

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE BRIÓFITAS COMO FONTES DE ANTIBIÓTICOS. (*)

Maria de Fátima da Silva Pinheiro (**)

Regina Célia Lobato Lisboa (**)

Ruth de Vasconcelos Brazão (***)

RESUMO

A análise de 25 espécies de musgos e hepáticas indicou que 10 (40,0%) produzem substâncias capazes de inibir o crescimento de várias bactérias. O método de extração incluiu diversos solventes. Os extratos não foram consistentes em sua atividade antagônica contra as várias espécies de microorganismos, nem foram aqueles que ostentaram ação antibiótica sempre eficaz contra os mesmos organismos. Os resultados indicam produtos instáveis bem como variação fisiológica nos musgos e hepáticas, podendo ser atribuído à época de coleta.

INTRODUÇÃO

As briófitas incluem os musgos e as hepáticas, conhecidas vulgarmente como limo ou lodo. São relativamente pequenas em comparação com outras plantas da terra; são essencialmente terrestres, embora a maioria seja de locais úmidos, sombrios; necessitam de muita água para reprodução e crescimento (Thieret, 1956). Como plantas medicinais, as briófitas receberam pouco uso. Dentre as hepáticas, a *Marchantia polymorpha* foi útil no tratamento de tuberculose pulmonar (Roig & Mesa, 1945) e afecções do fígado. Representantes de diversos gêneros de musgos também apresentaram propriedades medicinais (Kraemer, 1907). Na China, o chá de *Sphagnum* foi empregado na cura de hemorragia aguda e doenças oculares (Shiuying, 1945). A infusão de *Polytrichum commune* ajudava a dissolver cálculos renais e da vesícula (Roque, 1941). Sphagnol, um destilado de turfa, constituído principalmente de *Sphagnum* sp., foi reconhecido como sendo útil no tratamento de diversas doenças da pele e recomendado para minorar o prurido de picada de insetos. Os índios do Alasca preparavam pomada para a cutis misturando *Sphagnum* com sebo ou outra gordura (Hotson, 1918a). Nas ilhas inglesas, populações da zona rural usavam *Sphagnum* como

(*) Projeto de pesquisa financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em colaboração com a Universidade Federal do Pará.

(**) Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA.

(***) Universidade Federal do Pará, Belém-PA.

bandagem em furúnculos e feridas supuradas. Foi confiável aos cirurgiões do exército durante as guerras Napoleônicas e Franco-prussianas (Poter, 1917), bem como por ocasião da guerra Russo-japonesa, substituiu o algodão no curativo de primeiros socorros (Hotson, 1918b). Também, nos Estados Unidos, a Cruz Vermelha Americana preparou 500.000 curativos (Nichols, 1920). Durante a Segunda Guerra Mundial, musgos de turfa serviram como meios cirúrgicos (Dachnowski-Stokes, 1942). Outros autores referem a aplicação do *Sphagnum* em cirurgias (Hotson, 1919; Neuber, 1882; Nichols, 1918a, 1918b). Nos últimos anos muitas fontes de antibióticos foram exploradas, como plantas florísticas, criptógamos (algas e líquens) e fungos. A literatura revelou poucos casos de parasitismo de fungos sobre briófitas, isto indica que a análise pode descobrir alguma substância que previna o crescimento de parasitas. A sugestão de que as briófitas possam conter tais substâncias tem sido avaliada por alguns briologistas (Mc Cleary et al., 1960).

Ao contrário da Europa, na Amazônia desconhece-se o uso de briófitas como plantas medicinais e até então não havia projeto desenvolvido neste sentido. Mas como estas plantas inferiores se desenvolvem em grandes quantidades e variedades nesta região, acredita-se que este é um potencial que deve ser investigado. Pesquisas recentes mostraram que certos produtos de *Anomodum rostratus*, *Orthotrichum rupestre* e *Mnium cuspidatum* apresentam poder inibitório contra várias espécies de bactérias (Mc Cleary et al., 1960). O presente trabalho teve por objetivo, estudar algumas briófitas, que ocorrem abundantemente na região amazônica, como possíveis produtoras de substâncias com propriedades antibióticas. Foi iniciado pelos dois primeiros autores em 1976, no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, quando obtiveram resultados animadores os quais estão incorporados aos obtidos no Museu Goeldi.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de material

Foi realizada em dois períodos e locais diferentes. Em 1976 as excursões foram feitas à Reserva Ducke, onde foram coletadas 6 espécies de briófitas. As amostras estão identificadas pelo número de herbário precedido da sigla INPA-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, onde estão mantidas. Em 1986 as amostras de briófitas foram coletadas na Reserva Mocambo e A.P.E.G., no estado do Pará e relacionadas pelo número de herbário precedido da sigla MG-Museu Paraense Emílio Goeldi.

Foram testadas as seguintes espécies:

1. *Bazzania* sp. 1 (R-207, INPA 62072)
2. *Bazzania* sp. 2 (INPA 62608)
3. *Calymperes lonchophyllum* Schwaeg. (R-2/2, INPA 62077 e 62611, R-775, MG 116962)
4. *Calypogeia amazonica* (Spruce) Steph. (R-758, MG 114570)
5. *Crossotolejeunea boryana* (Mont.) Schiffn. (R-751, MG 113644; R-777, MG 116970)
6. *Fissidens termitarum* (C. Muell.) Pursell. (R-773, MG 116966)

7. **Lepidopilum biductulosum** (P. L. B.) Wij. L. Morz. (R-809, MG 117003)
8. **Leucomiu lignicola** Spruce ex Benth. (R-753, MG; R-760, MG 114572; R-778, MG 11697; R-806, MG 117000; R-810, MG 117004)
9. **Lophocolea martiana** Nees in G. L. & N. (R-808, MG 117002)
10. **Leucobryum martianum** (Hornsch.) Hompe. (R-191, INPA 62056)
11. **Micropterygium** sp. (INPA 62609)
12. **Octoblepharum pulvinatum** (D. et Molk.) Mitt (R-734, MG 110097; R-743, MG 114563; R-771, MG 116964; R-800, MG 116993)
13. **Pilosium chlorophyllum** (Hornsch.) C. M. (R-772, MG 116965; R-803, MG 116996)
14. **Plagiochila hondurensis** Herz. (R-793, MG 116986; R-801, MG 116994)
15. **Plagiochila rutilans** Lindb (R-802, MG 116995)
16. **Plagiochila** sp. (R-744, MG 114564)
17. **Prionolejeunea** sp. (R-742, MG 114562)
18. **Schizomitrium pallidum** (R-752, MG 113644; R-807, MG 117001; R-811, MG 117005)
19. **Sematophyllum subsimplex** (Hedw.) Mitt. (R-736, MG 110098)
20. **Symbiezidium transversale** (Sw.) Trev. (R-745, MG 114563; R-776, MG 116969)
21. **Sematophyllum** sp. (INPA 62586)
22. **Syrhropodon** cf. *rigidus* Hook et. Grev. (R-795, MG 116988)
23. **Trichosteleum guianae** (C. M.) Broth. (R-759, MG 114571)
24. **Vesicularia amphibola** (Spruce) Broth. (R-792, MG 116985)
25. **Vesicularia vesicularis** (Schuwaeg) Broth. (R-794, MG 116987)

Microorganismos

Foram utilizadas as seguintes cepas de bactérias, isoladas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará e no Laboratório de Microbiologia do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA:

1. no INPA - **Escherichia coli** 0:112

Salmonella sp.

Shigella flexneri

Shigella sonnei

2. no MPEG - **Edwardsiella tarda**

Enterobacter aerogenes

Escherichia coli 0:59

Klebsiella pneumoniae

Proteus mirabilis

Proteus vulgaris

Pseudomonas aeruginosa

Salmonella sp.

Staphylococcus aureus

Metodologia

- Preparação dos extratos, segundo método preconizado por Mc Cleary et al. (1960). 200 g de cada amostra, lavadas em água corrente, enxaguadas em água destilada e divididas em alíquotas de 40 g foram maceradas em 70 ml dos solventes metanol e etanol a 95%, acetona, clorofórmio e água destilada, separadamente, durante 24 horas. Após este período, filtradas em gaze dobrada em 4 camadas e centrifugadas à 3000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes e os resíduos foram reservados para os testes.

- Método, também segundo Mc Cleary et al. (1960). Os extratos foram colocados em contato com os microorganismos através de discos CECON, colocados na superfície de placas de Petri contendo o meio de cultura agar Nutriente (Difco), previamente misturado às bactérias pela técnica de "pour plate", incubadas a 37°C por 18 horas. O inóculo correspondeu à uma suspensão do crescimento bacteriano em caldo Nutriente (Difco) até turvação idêntica à do tubo da escala Mac Farland (6×10^8 microorganismos/ml). A leitura dos halos de inibição foi feita com auxílio de régua milimetrada.

RESULTADOS

Os resultados obtidos nos testes de atividade antibacteriana realizados nos extratos de briófitas, coletadas nos Estados do Amazonas e Pará, estão apresentados nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

4 (75,0%) espécies do Amazonas, *Leucobryum martianum*, *Calymperes lonchophyllum*, *Bazzania* sp. 1 e *Bazzania* sp. 2, e 6 (30,0%) do Pará, *Leucomium lignicola*, *Calypogeia amazonica*, *Crossotolejeunea boryana*, *Plagiochila hondurenses*, *Trichosteleum guianae* e *Vesicularia vesicularis* apresentaram capacidade inibitória.

As espécies do Pará, coletadas mais de uma vez em diferentes épocas do ano, apresentaram resultados diversos: *C. boryana* (setembro-85 e fevereiro-86) apresentou-se satisfatória em setembro; *L. lignicola* (setembro e outubro-85, fevereiro e maio-86) revelou inibição em outubro; *P. hondurenses* (março e abril-86), apenas em março. Vale ressaltar que *C. lonchophyllum* (novembro-76 no Amazonas e fevereiro-86 no Pará) evidenciou ação inibidora somente em novembro.

DISCUSSÃO

Na Tabela 1 verifica-se que os extratos de *C. lonchophyllum* e de *Bazzania* sp. 1 foram os que se destacaram apresentando halos de inibição do crescimento bacteriano superiores a 10 mm.

Na Tabela 2, o destaque coube a espécie *L. lignicola*.

É evidente que diversos compostos foram envolvidos. Podemos comprovar pelo fato dos extratos de uma mesma espécie de briófitas, em diferentes solventes, terem apresentado

diferentes resultados. Também ressaltamos a variação fisiológica, quando uma mesma espécie botânica foi testada em épocas diferentes do ano.

Das 25 amostras de briófitas analisadas, 10 (40,0%) apresentaram atividade antibacteriana.

Comparando os nossos resultados com os de Mc Cleary et al. (1960), que fazendo experimentos similares, com 12 amostras de musgos, obtiveram 25,0% com esta mesma atividade, podemos comprovar uma equivalência entre os mesmos.

Tabela 1. Halos de inibição obtidos no teste de atividade antibacteriana dos extratos de Briófitas coletadas no estado do Amazonas, Brasil, 1976.

MICROORGANISMOS	Leucobryum martianum			Calymperes lonchophyllum			Bazzania sp. 1			Bazzania sp. 2		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
		S R	S R		S R		S R	S R		S R	S R	S R
Escherichia coli 0:112	-	- +	++	-	+ ++	-	-	++ ++	-	-	-	- +
Salmonella sp.	-	- -	++	-	- -	-	-	+ +	-	-	-	- -
Shigella flexneri	-	- -	- -	-	- -	-	-	- -	-	-	-	- -
Shigella sonnei	-	- -	- -	-	- -	-	-	- -	-	-	-	- -

A - acetona

B - etanol 95% (+) halos de 8 a 10 mm, incluindo o diâmetro do disco.

C - clorofórmio (++) halos superiores a 10 mm, incluindo o diâmetro do disco.

S - sobrenadante (-) ausência de halo de inibição.

R - residuo

Tabela 2. Halos de inibição obtidos no teste de atividade antibacteriana dos extratos de Briófitas coletadas no estado do Paraná, Brasil, 1986.

MICROORGANISMOS	Leuconium lignicola			Crossotolejeunea boryana	Plajiochila hondurensis			Calypogeia amazonica		Trichosteleum guianae			Vesicularia vesicularis		
	C S	B S	D R	C	A S	B R	C	A R	D R	A R	B R	D R	A S	B S R	D S R
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	-	++	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> 0:59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

A - acetona

B - etanol 95% (+) halos de 8 a 10 mm, incluindo o diâmetro do disco.

C - clorofórmio (++) halos superiores a 10 mm, incluindo o diâmetro do disco.

D - metanol (-) ausência de halo de inibição.

S - sobrenadante

R - resíduo

AGRADECIMENTOS

Prof. Jacques Ivan Georges Jangoux, Prof. Dr. Jovelino Quintino de Castro Leão Filho, Sr. Manoel Alves do Nascimento e Sra. Thereza da Silva Machado.

SUMMARY

An examination of 25 species of mosses and liverworts has indicated that 10 (40.0%) produce substances capable of inhibiting the growth of various bacteria. The method of extraction included several solvents. The extracts were not consistent in their antagonistic activity against the various species of microorganisms, nor were those that displayed antibiotic action always effective against the some organisms. Results indicate unstable products as well as physiological variation in the mosses and liverworts. This variation can be attributed to time of collection.

Referências bibliográficas

- Dachnowski-Stokes, A. P. - 1942. Sphagnum moss for use in surgical dressings. *Sci. Mon.*, 55:291-292.
- Watson, J. W. - 1918a. Sphagnum as a surgical dressings. *Science n.s.*, 48:203-208.
- - 1918b. Sphagnum as a surgical dressing. *Northwest Div. Amer. Red. Cross.*
- - 1919. Sphagnum from bog to bandage. *Univ. Wash. Puget Sound. Biol. Sta. Publ.*, 2:211-247.
- Kraemer, H. - 1907. A textbook of botany and pharmacognosy.
- Mc Cleary, J. A.; Syphera, P. S.; Walkington, D. L. - 1960. Mosses as possible sources of antibiotics. *Science*, 131(3393):108.
- Neuber, G. - 1882. Enfahrungen uber Iodoform-und Toriverbande. *Arch. Klin. Chir.*, 27: 757-788.
- Nichols, G. E. - 1918a. The American Red Cross wants information regarding supplies of surgic surgical sphagnum. *Bryologist*, 21:81-83
- - 1918b. Sphagnum moss and its use in surgical dressings. *Jour. N. Y. Bot. Gard.*, 19:203-220.
- - 1920. Sphagnum moss: war substitute for cotton in absorbent surgical dressings. *Smithsonian Inst. Ann. Rep.*, 1918:221-231.
- Poter, J. B. - 1917. Sphagnum surgical dressings. *Int. Jour. Surg.*, 30:129-135.
- Roig, & Mesa, J. T. - 1945. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Habana, Ministerio de Agricultura, Servicio de Publicidad y Divulgacion.
- Roque, J. M. - 1941. Flora Medicoguatemalteca. I. Guatemala, La Tipografía Nacional.
- Shiu-Ying, H. - 1945. Medicinal plants of Chengtu herb shops. *Jour. West. China Border Res. Soc. B.*, 15:95-176.
- Thieret, J. W. - 1956. Bryophytes as economic plants. *Econ. Bot.*, Lancaster, Pa, 10(1): 75-91.

(Aceito para publicação em 09.04.1989)