividade bactericida

O bioensaio de atividade bactericida foi realizado por imersão de um replicador de colônia nos poços da microplaca de 96 poços do teste REMA (após a incubação a 29°C por 18h, e antes da adição de resazurina) seguido da aplicação deste em placa de Petri (150 x 15 mm) contendo meio NYG sólido. As placas foram incubadas por 48 horas a 29°C em estufa bacteriológica. O crescimento bacteriano foi analisado visualmente, e para os extratos, em que não houve o crescimento bacteriano, foi determinada a concentração mínima bactericida. O ensaio foi realizado em triplicata.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme descrito em materiais e métodos foram produzidos extratos extracelulares de 47 fungos. Estes extratos foram submetidos ao bioensaio, a fim de verificar qual dos extratos apresentava atividade antibacteriana contra a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Os resultados obtidos mostraram que dos 47 extratos testados 22 apresentaram uma porcentagem média de inibição do crescimento bacteriano maior que 90% na concentração máxima testada, sendo que o isolado 5A-1C315III do

gênero *Pseudogymnoascus* apresentou a maior inibição atingindo uma média de 99% (Tabela 1).

Isolado	Gênero	Inibição do crescimento bacteriano (%)
2B-1C115IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	98,23
5A-1C315IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	99,04
4A-1C115IIII	<i>Penicillium</i>	96,24
5A-1C115II	<i>Paraconiothyrium</i>	98,35
5B-1C315IIIIA	<i>Penicillium</i>	97,50
5A-1C715IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	96,53
3A-1C315IIII	<i>Cadophora</i>	98,62
2A-1C115II	<i>Penicillium</i>	97,40
2A-1C1III	<i>Pseudogymnoascus</i>	98,05
6DC415I	<i>Pseudogymnoascus</i>	97,65
3A-1C215IIIIIC	<i>Cadophora</i>	98,62
2DC615IA	<i>Pseudogymnoascus</i>	95,66
5DC115I	<i>Paraconiothyrium</i>	92,88
2D-3C115IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	98,09
5D-3C115II	<i>Toxicocladosporium</i>	98,39
6DC215IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	97,58
6DC4III	<i>Pseudogymnoascus</i>	91,26
5DC1IIII	<i>Pseudogymnoascus</i>	96,87
2DC715III	<i>Penicillium</i>	94,55
5B-1C315IIIIIB	<i>Penicillium</i>	93,33
3DC615I	<i>Penicillium</i>	94,12
2D-3C115III	<i>Pseudogymnoascus</i>	95,87

**TABELA 1** - Porcentagem média de inibição do crescimento bacteriano dos 22 extratos bioativos na concentração de 3,00 mg/mL

De acordo com os dados apresentados na tabela 1 é possível verificar que a maioria dos fungos que apresentaram atividade antibacteriana contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae* são dos gêneros *Pseudogymnoascus* (11 isolados) e *Penicillium* (6), ou outros são do gênero *Cadophora* (2), *Paraconiothyrium* (2) e *Toxicocladosporium* (1).

Estudos anteriores realizados com fungos antárticos mostraram que o gênero *Pseudogymnoascus* é comum na região (SANTIAGO et al., 2015; GODINHO et al., 2015; DING et al., 2016; GONÇALVES et al., 2015). Outras pesquisas demonstraram a capacidade destes fungos em apresentar atividade antimicrobiana contra *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Cladosporium sphaerosperum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clavibacter michiganensis* e *Xanthomonas campestris* (FURBINO et al., 2014; HENRÍQUEZ et al., 2014; GONÇALVES et al., 2015).

Os 22 extratos bioativos foram submetidos ao bioensaio de atividade bactericida, a partir dos dados obtidos neste experimento foi possível verificar que todos os extratos apresentaram atividade bactericida, sendo que a maioria (15 isolados) mostrando atividade bactericida apenas na concentração de 3,0 mg/mL, mas 7 mostraram

atividade bactericida também na concentração de 1,5 mg/mL de extrato bruto.

Os resultados apresentados neste trabalho teve continuidade e estes extratos foram testados em outras *Xanthomonas* de interesse econômico, todos os resultados foram recentemente publicados (VIEIRA, *et al.*, 2018; PURIC, *et al.*, 2018).

#### 4 | CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que os fungos filamentosos de sedimentos marinhos da Antártica são micro-organismos com potencial para produzir compostos capazes de inibir o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, causadora da bacteriose do maracujá. Dos 47 extratos produzidos pelos fungos isolados de sedimentos marinhos antárticos 22 produziram compostos químicos ativos contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

Os extratos bioativos foram produzidos, em sua maioria, por fungos do gênero *Pseudogymnoascus*, que é um gênero muito comum na região da Antártica, mas que ainda há pouco conhecimento sobre seus produtos naturais e suas atividades biológicas.

#### 5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Proc. 2015/20629-6), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Proc. 401230/2016-3) e Pró-Reitoria de Pesquisa da UNESP pelos suportes financeiros que possibilitaram a execução deste estudo.

#### REFERÊNCIAS

BERNACCI, L. C. et al. **Passifloraceae**. In: WANDERLEY, M. G. L. et al. Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo: FAPESP: RiMa. v.3, p.247-274, 2003.

CERVI, A. C. et al. **Passifloraceae**. In: Lista de espécies da flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico, 2010. Disponível em: <floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 22 jan. 2011.

DANILOVICH, M. E. et al. Antarctic bioprospecting: in pursuit of microorganisms producing new antimicrobials and enzymes. *Polar Biol*, 2018.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. **Natural products in crop protection**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 17, p. 4022-4034, 2009.

DE OLIVEIRA, A. G. et al. **Evaluation of the antibiotic activity of extracellular compounds produced by the *Pseudomonas* strain against the *Xanthomonas citri* pv. *citri* 306 strain**. *Biological Control*. v. 56, p.125–131, 2011.

DING, Z. et al. **Richness and bioactivity of culturable soil fungi from the Fildes Peninsula,**

- Antarctica.** *Extremophiles*, v. 20, n. 4, p. 425–435, 2016.
- ENCHEVA-MALINOVA, M. et al. **Antibacterial potential of streptomycete strains from Antarctic soils.** *Biotechnol. Biotec. Eq.* v. 28, p. 721-727, 2014.
- ECONOMOU, V.; GOUSA, P. **Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria.** *Infection and drug Resistance*, v. 8, p. 59-61, 2015.
- FALEIRO, F. G. et al. **Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro: desafios da pesquisa.** In: FALEIRO, F. G. et al. *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético.* Planaltina: Embrapa Cerrados, 2005. p. 187- 202.
- FALEIRO, F. G. et al. **Germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro – histórico e perspectivas.** Planaltina: Embrapa cerrados, Documentos 307, 2011.
- FEHER, M.; SCHMIDT, J. M. **Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and molecules from Combinatorial Chemistry.** *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, v.43, p. 218-227, 2003.
- FREITAS, J. P. X. et al. **Avaliação de recursos genéticos de maracujazeiro amarelo.** *Pesq. agropec. bras.*, v.46, p.1013-1020, 2011.
- FURBINO, L. E. et al. **Diversity Patterns, Ecology and Biological Activities of Fungal Communities Associated with the Endemic Macroalgae Across the Antarctic Peninsula.** *Microbial Ecology.* v. 67, p. 775-787, 2014.
- GODINHO, V. M. et al. **Diversity and bioprospection of fungal community present in oligotrophic soil of continental Antarctica.** *Extremophiles*, v. 19, n. 3, p. 585–596, 2015.
- GONÇALVES, V. N. et al. **Antibacterial, antifungal and antiprotozoal activities of fungal communities present in different substrates from Antarctica.** *Polar Biol.* v. 38, p. 1143-1152, 2015.
- HENRÍQUEZ, M. et al. **Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential.** *World J Microbiol Biotechnol*, v. 30, p. 65-76, 2014.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal, Culturas Temporárias e Permanentes.** 2013. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2013/>. Consultado em junho de 2018.
- ISHIDA; A. K. N.; HALFELD-VIEIRA, B. A. **Mancha-Bacteriana do Maracujazeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*): Etiologia e Estratégias de Controle.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, Documentos 357, 2009.
- MELETTI, L. M. M. **Avanços na cultura do maracujá no Brasil.** *Rev. Bras. Frutic.* v. especial, p. 83-91, 2011.
- MUNHOZ, C. F. et al. **Analysis of plant gene expression during passion fruit–*Xanthomonas axonopodis* interaction implicates lipoxygenase 2 in host defence.** *Ann Appl Biol.* v. 167, p. 135-155, 2015.
- MURATE, L. S. et al. **Activity of secondary bacterial metabolites in the control of Citrus Canker.** *Agricultural Sciences*, v. 6, p. 295-303, 2015.
- NAKATANI, A. K.; LOPES, R.; CAMARGO, L. E. A. **Variabilidade genética de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.** *Summa Phytopathol*, v. 35, n. 2, p. 116-120, 2009.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. **Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014.** J. Nat. Prod., v.79, p.629-661, 2016.

NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. **Flora da Bahia: Passifloraceae. *Sitientibus*:** Série Ciências Biológicas, v.6, p.194226, 2006.

PURIC, J.; VIEIRA, G.; CAVALCA, L.B. et al. **Activity of antarctic fungi extracts against phytopathogenic bacteria.** Lett. Appl. Microbiol., v.66, p.530-536, 2018.

SANTIAGO, I. F. et al. **Lichensphere: a protected natural microhabitat of the non-lichenised fungal communities living in extreme environments of Antarctica.** Extremophiles, v. 19, n. 6, p. 1087–1097, 2015.

SILBER, J. et al. **Calcarides A–E, Antibacterial Macrocyclic and Linear Polyesters from a *Calcarisporium* Strain.** Mar. Drugs, v. 11, p. 3309-3323, 2013.

SILVA, I. C. et al. **Antibacterial activity of alkyl gallates against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.** Journal of Bacteriology, v. 195, n. 1, p. 85-94, 2013. Disponível em: <<http://jb.asm.org/content/195/1/85.long>>. Consultado em agosto de 2016.

SPAGO, F. R. et al. ***Pseudomonas aeruginosa* produces secondary metabolites that have biological activity against plant pathogenic *Xanthomonas* species.** Crop Protection, v. 62, p. 46-54, 2014.

TIAN, Y. et al. **Secondary Metabolites from Polar Organisms,** Mar. Drugs v. 15, p. 28, 2017.

TORDIN, C. **Bacteriose do maracujá é combatida com microrganismos da própria planta. Agroecologia e produção orgânica.** EMBRAPA, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/13777025/bacteriose-do-maracuja-e-combatida-com-microrganismos-da-propria-planta>.

VIEIRA, G.; PURIC, J.; MORÃO, L.G et al. **Terrestrial and marine Antarctic fungi extracts active against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.** Lett. Appl. Microbiol., v. 67, p. 64-71, 2018.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-85107-59-8

