

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ALGICIDA/ALGISTÁTICO DE EXTRACTOS DE PLANTAS EM MICROALGAS (*CHLOROPHTA* E *CYANOPHYTA*)

SANDRA BARROS¹; ANA M. GERALDES¹; ANTONIETA RAMOS¹; VÍCTOR GALHANO² & CONCEIÇÃO FERNANDES^{1*}

¹ CIMO, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança Campus de Santa Apolónia, Bragança Portugal

² CITAB & Departamento de Biologia e Ambiente Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

*autor para correspondência: conceicao.fernandes@ipb.pt



Introdução

Devido à eutrofização, os sistemas aquáticos podem apresentar um desenvolvimento excessivo de fitoplâncton e algas filamentosas, com a concomitante diminuição da qualidade da água. Para mitigar os problemas ambientais e económicos resultantes, têm sido implementadas medidas que abrangem a aplicação de algicidas e a redução do *input* de nutrientes. Contudo, alguns algicidas convencionais apresentam certas limitações, já que são tóxicos, a sua eficiência é discutível, e apresentam persistência no ambiente. A utilização de extractos vegetais poderá ser uma alternativa aos algicidas convencionais.

O objectivo deste trabalho foi testar a actividade algicida e/ou algistática de extractos de plantas, recolhidas em Bragança, em dois tipos de microalgas.



Vários trabalhos têm demonstrado que os óleos essenciais de diversas plantas têm propriedades algicidas e fitotóxicas (Tellez et al 2000; Yang et al 2009). Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os óleos essenciais testados têm também propriedades algicidas. Atendendo à sua natureza lipofílica poderão interferir de forma tóxica em processos bioquímicos básicos. Por outro lado, a inexistência de halos de inibição poder-se-á dever ao facto da sua alta volatilidade.

Contudo, a fracção hidrossolúvel apresentou efeitos distintos no crescimento de *Chlorella* sp.. Os resultados mostram que o choupo estimulou o crescimento desta microalga, aumentando a taxa específica de crescimento comparativamente ao controlo (Fig 2 e Tab 3)

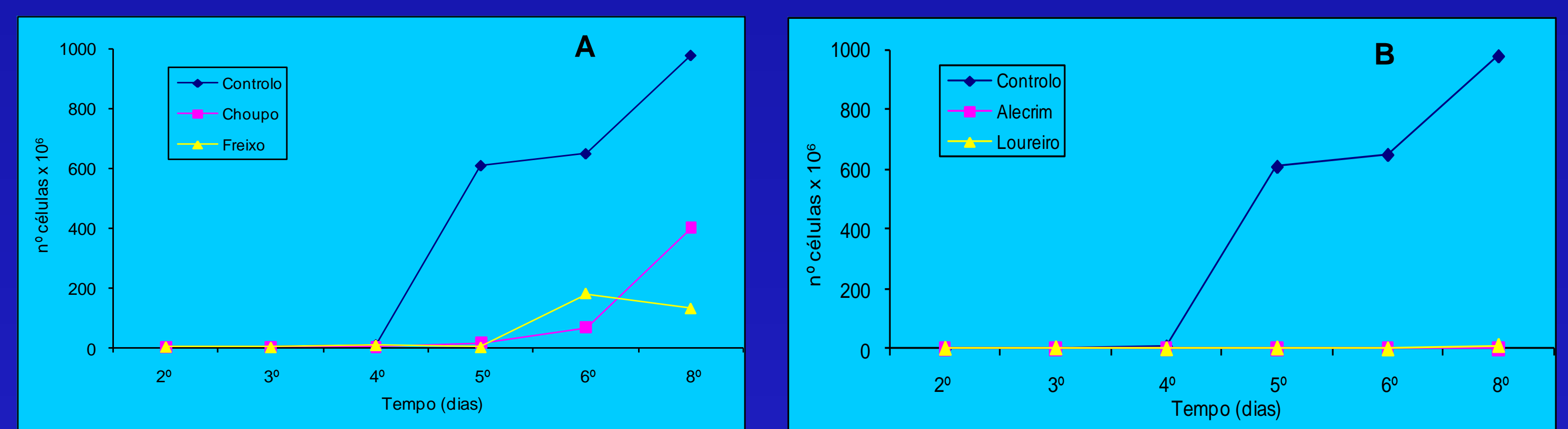


Fig 2 – Exemplo de curvas de crescimento obtidas em meio líquido (1:4); A - extracto com efeito algistático (choupo) comparativamente a um sem efeito (freixo) e ao controlo; B – extractos com efeito algistático (alecrim e loureiro) comparativamente ao controlo.

Material e Métodos

Extracção: As plantas foram recolhidas no Campus do IPB, em Setembro de 2009 e incluíram: alfazema (*Lavandula* sp.), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), freixo (*Fraxinus angustifolia*), loureiro (*Laurus nobilis*), choupo (*Populus* sp.), sabugueiro (*Sambucus nigra*) e mendrasto (*Mentha suaveolens*)

Após secagem procedeu-se à extracção de óleos essenciais por hidrodestilação à temperatura de 75°C durante 3h e à extracção da fracção hidrossolúvel a quente por infusão simples em água.

Bioensaios: Todos os ensaios foram incubados em câmara de cultura à temperatura de 22°C e fotoperíodo de 16:8.

Os óleos essenciais de alfazema, alecrim e mendrasto foram testados em meio sólido (1% agar). Utilizou-se o método de difusão em disco, relativamente ao crescimento de *Chlorella vulgaris* CBSC 15-2075 em Walne modificado e *Anabaena cylindrica* UTAD_A212 em BG11. Foram usados discos de papel de 6 mm de diâmetro embebidos em diferentes concentrações de óleos essenciais dissolvidos em DMSO. A avaliação foi feita pela observação quantitativa de halos de inibição.

A fracção hidrossolúvel de todas as plantas foi testada em meio líquido em culturas de *Chlorella*. A avaliação do crescimento foi feita por contagem do número de células em câmara de Neubauer.

Resultados e Discussão

Os bioensaios em meio sólido mostram que os óleos essenciais, nas concentrações mais elevadas, inibem completamente o crescimento das microalgas (Tab 1 e 2, Fig 1).

O alecrim na concentração mais baixa só inibe o crescimento da *Chlorella*. A menor relação área/volume da *Chlorella*, quando comparada com a *Anabaena*, pode ser responsável por estes resultados.

Tab 1 – Resultados do crescimento nos ensaios controlo em meio sólido

	<i>Anabaena</i>	<i>Chlorella</i>
Esterilização	-	-
Crescimento	++	++
Disco	++	++
Disco + DMSO	++	++

++ Crescimento; - Ausência de crescimento

Tab 2 – Resultados do crescimento das microalgas nos ensaios em meio sólido

	<i>Anabaena</i>				<i>Chlorella</i>			
	1:3	1:4	1:10	1:50	1:3	1:4	1:10	1:50
Alfazema	-	-	-	-	-	-	-	-
Alecrim	-	-	-	++	-	-	-	-
Mendrasto	-	-	-	-	-	-	-	-

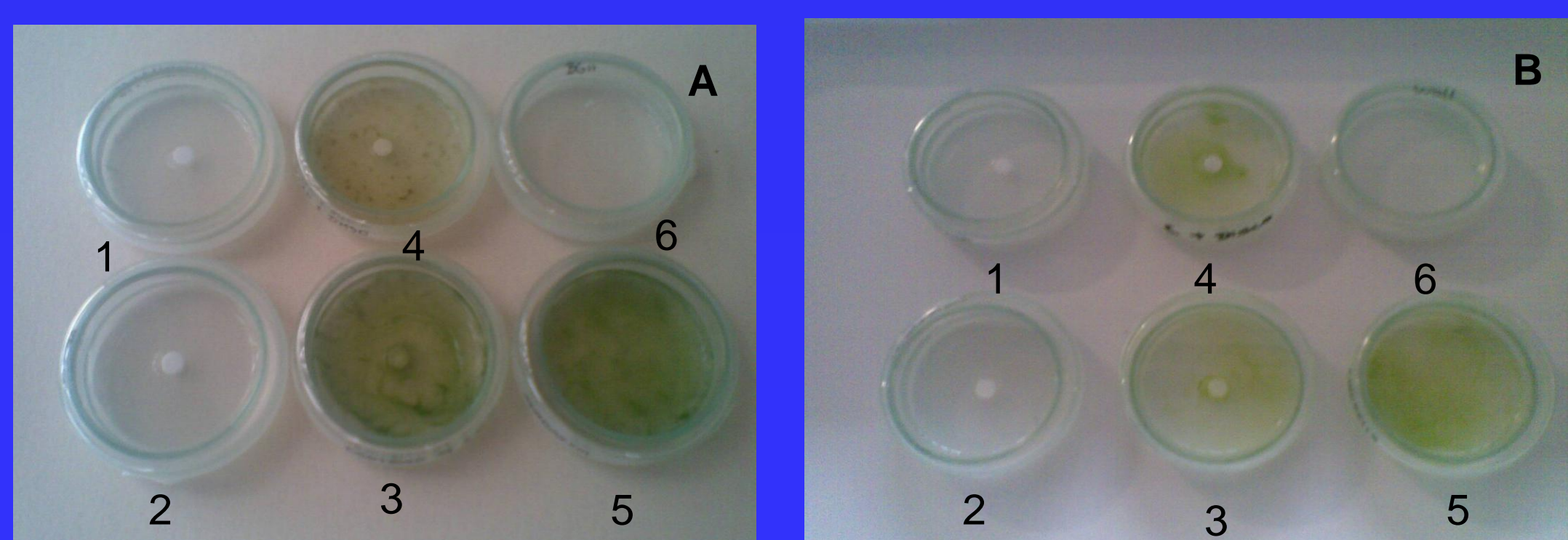


Fig.1- Exemplo de resultados obtidos nos ensaios em meio sólido: (A) *Anabaena* com alfazema, (B) *Chlorella* com alfazema. 1- crescimento em 1:4; 2 – crescimento em 1:10; 3 - controlo disco + DMSO; 4 – controlo disco; 5 – controlo de crescimento; 6 – controlo de esterilização

Agradecimentos

À Professora Doutora Maria João Sousa (ESAB) pela disponibilidade e pelo apoio às técnicas elaboradas.

Tab 3 – Parâmetros de crescimento na fase exponencial

	1:4		1:10	
	Taxa Específica de crescimento (μ/dia)	Tempo de Duplicação (td/dias)	Taxa Específica de crescimento (μ/dia)	Tempo de Duplicação (td/dias)
Controlo	0,62	1,12	0,50	1,38
Choupo	0,80	0,87	0,93	0,74
Sabugueiro	0,57	1,22	0,66	1,05
Mendrasto	0,47	1,48	0,54	1,29
Alecrim	0,10	6,96	0,54	1,28
Loureiro	0,19	3,65	0,55	1,26
Freixo	0,62	1,12	0,48	1,44

μ = (Log N - Log No) / (t - t0); td = Ln2/μ

Pelo contrário, as fracções hidrossolúveis do alecrim e do loureiro, quando testadas na maior concentração, apresentaram capacidade de diminuir a proliferação celular da *Chlorella* em meio líquido, pela diminuição da taxa específica de crescimento.

Os efeitos algicida, algistático e fitotóxico foram previamente descritos em extractos aquosos de várias grupos de plantas (Cantrell et al 2007; Jančula et al 2007). O presente trabalho sugere que os extractos de alecrim e do loureiro possuem actividade algistática provavelmente devido à presença de compostos fenólicos. Os resultados mais promissores foram obtidos com o alecrim.

Os extractos de choupo parecem favorecer o crescimento da *Chlorella*, sugerindo a presença de polissacáridos e/ou outras substâncias utilizadas no seu metabolismo.



Fig 3 - Bioensaios líquidos de *Chlorella vulgaris* com os diferentes extractos de plantas (1:10)

Considerações Finais & Perspectivas Futuras

- ✓ Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os óleos essenciais testados têm propriedades algicidas.
- ✓ As fracções hidrossolúveis do alecrim e do loureiro mostraram potencial algistático, na concentração mais elevada.
- ✓ Os resultados obtidos, quer com os óleos essenciais, quer com as fracções hidrossolúveis, são decorrentes da concentração testada e da sua composição química.
- ✓ Futuramente, pretende-se determinar as concentrações mínimas inibitórias e identificar os compostos químicos dos extractos testados, com vista ao isolamento de substâncias com propriedades algicidas e/ou algistáticas.

Referências:

- Cantrell C.L., Mamonov L.K., Rybushkina N.,Kustova T.S.,Fisher N.H. and Schrader K.K. (2007). Bioassay-guided isolation of anti-algal constituents from *Inula helenium* and *Limonium myrianthum* ARIVOC 7:65-67;
- Jančula D., Suchomelova J., Gregor J., Smutná M., Maršálek B. and Táborska E. (2007). Effects of aqueous extracts from five species of the family Papaveraceae on selected aquatic organisms. Environmental Toxicology. 22:480-486;
- Tellez M. R., Dayan F. E., Schrader K. K., Wedge D. E. and Duke S. O. (2000). Composition and some biological activities of the essential oil of *Callicarpa americana* (L.) J. Agric. Food Chem. 48: 3008-3012;
- Yang W.D., Liu J.S., Li H.Y., Zhang X.L. and Qi Y.Z. (2009). Inhibition of the growth of *Alexandrium tamarense* by algicidal substances in chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) Bull Environ Contam Toxicol. 83:537-541