

Atividade Antifúngica com extrato *Stevia rebaudiana bertonii*

Antifungal activity with *Stevia rebaudiana bertonii* extract

RESUMO

Rhizopus nigricans é um grande fungo filamentosos zigomiceto que possui fácil disseminação de esporos. Ele é responsável pela Podridão Mole causada nos frutos. A *Stevia rebaudiana bertonii* é uma planta que tem por origem o Brasil e o Paraguai e possui vários efeitos como o antimicrobiano. O objetivo deste trabalho foi investigar a existência de um potencial antifúngico contra o *Rhizopus nigricans* na presença do extrato de *Stevia rebaudiana bertonii*. A extração do caule de estêvia em pó ocorreu utilizando o solvente metanol. Avaliando por meio de apenas uma concentração de extrato de estêvia, em triplicata, o fungo *Rhizopus nigricans* demonstrou uma mudança sutil.

PALAVRAS-CHAVE: *Rhizopus*. Estêvia. Antifúngico.

ABSTRACT

Rhizopus nigricans is a large filamentous zygomycete fungus that has easy spore spread. He is responsible for the Soft Rot caused on the fruits. *Stevia rebaudiana bertonii* is a plant that originates in Brazil and Paraguay and has several effects such as antimicrobial. The objective of this work was to investigate the existence of an antifungal potential against *Rhizopus nigricans* in the presence of *Stevia rebaudiana bertonii* extract. Extraction of the stevia powder powder occurred using the solvent methanol. Evaluating using only one concentration of stevia extract, in triplicate, the fungus *Rhizopus nigricans* demonstrated a subtle change.

KEYWORDS: *Rhizopus*. Stevia. Antifungal.

Rebeca Ribeiro Rufo Corona
rebecac@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini
mperdoncini@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Andressa Caroline Ferreira de Souza
andressa.caroline14.a@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Pollyana Silva Garcia
pollygarcia321@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Maysa Ariane Formiconi Fasolin
mayformigoni@live.com
Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Recebido: ago. 2020

Aprovado: out. 2020.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

As doenças pós colheita que afetam os frutos são grandes problemas para os comerciantes, principalmente para as frutas destinadas à exportação, pois elas são responsáveis por perdas na qualidade do produto e na quantidade produzida, assim prejudicam a comercialização (EMBRAPA, 2007; CONTARATO et al., [s.d.]). Dentre as doenças que podem aparecer, uma das principais é a “Podridão Mole” provocada pelo *Rhizopus nigricans* que causa a deterioração do produto e raramente é notada no campo (RONQUE, 1998). Segundo a Embrapa (2005), é conhecida assim porque o fruto se apresenta mole, aquoso e com extravasamento do conteúdo celular.

Rhizopus nigricans é um grande fungo filamentosos zigomiceto que possui fácil disseminação de esporos, por isso frutas macias sendo de nutrição abundante são muito suscetíveis a sua ação (PAN et al., 2003). Segundo a Embrapa (2007), através de fermentos o *R. nigricans* entra no fruto e o apodrece inteiramente, deixando intacta apenas a cutícula circundante. A enfermidade tem por característica lesões aquosas irregulares, que aumentam de tamanho muito rápido, e são cobertas por um micélio branco e, posteriormente, por uma massa de esporângios negros. Portanto, é desejável que ele seja inibido, além de evitar que as frutas sejam machucadas durante a colheita, transporte e venda.

Por seus efeitos adoçantes, antioxidantes, anti-hipertensivo, antihiperlipidêmico, anti-inflamatório, anticancerígeno, antidiabético, hipotensivo, antitumoral e antimicrobiano, a estévia (ou erva-doce do Paraguai) tem sido muito estudada pela comunidade científica (LORENZI; MATOS, 2002). Constatou-se também, que em extratos aquosos, possui efeito bactericida contra bactérias contaminantes de alimentos, como a *E.coli* (SOUSA, 2014). A *Stevia rebaudiana Bertoni* tem por origem o Brasil e o Paraguai, contudo, foi muito usada pelas tribos da América do Sul por causa de suas propriedades edulcorantes e medicinais (NARAYANAN et al., 2014). Infelizmente, a produção em larga escala é restrita porque a taxa de germinação das sementes é baixa e não são homogêneas, o que traria problemas com relação a sua composição. (NAKAMURA; TAMURA, 1985).

Considerando que a *Stevia rebaudiana Bertoni* possui ação antimicrobiana e muitos benefícios ao bem-estar humano, o presente trabalho tem por objetivo investigar a existência de um potencial antifúngico contra o *Rhizopus nigricans* avaliando sua ação no desenvolvimento do fungo para que seja possível diminuir a incidência de podridão causadas em frutas.

MATERIAIS E MÉTODOS

- Meios de cultura: Utilizou-se os meios de Cultura Malt Ágar, Ágar Batata, Ágar-Ágar e D-18 que foram preparados conforme o fabricante.
- Microorganismo: Cepa é *Rhizopus stolonifer* CCT 0276, adquirida da Fundação André Tosello
- Obtenção do extrato de estévia: No decorrer do crescimento do fungo, obteve-se o extrato do caule moído da *Stevia rebaudiana bertoni*. De início, em quatro erlenmeyers, distribuiu-se 250 gramas de caule moído de estévia. Em seguida, usando a capela, adicionou-se 75mL de metanol com uma pipeta graduada em

cada *erlenmeyer*, vedou-se com plástico filme e foram postos em uma Câmara Incubadora com Agitação Orbital (*Shaker*) por uma hora em 250 rpm e temperatura de 45°C. Após uma hora, foi retirado o extrato resultante e este foi colocado em dois béqueres nomeados de A e B. O processo realizou-se em triplicata.

Após a extração, escolheu-se o béquer A para a secagem do extrato líquido utilizando um Rotavapor. Para remover o extrato seco de dentro do balão, colocou-se 100mL do meio de cultura ágar malte, com adição de 05mL de *tween* 80 a 0,1% medidos em proveta esterilizada. Raspou-se com uma espátula e com o auxílio de um bastão de vidro, removeu-se grande parte do extrato seco. Seguidamente, o meio com extrato foi vertido em outro balão esterilizado. Para que ocorresse total remoção do extrato, repetiu-se o processo que teve por discrepância a adição de 180mL de meio de cultura.

- Teste antimicrobiano: Para a análise, utilizou-se dois meios para o teste: sem o extrato, para o controle, e com 14% de extrato. Os meios foram vertidos em 9 placas cada. Assim, utilizando a melhor placa entre as três que haviam sido incubadas, na temperatura de crescimento do fungo, executou-se a inoculação de *R. nigricans*. Com uma alça esterilizada, uma quantidade pequena foi retirada e adicionada em um *ependorf* contendo 1mL de Ágar-Ágar. É de destaque que em cada meio, houve a incubação e verificação de crescimento do fungo.

DISCUSSÃO E RESULTADOS

Através do meio sem o extrato, tivemos o controle para o crescimento do fungo e assim foi comparada a inibição. Observando a olho nu, os dois obtiveram crescimento de colônias e uma leve discrepância entre elas. Entretanto, não foram analisadas em microscópio para que fosse identificadas as características concretas de cada uma delas por causa da interferência da pandemia do COVID-19. Essa influência, impossibilitou que os testes fossem registrados, o que causa maior dificuldade nos resultados. Além disso, não foi encontrado na literatura trabalhos com a estévia e fungos e por isso, ficamos sem qualquer tipo de parâmetro.

Contudo, apesar dessa influência, concluímos que o extrato do caule moído de *Stevia rebaudiana bertonii* não obteve capacidade de inibição nas quantidades que utilizamos. Porém, acreditamos que extratos obtidos com outros solventes poderão apresentar melhores resultados.

CONCLUSÃO

A presente pesquisa partiu do princípio de que a *Stevia rebaudiana Bertonii* possui ação antimicrobiana. Logo, indicava uma possível inibição fungica contra o *Rhizopus nigricans* que causa a podridão em frutas.

Primeiramente foi feita uma pesquisa com relação aos meios para o melhor resultado de crescimento e obtivemos como resultado que o melhor meio para este trabalho é o Malte Ágar. Após a definição do meio, começou a extração da *Stevia rebaudiana bertonii* e enfim, a inoculação do fungo *Rhizopus nigricans*.

Após a inoculação do microrganismo, observamos que o extrato não obteve

capacidade de inibição como era esperado, pois cresceram colônias no meio de controle e no meio com a estévia. Todavia, apesar de não ter sido como esperado, houve uma sutil inibição o que indica que, além de continuar a análise que foi interrompida pela pandemia, novos testes com outros solventes e/ou novas concentrações deverão ser realizados.

REFERÊNCIAS

CONTARATO, Cristiano Cezana; MODOLO, Elton Peterle; JUNIOR, Waldir Cintra de Jesus; COSTA, Hélcio. Ocorrência de *Rhizopus* sp. em inflorescências de jaca no estado do Espírito Santo. **Ciências Agrárias**, Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, Vitória- ES, [s.d]. Disponível em:

http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2008/anais/arquivosINIC/INIC0950_01_O.pdf. Acesso em: 11 ago. 2020.

EMBRAPA. OLIVEIRA, A. A. R.; SANTOS, H. P. Podridão de *Rhizopus*. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, 1° ed., dez. 2007. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/655529/podridao-de-rhizopus>. Acesso em: 3 ago. 2020.

EMBRAPA. SIMON, N.; MENEGUZZO, A.; CALGARO, A. Sistema de Produção de Morango para Mesa na Região da Serra Gaúcha e Encosta Superior do Nordeste: Doenças causadas por fungos e bactérias. **Embrapa Uva e Vinho**, Versão Eletrônica, 2005. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/doencas.htm>. Acesso em: 3 ago. 2020.

LORENZI, H.E.; MATOS, F.J. Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002, v.1, 512 p. NAKAMURA, S. AND TAMURA, Y. Variations in the main glycosides of stevia. *Jap. Journal of Tropical Agriculture, Kerala*, v. 29, p. 109–115, 1985

NARAYANAN, P. et al. Use of just-about-right scales and penalty analysis to determine appropriate concentrations of stevia sweeteners for vanilla yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 6, p. 3262–3272, 2014.

PAN, X.; ZHU, B.; LUO, Y.; FU, D. Unraveling the Protein Network of Tomato Fruit in Response to Necrotrophic Phytopathogenic *Rhizopus nigricans*. **NCBI**, Versão Eletrônica, 2013. DOI 10.1371/journal.pone.0073034. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3759434/>. Acesso em: 5 ago. 2020.

RONQUE, E.R.V. **Cultura do morangueiro**: Revisão e Prática. EMATER – PARANÁ. Curitiba – PR, 1998. 205p.

SOUSA, E.R. Segurança microbiológica de plantas medicinais, 2014. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.