



## EFEITO DE EXTRATOS DE FARELOS DE SORGO, RICOS EM COMPOSTOS FENÓLICOS, SOBRE A PREVALÊNCIA DE FUNGOS DO GÊNERO *FUSARIUM* EM GRÃOS DE MILHO

Valéria A. V. QUEIROZ<sup>1\*</sup>; Alexandre G. TELES<sup>2</sup>; Dagma D. S. ARAÚJO<sup>1</sup>; Luciano V. COTA<sup>1</sup>; Felipe A. SILVA<sup>3</sup>; Maria Lúcia F. S.<sup>1</sup>; Cícero B. MENEZES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pesquisador(a), Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

<sup>2</sup>Estudante de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João del-Rei/CSL, Bolsista CNPq/Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Estudante de Ciências Biológicas da UNIFEMM, Bolsista do Projeto SIMBIOSE/Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, Brasil.

\*E-mail: valeria.vieira@embrapa.br

**RESUMO:** Este estudo teve como objetivo obter extratos de farelos de sorgo, ricos em compostos fenólicos, e avaliar suas atividades antifúngicas em grãos de milho naturalmente contaminados com fungos do gênero *Fusarium*. Foram conduzidos dois ensaios com extratos dos sorgos SC 319 e CMSXS 3019 obtidos com as soluções metanol/água 80/20% (Ensaio 1) e acetona/água 80/20% (Ensaio 2). Foram utilizados os extratos de sorgo integrais (contendo água e os solventes metanol e acetona) ou evaporados (sem os solventes). Água e as soluções extratoras puras foram usadas como controle. Após desinfestação, cem grãos de milho foram imersos em 50 mL de cada solução e distribuídos em quatro caixas tipo gerbox contendo papel de filtro umedecidos com ágar-água e incubadas a 25 °C por 7 dias. Após esse período, os grãos foram examinados, individualmente, e aqueles identificados com colônias de *Fusarium* foram quantificados. Em ambos os ensaios, a prevalência de *Fusarium* foi  $\geq 99\%$  nos grãos imersos nas soluções evaporadas (sem metanol ou acetona) e não houve diferença estatística entre esses tratamentos e o controle com água (100%). Já nos grãos imersos nas soluções contendo os solventes, a prevalência desse fungo foi bastante inferior (entre 4 e 16%). Portanto, é possível que os efeitos fungicidas dos extratos, em ambos os ensaios, tenham sido por causa da ação dos solventes metanol e acetona e não dos compostos fenólicos do sorgo. Contudo, sugerem-se mais estudos para confirmar esses resultados, incluindo genótipos de sorgo com diferentes perfis de compostos fenólicos.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, fungicidas naturais, fungos toxigênicos, extratos fenólicos.

### INTRODUÇÃO

O milho é uma cultura suscetível ao ataque e ao desenvolvimento de fungos patogênicos causadores de diversas doenças em toda a planta (Magarini et al., 2024). Além disso, a infecção fúngica pode comprometer direta e indiretamente grãos de milho e seus derivados, reduzindo sua qualidade sanitária e física e interferindo na sua classificação comercial (Contini et al., 2019).

Os fungos responsáveis pelas principais doenças em grãos de milho pertencem aos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium* (Lanza et al., 2016). Destes, *Fusarium* possui alta incidência e capacidade de produção de micotoxinas, provocando contaminação de alimentos, comprometendo a segurança alimentar (Magarini et al., 2024).

Atualmente, a utilização de fungicidas químicos é a principal forma de controle de fungos na cultura do milho. Entretanto, esses produtos provocam efeitos adversos tanto no ambiente quanto na saúde dos seres vivos. Além disso, estudos recentes têm demonstrado que os fungicidas químicos não são tão eficazes no controle de fungos e da síntese de algumas micotoxinas em milho (Lanza et



al., 2016; Almeida et al., 2024). Assim, produtos que possuem a mesma ação desses fungicidas sintéticos, mas que sejam isentos de seus efeitos nocivos e que sejam eficazes no controle de fungos produtores de micotoxinas, são bastante desejáveis. Nesse sentido, vários compostos naturais produzidos por plantas, a exemplo dos compostos fenólicos, têm sido relatados como potenciais agentes fungitóxicos, antibacterianos e antiviróticos (Scorzoni et al., 2016).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários naturais biossintetizados nas plantas por meio de vias metabólicas, os quais não apenas ajudam na regulação de vários tipos de funções fisiológicas nas plantas durante o crescimento e desenvolvimento, mas também estão envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas contra condições de estresse tanto abiótico quanto biótico (Chowdhary et al., 2022). Entre as plantas que se destacam na síntese de compostos fenólicos está o sorgo (Przybylska-Balcerek et al., 2019). Awika e Rooney (2004) sugerem que as altas concentrações de taninos e de outros fenóis em alguns genótipos de sorgo podem contribuir sinergicamente para o seu poder antimicrobiano.

Diante do exposto, os objetivos do trabalho foram obter extratos a partir de farelos de sorgo dos genótipos SC 319 e CMSXC 3019, ricos em compostos fenólicos, e avaliar a atividade antifúngica desses extratos sobre o gênero *Fusarium* em grãos de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

As pesquisas foram realizadas nos Laboratórios de Segurança Alimentar e de Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Foram utilizados grãos dos genótipos de sorgo SC 319 e CMSXS 3019, do programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo, selecionados em testes preliminares por conterem teores mais elevados de compostos fenólicos (dados não publicados). Os grãos foram decorticados em máquina beneficiadora de arroz, e o farelo (pericarpo dos grãos) foi recolhido e moído em moinho de bolas (Marca: Retsch, modelo: MM200), obtendo-se uma farinha com granulometria de aproximadamente 10 µm.

Os compostos fenólicos totais foram determinados utilizando o reagente Folin Ciocalteu, de acordo com o método descrito por Singleton et al. (1999). Foram conduzidos dois ensaios utilizando-se extratos de farelo de sorgo dos genótipos SC 319 e CMSXS 3019 obtidos com as soluções metanol/água 80/20% (Ensaio 1 – MET) e acetona/água 80/20% (Ensaio 2 – ACE), tanto na forma integral (INT – contendo água e os solventes metanol ou acetona) quanto evaporada (EVA – sem os solventes). A evaporação dos solventes foi realizada no rotaevaporador (marca IKA, RV 10 basic). Aproximadamente 900 mL dos extratos foram levados para secagem a 50 °C até redução de 80% do seu volume inicial, restando apenas a água e os compostos extraídos. No Ensaio 1, foram utilizados água destilada e metanol/água 80/20% como controle e no Ensaio 2, água destilada e acetona/água 80/20%. Um total de oito tratamentos (seis experimentais e dois controles) foi utilizado em cada ensaio. Os dados foram avaliados por ANOVA, e as médias foram comparadas por teste de Scott-Knott, em nível de 5% de significância, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

Para determinar o efeito fungicida dos extratos sobre o gênero *Fusarium*, utilizou-se o método de incubação em substrato de papel-filtro com congelamento, denominado “blotter test” (Lanza et al., 2016). Ao final, os grãos foram examinados individualmente, e aqueles apresentando colônias características de *Fusarium* (micélio cotonoso de coloração branca a rósea) foram identificados e quantificados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO



Observou-se que, tanto para o Ensaio 1 quanto para o Ensaio 2, para os dois genótipos, a prevalência de *Fusarium* foi acima de 99% nos tratamentos cujas soluções foram evaporadas (sem os solventes metanol ou acetona) e não houve diferença estatística desses tratamentos com o controle água (100%) (Tabela 1). Por outro lado, nos tratamentos cujos grãos foram imersos nas soluções integrais (contendo os solventes), a prevalência desse gênero fúngico foi bastante inferior (entre 4 e 16%). No Ensaio 1, os tratamentos contendo as soluções extratoras integrais (INT) não diferiram do controle metanol (MET), porém, no Ensaio 2, foi observada diferença estatística entre os tratamentos INT e o controle acetona (ACE). Entretanto, em ambos os ensaios ficou evidenciada diferença entre o grupo contendo os tratamentos com grãos incubados com água ou com os solventes evaporados (EVA) e o grupo incubado com as soluções extratoras puras (metanol ou acetona) ou sem evaporação dos solventes (INT).

No Ensaio 1, observa-se também que os extratos obtidos dos genótipos SC 319 e CMSXS 3019 evaporados exibiram um percentual, respectivamente, de 42 e 38% de crescimento de outros fungos além do *Fusarium*, valores acima do controle com água (27%), mostrando que esses extratos apresentaram um efeito promotor em vez de inibidor do crescimento deles. Já no Ensaio 2, não houve diferença significativa entre o tratamento CMSXS 3019 EVA e aqueles contendo as soluções integrais (INT) e o controle acetona, mostrando um possível efeito inibitório desse sobre os demais fungos.

**Tabela 1** – Prevalência de grãos de milho contaminados com *Fusarium*

Ensaio	Tratamento	Grãos contaminados com <i>Fusarium</i> *	%	Grãos com <i>Fusarium</i> + outros fungos	%
Ensaio 1 Metanol 80/20% (v,v)	Controle Água	25	100	6,75	27
	Controle Metanol 80/20%	1,25	5	0,25	1
	SC 319 INT	1	4	0,75	3
	CMSXS 3019 INT	3	12	1,5	6
	SC 319 EVA	24,8	99	10,5	42
	CMSXS 3019 EVA	24,8	99	9,5	38
Ensaio 2 Acetona 80/20% (v,v)	Controle Água	24,8	99	6,25	25
	Controle Acetona 80/20%	8	32	0,5	2
	SC 319 INT	3	12	1	4
	CMSXS 3019 INT	4	16	1,5	6
	SC 319 EVA	24,8	99	7	28
	CMSXS 3019 EVA	25	100	2,25	9

\*Média de quatro repetições contendo 25 grãos de milho em cada. SC 319 e CMSXS 3019: genótipos de sorgo utilizados na extração dos compostos fenólicos; INT: extratos integrais (com os solventes metanol ou acetona); EVA: extratos evaporados (sem os solventes).

Funnell-Harris et al. (2017) observaram que *F. thapsinum*, cultivado em meio com extrato de sorgo (bmr6), apresentou crescimento significativamente mais rápido que o controle e o meio adicionado de açúcar. Este resultado também corrobora os obtidos no presente trabalho, em que houve maior crescimento de fungos, além do *Fusarium*, nos grãos tratados com soluções contendo os extratos dos farelos dos genótipos de sorgo SC 319 e CMSXS 3019 (Ensaio 1) em comparação com o controle tratado com água.

## CONCLUSÃO

Não foi evidenciado efeito fungicida dos extratos dos farelos de grãos de sorgo dos genótipos SC 319 e CMSXS 3019, ricos em compostos fenólicos, visto que os grãos de milho imersos nesses



extratos, na forma evaporada, mostraram quase 100% de contaminação com *Fusarium*, enquanto nos grãos imersos nas soluções contendo metanol ou acetona a prevalência desse fungo foi inferior a 16%. Portanto, o efeito sobre os fungos, observado nos extratos integrais, foi, provavelmente, decorrente da ação dos solventes utilizados nas extrações.

## AGRADECIMENTOS

À Embrapa Milho e Sorgo e à FAPEMIG (Projeto APQ-00657-18) pelo apoio financeiro para realização dessa pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. J. de; BONALDO, S. M.; MÁRIO, J. L.; PIRIS, A.; BARRETO, R. R. Chemical and genetic control of *Stenocarpella sp.* and *Fusarium sp.* in maize. **Observatório de La Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 3, e3740, 2024.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemical and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.
- CHOWDHARY, V.; ALOOPARAMPIL, S.; PANDYA, R. V.; TANK, J. G. Physiological function of phenolic compounds in plant defense system. In: BADRIA, F. A. (ed.). **Phenolic compounds: chemistry, synthesis, diversity, non-conventional industrial, pharmaceutical and therapeutic applications**. London: IntechOpen, 2022.
- CONTINI, E.; MOTA, M. M.; MARRA, R.; BORGHI, E.; MIRANDA, R. A. de; SILVA, A. F. da; SILVA, D. D. da; MACHADO, J. R. de A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V. da; MENDES, S. M. **Milho: caracterização e desafios tecnológicos**. [Brasília, DF: Embrapa; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo], 2019. 45 p. (Desafios do Agronegócio Brasileiro, 2). Nota técnica.
- FUNNELL-HARRIS, D. L.; O'NEILL, P. M.; SATTTLER, S. E.; GRIES, T.; BERHOW, M. A.; PEDERSEN, J. F. Response of sorghum stalk pathogens to brown midrib plants and soluble phenolic extracts from near isogenic lines. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 4, p. 941-953, 2017.
- KIL, H. Y.; SEONG, E. S.; GHIMIRE, B. K.; CHUNG, I.; KWON, S. S.; GOH, E. J.; HEO, K. H.; KIM, M. J.; LIM, J. D.; LEE, D.; YU, C. Y. Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. **Food Chemistry**, v. 115, n. 4, p. 1234-1239, 2009.
- LANZA, F. E.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R. V. da; SILVA, D. D. da; QUEIROZ, V. A. V.; PARREIRA, D. F.; MENDES, S. M.; SOUZA, A. G. C.; COTA, L. V. Aplicação foliar de fungicidas e incidência de grãos ardidos e fumonisinas totais em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 638-646, 2016.
- MAGARINI, A.; COLOMBO, F.; CASSANI, E.; GHIDOLI, M.; LANDONI, M.; SANGIORGIO, S.; PILU, R. The role of husk traits in maize susceptibility to *Fusarium verticillioides*: a multi-location study in northern Italy. **Food and Energy Security**, v. 13, n. 2, e537, 2024.
- PRZYBYLSKA-BALCEREK, A.; FRANKOWSKI, J.; STUPER-SZABLEWSKA, K. Bioactive compounds in sorghum. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 1075-1080, 2019.
- SCORZONI, L.; SANGALLI-LEITE, F.; SINGULANI, J. L.; SILVA, A. C. A. P.; COSTA-ORLANDI, C. B.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Searching new antifungals: the use of *in vitro* and *in vivo* methods for evaluation of natural compounds. **Journal of Microbiological Methods**, v. 123, p. 68-78, 2016.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1).