



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

## **POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE MICROALGAS EUCARIÓTICAS**

VIVIAN MARINA GOMES BARBOSA LAGE

SALVADOR, BAHIA

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

## **POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE MICROALGAS EUCARIÓTICAS**

VIVIAN MARINA GOMES BARBOSA LAGE

TESE APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA COMO REQUISITO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA

ORIENTADORA: DRA. SUZANA TELLES DA CUNHA LIMA

CO-ORIENTADORA: DRA. CRISTIANE DE JESUS BARBOSA

SALVADOR, BAHIA

2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lage, Vivian Marina Gomes Barbosa  
Potencial antifúngico de microalgas eucarióticas /  
Vivian Marina Gomes Barbosa Lage. -- Salvador, 2023.  
139 f. : il

Orientadora: Suzana Telles da Cunha Lima.  
Coorientadora: Cristiane de Jesus Barbosa.  
Tese (Doutorado - Programa de Pós Graduação em  
Biotecnologia) -- Universidade Federal da Bahia,  
Instituto de Ciências da Saúde, 2023.

1. Microalgas. 2. Potencial antifúngico. 3.  
Dermatófitos. 4. Fitopatógenos. I. Lima, Suzana Telles  
da Cunha. II. Barbosa, Cristiane de Jesus. III.  
Título.

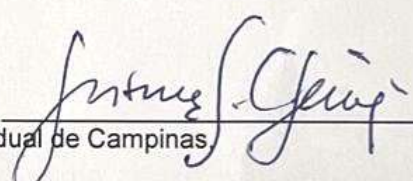
# VIVIAN MARINA GOMES BARBOSA LAGE

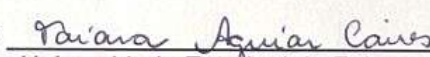
## Potencial Antifúngico de Microalgas Eucarióticas

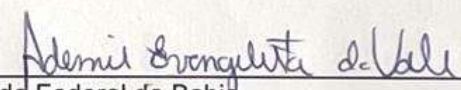
Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia pelo Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

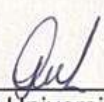
Aprovada em 30 de junho de 2023.

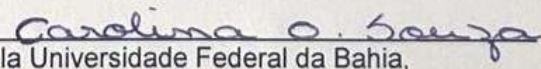
### BANCA EXAMINADORA:

Suzana Telles da Cunha Lima (orientadora)   
Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas,  
UNICAMP, Brasil.  
Universidade Federal da Bahia.

Taiara Aguiar Caires   
Doutora em Botânica pela Universidade Estadual de Feira de Santana,  
UEFS, Brasil.  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Ademir Evangelista do Vale   
Doutor em Química pela Universidade Federal da Bahia,  
UFBA, Brasil.  
Universidade Federal da Bahia.

Denilson de Jesus Assis   
Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal da Bahia,  
UFBA, Brasil.  
Universidade Salvador-UNIFACS

Carolina Oliveira de Souza   
Doutora em Medicina e Saúde pela Universidade Federal da Bahia,  
UFBA, Brasil.  
Universidade Federal da Bahia..

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Fernando e Vilma, que não medem esforços para realização dos meus sonhos. Sem eles, eu nada seria.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pelo dom da vida e por me guiar nessa caminhada.

Aos meus pais, Fernando e Vilma, os responsáveis pela minha formação como profissional e pessoa. Obrigada por serem os meus maiores incentivadores e lutarem comigo pela concretização dos meus sonhos.

À minha irmã Fernanda, por estar sempre ao meu lado, me apoiando em todos os momentos.

Ao meu companheiro Igor, que me incentiva diariamente a correr atrás dos meus objetivos e ser uma pessoa melhor.

As minhas orientadoras, Dras. Suzana Cunha Lima e Cristiane de Jesus Barbosa, que estão comigo desde o mestrado. Obrigada por todos os ensinamentos, paciência e apoio durante essa caminhada. Vocês duas são exemplos de dedicação e amor ao que se faz, sendo a minha maior inspiração como cientista e profissional.

À MSc. Kathleen Deegan, que não mediu esforços para me ajudar, desde os experimentos no laboratório até a plotagem dos gráficos mais complexos. Além de me apresentar o fascinante mundo dos fungos. Sou muito grata a você por tudo.

À Dra. Luciana Veiga Barbosa, por todos ensinamentos e auxílio fornecido no projeto com os fungos fitopatógenos.

Aos meus estagiários, Gabriela, Rebeca e Daniel. Cada um de vocês esteve comigo em diferentes fases do doutorado e me ajudou a chegar até aqui, obrigada!

À toda equipe do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (LABBIOTEC - UFBA), vocês foram mais do que colegas de trabalho, se tornaram grandes amigos e deixaram os meus dias mais leves.

À toda equipe do Laboratório de Fitopatologia do Centro Tecnológico Agropecuário da Bahia (CETAB), obrigada pela parceria e ajuda com os ensaios antifúngicos.

Ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo fornecimento dos isolados de fungos fitopatogênicos utilizados na tese.

À Universidade Federal da Bahia (UFBA) e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBIOTEC), pela oportunidade concedida e suporte ao desenvolvimento do doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelos financiamentos destinados ao suporte e infraestrutura do projeto, através dos editais CNPq/MCTI/FNDCT nº18/2021 e MCTI/FINEP/CT-INFRA 03/2018, respectivamente.

Lage, Vivian Marina Gomes Barbosa. **Potencial antifúngico de microalgas eucarióticas**. 2023. 139 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2023.

## RESUMO

As microalgas constituem um grupo heterogêneo e diverso de microrganismos fotossintetizantes, que integram o fitoplâncton e podem ser encontrados nos mais variados ecossistemas. Devido à capacidade fisiológica adaptativa do grupo, é considerado uma rica fonte de metabólitos secundários biologicamente ativos. Apesar disso, existem poucos trabalhos publicados acerca do potencial antifúngico das microalgas e muitas espécies ainda não foram contempladas. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antifúngico das microalgas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis*. No primeiro capítulo foi realizada uma revisão narrativa da literatura acerca da atividade antifúngica de extratos e compostos de microalgas frente à dermatófitos. No segundo capítulo, o potencial antifúngico dos extratos etanólicos microalgais foi testado contra os dermatófitos *Nannizzia gypsea*, *N. nana*, *Trichophyton mentagrophytes* e *T. tonsurans*. A metodologia utilizada foi a microdiluição em caldo, com intervalo de 0.0115 a 6 mg mL<sup>-1</sup>. Todos os extratos microalgais apresentaram atividade antifúngica, com destaque para os extratos das microalgas *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*, que inibiram totalmente o crescimento de todas as espécies de dermatófitos avaliadas. Os menores valores de CIM registrados foram para os extratos de *D. brasiliensis* e *K. lunaris*, ambos 0.188 mg mL<sup>-1</sup>, contra *T. tonsurans* e *N. nana*. No terceiro capítulo foi realizada uma revisão sistemática da literatura acerca da atividade antifúngica de microalgas frente à fungos fitopatogênicos. No quarto capítulo, os extratos etanólicos das microalgas foram testados contra os fungos fitopatogênicos *Colletotrichum fructicola*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* e *Neoscytalidium dimidiatum*. A metodologia utilizada foi a microdiluição em caldo, com intervalo de 0.0115 a 6 mg mL<sup>-1</sup>. Quatro dos extratos avaliados apresentaram atividade antifúngica (*A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*) contra duas espécies de fungos (*C. fructicola* e *C. gloeosporioides*). Os menores valores de CIM registrados foram para o extrato de *K. lunaris* contra *C. fructicola* (CIM 0.047 mg mL<sup>-1</sup>) e *C. gloeosporioides* (CIM 0.75 mg mL<sup>-1</sup>). Esse foi um trabalho pioneiro acerca da atividade antifúngica destas microalgas. Espera-se que, a partir deste estudo, novas pesquisas poderão ser realizadas direcionadas ao isolamento e identificação destas biomoléculas ativas com propriedade antifúngica. Assim como, no futuro, novos fármacos e biopesticidas possam ser formulados a partir destes extratos e moléculas.

**Palavras-chave:** Microalgas; Potencial antifúngico; Dermatófitos; Fitopatogênicos.



Lage, Vivian Marina Gomes Barbosa. **Antifungal potential of eukaryotic microalgae**. 2023. 139 p. Thesis (PhD in Biotechnology), Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2023.

## ABSTRACT

Microalgae constitute a heterogeneous and diverse group of photosynthesizing microorganisms, which integrate phytoplankton and can be found in the most varied ecosystems. Due to the adaptive physiological capacity of the group, it is considered a rich source of biologically active secondary metabolites. Despite this, there are few published studies on the antifungal potential of microalgae and many species have not yet been contemplated. The aim of this study was to evaluate antifungal potential of the microalgae *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* and *Tetraselmis gracilis*. In the first chapter, a narrative review of the literature on the antifungal activity of extracts and compounds of microalgae against dermatophytes was performed. In the second chapter, the antifungal potential of the ethanolic extracts was tested against the dermatophytes *Nannizzia gypsea*, *N. nana*, *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. The methodology used was broth microdilution, and the range of 0.0115 to 6 mg mL<sup>-1</sup> was tested. All microalgal extracts showed antifungal activity, especially the extracts of the microalgae *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris*, which totally inhibited the growth of all dermatophyte species evaluated. The lowest MIC values recorded were for *D. brasiliensis* and *K. lunaris* (MIC 0.188 mg mL<sup>-1</sup>), against *T. tonsurans* and *N. nana*. In the third chapter, a systematic review of the literature on the antifungal activity of microalgae against phytopathogenic fungi was performed. In the fourth chapter, the ethanolic extracts of the microalgae were tested against the phytopathogenic fungi *Colletotrichum fructicola*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* and *Neoscytalidium dimidiatum*. The methodology used was microdilution in broth, being applied the range of 0.0115 to 6 mg mL<sup>-1</sup>. Four of the extracts evaluated showed antifungal activity (*A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris*) against two species of fungi (*C. fructicola* and *C. gloeosporioides*). The lowest MIC values recorded were for the extract of *K. lunaris* against *C. fructicola* (MIC 0.047 mg mL<sup>-1</sup>) and *C. gloeosporioides* (MIC 0.75 mg mL<sup>-1</sup>). This study is a pioneering work on the antifungal activity of these microalgae, but further research can be carried out directed to the isolation and identification of target biomolecules. As well as, in the future, new drugs and biopesticides may be formulated from these extracts, and molecules.

**Keywords:** Microalgae; Antifungal potential; Dermatophytes; Phytopathogens.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma horizontal do processo de busca e seleção dos artigos .....	39
<b>Figura 2.</b> Frequência absoluta de artigos publicados por ano .....	39
<b>Figura 3.</b> Frequência absoluta de artigos publicados, espécies de algas, de fungos e tipos de extratos testados, por grupo de microalga .....	40
<b>Figura 4.</b> Frequência absoluta de extratos e espécies de microalgas testados por espécie de dermatófito .....	41
<b>Figura 5.</b> Cultivo das microalgas para obtenção de biomassa em fotobiorreator tubular.....	57
<b>Figura 6.</b> Curva de crescimento das microalgas marinhas ( <i>C. neogracilis</i> , <i>D. tertiolecta</i> e <i>T. gracilis</i> ) (a) e dulcícolas ( <i>A. falcatus</i> , <i>D. brasiliensis</i> e <i>K. lunaris</i> ) (b) .....	59
<b>Figura 7.</b> Respostas dos isolados de dermatófitos frente aos extratos etanólicos das microalgas e ao fármaco itraconazol .....	60
<b>Figura 8.</b> Fluxograma do processo de busca e seleção dos artigos .....	75
<b>Figura 9.</b> Frequência absoluta de artigos publicados, espécies de microalgas estudadas e espécies de fungos fitopatógenos submetidas aos ensaios antifúngicos, agrupados por ano de publicação .....	79
<b>Figura 10.</b> Frequência absoluta de artigos distribuídos por país de origem da coleta das microalgas .....	80
<b>Figura 11.</b> Número de espécies de microalgas distribuídos por classificação taxonômica (filo). Escala em cores: nível de organização celular .....	82
<b>Figura 12.</b> Classificação de inibição dos ensaios antifúngicos realizados por táxon (filo) de microalga. Escala em cores: Categorias de classificação da inibição encontrada nos ensaios .....	83
<b>Figura 13.</b> Frequência absoluta de ensaios antifúngicos realizados distribuídos por gênero de fungos fitopatógenos .....	84
<b>Figura 14.</b> Mapa de calor derivado da frequência absoluta de ensaios realizados frente às espécies de fungos fitopatógenos por filo de microalgas .....	85
<b>Figura 15.</b> Frequência em percentual de metodologias testadas .....	86

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Atividade antifúngica de extratos de clorofíceas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado) .....43
- Tabela 2.** Atividade antifúngica de extratos de diatomáceas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado; S.I.: Sem inibição) .....45
- Tabela 3.** Atividade antifúngica de extratos de dinoflagelados sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado) .....48
- Tabela 4.** Atividade antifúngica de extratos de cianobactérias sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado) .....50
- Tabela 5.** Valores de CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), CFM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e razão CFM/CIM dos extratos das microalgas marinhas (*C. neogracilis*, *D. tertiolecta* e *T. gracilis*) frente aos isolados de dermatófitos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungistática (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM. O ponto de corte do itraconazol foi  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Cada isolado foi classificado como resistente (R) ou sensível (S) de acordo com o valor do ponto de corte pré-estabelecido .....61
- Tabela 6.** Valores de CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), CFM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e razão CFM/CIM dos extratos das microalgas dulcícolas (*A. falcatus*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*) frente aos isolados de dermatófitos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungistática (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM. O ponto de corte do itraconazol foi  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Cada isolado foi classificado como resistente (R) ou sensível (S) de acordo com o valor do ponto de corte pré-estabelecido .....62
- Tabela 7.** Valores de CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), CFM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) e razão CFM/CIM do itraconazol frente aos dermatófitos. Atividade fungicida (FC) ou fungistática (FT) foi determinada de acordo com a razão CFM/CIM .....63

**Tabela 8.** Artigos incluídos nessa revisão: dados bibliométricos, local de coleta e classificação taxonômica das microalgas estudadas .....75

**Tabela 9.** Valores de CIM ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), CFM ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) e razão CFM/CIM dos extratos etanólicos das microalgas marinhas frente aos fitopatógenos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungistática (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM .....98

**Tabela 10.** Valores de CIM ( $\text{mg mL}^{-1}$ ), CFM ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) e razão CFM/CIM dos extratos etanólicos das microalgas dulcícolas frente aos fitopatógenos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungistática (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM .....98

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ALCB:** Herbário Alexandre Leal Costa

**ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**BDA:** Ágar Batata Dextrose

**CETAB:** Centro Tecnológico Agropecuário do Estado da Bahia

**CIM:** Concentração Inibitória Mínima

**CFM:** Concentração Fungicida Mínima

**CLSI:** *Clinical & Laboratory Standards Institute*

**DMSO:** Dimetilsulfóxido

**FAPESB:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

**FC:** Fungicida

**FOC:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

**FT:** Fungioestático

**LABBIOTEC:** Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia

**MIC:** *Minimum Inhibitory Concentration*

**MFC:** *Minimum Fungicide Concentration*

**PDA:** *Potato Dextrose Agar*

**SISGEN:** Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

**UFBA:** Universidade Federal da Bahia

**UFC:** Unidade formadora de colônia

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	18
2.1 Microalgas: Uma visão geral.....	18
2.2 Atividades biológicas das microalgas.....	19
2.3 Fungos.....	22
2.3.1 Dermatófitos.....	23
2.3.2 Fungos fitopatógenos.....	25
2.4 Potencial antifúngico das microalgas.....	29
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	34
3.1 Geral.....	34
3.2 Específicos.....	34
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	35
Artigo 1: Atividade biológica das microalgas em dermatófitos – Revisão.....	36
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	54
Artigo 2: Atividade antifúngica de extratos de microalgas eucarióticas em dermatófitos.....	55
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	71
Artigo 3: Atividade antifúngica de microalgas em fungos fitopatógenos – Revisão sistemática.....	72
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	93

Artigo 4: Atividade antifúngica de microalgas em fitopatógenos.....	94
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>104</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>107</b>
<b>6. ANEXOS.....</b>	<b>121</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As microalgas fazem parte de um grupo bastante heterogêneo, composto por organismos unicelulares, microscópicos e fotossintetizantes (IBRAHIM et al., 2023). São parte do fitoplâncton e podem ser encontradas nos mais variados ecossistemas, como ambientes dulcícolas e marinhos, refletindo em uma grande biodiversidade (ARSAD et al., 2022). Cerca de 41.000 espécies já foram descritas e elucidadas, sendo distribuídas em 38 classes (SEXTON & LOMAS, 2018).

Estes organismos são considerados uma rica fonte de metabólitos secundários biologicamente ativos e com potencial aplicação biotecnológica, sendo empregados em diversas áreas como na indústria alimentícia, produção de cosméticos, biocombustíveis, biofertilizantes, defensivos agrícolas e também na produção de fármacos (SATHASIVAM et al., 2019; BARBOSA et al., 2023). Dentro da área farmacológica, diversas substâncias extraídas das microalgas já foram relatadas com atividades biológicas, tais como antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, anticolinesterásica, antibacteriana, antiviral e antifúngica (BASHEER et al., 2020; ZHOU et al., 2022).

Uma grande quantidade de compostos bioativos de microalgas já foi isolada, como ácidos graxos (ácido eicosapentaenoico – EPA, ácido docosahexaenoico – DHA, ácido gama-linolênico – GCA e ácido linoléico – LA), enzimas (superóxido dismutase – SOD, fosfoglicerato quinase – PGK, luciferase, luciferina e enzimas de restrição), polímeros (polissacarídeos, amido, ácido poli-beta-hidroxibutírico – PHB, peptídeos e toxinas), aminoácidos (prolina, arginina, ácido aspártico) e pigmentos (xantofilas, carotenos e ficobiliproteínas) (CHEW et al., 2017; BARKIA et al., 2019). Dentre estes compostos, os pigmentos carotenoides e ficobiliproteínas (em destaque betacaroteno, astaxantina, ficoeritrina e ficocianina) são moléculas com uma ampla aplicação farmacológica, com estudos voltados para o potencial antimicrobiano (BAKER & GUNTER, 2004; BEGUM et al., 2016; STIRK & STADEN, 2022).

Nas últimas décadas, o surgimento de linhagens resistentes à medicamentos antimicrobianos tornou-se uma situação alarmante em todo o mundo (BRADSHAW et al., 2021). Conseqüentemente, este fato levou a um renovado interesse na busca por novos fármacos e tratamentos alternativos, incluindo os biocompostos advindos de microalgas (KHURANA et al., 2019).



Os fungos são um grupo de organismos eucarióticos, heterotróficos e aeróbios amplamente disseminados no meio ambiente (SILVA & MALTA, 2016). Estes, por sua vez, só começaram a ser considerados patógenos humanos a partir de 1970, quando a taxa de infecções fúngicas em pacientes internados em hospitais aumentou, assim como a taxa de mortalidade associada. Este aumento no número de casos de infecções fúngicas foi devido principalmente ao início de terapias que deprimem o sistema imunológico dos pacientes (como os tratamentos de câncer e de AIDS, assim como os transplantes) (PERES et al., 2010). Desde então, a busca por compostos antifúngicos voltados para a área biomédica foi impulsionada.

Fungos fitopatogênicos são organismos que habitam o interior dos tecidos vegetais e, diante de estresses bióticos e abióticos, podem ocasionar doenças em plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular (CHANDRASEKARAN et al., 2016). Estes patógenos podem gerar expressivos prejuízos à produtividade agrícola, segurança alimentar e também ao equilíbrio do ecossistema (LUCHI et al., 2020). O controle destes fungos é realizado convencionalmente através de agrotóxicos, no entanto, além destes gerarem grandes prejuízos à saúde humana e do meio ambiente, nota-se que, com o uso abusivo e indiscriminado, o surgimento de cepas resistentes tem se tornado cada vez mais recorrente (COOLS et al., 2013). Com isso, surge a necessidade de novas alternativas para o controle destas pragas agrícolas, preferencialmente através de bio defensivos.

Estudos com ensaios antifúngicos já foram desenvolvidos a partir de extratos e compostos isolados de microalgas, tanto para fungos voltados para a área de saúde humana como também da saúde vegetal, sendo obtidos resultados promissores para o desenvolvimento de novos fármacos e defensivos naturais (EL-SHEEKH et al., 2015; SCHMID et al., 2022).

Apesar deste grande potencial apresentado, ainda existem poucos estudos acerca da atividade antifúngica das microalgas eucarióticas e muitas espécies ainda não foram contempladas, subestimando este grupo de organismos tão promissores quanto à possibilidade de isolamento de novos compostos bioquimicamente ativos. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial antifúngico das microalgas eucarióticas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros gracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis*.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Microalgas: Uma visão geral**

As microalgas fazem parte de um grupo bastante heterogêneo, sendo um dos primeiros organismos a se desenvolverem nos oceanos há cerca de dois bilhões de anos atrás, quando o ambiente terrestre foi formado (MASOJÍDEK et al., 2013). São microrganismos fotossintetizantes, que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com a luz solar para produzirem variadas formas de energia e biomassa (CALIJURI et al., 2022).

O termo “alga”, apesar de ser comumente empregado, não possui caráter taxonômico, visto que, este não é um grupo monofilético (HEIMANN & HUERLIMANN, 2015). Atualmente esse grupo está distribuído em quatro reinos (Bacteria, Plantae, Chromista e Protozoa), tornando difícil fornecer uma definição precisa e abrangente para estes organismos (BOROWITZKA, 2016). Apesar da classificação ser um assunto que gera muitas discussões, ferramentas da biologia molecular têm contribuído para um maior esclarecimento e novos agrupamentos filogenéticos (LEE et al., 2015). Até o momento, cerca de 41.000 espécies foram descritas e elucidadas, sendo distribuídas em 38 classes (SEXTON & LOMAS, 2018).

Apesar do seu pequeno tamanho, que varia entre 0.2 a 200  $\mu\text{m}$ , as microalgas são altamente eficientes na captura e reciclagem de dióxido de carbono em biomassa, disponibilizando através desse processo bioenergia e outros produtos de valor agregado (CAROPPO & PAGLIARA, 2022). Além disso, a sua biomassa é considerada a base de diversas cadeias tróficas, sendo a sua composição muito rica e variada, podendo-se encontrar nesta carboidratos, lipídeos, pigmentos e proteínas (ZHOU et al., 2022).

Assim como as plantas, as microalgas produzem uma grande variedade de compostos, sendo alguns destes coletivamente referidos como metabólitos secundários, que são compostos sintetizados pelo organismo ao final da primeira fase de crescimento e na fase estacionária (BARKIA et al., 2019). Assim, estes microrganismos possuem uma composição bioquímica diversificada e isso reflete a

natureza de cada espécie, assim como os fatores ambientais relacionados, como a região onde o cultivo foi realizado e o meio de cultura empregado (LOURENÇO, 2006).

Nos últimos anos, o potencial biotecnológico das microalgas tem despertado muito interesse, principalmente devido à crescente identificação das substâncias sintetizadas por estes organismos (RICCIO & LAURITANO, 2020). A grande biodiversidade de microalgas e biomassas obtidas, aliadas ao melhoramento genético e estabelecimento de novas tecnologias de cultivo em larga escala, vêm permitindo que muitas espécies sejam comercialmente utilizadas (BHATTACHARYA & GOSWAMI, 2020). Assim, houve um aumento nos cultivos de microalgas, sendo estes destinados principalmente à produção de biomassa em grande escala, visando à elaboração de alimentos, novos fármacos e a obtenção de compostos naturais com alto valor econômico, como o biodiesel (FERNÁNDEZ et al., 2021).

A possibilidade de cultivar as microalgas em ambientes delimitados, como fotobiorreatores em laboratórios, torna-se um atrativo a mais para o direcionamento de novas pesquisas com esses organismos, tendo em vista que o controle de alguns fatores como pH, salinidade, temperatura e luminosidade podem potencializar a síntese de compostos de interesse comercial (HERNÁNDEZ-PÉREZ & LABBÉ, 2014; JUNIOR et al., 2020). Além disso, as microalgas apresentam inúmeras vantagens no seu cultivo *in vitro*, dentre estas a produção contínua, pequenas áreas ocupadas para cultivo, tempo de geração relativamente curto, alto rendimento e utilização de carbono orgânico e inorgânico como fonte energética (PETER et al., 2022).

## **2.2 Atividades biológicas das microalgas**

As microalgas sintetizam uma grande variedade de compostos e pigmentos bioativos, incluindo os metabólitos secundários (IBRAHIM et al., 2023). Muitos destes apresentam estruturas químicas tão específicas que não são encontradas em outros seres vivos e, muitas vezes, com uma complexidade estrutural que os torna de difícil reprodução em laboratório (ZHOU et al., 2022). Dessa forma, muitos são considerados compostos valiosos e estão relacionados a ácidos graxos poli-insaturados, carotenoides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (DERNER et al., 2006; KIRAN & MOHAN, 2021).

Em função da diversidade e riqueza em compostos bioativos, as microalgas tornaram-se promissoras no ramo da biotecnologia, sendo empregadas em diferentes áreas, tais como indústria alimentícia, produção de cosméticos, biocombustíveis, bioindicadores ambientais, biomedicina, tratamento de patologias e produção de fármacos (BASHEER et al., 2020).

Dentre as diversas aplicações biotecnológicas das microalgas, destaca-se o potencial farmacológico, uma vez que os diversos compostos extraídos revelaram potentes atividades biológicas, como antioxidante (SANSONE & BRUNET, 2019), antibacteriana (DINESHKUMAR et al., 2017), antifúngica (VEHAPI et al., 2018), antiprotozoária (LININGTON et al., 2009), antiviral (TURKMEN & AKYURT, 2021), anti-hipertensiva (MURRAY & FITZGERALD, 2007), anticoagulante (KAMBLE et al., 2013), imunomoduladora (RICCIO & LAURITANO, 2020) e anticancerígena (EL-HACK et al., 2019).

As microalgas são capazes de produzir diversos compostos antioxidantes, uma vez que fazem parte do seu metabolismo em condições naturais (como mecanismo de proteção para reduzir as concentrações de espécies reativas de oxigênio – ROS, resultantes da interação do oxigênio da fotossíntese com a radiação UV) ou também como reação a um estado de estresse (RODRIGUEZ-GARCIA & GUIL-GUERRERO, 2008). Tendo em vista o seu grande potencial antioxidante, diversos estudos foram direcionados a esta finalidade e, dentre os principais compostos extraídos de microalgas que apresentaram a atividade destacam-se as ficobiliproteínas e os carotenoides, como o  $\beta$ -caroteno, a astaxantina, a xantofila e a luteína (GOIRIS et al., 2012; SANSONE & BRUNET, 2019).

Efeitos anticancerígenos e imunomoduladores foram observados a partir de extratos de microalgas. Estudos indicam que essas atividades estão diretamente relacionadas aos efeitos antioxidantes que os compostos microalgais propiciam, tendo em vista que os radicais livres de oxigênio estão relacionados ao processo de iniciação e propagação do câncer. Dentre os compostos isolados que apresentaram tal atividade, destacam-se os carotenoides, as ficobiliproteínas e os ácidos graxos (EL-BACK & EL-BAROTY, 2013; EL-HACK et al., 2019).

Alguns metabólitos presentes na biomassa microalgal, tais como carotenoides, compostos fenólicos, vitaminas antioxidantes, esteróis e ácidos graxos poli-

insaturados, também demonstraram resultados promissores em estudos clínicos relacionados à prevenção de doenças cardiovasculares e derrames (MURRAY & FITZGERALD, 2007; RAPOSO & MORAIS, 2015). Para a atividade anticoagulante, os polissacarídeos sulfatados (SPS) apresentaram resultados positivos nos estudos realizados, sendo superiores quando comparados com a administração de heparina, que é o medicamento padrão para este tratamento (EL-BACK & EL-BAROTY, 2013). Além disso, a ficobiliproteína denominada C-ficocianina isolada de cianobactérias também apresentou potencial atividade anticoagulante (KAMBLE et al., 2013).

Outra atividade biológica das microalgas que vem sendo amplamente explorada é a atividade antimicrobiana (antibacteriana, antifúngica e antiprotozoária). Este destaque ocorre principalmente devido à crescente resistência aos antimicrobianos disponíveis no mercado farmacêutico. Compostos extraídos das microalgas pertencentes a diversas classes químicas, tais como indóis, terpenos, acetogeninas, fenóis, ácidos graxos e hidrocarbonetos halogenados voláteis, se mostraram eficazes na inibição do crescimento microbiano (FALAISE et al., 2016; JENA & SUBUDHI, 2018; ROSALES-MENDOZA et al., 2020). Além disso, as microalgas também apresentam outra importante atividade contra patógenos, a antiviral. Dentre os compostos isolados que apresentaram atividade inibidora do crescimento viral, destacam-se os polissacarídeos, os polifenóis, as lectinas, as ficobiliproteínas e os carotenoides (EL-BACK & EL-BAROTY, 2013; ROSALES-MENDOZA et al., 2020; TURKMEN & AKYURT, 2021).

As microalgas também são utilizadas como fontes nutricionais, uma vez que em sua composição são abundantemente encontrados vitaminas e minerais, tais como: vitamina A, C, B1, B2, B6, iodo, potássio, cálcio, ferro, niacina e magnésio. Dentro deste contexto, são amplamente comercializadas para nutrição humana e animal (TORRES-TIJI et al., 2020). Pesquisas apontam os benefícios atribuídos a ingestão diária destes compostos, via suplementos alimentares, à saúde e o bem-estar humano (LI et al., 2019).

Por todas essas atribuições, na última década as microalgas se tornaram o foco de extensas pesquisas, já que são conhecidas por exibir atividades biológicas promissoras, o que as tornam fonte interessante de potenciais fármacos (SATHASIVAM et al., 2019; IBRAHIM et al., 2023).

## 2.3 Fungos

Os fungos são um grupo de organismos eucarióticos, heterotróficos e aeróbios amplamente disseminados no meio ambiente, com seu surgimento estimado há aproximadamente 450 milhões de anos (SILVA & MALTA, 2016). Estima-se que o Reino Fungi possua de 2,2 a 3,8 milhões de espécies (HAWKSWORTH & LUCKING, 2017), sendo que apenas 150.000 foram descritas e elucidadas (CROUS et al., 2021).

Estes organismos apresentam grande diversidade de formas, ciclos e modo de vida, sendo em sua maioria sapróbios (nutridos a partir da matéria em decomposição), mas também se apresentam como parasitas (de animais, plantas e outros fungos), simbiontes mutualistas (como líquens, micorrizas e associações com animais) e predadores de animais microscópicos (BAHRAM & NETHERWAY, 2022).

Os fungos são organismos de grande interesse biotecnológico, sendo utilizados na produção de alimentos (como os produtos fermentados e bebidas alcoólicas), no processo de biodegradação e tratamento biológico de efluentes, atuando em atividades enzimáticas (na produção de enzimas de interesse industrial e biotransformação), em atividades agrícolas e ecológicas (auxiliando no equilíbrio do ambiente, via decomposição e degradação de substâncias tóxicas) e na indústria farmacêutica (no desenvolvimento de novos fármacos e tratamentos a partir deles) (SILVA & MALTA, 2016; MEYER et al., 2020).

Aproximadamente dois terços das espécies de fungos estabelecem íntimas relações com outros organismos vivos, em relações parasíticas, comensalísticas ou mutualistas (NARANJO-ORTIZ & GABALDÓN, 2019). Os fungos exercem ampla influência na evolução de seus hospedeiros, adaptando-se constantemente às mudanças do genótipo dos hospedeiros para continuar usufruindo da relação obtida, em um processo de coevolução (JOOP & VILCINSKAS, 2016).

Os fungos patogênicos incluem um grande e heterogêneo grupo de organismos, que ocasionam grande impacto principalmente nas áreas da agricultura e saúde (HOFLING & GONÇALVES, 2016). Eles demonstram uma grande diversidade no modo pelo qual interagem com seus hospedeiros, com alguns deles podendo viver por longos períodos em tecidos mortos do hospedeiro ou saprofiticamente no solo, e

outros dependendo exclusivamente das células vivas de seu hospedeiro (NARANJO-ORTIZ & GABALDÓN, 2019).

As interações entre plantas e fungos patogênicos são de amplo interesse para a humanidade, já que a agricultura é um dos pilares da economia mundial e pode sofrer grande impacto em virtude de doenças causadas por estes patógenos (CROUS et al., 2021). Apesar da grande maioria das plantas ser resistente a parasitas, devido ao amplo arranjo de componentes constitutivos de defesa e bloqueio físico da entrada de microrganismos, algumas espécies de plantas cultivadas são susceptíveis a patógenos capazes de causar enormes perdas de produtividade (ANDERSEN et al., 2018). Tendo em vista esse cenário, a busca por novos fármacos com atividade antifúngica tem se tornado cada vez mais ampla no mercado agrícola.

O reino animal é amplamente infectado por fungos, sendo que, cerca de 625 espécies de fungos já foram relatadas como parasitas de animais vertebrados (FISHER et al., 2020). Essas infecções geralmente ocasionam micoses, hipersensibilidades, micotoxicoses e micetismos (SIDRIM & ROCHA, 2004). Nas últimas décadas, o advento de terapias imunossupressivas e o surgimento de infecções retrovirais, em humanos e animais, foram decisivas para o crescimento de doenças oportunistas, em sua maior parte fúngicas (GNAT et al., 2021).

Em humanos, menos de 1% das espécies de fungos já catalogadas ocasionam infecções com relevância clínica (KOHLENER et al., 2017). O desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos se faz necessário devido aos casos de infecções fúngicas oportunistas a imunossuprimidos, isso porque, um sistema imunológico intacto consegue impedir que a infecção fúngica ocorra na maioria dos casos, entretanto, em organismos imunossuprimidos essa proteção não é tão eficaz (ROKAS, 2022).

### **2.3.1 Dermatofitos**

A dermatofitose, também conhecida como tinea, é uma doença ocasionada por fungos filamentosos denominados dermatofitos (KHURANA et al., 2019). Estes microrganismos possuem um biotropismo especial por tecidos de estruturas queratinizadas, infectando principalmente a pele, os pelos e as unhas (PIHET & GOVIC, 2016).

Os dermatófitos pertencem ao filo Ascomycota e estão distribuídos em nove gêneros, sendo estes *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Arthroderma*, *Lopophyton*, *Nannizia*, *Ctenomyces*, *Guarromyces* e *Paraphyton* (HOOG et al., 2017). Atualmente, cerca de 50 espécies de dermatófitos já foram identificadas, sendo que as principais causadoras da dermatofitose humana são *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *E. floccosum* e *M. canis* (MERCER & STEWART, 2019).

As espécies de dermatófitos podem ser divididas em zoofílicas, antropofílicas e geofílicas, dependendo de seu habitat primário (animais, humanos ou solos, respectivamente) (AL-JANABI & AL-KHIKANI, 2020). As espécies classificadas como zoofílicas são responsáveis por cerca de 30% dos casos de dermatofitoses em humanos e geralmente ocasionam uma inflamação aguda, enquanto que as antropofílicas representam cerca de 70% dos casos nestes hospedeiros e causam uma infecção crônica e de progressão lenta, sugerindo que o fungo esteja mais adaptado ao hospedeiro humano (WHITE et al., 2008; BURSTEIN et al., 2020).

A transmissão das dermatofitoses pode ocorrer através do contato direto com animais ou humanos infectados e indiretamente via fômites contaminados (PERES et al., 2010). O grau de virulência desses patógenos está associado à presença de enzimas queratinolíticas (degradadoras de queratina) em sua composição, essas por sua vez incluem proteases e peptidases, sendo essenciais para sua capacidade de infectar tecidos queratinosos (MERCER & STEWART, 2019).

As formas clínicas da doença variam de acordo com o agente etiológico e o sítio anatômico acometido (GUPTA & TU, 2006). Os sintomas são na maioria dos casos caracterizados por lesões circulares, eritematosas e pruriginosas localizadas na pele, nos pelos e nas unhas, consequentes da ação direta do fungo ou de reações aos seus produtos metabólicos (AL-JANABI & AL-KHIKANI, 2020). Geralmente as infecções são superficiais e não acometem órgãos internos ou tecidos subcutâneos, mas em pacientes imunodeprimidos estes fungos podem se comportar de maneira invasiva, ocasionando uma infecção profunda e disseminada (BURSTEIN et al., 2020).

A dermatofitose é considerada uma das doenças mais comuns entre humanos e animais, além de possuir um amplo potencial de contaminação. Por isso, é associada como um problema de saúde pública, onde os esforços são concentrados em medidas de prevenção da difusão da doença, tanto entre animais quanto entre humanos



(MEDEIROS et al., 2009). O surgimento de dermatofitoses resistentes nos últimos anos tornou-se uma situação alarmante em todo o mundo. Conseqüentemente, este fato levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes parasitas, principalmente para a busca de novos fármacos e tratamentos alternativos direcionados para estes organismos resistentes (KHURANA et al., 2019). Embora geralmente a doença seja estritamente superficial e não resulte em quadros clínicos graves, essas infecções não devem ser negligenciadas, pois podem afetar a qualidade de vida dos pacientes (PIHET & GOVIC, 2016).

### **2.3.2 Fungos fitopatógenos**

Os fungos fitopatogênicos são um grupo de fungos que habitam o interior dos tecidos vegetais, assim como os endofíticos (LI et al., 2020). Estes, por sua vez, colonizam o interior das plantas, mas geralmente não ocasionam danos ao hospedeiro, formando em muitos casos associações mutualísticas (YAN et al., 2019). Por outro lado, os fungos fitopatogênicos diante de estresses bióticos e abióticos, tornam-se patógenos e ocasionam doenças em plantas por meio de distúrbios em seu metabolismo celular (BOMFIM et al., 2013).

O mecanismo de ação dos fungos fitopatogênicos sobre as plantas funciona de acordo com o estado fisiológico do vegetal e o estágio de interação com o hospedeiro (STROBEL et al., 2004). Após a infecção, os agentes etiológicos de origem fúngica podem secretar metabólitos, dentre eles, enzimas que irão auxiliar na colonização degradando celulose, açúcares, gorduras e proteínas que serão transformados em fonte energética e, desta forma, torna-se possível o crescimento e a reprodução fúngica dentro do hospedeiro (CALIGIORNE et al., 2010). Os metabólitos que são degradados e utilizados pelo fungo seriam convertidos em fonte de energia para a planta hospedeira, sendo essa perda prejudicial à integridade do vegetal, levando em algum momento ao surgimento de sintomas específicos da doença e, dependendo da patogenicidade, a morte da planta (JADHAV et al., 2017).

Os fungos fitopatogênicos podem ser classificados de acordo com a natureza de sua interação trófica com o seu hospedeiro, sendo três tipos: necrotrofia, biotrofia e hemibiotrofia (PRÉCIGOUT et al., 2020). Patógenos necrotróficos são aqueles que

matam o tecido do hospedeiro antes de serem capazes de explorá-lo como recurso, eles apenas crescem e esporulam em tecido morto (HORBACH et al., 2011; JADHAV et al., 2017). Em contraste, os patógenos biotróficos necessitam do tecido vivo do hospedeiro para sobreviver e se alimentam através de estruturas tróficas especializadas, onde extraem os nutrientes diretamente do citoplasma de células vivas através de uma matriz extracelular especializada (MENDGEN & HAHN, 2002; GARNICA et al., 2014). Patógenos hemibiotróficos são inicialmente biotróficos (geralmente durante o estágio de crescimento somático) e depois passam a ser necrotróficos (geralmente na fase de produção de esporos) (LEE & ROSE, 2010). Além destes três grupos tróficos, há também os saprotróficos, que são os fungos que se alimentam do tecido do hospedeiro já morto (PRÉCIGOUT et al., 2020). No entanto, por estabelecerem a relação após a morte do vegetal, eles não podem ser considerados patógenos, mas sim detritívoros ou necrófagos.

As doenças ocasionadas por fitopatógenos ocasionam perdas significativas na produção de diversas culturas agrícolas, gerando grandes prejuízos econômicos (COSTA et al. 2019). Apesar das realizações notáveis no desenvolvimento de pesticidas químicos, tecnologias de melhoramento genético de plantas, diferentes práticas de culturas agrícolas e estratégias de gestão para o controle de fitopatógenos, ainda assim, as perdas ocasionadas por fitopatógenos continuam sendo um fator limitante na produção agrícola, até mesmo em países desenvolvidos (KHAN et al., 2020). Estima-se que os fitopatógenos resultem em uma perda anual estimada entre 10 a 15% da produção agrícola mundial, com perdas econômicas equivalentes a centenas de bilhões de dólares (CHATTERJEE et al., 2016). Desse percentual, 70 a 80% são atribuídos aos fungos fitopatógenos (PENG et al., 2021).

Estima-se que existam cerca de 600.000 fungos associados a plantas terrestres no mundo, de acordo com Schmit & Mueller (2007). Esta estimativa é baseada na proporção de duas espécies de fungos para cada espécie de planta terrestre, supondo-se que existam cerca de 300.000 destas. No Brasil, de acordo com a Base de Dados da Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia (2009), foram registradas 6.903 espécies de fungos associados a plantas e, dentre estes, organismos patogênicos.

Atualmente, são conhecidas cerca de 800 espécies de fungos que ocasionam doenças em vegetais (BOMFIM, 2015). Algumas destas espécies possuem destaque por atingirem importantes culturas agrícolas e gerarem grandes perdas econômicas, como os fungos pertencentes aos gêneros *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp. e *Neoscytalidium* sp. (MA et al., 2013; DE SILVA et al., 2017).

O gênero *Fusarium* é composto por fungos ascomicetos filamentosos, o qual inclui muitos patógenos de plantas e está distribuído mundialmente (SUMMERELL, 2019). Coletivamente, as doenças ocasionadas por *Fusarium* sp. em plantas incluem murcha, ferrugem, podridão e cancro de diferentes tecidos vegetais, podendo estar presentes em ecossistemas agrícolas ou naturais (MA et al., 2013). O fungo também produz uma matriz diversificada de metabólitos secundários tóxicos (micotoxinas), que podem contaminar os produtos agrícolas e torná-los impróprios para o consumo e a alimentação (RAI et al., 2019). Além disso, a doença fusariose também pode ocorrer em humanos e outros animais, apesar de ser considerada relativamente rara e acometer principalmente indivíduos imunocomprometidos (DIGNANI & ANAISSIE, 2004).

Estima-se que existam cerca de 200 espécies do gênero *Fusarium*, sendo estas encontradas principalmente nos solos (AL-HATMI et al., 2016). Estes fungos acometem importantes culturas agrícolas, como tomate, algodão, trigo, arroz, milho e banana, gerando grandes perdas na produção (SUMMERELL, 2019). A “murcha de *Fusarium*” ou “doença do Panamá” é ocasionada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), sendo uma das mais destrutivas para a cultura da banana no mundo (WARMAN & AITKEN, 2018). Os clamidósporos deste patógeno podem permanecer dormentes e viáveis por até 40 anos no solo, até a presença de um hospedeiro viável (DJOHAN et al., 2020). O fungo é capaz de infectar todas as fases do desenvolvimento da banana, com sintomas que incluem murcha e amarelamento das folhas, descoloração do tecido vascular, necrose no rizoma e morte da planta (ROCHA et al., 2020; WU et al., 2021).

O gênero *Colletotrichum* é composto por um grupo altamente diversificado de fungos que infectam diversos hospedeiros vegetais, além de humanos e animais (HYDE et al., 2009). Dentre as diversas doenças ocasionadas em plantas, a de maior destaque e impacto econômico é a antracnose (SILVA et al., 2020). Os sintomas da

antracnose incluem lesões necróticas limitadas em folhas, caules, flores e frutos, além de podridão da coroa e do caule e ferrugem das mudas (CANNON et al., 2012). Entre as principais culturas afetadas, destacam-se a mandioca, o milho, a soja, o feijão e o sorgo (CANNON et al., 2012). Esse patógeno está distribuído principalmente em áreas tropicais e subtropicais, embora existam espécies de alto perfil afetando culturas temperadas (HYDE et al., 2009). *Colletotrichum* spp. foi eleito o oitavo grupo mais importante de fungos fitopatogênicos do mundo, com base em dados científicos e importância econômica (DEAN et al., 2012).

As espécies *Colletotrichum fructicola* e *C. gloeosporioides* atualmente fazem parte do complexo de espécies denominado *Colletotrichum gloeosporioides*, no qual estão inclusas 22 espécies e uma subespécie, sendo definido geneticamente com base em um clado fortemente sustentado pelo gene *Colletotrichum* ITS (WEIR et al., 2012). O complexo *C. gloeosporioides* é considerado o principal agente causal da antracnose, sendo associado à patologia de pelo menos 1.000 espécies de plantas (DOWLING et al., 2020). Para a mandioca, a antracnose é considerada uma das doenças mais destrutivas da cultura, sendo o complexo de espécies *C. gloeosporioides* o principal agente etiológico associado (OLIVEIRA et al., 2020).

O gênero *Neoscytalidium* é composto por fungos ascomicetos filamentosos, que ocasionam patologias em diversas culturas agrícolas e também doenças de pele em humanos e animais (HUANG et al., 2016). Estes fungos são endêmicos de áreas tropicais e subtropicais, como América do Sul, Austrália, Ásia e África, mas possuem relatos em outras regiões (MADRID et al., 2009).

*Neoscytalidium dimidiatum* é um fungo demáceo, ou seja, que apresenta melanina em sua composição, apresentando assim pigmentação escurecida em seus esporos e conídios (SOUZA, 2020). *N. dimidiatum* afeta importantes culturas agrícolas, como a da mandioca, do tomate, da manga e da pitaya, gerando significativas perdas econômicas (MARQUES et al., 2013; BRITO et al., 2020; YI et al., 2015; TURKOLMEZ et al., 2019). O principal sintoma gerado pelo fungo é a podridão dos tecidos vegetais, com lesões de coloração escurecida associadas (SOUZA, 2020). Para a cultura da mandioca, *N. dimidiatum* ocasiona duas importantes doenças, a “Podridão Negra da Raiz” e a “Podridão Seca do Caule”,

ambas comprometem a qualidade da mandioca e reduzem a produtividade das colheitas (BRITO et al., 2020).

O uso indiscriminado de agrotóxicos tem sido o padrão de controle de pragas em diversas culturas agrícolas no Brasil e no mundo (NUNES et al., 2021). Com isso, além de diversos prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana, também tem sido observado o aumento de biotipos resistentes a estes pesticidas (CARVALHO, 2017). Diante deste cenário, têm crescido a busca por uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos através da substituição destes por defensivos agrícolas naturais, também denominados como biopesticidas (KUMAR et al., 2021). Os biopesticidas possuem atuação semelhante aos agrotóxicos, mas são produtos originários de outros organismos vivos, como plantas, animais e microrganismos, podendo ser compostos por todo o organismo ou moléculas isoladas a partir destes (COSTA et al. 2019). Dentre os organismos já estudados com potencial atividade no controle de fitopatógenos, as microalgas possuem destaque por já terem apresentado atividade antifúngica, antibacteriana e antiviral contra importantes patógenos da agricultura (VEHAPI et al., 2018; TERRA et al., 2019; TORIBIO et al., 2021).

#### **2.4 Potencial antifúngico das microalgas**

A busca por compostos bioativos com propriedades antifúngicas entre as microalgas iniciou mais tarde do que a triagem por compostos com atividade antibacteriana (FALAISE et al., 2016). Esta busca tardia está ligada ao fato de que os fungos só começaram a ser considerados patógenos humanos na década de 70, quando a taxa de infecções fúngicas em pacientes internados em hospitais aumentou, assim como a taxa de mortalidade associada. Este aumento no número de casos de infecções fúngicas foi devido principalmente ao início de terapias que deprimem o sistema imunológico dos pacientes, como tratamento do câncer, de AIDS e a expansão dos programas de transplantes de órgãos (PERES et al., 2010).

Nos últimos anos, o surgimento de fungos resistentes a fármacos tornou-se uma situação alarmante em todo o mundo (BRADSHAW et al., 2021). Conseqüentemente, este fato levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes patógenos, principalmente para a busca por novos medicamentos e tratamentos

alternativos (KHURANA et al., 2019; AL-JANABI & AL-KHIKANI, 2020). Paralelo a isso, o uso contínuo de defensivos agrícolas no controle de pragas também foi associado ao aumento do número de cepas resistentes. Somatizado aos impactos gerados à saúde humana e ao meio ambiente, houve um aumento da busca por novas alternativas mais sustentáveis (CARVALHO, 2017).

Os fungos secretam uma variedade de compostos que têm efeitos abrangentes em seus hospedeiros, variando desde toxinas e carcinógenos à compostos benéficos, como o biocombustível etanol e o fármaco penicilina (BALL et al., 2019). Diversas pesquisas realizadas nos últimos 50 anos se concentram na identificação dos genes relacionados aos produtos secretados pelos fungos e sua virulência associada (BRADSHAW et al., 2021). Avanços recentes no mecanismo de funcionamento dos sistemas de secreção dos fungos patógenos impactam diretamente no conhecimento da interação patógeno-hospedeiro e, também, na busca biotecnológica por novos compostos com potencial inibidor dos fungos (BIELSKA & MAY, 2019).

Dentro desse cenário, os produtos de origem natural são considerados a maior aposta para o controle fúngico e, dentre eles, as microalgas recebem destaque por sua rica composição em metabólitos secundários biologicamente ativos e suas diversas propriedades biológicas já registradas (SATHASIVAM et al., 2019).

O potencial antifúngico, assim como as outras atividades biocidas das microalgas, é atribuído aos seus metabólitos secundários, sendo estes uma variedade de compostos bioativos, como: fenólicos, polifenóis, tocoferóis, carboidratos, proteínas, óleos, saponinas, aleloquímicos, peptídeos ricos em nitrogênio e sesquiterpenos (COSTA et al., 2019). Estes compostos atuam por meio de diferentes formas como modificações estruturais e funcionais, inativação de enzimas, ruptura da membrana citoplasmática e inibição da síntese de proteínas nos microrganismos alvo (SWAIN et al., 2017; RENUKA et al., 2018).

Na agricultura, o potencial antifúngico das microalgas tem sido estudado para o desenvolvimento de biopesticidas. Apesar de inovador, por ser ecologicamente correto e poder substituir os agrotóxicos, e promissor, pelo amplo potencial biocida que as microalgas oferecem, ainda assim, esse mercado é pouco explorado (COSTA et al., 2019). Isso porque, o metabolismo das microalgas e as rotas de produção para

seus metabólitos ainda são pouco elucidados, assim como os mecanismos de interação microalga-planta (RENUKA et al., 2018).

Poucas espécies de microalgas foram avaliadas quanto ao seu potencial antifúngico frente a fitopatógenos, tendo também algumas moléculas que registraram atividade já isoladas. A cianobactéria *Nostoc* sp. é um exemplo de microalga que teve um composto isolado, sendo este um sipeptídeo que foi denominado “criptoficina”, o qual registrou atividade antiproliferativa e antimitótica, bloqueando o ciclo celular durante a metáfase de fungos e leveduras, principalmente do gênero *Cryptococcus* (BIONDI et al., 2004).

Dentre as clorófitas que já registraram atividade, o gênero *Chlorella* se destaca por ter apresentado amplo potencial antifúngico contra importantes fitopatógenos como *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* (VEHAPI et al., 2018; OZCIMEN, 2018). Entre as diatomáceas, o extrato hexânico de *Navicula arenaria* apresentou potencial antifúngico contra dois fitopatógenos, *Macrophomina phaseolina* (CIM: 1.4 mg/mL) e *Fusarium oxysporum* (CIM: 5.6 mg/mL) (ALALLAF et al., 2021). As cianobactérias *Nostoc oryzae*, *Tolypothrix ceytonica* e *Arthrospira platensis* também já tiveram seu potencial antifúngico registrado contra os fitopatógenos *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Fusarium moniliforme* (ABEDIN & TAHA, 2008).

Na indústria farmacêutica, tanto para área da saúde humana quanto da veterinária, as microalgas têm sido amplamente estudadas quanto ao seu potencial antifúngico (DEWI et al., 2018). As infecções fúngicas em humanos e animais podem ocasionar patologias em diversos órgãos, como pele, pulmões, genitais, cérebro e até generalizada, por isso são consideradas um problema para a saúde pública (LOCKHART & GUARNER, 2019). Os gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* e *Pneumocystis* são responsáveis por mais de 90% de todas as mortes relacionadas a fungos, a maioria delas em indivíduos imunodeprimidos (BROWN et al., 2012). Para infecções superficiais de pele, unhas e cabelos, os principais agentes etiológicos são os dermatófitos (KHURANA et al., 2019).

O tratamento de infecções fúngicas se tornou cada vez mais complicado devido ao aparecimento de cepas resistentes (TORTORA et al., 2005). Os fungos podem desenvolver resistência a vários fármacos antifúngicos da mesma classe (resistência cruzada) e também resistência a fármacos de diferentes classes (SANGLARD, 2016).

Por isso, a busca por fármacos e tratamentos alternativos aumentou e, dentre os principais compostos estudados, as microalgas se destacam devido ao seu amplo potencial biocida (FALAISE et al., 2016).

Dentre as microalgas, diferentes grupos já tiveram atividade antifúngica registrada contra patógenos de humanos e animais (DEWI et al., 2018). Para as clorofíceas, os gêneros *Chlorella* e *Scenedesmus* têm sido os mais estudados, com atividade fungicida registrada contra importantes cepas fúngicas como *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Penicillium herquei*, *Fusarium moniliforme* e *Saccharomyces cerevisiae* (GHASEMI et al., 2007; ABEDIN & TAHA, 2008). Dentre as microalgas vermelhas, a atividade antifúngica ainda é pouco explorada, mas já existem registros como o gênero *Porphyridium*, no qual as ficobiliproteínas isoladas apresentaram atividade contra *C. albicans* (CIM de 2,1 mg/ml), assim como os exopolissacarídeos isolados do gênero *Rhodella* (CIM de 1,0 mg/ml) (NAJDENSKI et al., 2013).

Para as diatomáceas, o gênero *Chaetoceros* se destaca por já ter registrado um grande potencial fungicida contra importantes espécies tais como *A. niger*, *C. galbrata*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. neoformans*, *Nannizzia nana*, *Trichophyton rubrum* e *T. mentagrophytes* (VISO et al., 1987; WALTER & MAHESH, 2000; MENDIOLA et al., 2008). Dentre os dinoflagelados, diversas toxinas já foram isoladas apresentando grande potencial antifúngico. Dentre as toxinas fungicidas já isoladas tem-se os “ácidos gambiêrdicos” do dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus* que apresentaram atividade contra *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. oryzae*, *Epidermophyton floccosum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *P. citrinum* e *Trichophyton mentagrophytes* (NAGAI et al., 1993), além dos compostos polioid, denominados “karatungiols A e B”, isolados a partir de *Amphidinium* sp. que inibiram o fungo *A. niger* (WASHIDA et al., 2006).

As cianobactérias são um dos grupos de microalgas mais explorados quanto ao seu potencial antifúngico na biomedicina, com diversas espécies já elucidadas e compostos isolados (SHISHIDO et al., 2015). Por exemplo, um novo composto antifúngico foi isolado a partir da cianobactéria *Fischerella* sp., sendo denominado “parsiguina”, que inibiu o crescimento de *Candida krusei* com CIM de 20 µg/mL (GHASEMI et al., 2004). Os gêneros *Nostoc* e *Spirulina* são um dos mais estudados dentre as cianobactérias, com atividade fungicida registrada contra importantes



fungos como *A. fumigatus*, *A. flavus*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. albidus* e *Filobasidiella neoformans* (OZDEMIR et al., 2004; VESTOLA et al., 2014; SHISHIDO et al., 2015).

Em comparação com os potenciais antivirais e antibacterianos das microalgas, menos pesquisas foram realizadas sobre os compostos antifúngicos (FALAISE et al., 2016; DEWI et al., 2018). Esta área pouco explorada possui grande potencial e muitas espécies ainda não contempladas. É necessário não só a realização de testes com outras espécies de microalgas como também aumentar o conhecimento acerca das condições de cultura, metodologias de extração e solventes utilizados. Trabalhos nessa área irão propiciar o desenvolvimento de novos fármacos e biopesticidas para suprir a demanda ocasionada pelas cepas de fungos resistentes.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o potencial antifúngico dos extratos etanólicos das microalgas eucarióticas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis*.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Realizar uma revisão de literatura acerca da atividade antifúngica das microalgas em fungos dermatófitos;
- Avaliar o potencial antifúngico dos extratos etanólicos das microalgas em fungos dermatófitos através da metodologia de microdiluição em caldo;
- Realizar uma revisão de literatura acerca da atividade antifúngica das microalgas em fungos fitopatógenos;
- Avaliar o potencial antifúngico dos extratos etanólicos das microalgas em fungos fitopatógenos através da metodologia de microdiluição em caldo.

## **CAPÍTULO 1**

### **ARTIGO: ATIVIDADE BIOLÓGICA DAS MICROALGAS EM DERMATÓFITOS - REVISÃO**

# ARTIGO 1: ATIVIDADE BIOLÓGICA DAS MICROALGAS EM DERMATÓFITOS - REVISÃO

Artigo publicado: *Research, Society and Development* (2022), 11:11, e126111133404.

DOI: 10.33448/rsd-v11i11.33404.

**Atividade biológica das microalgas em dermatófitos: Revisão**

**Biological activity of microalgae in dermatophytes: Review**

**Actividad biológica de microalgas frente a dermatofitos: Revisión**

**Vivian Marina Gomes Barbosa Lage**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9879-8548>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: [vivianmarina@hotmail.com](mailto:vivianmarina@hotmail.com)

**Kathleen Ramos Deegan**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5466-3040>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: [kathdeegan@msn.com](mailto:kathdeegan@msn.com)

**Gabriela Fontes Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6989-6819>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: [gabbfontes@outlook.com](mailto:gabbfontes@outlook.com)

**Cristiane de Jesus Barbosa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-6588>

Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasil

E-mail: [cristiane.barbosa@embrapa.br](mailto:cristiane.barbosa@embrapa.br)

**Suzana Telles da Cunha Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9099-324X>

Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: [stcunhalima@ufba.br](mailto:stcunhalima@ufba.br)

## Resumo

As microalgas são consideradas uma rica fonte de metabólitos biologicamente ativos com potencial uso farmacológico. Na indústria farmacêutica, extratos microalgais se destacam por apresentarem importantes atividades biológicas, como a antifúngica. As dermatofitoses são micoses cutâneas ocasionadas por fungos denominados dermatófitos, microrganismos que possuem um biotropismo especial por tecidos queratinizados. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca da atividade biológica de extratos e compostos das microalgas em fungos dermatófitos. Trata-se de uma revisão narrativa da literatura, realizada nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e Google Scholar. Após a busca, foram selecionados 18 artigos publicados entre os anos de 1960 e 2021, nos idiomas inglês e francês. Quatro grupos de microalgas já foram explorados quanto à atividade antifúngica: clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias, totalizando 40 espécies de microalgas já testadas em 19 espécies de dermatófitos. As diatomáceas e cianobactérias possuem o maior número de testes realizados contra dermatófitos. As espécies de dermatófitos mais testadas foram o *T. rubrum* e o *T. menthagrophytes*. Os extratos de *S. platensis*, *C. Braunii*, *T. nodosa* e *T. tenuis* e os compostos isolados das espécies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* e *Amphidinium* sp. apresentaram maior atividade inibitória. A falta de padronização dos testes e o potencial antifúngico das microalgas já registrado para os dermatófitos, encoraja a realização de novos estudos para contemplar a grande biodiversidade e testar o efeito sinérgico aditivo com drogas comerciais.

**Palavras-chave:** Microalgas; Bioextratos; Dermatofitoses; Atividade antifúngica.

## Abstract

Microalgae are considered a rich source of biologically active metabolites with potential pharmacological use. In the pharmaceutical industry, microalgae extracts are found to present important biological activities, such as antifungal. Dermatophytosis are cutaneous mycoses caused by fungi called dermatophytes, microorganisms that have a special biotropism for keratinized tissues. The aim of this work was to conduct a literature review on the biological activity of microalgae extracts and compounds in dermatophyte fungi. This is a narrative review of the literature, carried out in the databases PubMed, LILACS, SciELO and Google Scholar. After search, eighteen articles published between 1960 and 2021, in English and French, were selected. Four groups of microalgae have already been explored for their antifungal activity: chlorophytes, diatoms, dinoflagellates and cyanobacteria, totaling 40 species of microalgae already tested in 19 species of dermatophytes. Diatoms and cyanobacteria have the largest number of tests performed against dermatophytes. The most tested species of dermatophytes are *T. rubrum* and *T. menthagrophytes*. The extracts of *S. platensis*, *C. Braunii*, *T. nodosa* and *T. tenuis* and the compounds isolated from the dinoflagellates *Goniodoma* sp., *G. toxicus* and *Amphidinium* sp. have the greatest inhibitory activity. The lack of standardization of tests and the antifungal activity of microalgae extracts already registered for dermatophytes encourages the carrying out of new studies to contemplate the great biodiversity and test the synergistic effect with commercial antifungals.

**Keywords:** Microalgae; Bioextracts; Dermatophytosis; Antifungal activity.

## Resumen

Las microalgas se presentan como una fuente valiosa de metabolitos biológicamente activos, con potencial uso farmacológico. En la industria farmacéutica, los extractos de microalgas se han destacado por sus importantes actividades biológicas, incluso la actividad antifúngica. Las dermatofitosis son micosis cutáneas causadas por hongos denominados dermatofitos, microorganismo que presenta biotropismo para los tejidos queratinizados. El objetivo de este trabajo consiste en generar una revisión bibliográfica respecto la actividad biológica de extractos y compuestos de microalgas frente a hongos dermatofitos. Consiste en una revisión narrativa de la literatura, en que se ha utilizado los portales web y bases de datos de PubMed, LILACS, SciELO y Google Scholar. Tras la búsqueda, se han seleccionado 18 artículos publicados entre los años 1960 y 2021, en inglés y francés. Se han evaluado cuatro grupos de microalgas respecto a su actividad antifúngica: clorofitas, diatomeas, dinoflagelados y cianobacterias, totalizando 40 especies de microalgas probadas contra 19 especies de dermatofitos. Las diatomeas y las cianobacterias tienen el mayor número de pruebas realizadas contra los dermatofitos. Las especies de dermatofitos más estudiadas han sido *T. rubrum* y *T. menthagrophytes*. Los extractos obtenidos de *S. platensis*, *C. braunii*, *T. nodosa* y *T. tenuis* han mostrado una mayor actividad inhibitoria en los hongos estudiados, además de compuestos aislados de las especies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* y *Amphidinium* sp.. La falta de estandarización de las pruebas y el hecho de que ya se hayan identificado las actividades antifúngicas de las especies de microalgas para el control de los dermatofitos, anima a realizar más estudios centrados en la biodiversidad y el efecto sinérgico con los fármacos comerciales.

**Palabras clave:** Microalgas; Bioextractos; Dermatofitosis; Actividad antifúngica.

## 1. Introdução

As microalgas são microrganismos fotossintezantes que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com a luz solar para produzirem variadas formas de energia e biomassa (Rizwan, et al., 2018). São consideradas uma rica fonte de metabólitos biologicamente ativos e com potencial aplicação biotecnológica, sendo empregadas na indústria alimentícia, produção de cosméticos e fármacos, biocombustíveis, bioindicadores ambientais, biorremediações e biomedicina (Sathasivam, et al., 2019). Dentro da área farmacológica, diversas substâncias extraídas das microalgas já foram relatadas desempenhando atividades biológicas, como antitumoral, antioxidante, imunomoduladora, anti-hipertensiva, antibacteriana, antiviral e antifúngica (Kiran & Mohan, 2021).

Nos últimos anos, o surgimento de fungos resistentes a fármacos tornou-se uma situação alarmante em todo o mundo (Khurana, et al., 2019). Consequentemente, este fato levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes patógenos, principalmente para a busca por novos medicamentos e tratamentos alternativos (Al-Janabi & Al-Khikani, 2020). Nessa busca, os produtos naturais são considerados a maior aposta e, dentre eles,

os extraídos das microalgas recebem destaque por sua rica composição em metabólitos secundários biologicamente ativos e suas diversas propriedades biológicas já registradas (Falaise, et al., 2016).

A dermatofitose, também conhecida como tinea, é uma doença causada por fungos filamentosos denominados dermatófitos (Burstein, et al., 2020). Estes microrganismos possuem um biotropismo especial por tecidos de estruturas queratinizadas, infectando principalmente a pele, os pelos e as unhas (Peres, et al., 2010). É considerada uma das doenças mais comuns entre humanos e animais, além de possuir uma ampla disseminação zoonótica, principalmente devido ao relacionamento estreito do ser humano com os animais domésticos (Al-Janabi & Al-Khikani, 2020). O aumento do número de cepas de dermatófitos resistentes nos últimos anos levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes parasitas, principalmente para a busca de novos fármacos e tratamentos alternativos (Khurana, et al., 2019).

A presente revisão de literatura serve como referência sobre os estudos que avaliaram a atividade biológica de extratos e compostos de microalgas em fungos dermatófitos.

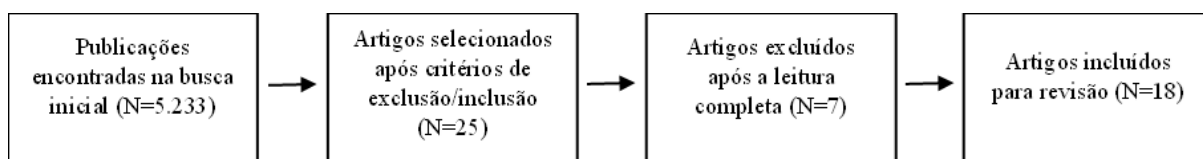
## 2. Metodologia

O presente artigo é uma revisão narrativa (RN), onde é construído um resumo da literatura acerca de determinado tema visando a descrição do estado da arte sob o ponto de vista teórico ou contextual (Horsley, 2019). A RN é uma forma não sistemática de revisar a literatura, sendo um processo mais simplificado e com a possibilidade de abordar um tema de forma livre, sob a ótica e análise crítica dos autores (Casarin, et al., 2020). Para isso, foram seguidos os critérios de construção de uma RN propostos por Roman e colaboradores (2017).

Nesta revisão, o tema em questão foi a atividade antifúngica de extratos e compostos de microalgas sob espécies de dermatófitos, sendo realizada a partir da busca por artigos científicos relacionados ao assunto. As buscas foram conduzidas nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e Google Scholar. O corte temporal empregado foi de janeiro de 1960 a dezembro de 2021. A estratégia de busca foi igual em todas as bases de dados. As palavras-chave foram pesquisadas nos idiomas português, inglês, espanhol e francês. Os descritores e termos consultados nas buscas foram: Microalga/ Microalgae/ Microalgas/ Microalgues AND Dermatófitos/ Dermatophytes/ Dermatofitos/ Dermatophytes, assim como Microalga/ Microalgae/ Microalgas/ Microalgues AND Fungo/ Fungi/ Hongo/ Champignon.

Para a seleção dos artigos usou-se os seguintes critérios de inclusão: (I) Artigos científicos originais publicados em periódicos nacionais e internacionais; (II) Artigos nos idiomas português, inglês, espanhol e francês; (III) Artigos publicados entre 1960 e 2021; (IV) Artigos que testaram a ação antifúngica de extratos de microalgas em fungos dermatófitos; (V) Estudos experimentais *in vivo* ou *in vitro*. Foram excluídos os estudos: (I) No formato de cartas, editoriais, notícias, comentários e estudos de caso; (II) Artigos com acesso restrito; (III) Publicados em outros idiomas; (IV) Publicados fora do período de 1960 a 2021; (V) Artigos de revisão e capítulos de livros; (VI) Estudos clínicos da doença. O fluxograma a seguir representa o processo de busca e seleção dos artigos (Figura 1).

**Figura 1 (tese). Figura 1.** Fluxograma horizontal do processo de busca e seleção dos artigos.



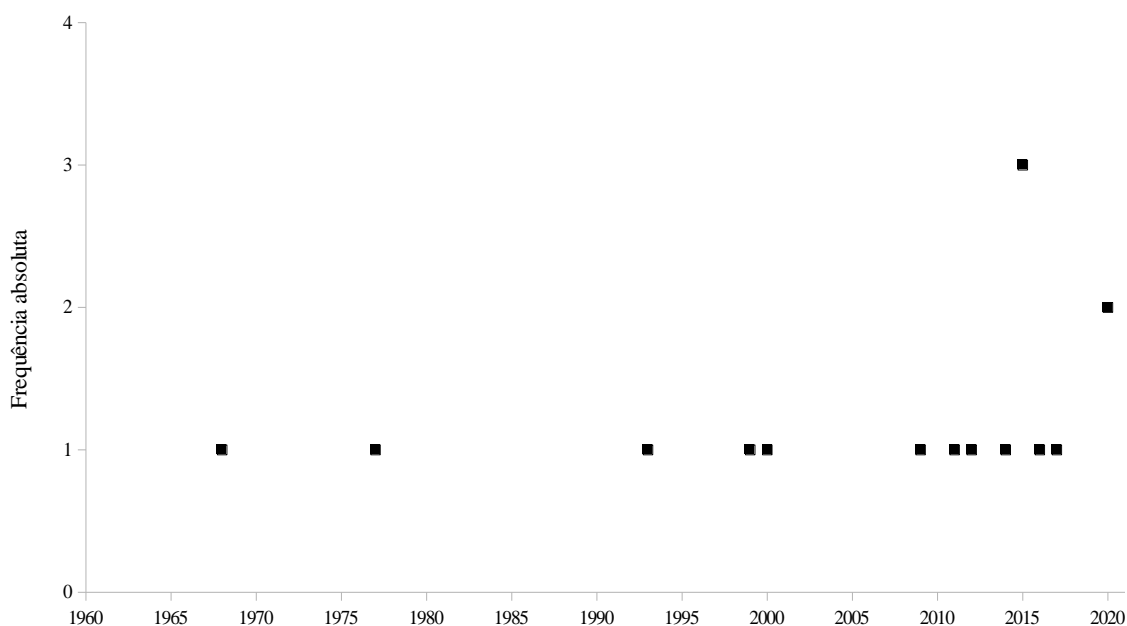
Fonte: Autores.

### 3. Resultados e Discussão

Foram selecionados 18 artigos que testaram a atividade antifúngica de extratos de microalgas em dermatófitos. Os primeiros trabalhos foram publicados entre as décadas de 60 e 70, tendo como foco as diatomáceas e os dinoflagelados (Sharma, et al., 1968; Gueho, et al., 1977). Há um maior número de artigos publicados entre 2009 e 2020 (Figura 2), fato que pode ser explicado pelo aumento do interesse na bioprospecção de agentes antifúngicos, devido ao aumento de relatos de fungos resistentes aos azóis (Ghannoum, 2016).

As espécies de microalgas estudadas pertencem a quatro grupos de microalgas: clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias (Figura 3). Entre estes grupos, as cianobactérias possuem o maior número de estudos registrados reportando atividade inibitória contra espécies de dermatófitos, com dez artigos selecionados. As clorofíceas e as diatomáceas foram as que tiveram menos estudos publicados, totalizando três artigos para cada. Os dinoflagelados foram testados em quatro trabalhos publicados. Desta busca, dois artigos testaram extratos de ambas: clorofíceas e cianobactérias. O grupo das diatomáceas possui o maior número de espécies de algas, tipos de extratos e fungos testados (Figura 3). As espécies de microalgas mais testadas foram a *S. platensis*, com 23 extratos, a *C. lauderi*, com 16 extratos, e a *T. frauenfeldii*, com 12 extratos.

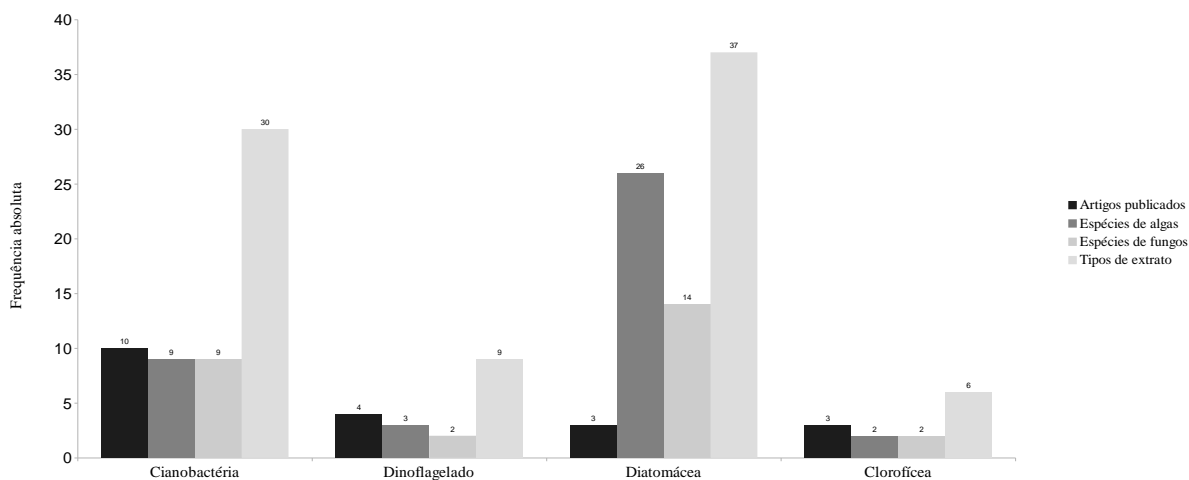
**Figura 2 (tese). Figura 2.** Frequência absoluta de artigos publicados por ano.



A figura representa um gráfico de pontos (*Dot plot*) acerca da frequência absoluta de artigos publicados por ano

referente a temática atividade antifúngica de microalgas sob espécies de dermatófitos. No eixo X está inserido o corte temporal aplicado a busca (1960 a 2021) e no eixo Y a frequência absoluta de artigos encontrados. Fonte: Autores.

**Figura 3 (tese). Figura 3.** Frequência absoluta de artigos publicados, espécies de algas, de fungos e tipos de extratos testados, por grupo de microalga.



A figura representa um esquema gráfico acerca da frequência absoluta de artigos publicados, espécies de algas, de fungos e tipos de extrato testados por grupo de microalga. No eixo X estão inseridos os grupos de microalgas encontrados na busca (Cianobactérias, dinoflagelados, diatomáceas e clorofíceas) e no eixo Y a frequência absoluta encontrada relacionada a quatro variáveis: 1- Artigos publicados; 2- Espécies de algas; 3- Espécies de fungos e 4- Tipos de extratos. Fonte: Autores.

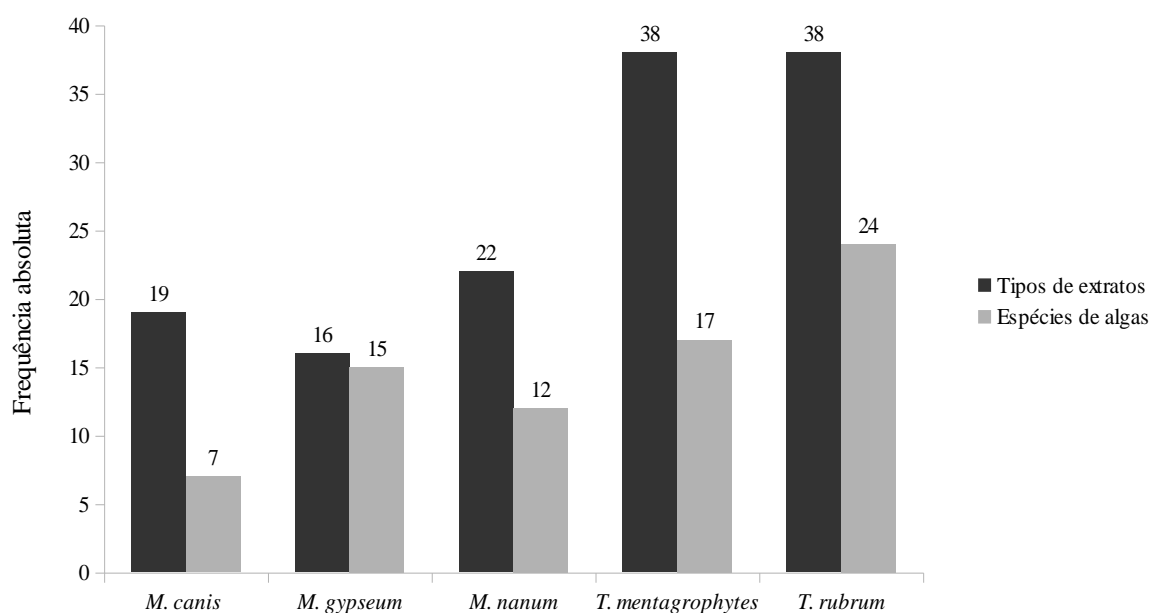
As espécies de dermatófitos mais testadas foram *T. rubrum*, *T. menthagrophytes*, *M. nanum*, *M. canis* e *M. gypseum* (Figura 4), o que é condizente com o fato destes microrganismos serem os grupos de fungos filamentosos mais detectados infectando humanos e animais domésticos (Peres, et al., 2010).

As metodologias mais utilizadas para avaliação do potencial antifúngico foram a difusão em ágar, com oito artigos, seguido da disco-difusão, com seis artigos publicados. A microdiluição em caldo foi utilizada em quatro artigos e a macrodiluição em caldo em uma publicação. Apenas um trabalho realizou experimentação controlada *in vivo* em ratos, testando tratamento tópico de pomada preparada à base da microalga (Tabelas 1 a 4).

Os compostos testados variaram entre extratos brutos de cultura de microalga, extratos com solventes de diferentes polaridades e novos compostos isolados (Tabelas 1 a 4).



**Figura 4 (tese). Figura 4.** Frequência absoluta de extratos e espécies de microalgas testados por espécie de dermatófito.



A figura representa um gráfico de barras acerca da frequência absoluta de tipos de extratos e espécies de algas testados por espécie de dermatófito. No eixo X estão inseridas as espécies de dermatófitos mais encontradas na busca (*M. canis*; *M. gypseum*; *M. nanum*; *T. mentagrophytes* e *T. rubrum*) e no eixo Y a frequência absoluta relacionada a tipos de extratos microalgais (gráfico preto) e espécies de algas (gráfico cinza). Fonte: Autores.

## Microalgas e dermatófitos

A busca por compostos bioativos com propriedades antifúngicas entre as microalgas iniciou-se mais tarde do que a triagem por compostos com atividade antibacteriana (Falaise, et al., 2016). Esta busca tardia está relacionada ao fato de que os fungos só começaram a ser considerados patógenos humanos por volta de 1970, quando a taxa de infecções fúngicas em pacientes internados em hospitais aumentou, assim como a taxa de mortalidade associada (Peres, et al., 2010).

Atualmente, com a crescente participação das microalgas na área de biotecnologia e recursos associados, a busca por novos compostos bioativos oriundos de microalgas com atividade antifúngica vem sendo cada vez mais explorada (Kiran & Mohan, 2021). Dentro desse contexto, os trabalhos já realizados testam o potencial inibitório frente a fungos de interesse em diversas áreas, como agronomia, veterinária e saúde humana.

## Clorófitas

A maioria dos trabalhos antimicrobianos com clorófitas concentra-se nos potenciais antibacteriano e antiviral, tendo alguns compostos já isolados relacionados como fontes de atividade antimicrobiana (Falaise, et al., 2016). Para os fungos, ainda existem poucos trabalhos publicados acerca do potencial das clorófitas. Extratos

brutos e fracionados de diferentes espécies de clorófitas já foram testados contra fungos patogênicos de humanos e animais (Najdenski, et al., 2013), assim como fitopatógenos (Vehapi, et al., 2018), ambos apresentando expressiva atividade de inibição do crescimento fúngico. Para os dermatófitos, até o momento, as únicas clorofíceas que tiveram seu potencial antifúngico explorado foram a *Chlorella vulgaris* (El-Sheekh, et al., 2015; El-Sheekh, et al., 2016) e a *Scenedesmus quadricauda* (Al-Rekabi, 2011).

Al-Rekabi (2011) avaliou a atividade antifúngica da clorofícea *S. quadricauda* frente a quatro espécies de fungos, sendo dois destes dermatófitos, *T. rubrum* e *M. canis*. O extrato aquoso da microalga foi testado por meio das metodologias de difusão em ágar e ágar-diluição. Na difusão em ágar, a concentração de 400 µg/mL, gerou halos de inibição para as duas espécies de dermatófitos, de 3 mm para *T. rubrum* e de 2 mm para *M. canis*. No teste de ágar-diluição, a microalga inibiu o crescimento do *T. rubrum* e do *M. canis*, ambos com as taxas de Concentração Inibitória Mínima (CIM) igual a 400 µg/mL e Concentração Fungicida Mínima (CFM) igual a 1250 µg/mL (Tabela 1).

A susceptibilidade dos dermatófitos *T. rubrum* e *M. canis* também foi avaliada por El-Sheekh e colaboradores (2015). Extratos etanólico, metanólico, clorofórmico e etil acetanólico da clorofícea *C. vulgaris* foram testados por meio do método de difusão em ágar na concentração de 50 mg/mL e nas concentrações entre 1 e 200 mg/mL para determinação da concentração inibitória mínima. Todos os extratos avaliados apresentaram potencial antifúngico contra as cepas testadas. O extrato metanólico apresentou maior inibição, com halo de 38 mm para *T. rubrum* e de 40 mm para *M. canis* e CIM de 12.5 mg/mL para ambos, concentração inibitória 50 vezes maior que a encontrada por Al-Rekabi (2011) no teste com o extrato aquoso de *S. quadricauda* (Tabela 1).

No estudo de El-Sheekh e colaboradores (2016), o potencial antifúngico do extrato metanólico da microalga *C. vulgaris* foi avaliado em experimento *in vivo* frente ao dermatófito *M. canis*. Para a realização dos testes, camundongos foram infectados com o patógeno avaliado e, após o surgimento de lesões na derme, foram tratados com uma pomada feita a partir do extrato metanólico da microalga. A avaliação dos resultados foi feita a partir do exame histológico dos tecidos infectados e o extrato foi considerado ativo frente ao dermatófito *M. canis* (Tabela 1).

**Tabela 1 (tese). Tabela 1.** Atividade antifúngica de extratos de clorófitas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências			
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	aquoso	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Ágar-diluição	N.A.	400	1250	Al-Rekabi (2011)			
				Difusão em ágar	400 µg/mL	3	N.A.				
		<i>M. canis</i>		Ágar-diluição	N.A.	400	1250				
				Difusão em ágar	400 µg/mL	2	N.A.				
<i>Chlorella vulgaris</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50000 µg/mL			El-Sheekh e colaboradores (2015)			
		<i>M. canis</i>							28.67±1.16	N.A.	
	metanólico	<i>T. rubrum</i>							34.33±1.16		
		<i>M. canis</i>							38.67±1.53	12500	
	etil acetanólico	<i>T. rubrum</i>							40.33±0.58	12500	N.A.
		<i>M. canis</i>							18.33±1.53		N.A.
	clorofórmico	<i>T. rubrum</i>							22.00±1.73		
		<i>M. canis</i>							12.00±0.0		N.A.
<i>Chlorella vulgaris</i>	metanólico	<i>M. canis</i>	<i>in vivo</i>	Tratamento tópico, experimento controlado	N.A.		N.A.	El-Sheekh e colaboradores (2016)			

Fonte: Autores.

## Diatomáceas

As diatomáceas já foram testadas contra diversos fungos patogênicos de humanos e animais, como *Candida albicans*, assim como fungos fitopatogênicos, como *Aspergillus niger*, apresentando potente atividade inibitória (Sherief, et al., 2020). Para os dermatófitos, poucos trabalhos foram publicados até o momento, contudo, os estudos publicados contemplaram 26 espécies de microalgas e 37 tipos de extratos em 14 espécies de fungos (Figura 3), com 16 testes realizados com extratos da espécie *Chaetoceros lauderi*, a mais explorada do grupo (Tabela 2) (Gueho, et al., 1977; Viso, et al., 1986; Walter & Mahesh, 2000).

Viso e colaboradores (1986) avaliaram o potencial antifúngico, por meio da difusão em ágar, de extratos brutos de 15 diatomáceas, sendo 11 destas espécies do gênero *Chaetoceros*. Duas cepas de dermatófitos foram testadas (*N. gypsea* e *T. rubrum*). As microalgas *C. lauderi* e *C. didymus* inibiram o crescimento de ambos os dermatófitos avaliados e as microalgas *C. diadema* e *Asterionella glacialis* inibiram apenas o *T. rubrum*. A diatomácea *C. lauderi* também foi testada por Gueho e colaboradores (1977), utilizando a metodologia de macrodiluição em caldo contra 14 espécies de dermatófitos e foi capaz de inibir o crescimento de todos na concentração de 25 mg/mL (Tabela 2).

Walter & Mahesh (2000) avaliaram o potencial antifúngico do extrato bruto de onze espécies de diatomáceas sobre oito cepas de fungos patogênicos, sendo dois dermatófitos (*N. nana* e *T. mentagrophytes*). A metodologia empregada foi a de disco-difusão. As espécies *Nitzschia sigma* e *Thalassiothrix frauenfeldii* apresentaram zona de inibição e foram testadas suas frações cetônica, clorofórmica, clorofórmica-metanólica, metanólica-aquosa e aquosa, através do método de disco-difusão. Os discos foram impregnados com 0,5 mL dos extratos. O extrato cetônico de *N. sigma* apresentou maiores halos de inibição para *T. mentagrophytes* (2 mm) e *N. nana* (0,5 mm), seguido do extrato clorofórmico que apresentou halos de 0.5 mm para ambas. Para a microalga *T. frauenfeldii*, os extratos mais ativos também foram o cetônico, com halo de 1.0 mm para *N. nana*, e o clorofórmico, com halo de 0.5 mm para *N. nana* (Tabela 2).

**Tabela 2 (tese). Tabela 2.** Atividade antifúngica de extratos de diatomáceas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado; S.I.: Sem inibição).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Chaetoceros lauderi</i>	aquoso	<i>E. floccosum</i>	<i>in vitro</i>	Macrodiluição em caldo	N.A.	25000	N.A.	Gueho e colaboradores (1977)
		<i>M. audouini</i>						
		<i>M. ferrugineum</i>						
		<i>M. canis</i>						
		<i>M. gypseum</i>						
		<i>M. nanum</i>						
		<i>M. persicolor</i>						
		<i>T. interdigitale</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. schoenleinii</i>						
		<i>T. soudanense</i>						
		<i>T. tonsurans</i>						
<i>T. violaceum</i>								
<i>Asterionella glacialis</i>								
		<i>M. gypseum</i>			670000 células/mL	S.I.		
		<i>T. rubrum</i>				0 a 4		
<i>Chaetoceros affinis</i>		<i>M. gypseum</i>			165000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros brevis</i>		<i>M. gypseum</i>			126000 células/mL	S.I.		
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros diadema</i>		<i>M. gypseum</i>			290000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>				0 a 4		
<i>Chaetoceros pseudocurvisetus</i>		<i>M. gypseum</i>			267000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros danicus</i>		<i>M. gypseum</i>			16000 células/mL	S.I.		
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros didymus</i>		<i>M. gypseum</i>			140000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>				4 a 12		
		<i>T. rubrum</i>				0 a 4		
<i>Chaetoceros lauderi</i>	cultura bruta	<i>M. gypseum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	29000 células/mL		N.A.	Viso e colaboradores (1986)
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros protuberans</i>		<i>M. gypseum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros socialis</i>		<i>M. gypseum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros simplex</i>		<i>M. gypseum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros septentrionalis</i>		<i>M. gypseum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Fragilaria pinnata</i>		<i>M. gypseum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Thalassiosira sp.</i>		<i>M. gypseum</i>						
	<i>T. rubrum</i>							
<i>Rhizosolenia sp.</i>	<i>M. gypseum</i>							
	<i>T. rubrum</i>							

<i>Biddulpha mobiliensis</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Climacosphenya moniligera</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Coscinodiscus excentricus</i>		<i>M. nanum</i>				S.I.		
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Fragilaria oceanica</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Leptocylindrus danicus</i>	cultura bruta	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Navicula longa</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Nitzschia sigma</i>		<i>M. nanum</i>					1	
		<i>T. mentagrophytes</i>					2	
<i>Pleurosigma angulatum</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>				S.I.		
<i>Skeletonema costatum</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i>		<i>M. nanum</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	0,5 mL		1	
		<i>T. mentagrophytes</i>					2	N.A.
		<i>M. nanum</i>					S.I.	Walter e Mahesh (2000)
	cetônico	<i>T. mentagrophytes</i>					2	
		<i>M. nanum</i>						
	clorofórmico	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>						
<i>Nitzschia sigma</i>	clorofórmico-metanólico	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>				S.I.		
	metanólico-aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>						
	aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>					1	
	cetônico	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>						
	clorofórmico	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>						
<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i>	clorofórmico-metanólico	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>				S.I.		
	metanólico-aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>M. nanum</i>						
	aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>						

Fonte: Autores.

## Dinoflagelados

Os dinoflagelados possuem um grande potencial antimicrobiano, com diversos compostos químicos já isolados e patenteados apresentando esta atividade (Kiran & Mohan, 2021). Para os fungos, os dinoflagelados já apresentaram atividade inibidora contra uma ampla gama de organismos, sendo que para os dermatófitos apenas os gêneros *Goniodoma*, *Gambierdiscus* e *Amphidinium* tiveram o seu potencial avaliado. O grande diferencial deste grupo de microalgas é que alguns compostos químicos já foram isolados e associados à atividade antidermatófitos, tais como o “goniodomin” (Sharma, et al., 1968), o ácido gambérico (Nagai, et al., 1993) e a anfidinina (Kubota, et al., 2014; Kubota, et al., 2015).

Sharma e colaboradores (1968) isolaram e identificaram um novo composto denominado “goniodomin” a partir de dinoflagelados do gênero *Goniodoma*. O potencial antifúngico deste novo composto foi avaliado por meio da disco-difusão, diante de diferentes cepas fúngicas, incluindo o dermatófito *T. mentagrophytes*. Na concentração de 0.5 µg/mL o composto demonstrou atividade inibitória, com halo de 3 mm (Tabela 3).

Dois compostos isolados a partir do dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus*, denominados ácido gambérico “A” e “B”, tiveram o seu potencial antifúngico testado frente a oito cepas de fungos patogênicos, dentre eles dermatófitos das espécies *E. floccosum* e *T. mentagrophytes*, por meio da metodologia de microdiluição em caldo (Nagai, et al, 1993). O ácido gambérico “B” apresentou menor valor de CIM que o ácido gambérico “A” frente ao *E. floccosum* (CIM: 1.56 µg/mL e 3.13 µg/mL, respectivamente). Frente ao *T. mentagrophytes*, ambos apresentaram valor de CIM igual a 0.78 µg/mL (Tabela 3).

Novos policetídeos, denominados anfidininas e amphidinolida foram isolados a partir do dinoflagelado *Amphidinium sp.* (Kubota, et al., 2014; Kubota, et al., 2015). Estes novos compostos foram avaliados quanto ao seu potencial antifúngico por meio da microdiluição em caldo frente dermatófito *T. mentagrophytes*. As anfidinas “C”, “D” e “E” apresentaram CIM de 16 µg/mL, a anfidina “F” e a amphidinolida “Q” apresentaram CIM de 32 µg/mL (Kubota, et al., 2014), e a anfidina “G” apresentou IC<sub>50</sub> igual a 8 µg/mL (Kubota, et al., 2015) (Tabela 3).

**Tabela 3 (tese). Tabela 3.** Atividade antifúngica de extratos de dinoflagelados sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração/ halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Goniodoma</i> sp.	Composto isolado: "Goniodomin"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	0,5 µg/mL 3		N.A.	Sharma e colaboradores (1968)
<i>Gambireiros toxicus</i>	Composto isolado: "Ácido gambérico A"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	0,78	N.A.	Nagai e colaboradores (1993)
		<i>E. floccosum</i>				3,13		
	<i>T. mentagrophytes</i>	0,78						
	<i>E. floccosum</i>	1,56						
<i>Amphidinium</i> sp.	Composto isolado: "Anfidinina C"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	16	N.A.	Kubota e colaboradores (2014)
	Composto isolado: "Anfidinina D"							
	Composto isolado: "Anfidinina E"							
	Composto isolado: "Anfidinina F"							
	Composto isolado: Amphidinolide Q							
<i>Amphidinium</i> sp.	Composto isolado: "Anfidinina G"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	8	N.A.	Kubota e colaboradores (2015)

Fonte: Autores.



## Cianobactérias

O grupo de microalgas com o maior número de trabalhos científicos destinados à atividade antifúngica é o das cianofíceas. Diversos estudos já foram publicados acerca do potencial inibidor de cianobactérias contra fungos patogênicos de humanos e animais (Najdenski, et al., 2013), assim como de interesse agrônomico (Shaieb, et al., 2014). A *Spirulina platensis* é a espécie de microalga mais testada frente aos dermatófitos, com 23 testes realizados (Tabela 4).

*Oscillatoria angustissima* e *Calothrix parietina* apresentaram atividade inibitória contra os dermatófitos *T. gourgii*, *T. rubrum* e *M. canis*, quando avaliada por meio da disco-difusão (Issa, 1999). A cianobactéria *O. angustissima* formou halos de inibição entre 6 a 10 mm para *T. gourgii* e entre 11 a 15 mm para *T. rubrum* e *M. canis*. A *C. parietina* apresentou halos medindo entre 11 e 15 mm, para as três espécies de dermatófitos avaliadas. Al-Rekabi (2011) também avaliou o gênero *Oscillatoria*. O extrato aquoso da espécie *O. irrigua* foi testado frente a *T. rubrum* e *M. canis*. Na difusão em ágar, a concentração de 400 µg/ml do extrato microalgal gerou halos de 6 mm para *T. rubrum* e de 5 mm para *M. canis*. No teste de ágar-diluição, a microalga inibiu o crescimento de ambos, com valores iguais de CIM (250 µg/mL) e CFM (1000 µg/mL) (Tabela 4).

Outras duas espécies do gênero *Calothrix* já foram avaliadas (Malathi, et al., 2015; Nehul, 2020). Extratos aquoso, clorofórmico, etil acetanólico, hexânico e metanólico de *Calothrix braunii* foram avaliados frente a *T. mentagrophytes*, utilizando o método da disco-difusão, com discos contendo 2,5 µg do extrato. Os cinco extratos avaliados apresentaram halos de inibição: 7,3 mm (hexânico), 8 mm (aquoso e metanólico), 10,3 mm (etil acetanólico) e 11 mm (clorofórmico) (Malathi et al., 2015). Extratos clorofórmico, metanólico, hexânico e aquoso da cianobactéria *Calothrix javanica* foram testados contra a espécie *T. capitatum*, na concentração de 5000 mg/ml, pelo método da difusão em ágar. O único extrato de *C. javanica* que apresentou atividade foi o metanólico, apresentando halo de inibição de 11 mm (Nehul, 2020) (Tabela 4).

Thillairajasekar e colaboradores (2009) avaliaram, por meio da microdiluição em caldo, a atividade antifúngica de extratos hexânico e etil acetanólico da cianobactéria *Trichodesmium erythraeum* contra fungos patogênicos, incluindo os dermatófitos *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *T. simii*. O extrato etil acetanólico apresentou os menores valores de CIM para os dermatófitos *T. rubrum* (CIM: 500 µg/mL para ambos) e *T. simii* (CIM: 16,2 µg/mL). *T. mentagrophytes* apresentou o mesmo valor de CIM para ambos os extratos, igual a 1000 µg/mL. O extrato hexânico também inibiu o crescimento dos dermatófitos, contudo apresentou o dobro do valor de CIM para os isolados *T. rubrum* e *T. simii* (1000 e 31,25 µg/mL, respectivamente) (Tabela 4).

Quatro publicações já reportaram a atividade antifúngica da cianobactéria *Spirulina platensis*. Kumar e colaboradores (2012), por meio da difusão em ágar, testou a inibição de dermatófitos *M. canis* e *M. fulvum* frente a quatro tipos de extratos (hexânico, clorofórmico, cetônico e metanólico) de 4 isolados da cianobactéria, de diferentes localidades, em três concentrações (25, 50 e 100 µg/mL). Todos os extratos apresentaram inibição. Os extratos cetônico e metanólico mostraram-se mais efetivos, com halos entre 11 e 23 mm para *M. canis* e entre 9 e 23 mm para *M. fulvum*, nas concentrações de 50 e 100 µg/mL (Tabela 4).

A susceptibilidade do *M. canis* e *T. rubrum* frente a extratos etanólico, metanólico, etil acetanólico e clorofórmico foram testados na concentração de 50 mg/mL na difusão em ágar (El-Sheekh, et al., 2015), concentração 1000 vezes maior que a testada no trabalho de Kumar e colaboradores (2012). Todos os extratos

avaliados apresentaram potencial antifúngico contra as cepas testadas e o extrato metanólico novamente apresentou maior tamanho de halo (27,67 mm para *T. rubrum* e de 28,67 mm para *M. canis*) (El-Sheekh et al., 2015). Jangi e colaboradores (2019) também encontraram atividade antifúngica da cianobactéria *S. platensis* frente ao dermatófito *M. canis* empregando o método de disco-difusão. Discos contendo 160 mg do extrato hidroalcoólico geraram halos de inibição medindo entre 0,5 e 19 mm (Tabela 4).

As espécies *T. rubrum*, *T. interdigitale* e *T. concentricum* foram avaliadas frente aos extratos etanólico e alcoólico, por meio do teste de difusão em ágar (Wali & Abdjlbaar, 2020). O extrato bruto 100% concentrado inibiu o dermatófito *T. rubrum* com halos de 17 cm (extrato alcoólico) e 16 cm (extrato alcalóide) e o *T. concentricum* com halos de 23 cm (extrato alcoólico) e 14 cm (extrato alcalóide). Na concentração de 50%, o *T. interdigitale*, exibiu halos de 18 cm (extrato alcoólico) e 19 cm (extrato alcalóide) (Wali & Abdjlbaar, 2020) (Tabela 4).

Duas espécies de cianobactérias do gênero *Tolypothrix*, *T. nodosa* e *T. tenuis*, tiveram seu potencial antifúngico avaliado por meio da disco-difusão contra quatro cepas de fungos patogênicos, incluindo o dermatófito *T. rubrum*. Os extratos acetanólico, metanólico e etílico formaram halo de inibição na concentração de 1 mg/mL. *T. nodosa* apresentou halos de 7,6 mm (acetona), 9 mm (metanol) e 8 mm (éter de petróleo) e *T. tenuis* halos de 8 mm (acetona), 9,33 mm (metanol) e 7,66 (éter de petróleo) (Babu, et al., 2017) (Tabela 4).

**Tabela 4 (tese). Tabela 4.** Atividade antifúngica de extratos de cianobactérias sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Oscillatoria angustissima</i>	etil acetanólico	<i>T. gourgii</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	N.I.	6 a 10	N.A.	Issa (1999)
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>M. canis</i>						
<i>Calothrix parietina</i>	etil acetanólico	<i>T. gourgii</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	N.I.	11 a 15	N.A.	Issa (1999)
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>M. canis</i>						
<i>Trichodesmium erythraeum</i>	hexânico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	1000	N.A.	Thillairajasekar e colaboradores (2009)
		<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>T. simii</i>						
	etil acetanólico	<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>T. simii</i>				16,2		
<i>Oscillatoria irrigua</i>	aquoso	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Ágar-diluição	N.A.	250	1000	Al-Rekabi (2011)
				Difusão em ágar	400 µg/mL	6	N.A.	
		<i>M. canis</i>		Ágar-diluição	N.A.	250	1000	
				Difusão em ágar	400 µg/mL	5	N.A.	
<i>Spirulina platensis</i>	hexânico	<i>M. canis</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50 e 100 µg/mL	N.A.	N.A.	Kumar e colaboradores (2012)
		<i>M. fulvum</i>						
	clorofórmico	<i>M. canis</i>						
		<i>M. fulvum</i>						
	cetônico	<i>M. canis</i>						
		<i>M. fulvum</i>						
	metanólico	<i>M. canis</i>						
		<i>M. fulvum</i>						

<i>Calothrix braunii</i>	aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	2,5 µg	8.00 ± 0.00	N.A.	Malathi e colaboradores (2015)						
	clorofórmico					11.00 ± 0.57								
	etil acetanólico					10.33 ± 0.88								
	hexânico					7.33 ± 0.33								
	metanólico					8.00 ± 0.57								
<i>Spirulina platensis</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50000 µg/mL	23.67±1.16	N.A.	El-Sheekh e colaboradores (2015)						
		<i>M. canis</i>				25.00±0.0								
	metanólico	<i>T. rubrum</i>				27.67±0.58								
		<i>M. canis</i>				28.67±1.16								
	etil acetanólico	<i>T. rubrum</i>				9.33±1.16								
		<i>M. canis</i>				9.33±1.16								
	clorofórmico	<i>T. rubrum</i>				9.67±0.58								
		<i>M. canis</i>				9.33±1.16								
	<i>Tolythrix nodosa</i>	cetônico				<i>T. rubrum</i>			<i>in vitro</i>	Disco-difusão	50 µg	7.66 ± 0.33	N.A.	Babu e colaboradores (2017)
		metanólico										9.00 ± 0.57		
éter de petróleo		8.00 ± 0.57												
<i>Tolythrix tenuis</i>	cetônico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	50 µg	8.00 ± 0.57	N.A.	Babu e colaboradores (2017)						
	metanólico					9.33 ± 0.33								
	éter de petróleo					7.66 ± 0.33								
<i>Spirulina platensis</i>	Hidroalcoólico	<i>M. canis</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	160 . 10 <sup>3</sup> µg	0,5 a 19	N.A.	Jangi e colaboradores (2019)						
<i>Spirulina platensis</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	5000 . 10 <sup>3</sup> µg/mL	100,00%	N.A.	Wali e Adbjbaar (2020)						
		<i>T. interdigitale</i>				50,00%								
		<i>T. concentricum</i>				100,00%								
	alcaloide	<i>T. rubrum</i>				100,00%								
		<i>T. interdigitale</i>				50,00%								
		<i>T. concentricum</i>				100,00%								
<i>Calothrix javanica</i>	clorofórmico	<i>T. capitatum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	5000 . 10 <sup>3</sup> µg/mL	N.I.	N.A.	Nehul (2020)						
	metanólico					11±1.8								
	hexânico					N.I.								
	aquoso					N.I.								

Fonte: Autores.

A falta de padronização e alta variabilidade das metodologias empregadas nos trabalhos publicados impede a realização de comparações estatísticas entre os testes. Alguns extratos microalgais não apresentaram atividade inibitória frente aos isolados de dermatófitos testados, todas estas espécies pertencem ao grupo das diatomáceas (Viso, et al., 1986; Walter & Mahesh, 2000).

Considerando o tamanho do halo e as concentrações dos extratos microalgais testados pela metodologia de difusão em ágar, os extratos da cianobactéria *S. platensis* evidenciam a atividade antifúngica na menor concentração testada (50 µg/mL) frente a isolados de *M. canis* e *M. fulvum* (Kumar, et al., 2021). Considerando o halo produzido na metodologia de disco-difusão, é possível observar que baixas concentrações do extrato das cianobactérias *C. braunii* (Malathi, et al., 2015), *T. nodosa* e *T. tenuis* (Babu, et al., 2017) são capazes de inibir o crescimento do *T. mentagrophytes* (Malathi, et al., 2015) e do *T. rubrum* (Babu, et al., 2017). Comparando-se os valores determinados de CIM na microdiluição em caldo, os ácidos gambéricos “A” e “B” (Nagai, et al., 1993) mostraram-se mais eficazes em inibir o *T. mentagrophytes* do que as anfidininas (Kubota, et al., 2014; Kubota, et

al., 2015). O composto “goniodomina” também se mostrou eficaz na inibição do *T. mentagrophytes*, no teste de disco-difusão (Sharma, et al., 1968).

As microalgas ainda possuem um grande número de espécies cujo potencial antifúngico não foi investigado, mesmo sendo considerado um grupo promissor para a bioprospecção de novos fármacos. É necessário investir na padronização dos testes antifúngicos, visto que os ensaios já realizados divergem nas metodologias utilizadas, fator que dificulta a comparação dos resultados obtidos e impede a realização de análises estatísticas. Não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito aditivo dos extratos microalgas junto aos antifúngicos comerciais, uma importante lacuna na literatura a ser preenchida.

#### 4. Conclusão

Os extratos de microalgas apresentam grande potencial antifúngico sobre os dermatófitos. Apesar da rica composição de biomoléculas de interesse farmacológico e das atividades antimicrobianas reportadas, ainda existem poucos estudos acerca do potencial inibidor de microalgas frente a fungos dermatófitos, com apenas 40 espécies de microalgas contempladas. Apenas quatro grupos de microalgas registraram publicações associadas ao tema, sendo estes: clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias. Dentre estes grupos, diatomáceas e cianobactérias possuem o maior número de testes realizados contra dermatófitos. As espécies de dermatófitos mais testadas são o *T. rubrum* e o *T. mentagrophytes*. Os extratos de *S. platensis*, *C. braunii*, *T. nodosa* e *T. tenuis* e os compostos isolados das espécies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* e *Amphidinium* sp. apresentaram maior atividade inibitória. A falta de padronização dos testes realizados impossibilita uma análise comparativa mais robusta dos resultados obtidos. Tendo em vista a necessidade de novos fármacos no tratamento das dermatofitoses, existe uma lacuna promissora que pode ser explorada pelos compostos bioativos extraídos de produtos naturais, como das microalgas.

#### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento da bolsa de doutorado.

#### Referências

- Al-Janabi, A. A. H. S., & Al-Khikani, F. H. O. (2020). Dermatophytoses: A short definition, pathogenesis, and treatment. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 9 (3), 210-214.
- Al-Rekabi, H. Y. (2011). Study the effect of some algae extracts against activity of some fungi. *Journal of Thi-Qar University*, 6 (4), 35-42.
- Babu, M. R., Malathi, T., & Rao, B. D. (2017). Antifungal activity of selected cyanobacteria against fungal pathogens. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 7 (4), 207-213.
- Burstein, V. L., et al. (2020). Skin Immunity to Dermatophytes: From Experimental Infection Models to Human Disease. *Frontiers in Immunology*, 11.
- Casarin, S. T., Porto, A. R., Gabatz, R. I. B., Bonow, C. A., Ribeiro, J. P., & Mota, M. S. (2020). Tipos de revisão de literatura: considerações das editoras do Journal of Nursing and Health. *Journal of Nursing and Health*, 10 (5).
- El-Sheekh, M. M., El-Shafay, S. M., & El-Ballat, E. M. (2015). Production and characterization of antifungal active substance from some marine and freshwater algae. *International Journal of Environmental Science and Engineering*, 6, 85-92.
- El-Sheekh, M. M., El-Shafay, S. M., & El-Ballat, E. M. (2016). In vivo evaluation of antimicrobial effect of methanolic extract of *Chlorella vulgaris* on impetigo and some dermatophytes. *Egyptian Journal of Botany*, 56 (2), 423-437.

- Falaise, C., et al. (2016). Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine drugs*, 14 (9):159.
- Gueho, E., Pesando, D., & Barelli, M. (1977). Propriétés antifongiques d'une diatomée *Chaetoceros lauderi* Ralfs C C. *Mycopathologia*, 60 (2), 105-107.
- Horsley, T. (2019). Tips for improving the writing and reporting quality of systematic, scoping, and narrative reviews. *Journal of Continuing Education in the Health Professions*, 39 (1), 54-57.
- Issa, A. A. (1999). Antibiotic production by the cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8, 33-37.
- Jangi, M., Samaneh, E., & Hamideh, G. A. (2019). Effects of Iranian *Spirulina platensis* extract on *Microsporum canis* isolates. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 85 (24), 10-17.
- Khurana, A., Sardana, K., & Chowdhary, A. (2019). Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genetics and Biology*, 132, 1087-1845.
- Kiran, B. D., & Mohan, S. V. (2021). Microalgal Cell Biofactory - Therapeutic, Nutraceutical and Functional Food Applications. *Plants*, 10 (5).
- Kubota, T., et al. (2014). Amphidinins C-F, Amphidinolide Q Analogues from Marine Dinoflagellate Amphidinium sp. *Organic Letters*, 21 (16), 5624-5627.
- Kubota, T., et al. (2015). Amphidinin G, a putative biosynthetic precursor of amphidinin A from marine dinoflagellate Amphidinium sp. *Tetrahedron Letters*, 56 (8), 990-993.
- Kumar, V., Bhatnagar, A. K., & Srivastava, J. N. (2012). Comparative study of different strains of *Spirulina platensis* (Geitler) against some human pathogens. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3 (3), 39-45.
- Malathi, T., et al. (2015). Antimicrobial activity of Blue-Green Algae, *Calothrix braunii* (A. Br.) Bornet et Flahault. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 8 (2), 104-112.
- Nagai, H., et al. (1993). Biological activities of novel polyether antifungals, Gambieric Acids A e B from a Marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *The Journal of Antibiotics*, 46 (3), 520-522.
- Najdenski, H. M., et al. (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1533-1540.
- Nehul, J. N. (2020). Assessment of antifungal activity of a cyanobacterium *Calothrix javanica* de wilde. *International Journal of Researches in Biosciences, Agriculture and Technology*, 8 (2), 92-95.
- Peres, N. T. A., et al. (2010). Dermatofitos: Interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. *Anais brasileiros de dermatologia*, 85 (5), 657-667.
- Rizwan, M., et al. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394-404.
- Roman, C., Ellwanger, J., Becker, G. C., Silveira, A. D., Machado, C. L. B., & Manfro, W. C. (2017). Metodologias ativas de ensino-aprendizagem no processo de ensino em saúde no Brasil: Uma revisão narrativa. *Clinical and Biomedical Research*, 37 (4), 349-357.
- Shaieb, F. A., Issa, A. A., & Meragaa, A. (2014). Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis*. *Archives of Biomedical Sciences*, 2 (2), 34-41.
- Sharma, G. M., Michaels, L., & Burkholder, P. R. (1968). Goniodomin, a new antibiotic from a dinoflagellate. *The Journal of Antibiotics*, 21 (11), 659-664.
- Sherief, M. A., et al. (2020). Modification of diatom using silver nanoparticle to improve antimicrobial activity. *Materialstoday: Proceedings*, 43 (6), 3369-3374.
- Thillairajasekar, K., et al. (2009). Antimicrobial activity of *Trichodesmium erythraeum* (Ehr) (microalga) from South East coast of Tamil Nadu, India. *International Journal of Integrative Biology*, 5 (3), 167-170.
- Vehapi, M., Yilmaz, A., & Ozçimen, D. (2018). Antifungal activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* microalgae cultivated in bold basal medium, wastewater and tree extract water against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Romanian Biotechnological Letters*.
- Viso, A. C., Pesando, D., & Baby, C. (1987). Antibacterial and antifungal properties of some marine diatoms in culture. *Botanica Marina*, 30 (1), 41-45.
- Wali, N. M., & Abdjlbaar, A. S. (2020). Effect of ethanol and alkaloid extract of *Spirulina platensis* against dermatophyte fungi. *Plant Archives*, 20 (1), 2736-2743.
- Walter, C. S., & Mahesh, R. (2000). Antibacterial and antifungal activities of some marine diatoms in culture. *Indian Journal of Marine Sciences*, 29, 238-242.

## **CAPÍTULO 2**

**ARTIGO: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE  
MICROALGAS EUCARIÓTICAS EM DERMATÓFITOS**

## ARTIGO 2: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE MICROALGAS EUCARIÓTICAS EM DERMATÓFITOS

Artigo aceito para publicação: Revista de Ciências Médicas e Biológicas

### **Antifungal activity of eukaryotic microalgae extracts in dermatophytes**

#### *Atividade antifúngica de extratos de microalgas eucarióticas em dermatófitos*

Vivian Marina Gomes Barbosa Lage, Kathleen Ramos Deegan, Gabriela Fontes Santos, Luzimar Gonzaga Fernandez, Cristiane de Jesus Barbosa, Suzana Telles da Cunha Lima

#### **Abstract**

**Introduction:** Microalgae are considered a promising source of biologically active secondary metabolites, with several biotechnological properties already recorded, including antifungal activity. **Objective:** Thus, the properties of ethanol extracts of microalgae *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* and *Tetraselmis gracilis* were investigated in vitro for antifungal activity against dermatophytes *Nannizzia gypsea*, *Nannizzia nana*, *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton tonsurans*. **Methods:** The extracts were evaluated using broth microdilution methodology, with a test interval of 11.5 to 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The antifungal itraconazole was tested at concentrations 0.0313 to 16  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . **Results:** All microalgae extracts showed antifungal activity, especially extracts from *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris* that totally inhibited growth of all species of dermatophytes evaluated. The lowest MIC values recorded were for the extracts of *D. brasiliensis* and *K. lunaris* (MIC 188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), against *T. tonsurans* e *N. nana*. **Conclusions:** This was a pioneering work about the antifungal activity of these microalgae against dermatophytes. It is expected that, from this study, further research will be carried out in order to identify and isolate the active biomolecules responsible for the antifungal activity of these microalgae species.

**Keywords:** Microalgae. Chlorophyceae. Diatoms. Antifungal potential. Dermatophytosis.

#### **Resumo**

**Introdução:** As microalgas são consideradas uma fonte promissora de metabólitos secundários biologicamente ativos, com diversas propriedades biotecnológicas já registradas, incluindo atividade antifúngica. **Objetivo:** Assim, as propriedades dos extratos etanólicos das microalgas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis* foram investigadas in vitro quanto à atividade antifúngica frente aos dermatófitos *Nannizzia gypsea*, *Nannizzia nana*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton tonsurans*. **Metodologia:** Os extratos foram avaliados através da metodologia de microdiluição em caldo, com intervalo teste de 11.5 a 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . O antifúngico itraconazol foi testado nas concentrações 0.0313 a 16  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . **Resultados:** Todos os extratos microalgais apresentaram atividade antifúngica, com destaque para os extratos das microalgas *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*, que inibiram totalmente o crescimento de todas as espécies de dermatófitos avaliadas. Os menores valores de CIM registrados foram para os extratos de *D. brasiliensis* e *K. lunaris* (CIM 188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), contra *T. tonsurans* e *N. nana*. **Conclusões:** Este foi um trabalho pioneiro acerca da atividade antifúngica destas microalgas frente à dermatófitos. Espera-se que, a partir deste estudo, novas pesquisas sejam realizadas a fim de identificar e isolar as biomoléculas ativas responsáveis pela atividade antifúngica destas espécies de microalgas.

**Palavras-chave:** Microalga. Clorofícea. Diatomácea. Potencial antifúngico. Dermatofitoses.

## INTRODUCTION

Microalgae are photosynthesizing organisms that combine water and atmospheric carbon dioxide with sunlight to produce various forms of energy and biomass<sup>1</sup>. Like plants, they produce a wide variety of compounds, some of which are collectively referred to as secondary metabolites, which are compounds synthesized by the body at the end of the first growth phase and in the stationary phase<sup>2</sup>.

Due to the diversity and richness in bioactive substances, microalgae have become promising in the field of biotechnology, mainly due to their biological activities in the pharmacological area<sup>3</sup>. Several compounds extracted from microalgae revealed potent biological activities, such as antioxidant<sup>4</sup>, anticancer<sup>5</sup>, antibacterial<sup>6</sup>, antiprotozoal<sup>7</sup>, antiviral<sup>8</sup> and antifungal<sup>9</sup>.

Dermatophytosis, also known as tinea, is a disease caused by filamentous hyaline keratinophilic fungi collectively called dermatophytes<sup>10</sup>. These microorganisms have a special biotropism by tissues of keratinized structures, infecting mainly the skin, hair and nails<sup>11</sup>. It is one of the most common zoonosis and has a wide potential for contamination, so it is considered a public health problem<sup>12</sup>.

The emergence of resistant dermatophytes in recent years has become an alarming situation worldwide. Consequently, this fact led to a renewed interest in research directed to these parasites, mainly for the search of new drugs and alternative treatments<sup>10</sup>.

Despite the great pharmacological potential of microalgae, there are still few studies on the antifungal activity of these microorganisms in dermatophytes and many species have not yet been contemplated<sup>13</sup>. Thus, the aim of this study was to evaluate the in vitro antifungal activity of eukaryotic microalgae *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* and *Tetraselmis gracilis* against dermatophyte strains.

## MATERIALS AND METHODS

### Cultivation and biomass production

The strains of microalgae *A. falcatus* (ALCB137416), *C. neogracilis* (ALCB137425), *D. brasiliensis* (ALCB137414), *D. tertiolecta* (ALCB137436), *K. lunaris* (ALCB137418) e *T. gracilis* (ALCB137433) were provided by the Microalgae Bank of the Bioprospection and Biotechnology Laboratory (LABBIOTEC), located at the Institute of Biology of the Federal University of Bahia (UFBA) in Salvador, Bahia. The use of these strains is recorded in the National System of Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge (SisGen), with registration n° A653955.

The cultivation of these microalgae was carried out according to the standards proposed by Nascimento et al.<sup>14</sup> (2015). The cultivation conditions used were photoperiod 12h (light/dark cycles), luminosity of 35  $\mu\text{mol}$  of photons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperature of 22°C, pH 7.0 and constant aeration. Oligo<sup>15</sup> and Conway<sup>16</sup> culture media were used for freshwater and marine microalgae, respectively. For diatom *C. neogracilis*, 2 mL  $\text{L}^{-1}$  to 0.32 mM of sodium silicate ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) was added to culture medium.



To obtain biomass, the volume of the crop was gradually increased until reaching the final stage, which was in a tubular photobioreactor with a capacity of 10 L (Figure 1). The growth of the microalgae culture was monitored, in order to determine the appropriate time to biomass collection. For this, cells were counted by optical microscopy with Neubauer Haemocytometer<sup>16</sup>. The number of cells present was monitored daily for 20 days and, from the following equation<sup>14</sup>, it was possible to determine it:  $\text{Cells/mL} = \text{Number of cells counted} / \text{N}^\circ \text{ of quadrants} \times \text{Dilution factor} \times 10.000$ .

**Figura 5 (tese). Figure 1** - Cultivation of microalgae to obtain biomass in a tubular photobioreactor.



The microalgal biomass was collected in the stationary phase of growth, through the centrifugation process, in an MPW®-351 centrifuge, at  $4732 \times g$  for 20 min<sup>17</sup>. The precipitate from the centrifugation was stored in sterile glass containers in the freezer at  $-20^\circ\text{C}$ , while the supernatant was discarded. To obtain the dry biomass, the frozen material was lyophilized for 48 h, at vacuum of  $0137\mu\text{Hg}$  and  $-30^\circ\text{C}$  in a lyophilizer model Enterprise II, Terroni®. The dry biomass obtained was weighed and stored at  $-20^\circ\text{C}$ , until the extract was prepared.

### **Extraction procedures**

After lyophilization process, an aliquot of dry biomass of each species was submitted to extraction process. In Erlenmeyer flask, 1g of dry biomass was added to 100 mL of absolute ethyl alcohol (99.9%) from Merck®. This material was homogenized in a vortex and subject to sonication, on ice, to promote cell lysis in two cycles of 6 min at 10% power, using Sonicator model Sonopuls HD 2070 from Bandelin®. After sonication, samples went to agitation in a pendular shaker table for 72 h. After this period, the material was centrifuged at  $4732 \times g$  for 10 min in 15 mL Falcon tubes. The supernatant was placed in sterile glass flasks to start drying at room temperature until the complete evaporation of the solvent. The extraction process was repeated for three cycles, and at the end, the precipitates were discarded.

## **Fungi cultivation**

The microalgal extracts were tested against dermatophytes *Nannizzia gypsea* (ALCB072421), *Nannizzia nana* (ALCB072422), *Trichophyton mentagrophytes* (ALCB072423) and *Trichophyton tonsurans* (ALCB072424) strains deposited at the Alexandre Leal Costa Herbarium (ALCB) of Institute of Biology, Federal University of Bahia (UFBA), Salvador, Bahia. The isolates were registered in SISGEN (National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge) under the number AB07806. All species were cultivated in Potato Dextrose Agar (PDA) medium at 32°C, with maintenance repeats every seven days.

## **Susceptibility Tests**

To determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicide Concentration (MFC), broth microdilution technique was used, according to the norms proposed by the National Committee for Clinical Laboratory Standards<sup>18</sup> (2002), with modifications proposed by Curatolo et al.<sup>11</sup> (2020). The ethanolic extracts of microalgae were evaluated in the concentration range from 11.5 to 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (4% DMSO). Itraconazole (Infinity®) at concentrations from 0.03125 to 16  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (4% DMSO). TM MEDIA® Broth Sabouraud Dextrose culture medium was used. The fungal suspensions were adjusted to the 0.5 McFarland scale and diluted 1:20 in 2X Sabouraud Dextrose Broth, which produces the inoculum with a final concentration of  $1.5 \times 10^8$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ .

In 96-well plates, 50  $\mu\text{L}$  of each serial dilution of extracts and itraconazole were added to 50  $\mu\text{L}$  of the inoculum. The lowest concentration of extract or itraconazole that limited visible fungal growth after seven days of incubation at 32°C was considered the Minimum Inhibitory Concentration (MIC).

The contents of the wells without visible mycelial growth were seeded in a Petri dish containing Potato Dextrose Agar (PDA) medium<sup>19</sup>. These plates were incubated under standardized conditions (32°C for seven days) and, at the end of the defined period, it was possible to determine whether there was complete inhibition of the inoculum, determining the MFC value. The experiments were performed under sterile conditions and in triplicates.

The MFC/MIC ratio<sup>20</sup> was calculated to determine whether a particular drug or extract tested has a fungicidal action, when the ratio value was  $< 4$ , or fungistatic, when the ratio value was  $\geq 4$ .

## **RESULTS**

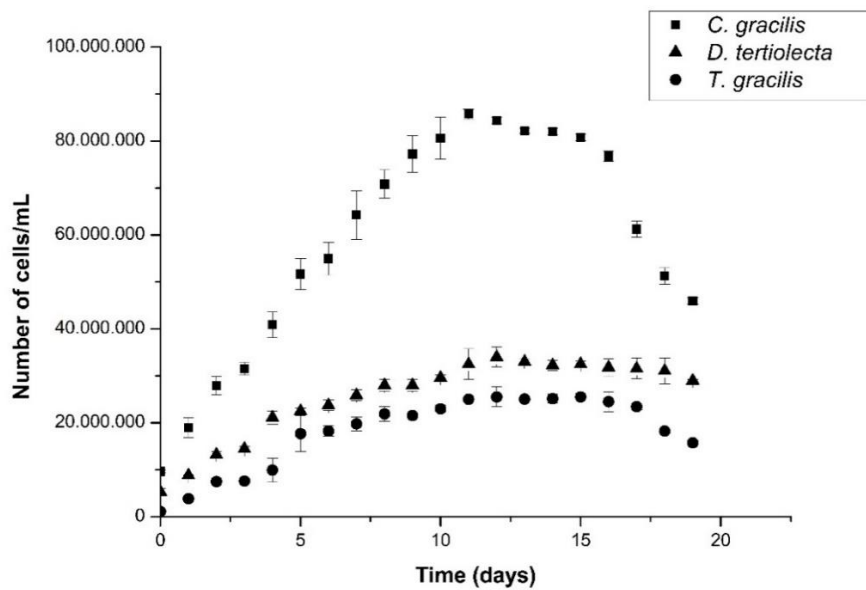
### **Microalgal growth curve and biomass harvest**

The microalgal biomass was collected in stationary phase of the growth curve using a centrifugation method. This period was established from daily monitoring of microalgae growth for 20 days. The biomass of marine microalgae (*C. neogracilis*, *D. tertiolecta* and *T. gracilis*) were collected on the fourteenth day (Figure 2a).

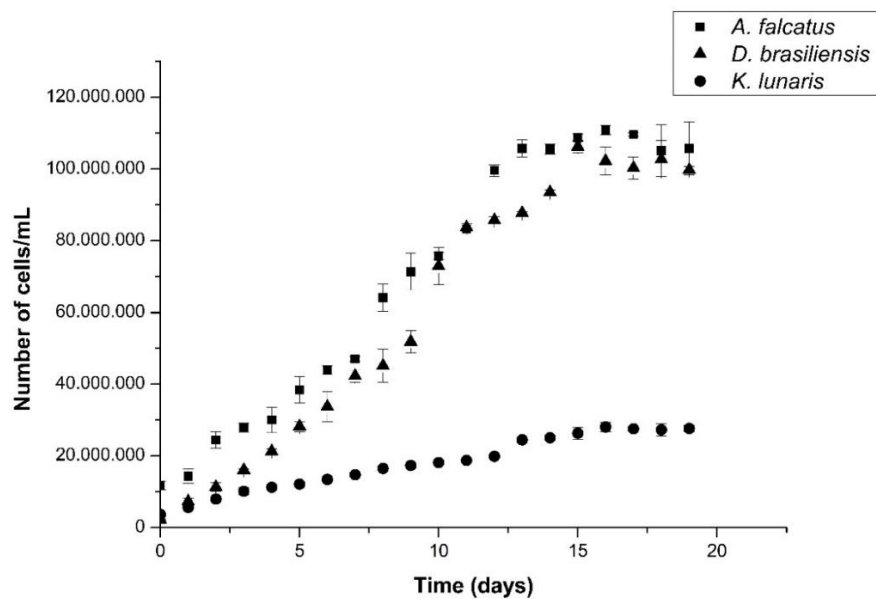
For freshwater microalgae (*A. falcatus*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris*) harvesting was performed on the eighteenth day (Figure 2b). In the graphical representations, points indicate the average values obtained from duplicates (Figure 2).

**Figura 6 (tese). Figure 2 -** Growth curve of marine microalgae (*C. neogracilis*, *D. tertiolecta* and *T. gracilis*) (a) and freshwater microalgae (*A. falcatus*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris*) (b).

(a)



(b)

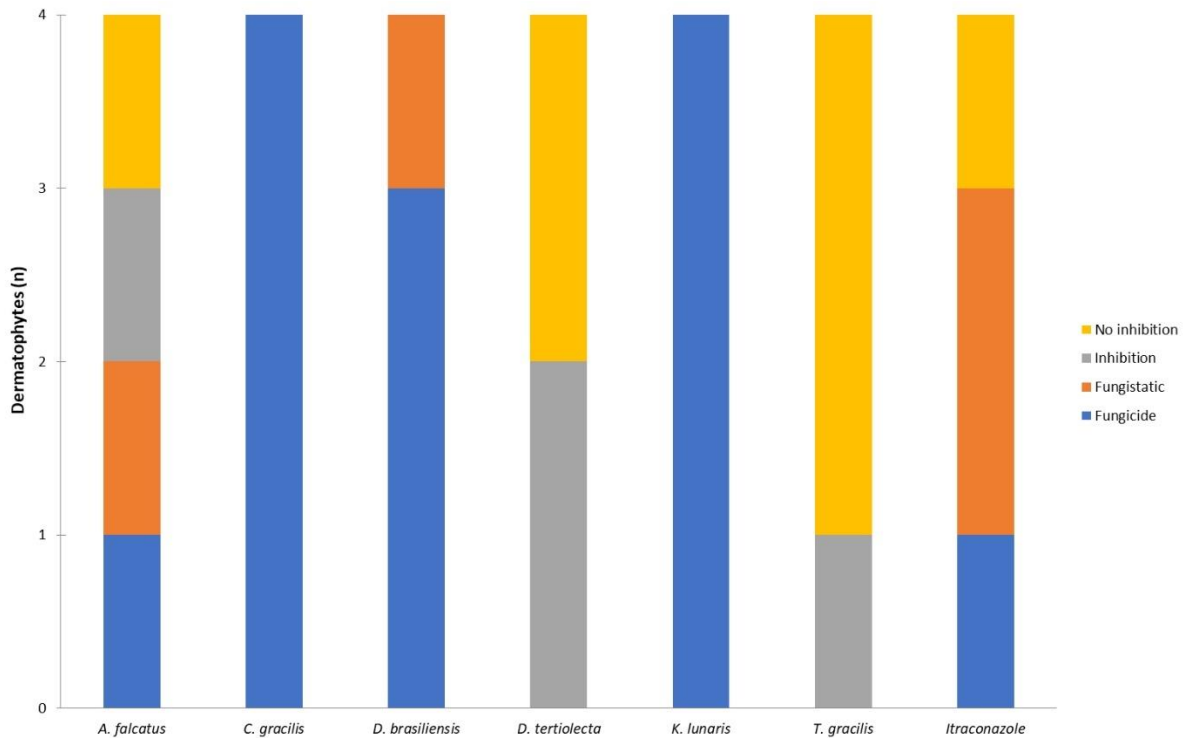


### Susceptibility tests

All ethanolic extracts of the tested microalgae species showed antifungal activity (Figure 3). The microalgal extracts inhibited the growth of the four dermatophyte species evaluated, with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values ranging from 188 to 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Tables 1 and 2). Itraconazole inhibited three of the evaluated dermatophyte species, with MIC values ranging from 0.03125 to 0.0625  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Table 3). The species *N. nana* was not inhibited by itraconazole.

The ethanolic extracts of *C. neogracilis* and *K. lunaris* showed fungicidal activity against the four dermatophyte species. The chlorophyte extract *D. brasiliensis* showed fungistatic activity against *T. tonsurans* and fungicidal activity against other dermatophyte species. The ethanolic extract of *A. falcatus* showed fungistatic activity against *T. tonsurans* and fungicidal activity against *N. nana*. The marine microalgae *D. tertiolecta* and *T. gracilis* showed only partial inhibitory activity. Itraconazole showed fungicidal activity only against *T. mentagrophytes*. The ethanolic extracts of *K. lunaris* and *D. brasiliensis* registered the lowest MIC values (188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), which were against the dermatophytes *T. tonsurans* and *N. nana*. *T. tonsurans* and *T. mentagrophytes* were the most sensitive species to itraconazole, with MIC value equal to 0.03125  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Table 3).

**Figura 7 (tese). Figure 3** - Responses of dermatophyte isolates to ethanolic extracts of microalgae and to the drug itraconazole.



**Tabela 5 (tese). Table 1** - Values of MIC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), MFC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and MFC/MIC ratio of marine microalgae extracts (*C. neogracilis*, *D. tertiolecta* and *T. gracilis*) against dermatophyte isolates. The extract evaluated was considered to have fungicidal (FC) or fungistatic (FT) activity according to the result obtained in the MFC/MIC ratio. The cut-off point for itraconazole was  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Each isolate was classified as resistant (R) or sensitive (S) according to pre-established cutoff values.

Dermatophyte	<i>Chaetoceros neogracilis</i>				<i>Dunaliella tertiolecta</i>				<i>Tetraselmis gracilis</i>				Itraconazol
	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	Response
<i>T. tonsurans</i>	1.500	6.000	4	FC	750	ND	ND	ND	1.500	ND	ND	ND	S
<i>T. mentagrophytes</i>	6.000	6.000	1	FC	6.000	ND	ND	ND	NI	ND	ND	ND	S
<i>N. gypsea</i>	6.000	6.000	1	FC	NI	ND	ND	ND	NI	ND	ND	ND	S
<i>N. nana</i>	375	375	1	FC	NI	ND	ND	ND	NI	ND	ND	ND	R

NI: No inhibition; ND: Not determined.

**Tabela 6 (tese). Table 2** - Values of MIC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), MFC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and MFC/MIC ratio of freshwater microalgae extracts (*A. falcatus*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris*) against dermatophyte isolates. The extract evaluated was considered to have fungicidal (FC) or fungistatic (FT) activity according to the result obtained in the MFC/MIC ratio. The cut-off point for itraconazole was  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Each isolate was classified as resistant (R) or sensitive (S) according to pre-established cutoff values.

Dermatophyte	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>				<i>Desmodesmus brasiliensis</i>				<i>Kirshnariella lunaris</i>				Itraconazol Response
	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	
<i>T. tonsurans</i>	375	6.000	16	FT	188	1.500	8	FT	188	375	2	FC	S
<i>T. mentagrophytes</i>	6.000	ND	ND	ND	750	750	1	FC	750	750	1	FC	S
<i>N. gypsea</i>	NI	ND	ND	ND	750	750	1	FC	1.500	1.500	1	FC	S
<i>N. nana</i>	6.000	6.000	1	FC	750	750	1	FC	188	188	1	FC	R

NI: No inhibition; ND: Not determined.

**Tabela 7 (tese). Table 3** - MIC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), MFC ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and MFC/MIC ratio of itraconazole against dermatophytes. Fungicidal (FC) or fungistatic (FT) activity was determined according to the MFC/MIC ratio.

Dermatophyte	Itraconazol			Activity
	MIC	MFC	MFC/MIC	
<i>T. tonsurans</i>	0.03125	0.5	16	FT
<i>T. mentagrophytes</i>	0.03125	0.0625	2	FC
<i>N. gypsea</i>	0.0625	0.5	8	FT
<i>N. nana</i>	NI	ND	ND	ND

NI: No inhibition; ND: Not determined.

## DISCUSSION

### Growth curve and harvesting of microalgae biomass

For the microalgae *C. neogracilis*, the exponential phase occurred from day zero to day twelve, followed by the stationary phase from day thirteen to seventeen. These results were similar to other studies in which microalgae growth was followed for ten days and only the exponential phase was obtained<sup>21-22</sup>.

In the growth curve of *D. tertiolecta*, the exponential phase was obtained from day zero to thirteen, followed by the stationary phase from day fourteen to twenty. Chen et al.<sup>23</sup> (2011) followed the growth of *D. tertiolecta* for seven days and also obtained the exponential phase in this period of the curve.

The microalgae *T. gracilis* presented the exponential phase from day zero to the thirteenth of the curve and from the fourteenth to the eighteenth day the stationary phase. These results are similar to those obtained by Rigobello-Masini et al.<sup>24</sup> (2006), in which the *T. gracilis* curve was monitored until the tenth day and the exponential phase was obtained until this period. In the work by Aidar et al.<sup>25</sup> (1994), *T. gracilis* curve was performed until the fourteenth day, with the exponential phase obtained from day zero to the eighth and the stationary phase from eighth to the fourteenth.

In this work, the three species of marine microalgae had their stationary phase starting on the thirteenth day of the curve, ending between the seventeenth and the twentieth (Figure 2a). Other studies show that the secondary metabolites of marine microalgae are also concentrated in this period of the stationary phase, as well as a higher cell density<sup>26-27</sup>. The minor differences observed between the studies can be attributed to intrinsic factors of each

species evaluated, as well as the volume and cultivation conditions, since such elements directly influence the growth of these microorganisms<sup>16</sup>.

For the microalgae *A. falcatus*, the exponential phase of the growth curve was from day zero to seventeen, followed by the stationary phase from day eighteen to twenty. This result is similar to that obtained by Kalita et al.<sup>28</sup> (2011), where the exponential phase was obtained from day zero to eighteen and the stationary phase from nineteen to twenty-four.

In the growth curve of *D. brasiliensis*, the exponential phase was from day zero to sixteen, followed by the stationary phase from day seventeen to twenty. This result is similar to that obtained by Ferreira et al.<sup>29</sup> (2021), where the exponential phase was from day zero to seventeen and the stationary phase from day eighteen to twenty-one.

For *K. lunaris*, the exponential phase was from day zero to seventeen, followed by the stationary phase from day eighteen to twenty. In the study by Ortega-Salas and Reyes-Bustamante<sup>30</sup> (2012), the growth curve of the microalgae *Kirchneriella obesa* was followed for 10 days and the exponential phase was found from day zero to ten.

In this work, the three freshwater microalgae had their stationary phase started between the seventeenth and eighteenth days and remained until the last reading day, the twentieth (Figure 2b). Other studies indicate that secondary metabolites of freshwater microalgae are also concentrated in this period of the stationary phase, as well as a higher cell density<sup>3-31</sup>.

### Susceptibility tests

The highest performances, with the lowest MIC values, were from extracts of the freshwater microalgae *D. brasiliensis* (MIC 188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), *K. lunaris* (MIC 188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *A. falcatus* (MIC 375  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Among marine microalgae, *C. neogracilis* showed the highest activity (MIC 375  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), followed by *D. tertiolecta* (MIC 750  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *T. gracilis* (MIC 1.500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

*T. tonsurans* was sensitive to the six microalgae extracts evaluated (Tables 1 and 2) and *T. mentagrophytes* was not sensitive only to the *T. gracilis* extract (Tables 1 and 2). The sensitivity of species of the genus *Trichophyton* to macro and microalgae extracts and their isolated compounds has already been investigated<sup>9-32-33</sup>.

Al-Rekabi<sup>9</sup> (2011) reported antifungal activity of the microalgae *Oscillatoria irrigua* and *Scenedesmus quadricauda* against different fungal species, including *T. rubrum*, with MIC of 150  $\mu\text{g mL}^{-1}$  for cyanobacteria and MIC of 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$  for chlorophyte.

Guedes et al.<sup>33</sup> (2012) evaluated the antifungal potential of six macroalgae (*Hypnea musciformis*, *Digenea simplex*, *Padina gymnospora*, *Dictyota dichotoma*, *Sargassum vulgare* and *Ulva lactuca*) against dermatophytes, including *T. rubrum*, *T. tonsurans* and *T. mentagrophytes*. All algae were active against at least one of the evaluated species, the seaweed *H. musciformis* and *P. gymnospora* presentaram MIC from 0.031 to 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; *D. simplex* MIC between 0.031 and 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; *D. dichotoma* MIC from 4 to 16  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ; *S. vulgare* MIC from 2.5 to 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and *U. lactuca* MIC from 0.5 to 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .



The chlorotannin called “dieckol”, isolated from the macroalgae *Ecklonia cava*, presented MIC equal to 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  against *T. rubrum*. Image obtained by fluorescence microscopy showed that the compound exhibited a fungicidal activity due to the loss of integrity of the cytoplasmic membrane<sup>32</sup>.

In the present work, itraconazole was active against *T. mentagrophytes* (MIC 0.03125  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *T. tonsurans* (MIC 0.03125  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Maurya et al.<sup>34</sup> (2019) consider the cutoff point for itraconazole to be 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . The genus Trichophyton is generally sensitive to itraconazole<sup>35-36</sup>.

The susceptibility of 59 dermatophytes, including the species *T. mentagrophytes* and *T. tonsurans*, against the drugs itraconazole, terbinafine and clotrimazole, was evaluated by Esteban et al.<sup>35</sup> (2005). Itraconazole was active against the evaluated dermatophytes, *T. mentagrophytes* (MIC 0.68  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *T. tonsurans* (MIC 0.289  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), considered sensitive<sup>34</sup>.

Araújo et al.<sup>36</sup> (2009) also found sensitivity of *T. mentagrophytes* and *T. rubrum* to itraconazole (MIC of 0.09 and 0.10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively), being considered sensitive<sup>34</sup>.

In this study, *D. brasiliensis* (MIC 750  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), *K. lunaris* (MIC 1.500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *C. neogracilis* (MIC 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) inhibited *N. gypsea*. For *N. nana*, the most active extract was that of *K. lunaris* (MIC 188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), followed by *C. neogracilis* (MIC 375  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), *D. brasiliensis* (MIC 750  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and *A. falcatus* (MIC 6.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Carvalho et al.<sup>37</sup> (2019) reported activity of the macroalgae *Bifurcaria bifurcata* against seven dermatophytes, including *N. gypsea* (MIC 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Colloidal silver nanoparticles isolated from the macroalgae *Colpomenia sinuosa* were shown to be effective against dermatophytes, including *N. nana* (MIC 30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ )<sup>38</sup>.

In the present study, itraconazole was active against the *N. gypsea* strain (MIC 0.0625  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), an activity similar to that reported by Krakhecke et al.<sup>39</sup> (2005) with MIC <0.03  $\mu\text{g mL}^{-1}$  and by Méndez et al.<sup>40</sup> (2008) with MIC of 0.54  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

The species *N. nana* showed resistance to itraconazole, with MIC >16  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Human isolates had a MIC between 0.25 and 0.78  $\mu\text{g mL}^{-1}$ <sup>41-42</sup>. In the literature, no reports of resistance to azoles were found for the species.

Different factors related to microalgae can synergistically influence the results, such as the solvent used in the extraction, the growth phase at the time of biomass collection, the biomass collection method (centrifugation, electroflocculation or decantation), the place of origin and the cultivation conditions used (luminosity, temperature, pH, aeration, and culture medium)<sup>27-43</sup>. In addition, the influence of seasonality on the synthesis of antimicrobial compounds was also observed, which may be related to the production of a single, or multiple compounds<sup>44</sup>.

## CONCLUSIONS

All microalgae in this study showed in vitro antifungal activity against the evaluated dermatophyte species. The microalgae *D. brasiliensis*, *C. neogracilis* and *K. lunaris* stand out for their inhibition of the four dermatophyte species evaluated and for their fungicidal activity. Furthermore, the chlorophytes *D. brasiliensis* and *K. lunaris*

registered the lowest MIC value (188  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), revealing the highest antifungal activity among the extracts. The ethanolic extracts of *A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* and *K. lunaris* were able to inhibit the species *N. nana*, resistant to itraconazole. This work was a pioneer in the study of the antifungal activity of these microalgae species. It is expected that future studies will identify and isolate the active biomolecules responsible for antifungal activity, so that microalgal extracts or biomolecules derived from them can compose new phytotherapies.

## ACKNOWLEDGMENT

To the Graduate Biotechnology Program (PPGBIOTEC) of Federal University of Bahia for supporting the development of the project. Scholarship from the Foundation for Research Support of Bahia State (FAPESB) and MCTI/FINEP/CT-INFRA 03/2018 by the Studies and Projects Financier (FINEP).

## REFERENCES

1. Yap JK, Sankaran R, Chew KW, Munawaroh HSH, Ho SH, Banu JR, Show PL. Advancement of green technologies: A comprehensive review on the potential application of microalgae biomass. **Chemosphere**, 281:130886, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130886>
2. Barkia I, Saari N, Manning SR. Microalgae for High-Value Products Towards Human Health and Nutrition. **Mar Drugs**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/md17050304>
3. Russell C, Rodriguez C, Yaseen M. High-value biochemical products & applications of freshwater eukaryotic microalgae. **Sci Total Environ**, 809:151111, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151111>
4. Sansone C, Brunet C. Promises and Challenges of Microalgal Antioxidant Production. **Antioxidants**, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8070199>
5. Gupta SP, Siddiqi NJ, Khan HA, Alrokayan SH, Alhomida AS, Singh RK, Verma PK, Kumar S, Acharya A, Sharma B. Phytochemical Profiling of Microalgae *Euglena tuba* and Its Anticancer Activity in Dalton's Lymphoma Cells. **Front Biosci**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.31083/j.fbl2704120>
6. Vahdati SN, Behboudi H, Tavakoli S, Aminian F, Ranjbar R. Antimicrobial Potential of the Green Microalgae Isolated from the Persian Gulf. **Iran J Public Health**, 51:1134-1142, 2022. DOI: <https://doi.org/10.18502/ijph.v51i5.9428>
7. Gharbi K, Fathalli A, Essid R, Fassatoui C, Romdhane MS, Limam F, Jenhani ABR. Tunisian inland water microflora as a source of phycobiliproteins and biological activity with beneficial effects on human health. **Int J Oceanogr Hydrobiol**, 50:385-397, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2478/oandhs-2021-0033>

8. Turkmen A, Akyurt I. Antiviral Effects of Microalgae. **Turk J Agric - Food Sci Technol**, 9:412-419, 2021. DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i2.412-419.4138>
9. Al-Rekabi HY. Study the effect of some algae extracts against activity of some fungi. **J Thi-Qar Univ**, 6:35-42, 2011.
10. Khurana A, Sardana K, Chowdhary A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genet Biol**, 132:1087-1845, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2019.103255>
11. Curatolo R, Juricevic N, Leong C, Bosshard PP. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: Development and evaluation of an optimised broth microdilution method. **Mycoses**, 64:282-291, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/myc.13202>
12. Begum J, Das P. Antifungal resistance in dermatophytosis: A global health concern. **Lett Animal Biol**, 2:41-45, 2022.
13. Lage VMGB, Deegan KR, Santos GF, Barbosa CJ, Lima STC. Atividade biológica das microalgas em dermatófitos: Revisão. **Res., Soc. Dev.**, 11: e126111133404, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33404>
14. Nascimento IA, Cabanelas ITD, Santos JN, Nascimento MA, Souza L, Sansone G. Biodiesel yields and fuel quality as criteria for algal-feedstock selection: Effects of CO<sub>2</sub>-supplementation and nutrient levels in cultures. **Algal res**, 8:53-60, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.001>
15. Afnor – Association Française de Normalisation. Essais des eaux. Détermination de l'inhibition de croissance de *Scenedesmus subspicatus* par une substance. **Norme expérimentelle T90-304**, Paris, 1980.
16. Lourenço SO. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. Brazil, ed. Rima, 2007. 606 p.
17. Chu CY, Liao WR, Huang R, Lin LP. Haemagglutinating and antibiotic activities of freshwater microalgae. **World J Microbiol Biotechnol**, 20:817-825, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-004-8712-6>
18. NCCLS. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos: Norma Aprovada (M38-A), 2002. LINK: [https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi\\_OPAS1M38-A.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPAS1M38-A.pdf)
19. Bona EAM, Pinto FGS, Fruet TK, Jorge TCM, Moura AC. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq Inst Biol**, 81:218-225, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657001192012>

20. Freires IA, Queiroz VCPP, Furletti VF, Ikegaki M, De Alencar SM, Duarte MCT, Rosalen PL. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. **J Mycol Med**, 26:122-32, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.003>
21. Khairy HM, Shaltout NA, El-Naggar MF, El-Naggar NA. Impact of elevated CO<sub>2</sub> concentrations on the growth and ultrastructure of non-calcifying marine diatom (*Chaetoceros gracilis* F.Schutt). **Egypt J Aquat Res**, 40:243-250, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2014.08.002>
22. Tokushima H, Inoue-Kashino N, Nakazato Y, Masuda A, Ifuku K, Kashino Y. Advantageous characteristics of the diatom *Chaetoceros gracilis* as a sustainable biofuel producer. **Biotechnol Biofuels**, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0649-0>
23. Chen M, Tang H, Ma H, Holland TC, Ng KYS, Salley SO. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. **Bioresour Technol**, 102:1649-1655, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.062>
24. Rigobello-Masini M, Masini JC, Aidar E. The profiles of nitrate reductase and carbonic anhydrase activity in batch cultivation of the marine microalgae *Tetraselmis gracilis* growing under different aeration conditions. **FEMS Microbiol Ecol**, 57:18-25, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00106.x>
25. Aidar E, Ganesella-Galvão SMF, Sigaud TCS, Asano CS, Liang TH, Rezende KRV, Oishi MK, Aranha FJ, Milani GM, Sandes MAL. Effects of light quality on growth, biochemical composition and photosynthetic production in *Cyclotella caspia* Grunow and *Tetraselmis gracilis* (Kyllin) Butcher. **J Exp Mar Bio Ecol**, 180:175-187, 1994.
26. Campos VB, Barbarino E, Lourenço SO. Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques. **Ciênc Rural**, 40:339-347, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000009>
27. Ramos LC, Souza LJ, Silva AF, Falcão VGO, Lima STC. Evaluation of Electro-Flocculation for Biomass Production of Marine Microalgae *Phaodactylum tricornutum*. **Int J Energy Power Eng**, 11:391-394, 2017. DOI: [doi.org/10.5281/zenodo.1130453](https://doi.org/10.5281/zenodo.1130453)
28. Kalita N, Baruah G, Goswami RCDG, Talukdar J, Kalita MC. *Ankistrodesmus falcatus*: A promising candidate for lipid production, its biochemical analysis and strategies to enhance lipid productivity. **J Microbiol Biotechnol Res**, 4:148-157, 2011.
29. Ferreira GF, Pinto LFR, Carvalho PO, Coelho MB, Eberlin MN, Filho RM, Fregolente LV. Biomass and lipid characterization of microalgae genera *Botryococcus*, *Chlorella*, and *Desmodesmus* aiming high-value fatty acid

production. **Biomass Convers Biorefinery**, 11:1675-1689, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-019-00566-3>

30. Ortega-Salas AA, Reyes-Bustamante H. Cultivo de las microalgas dulceacuícolas *Kirchneriella obesa*, *Scenedesmus quadricauda* y *Chlorococcum infusorium* empleando tres medios de cultivo. **Av Investig Agropecu**, 16:35-44, 2012.

31. Adhoni SA, Thimmappa SC, Kaliwal BB. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Chorella vulgaris* isolated from Unkal Lake. **J Coast Life Med**, 4:368-373, 2016. DOI: <https://doi.org/10.12980/jclm.4.2016J5-137>

32. Lee MH, Lee KB, Oh SM, Lee BH, Chee HY. Antifungal activities of dieckol isolated from the marine brown alga *Ecklonia cava* against *Trichophyton rubrum*. **J Korean Soc Appl Biol Chem**, 53:504-507, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.076>

33. Guedes EAC, Araújo MAS, Souza AKP, Souza LIO, Barros LD, Maranhão FCA, Santana AEG. Antifungal Activities of Different Extracts of Marine Macroalgae Against Dermatophytes and *Candida* Species. **Mycopathologia**, 174:223–232, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-012-9541-z>

34. Maurya VK, Kachhwaha D, Bora A, Khatri PK, Rathore L. Determination of antifungal minimum inhibitory concentration and its clinical correlation among treatment failure cases of dermatophytosis. **J Family Med Prim Care**, 8:2577-2581, 2019. DOI: [10.4103/jfmpe.jfmpe\\_483\\_19](https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_483_19)

35. Esteban A, Abarca ML, Cabañes FJ. Comparison of disk diffusion method and broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of dermatophytes. **Med Mycol**, 43:61-66, 2005.

36. Araújo CR, Miranda KC, Fernandes OFL, Soares AJ, Silva MRR. *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiânia, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 51:9-12, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652009000100002>

37. Carvalho GL, Silva R, Gonçalves JM, Batista TM, Pereira L. Extracts of the seaweed *Bifurcaria bifurcata* display antifungal activity against human dermatophyte fungi. **J Oceanol Limnol**, 37:848-854, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00343-019-8118-9>

38. Manam VK. Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from Marine Seaweed *Colpomenia sinuosa* and its Antifungal Efficacy. **Int J Pharma Bio Sci**, 11:59-68, 2020.

39. Krakhecke AG, Afonso E, Ferreira JC, Candido, RC. *In vitro* susceptibility testing of *Microsporium gypseum* isolated from healthy cattle and soil samples against itraconazole, terbinafine, fluconazole and topical veterinarian drugs. **Mycopathologia**, 159:377–380, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0252-6>

40. Méndez CC, Serrano MC, Valverde A, Peman J, Almeida C, Martín-Mazuelos E. Comparison of E-Test, disk diffusion and a modified CLSI broth microdilution (M 38-A) method for *in vitro* testing of itraconazole, fluconazole and voriconazole against dermatophytes. **Med Mycol**, 46:119-123, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/13693780701670491>
41. Wildfeuer A, Seidl HP, Paule I, Haberreiter A. *In vitro* evaluation of voriconazole against clinical isolates of yeasts, moulds and dermatophytes in comparison with itraconazole, ketoconazole, amphotericin B and griseofulvin. **Mycoses**, 41:309–19, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1998.tb00344.x>
42. Gnat S, Lagowski D, Nowakiewicz A, Dylag M. Unusual dermatomycoses caused by *Nannizzia nana*: the geophilic origin of human infections. **Infection**, 48:429–434, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01416-5>
43. Dantas DMM, Oliveira CYB, Costa RMPB, Gálvez MGCAO, Bezerra RS. Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. **Food Sci Technol Int**, 25:318-326, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1177/1082013218825024>
44. Moreau JD, Pasando P, Bernard P, Caram, B, Pionnat JC. Seasonal variation in the production of antifungal substrates by dictyotales (brown algae) from the French Mediterranean coast. **Hydrobiologia**, 2: 1097-1132, 1988.

### **CAPÍTULO 3**

**ARTIGO: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE MICROALGAS EM  
FUNGOS FITOPATÓGENOS – REVISÃO SISTEMÁTICA**

# ARTIGO 3: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE MICROALGAS EM FUNGOS FITOPATÓGENOS – REVISÃO SISTEMÁTICA

Artigo submetido: Revista Ciência e Natura

## **Antifungal activity of microalgae in phytopathogenic fungi: A systematic review**

Vivian Marina Gomes Barbosa Lage<sup>1\*</sup> (ORCID: 0000-0001-9879-8548)

Kathleen Ramos Deegan<sup>1</sup> (ORCID: 0000-0002-5466-3040)

Rebeca Veloso Sacramento<sup>1</sup> (ORCID: 0009-0003-8416-5629)

Daniel Igor Amorim Carvalho dos Santos<sup>1</sup> (ORCID: 0000-0002-2850-0678)

Luciana Veiga Barbosa<sup>1</sup> (ORCID: 0000-0002-6414-7322)

Cristiane de Jesus Barbosa<sup>2</sup> (ORCID: 0000-0003-2745-6588)

Suzana Telles da Cunha Lima<sup>1</sup> (ORCID: 0000-0002-9099-324X)

<sup>1</sup>Institute of Biology, Ondina Campus, Federal University of Bahia (UFBA), Barão de Jeremoabo Street, 668, Salvador, Bahia, Brazil, ZIP: 40170-115.

<sup>2</sup>Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA), Cassava & Fruits. Embrapa Street, Cruz das Almas, Bahia, Brasil, ZIP: 44380-000.

\*Corresponding - Email: vivianmarina@hotmail.com

### **Abstract**

Phytopathogenic fungi are a group of organisms that cause diseases in plants through disturbances in their cellular metabolism. They have major impacts on agriculture, accounting for 8 - 40% of the losses in world agricultural production. Meanwhile, microalgae synthesize a wide variety of allelopathic chemicals and can be used for different biocidal purposes, including antifungal. The objective of this study was to review the antifungal activity of microalgal extracts and their compounds against phytopathogenic fungi. This systematic review of the literature was conducted using SciELO, PubMed, and Periódicos Capes (Scopus). Following the search, 25 articles published in English and Portuguese were selected. Several publications will be recorded from 2015 to 2022. Eight microalgal phyla (Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria, Haptophyta, Miozoa, Ochrophyta, Prasinodermatophyta, and Rhodophyta) were detected, with Chlorophyta and Cyanobacteria having the highest number of



registered publications. The most tested species of phytopathogenic fungi were *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*. Regarding the categorized inhibition classification for the assays, high inhibition was observed in 31.26% of the trials. Studies performed with cyanobacterial species showed a higher proportion of high inhibition (41.36%) of phytopathogens. Given the high degree of biodiversity of microalgae and their wide range of associated bioactive molecules, this is a vast field to explore for novel biopesticides with antifungal potential.

**Keywords:** Agriculture; Antifungal activity; Phytopathogens; Fungi; Microalgae.

## Introduction

Phytopathogenic fungi are microorganisms that inhabit the interior of plant tissues (Leanne-Riolland et al. 2022). Under biotic and abiotic stresses, they can cause diseases in plants through disturbances in cellular metabolism (Chandrasekaran et al. 2016). Phytopathogens affect agricultural productivity and food security worldwide, resulting in major economic losses (Omran and Baek 2022). They are estimated to account for 8 - 40% of the losses in global agricultural production (Khan et al. 2021).

The main method of controlling phytopathogenic fungi is the use of fungicides such as benzimidazole, carboxylin, anilinopyrimidine, strobilurin and morpholine (Brauer et al. 2019). However, the use of these synthetic compounds can cause problems to human health and the environment, such as water and soil pollution (Ons et al. 2020) and the selection of azole-resistant fungi for clinical use (Brauer et al. 2019; Verweij et al. 2022). As an alternative to these commercial fungicides, microalgae extracts stand out, which, in addition to their registered biocidal properties, are also a more sustainable option (Mishra and Arora 2018).

Microalgae are photosynthetic organisms that, under different environmental conditions, produce a wide variety of bioactive compounds (Costa et al. 2022). Currently, they are extensively used in biotechnological applications and are directed toward agriculture. Several applications have been associated with them, such as biofertilizer properties (atmospheric nitrogen fixation capacity and phosphorus solubilization), aiding in the cycling of soil nutrients (promoting plant growth), producing bioactive substances (such as phytohormones), removing heavy metals from the soil, treating agricultural wastewater, and protecting against pathogens and pests (Costa et al. 2019; Alvarez et al. 2021). They can protect against pathogens and pests due to their ability to produce allelopathic chemical compounds, which are secondary metabolites that affect individuals other than those who produce them and can be used for algicidal, herbicidal, insecticidal, nematicidal, and fungicidal purposes (Alvarez et al. 2021).

Although there are articles that have reviewed the antifungal activity of macroalgae (Vicente et al. 2021) and cyanobacteria (Righini et al. 2022) against phytopathogenic fungi, nothing has been directed exclusively toward microalgae, especially eukaryotes. Given the chemical diversity of bioactive compounds isolated from microalgae and their previously recorded antimicrobial properties, these organisms are considered promising agents for the production of novel antifungal compounds for

agriculture (Costa et al. 2019). This study is a systematic review of the literature on the antifungal activities of extracts and microalgal compounds against phytopathogenic fungi.

## Methodology

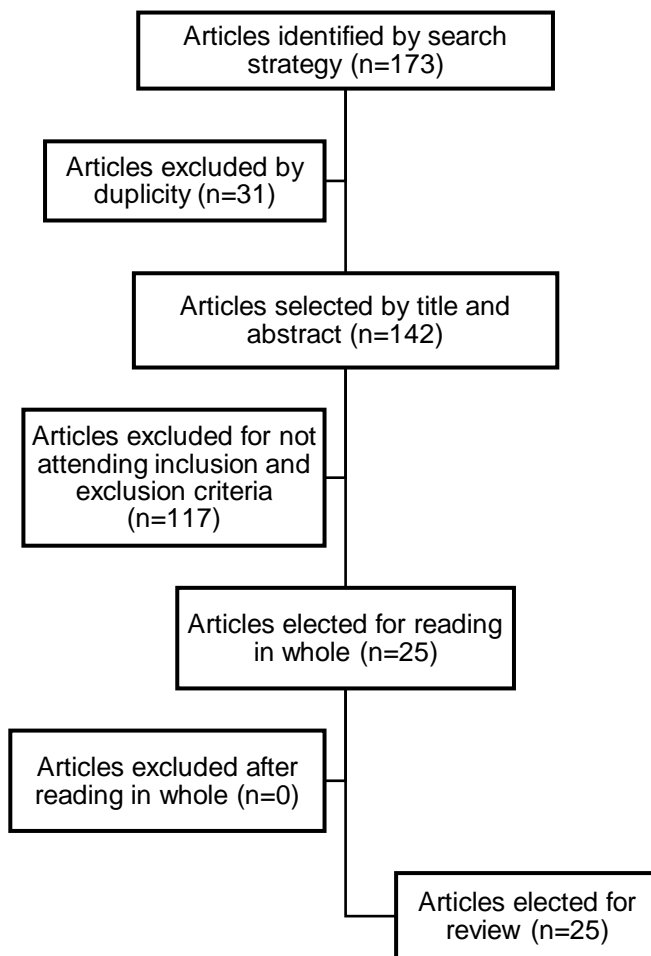
A systematic literature review was conducted on the antifungal activities of microalgal extracts and compounds against phytopathogenic fungi. Searches were performed using the SciELO, PubMed, and Capes (Scopus) databases. The search strategy was the same for all databases. The keywords used in Portuguese, English, and Spanish were Microalga/Microalgae/Microalgas AND Antifúngico/Antifungal/Antifúngico, respectively. No time cut-off was applied.

The selection of articles to compose this systematic review was performed by two researchers, in a double-blind manner, with the aid of the *online* platform Rayyan. Conflict mediation was conducted with the help of a third researcher. The following inclusion criteria were used to select articles: (I) original scientific articles published in national and international journals; (II) articles in Portuguese, English, and Spanish; (III) articles that tested the antifungal action of microalgae on phytopathogenic fungi; and (IV) *in vivo* or *in vitro* experimental studies. The following studies were excluded: (I) letters, editorials, news, comments, and case studies; (II) articles not available in full; (III) articles published in other languages; and (IV) reviews and book chapters. The flowchart in figure 1 presents the search and selection of the articles (Figure 1).

The following information was extracted from the selected articles: bibliometric data, microalgal collection sites, microalgal species studied, extraction methodologies and solvents, detection methodologies, biomolecules present in microalgal extracts, antifungal assay methodologies, tested fungal species, and the presence of inhibitory activity. The antifungal activity of the microalgae was classified according to the following criteria: high (minimum inhibition concentration  $\leq 15 \text{ mg mL}^{-1}$ , inhibition halo  $\geq 5 \text{ mm}$  and percentage of inhibition  $\geq 60\%$ ), low (minimum inhibition concentration  $> 15 \text{ mg mL}^{-1}$ , inhibition halo  $< 5 \text{ mm}$  and percentage of inhibition  $< 60\%$ ), and absent (total absence of inhibition).

The taxonomic classification of the microalgae was verified using the AlgaeBase database (<https://www.algaebase.org>). Data were tabulated and analyzed using Excel and RStudio (tidyverse and psych packages). The Shapiro-Wilk normality test was performed to evaluate the distribution of numerical data and descriptive statistics (mean and standard deviation) were then determined.

**Figura 8 (tese). Figure 1.** Flowchart of the search process and selection of articles.



Source: Authors (2023)

## Results and discussion

After the search, 25 articles in English and Portuguese were used to evaluate the antifungal activity of microalgae against phytopathogenic fungi. Among the studies in the articles selected for the search, 19 performed assays on eukaryotic microalgae and 13 performed assays on prokaryotic species (Table 1).

**Tabela 8 (tese). Table 1.** Articles included in this review: bibliometric data, collection site and taxonomic classification of the microalgae studied.

Reference	Collection locations	Country of origin	Microalgae phylum	Microalgae species

Carneiro et al. (2021)	Microalgae bank	Hungary	Chlorophyta	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus acutus</i>
Davoodbasha et al. (2018)	Microalgae bank	India	Chlorophyta	<i>Scenedesmus intermedius</i>
El Semary et al. (2013)	Nile River (Maadi area) and Wastewater Canal (Hellwan Province)	Egypt	Cyanobacteria	<i>Aphanizomenon</i> sp. <i>Synechocystis salina</i>
			Ochrophyta	<i>Poterioochromonas malhamensis</i>
Herrero et al. (2006)	Microalgae bank	Israel	Chlorophyta	<i>Dunaliella salina</i>
Kashif et al. (2018)	Microalgae bank	South Coreia	Chlorophyta	<i>Tetraselmis</i> sp.1 <i>Tetraselmis</i> sp.2
Martínez et al. (2019)	Microalgae bank	United States	Miozoa	<i>Amphidinium carterae</i>
Montalvão et al. (2016)	Aegean Sea, Turkey	Turkey	Bacillariophyta	<i>Amphora capitellata</i> <i>Cylindrotheca closterium</i> <i>Nanofrustulum</i> sp. <i>Nitzschia</i> sp. <i>N. communis</i> <i>N. thermalis</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i>
			Cyanobacteria	<i>Calothrix crustacea</i> <i>Geitlerinema</i> sp. <i>Halospirulina</i> sp. <i>Oscillatoria rosea</i> <i>Oscillatoria</i> sp. <i>Phormidium</i> sp. <i>Pseudoscillatoria</i> sp.
			Chlorophyta	<i>Chlorella</i> sp. <i>Dunaliella</i> sp. <i>D. salina</i> <i>Picochlorum</i> sp.
			Haptophyta	<i>Ochrosphaera</i> sp.
			Ochrophyta	<i>Chrysoreinhardia</i> sp.

				<i>Nannochloropsis</i> sp.
			Prasinodermatophyta	<i>Prasinococcus</i> sp.
Morales-Jiménez et al. (2020)	Microalgae Bank	Portugal	Cyanobacteria	<i>Nostoc</i> sp.
				<i>Spirulina máxima</i>
				<i>Synechocystis</i> sp.
Neto et al. (2015)	Santa Catarina Coast	Brazil	Chlorophyta	<i>Chlorella</i> sp. <i>Haematococcus pluvialis</i>
			Cyanobacteria	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <i>Limnothrix</i> sp.
			Rhodophyta	<i>Porphyridium cruentum</i>
Patil & Kaliwal (2019)	Microalgae Bank	India	Chlorophyta	<i>Scenedesmus bajacalifornicus</i>
Pawar & Puranik (2008)	Salt soils, fresh waters, rice paddies and alkaline lake located in northern Maharashtra	India	Cyanobacteria	<i>Oscillatoria limosa</i> <i>Oscillatoria ornata</i> <i>Leptolyngbya tenuis</i> <i>Synechococcus elongatus</i> <i>Trichodesmium hildebrandtii</i>
Peraman & Nachimuthu (2019)	Microalgae Bank	India	Bacillariophyta	<i>Chaetoceros calcitrans</i> <i>C. gracilis</i> <i>Navicula</i> sp. <i>Thalassiosira</i> sp.
			Chlorophyta	<i>Dunaliella salina</i> <i>Tetraselmis gracilis</i> <i>T. trahele</i>
			Haptophyta	<i>Dicrateria inornata</i> <i>Isochrysis galbana</i> <i>Pavlova lutheri</i>
Ranglová et al. (2021)	Microalgae Bank	Hungary	Chlorophyta	<i>Chlorella vulgaris</i>
Righini et al. (2020)	Microalgae Bank	Spain	Cyanobacteria	<i>Arthrospira platensis</i>
Righini et al. (2021)	Microalgae Bank	Spain	Cyanobacteria	<i>Anabaena minutissima</i>
Rodríguez-Meizoso et al. (2008)	Microalgae Bank	Spain	Cyanobacteria	<i>Phormidium</i> sp.

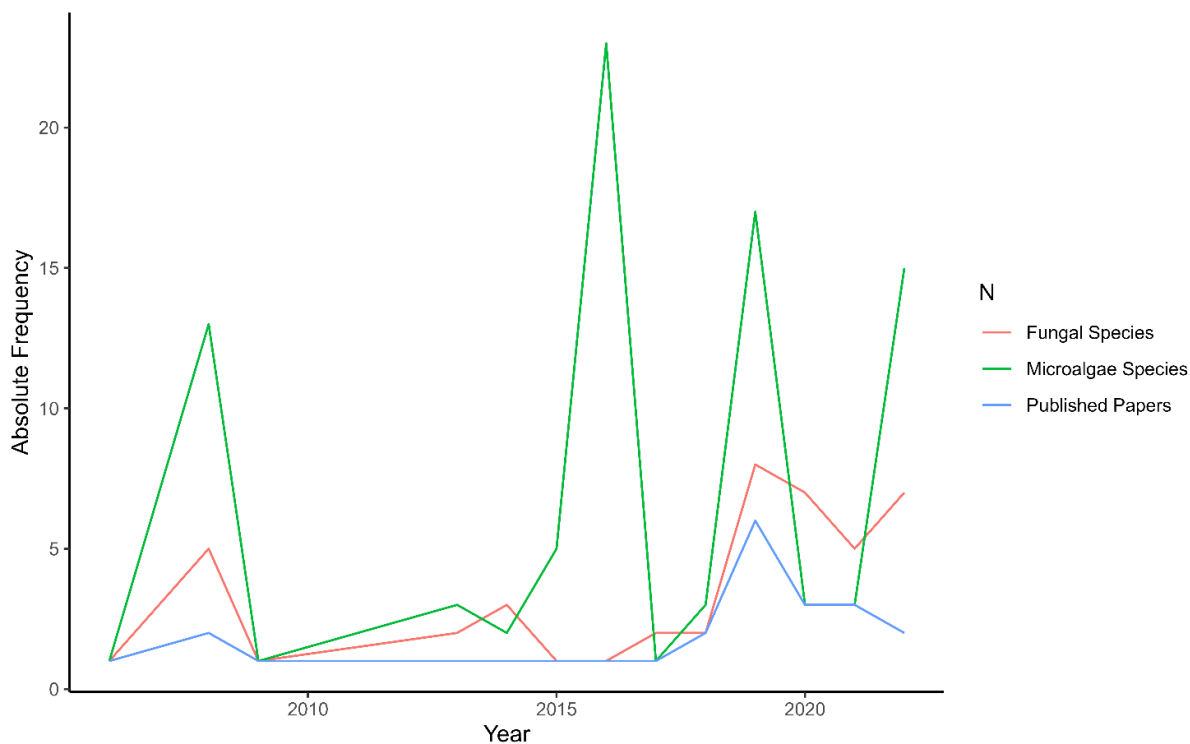
Santoyo et al. (2009)	Microalgae Bank	Spain	Chlorophyta	<i>Haematococcus pluvialis</i>
Scaglioni et al. (2019 a)	Microalgae Bank	Brazil	Cyanobacteria	<i>Spirulina</i> sp.
			Ochrophyta	<i>Nannochloropsis</i> sp.
Scaglioni et al. (2019 b)	Microalgae Bank	Brazil	Cyanobacteria	<i>Spirulina</i> sp.
			Ochrophyta	<i>Nannochloropsis</i> sp.
Schmid et al. (2022)	Microalgae Bank	Portugal	Bacillariophyta	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
			Chlorophyta	<i>Chlorella vulgaris</i>
				<i>Scenedesmus obliquus</i>
			Cyanobacteria	<i>Spirulina</i> sp.
Ochrophyta	<i>Nannochloropsis</i> sp.			
Senousy et al. (2022)	Water drainage station in Bahr Hadus and rice and wheat field soils in El-Sharkia province	Egypt	Chlorophyta	<i>Chlorella sorokiniana</i> <i>Dunaliella</i> sp.
			Cyanobacteria	<i>Anabaena</i> sp. <i>Aphanizomenon gracile</i> <i>Dolichospermum circinale</i> <i>D. crassum</i> <i>D. spiroides</i> <i>Oscillatoria nigroviridis</i> <i>O. sancta</i> <i>Wollea saccata</i>
Sun et al. (2017)	Microalgae Bank	China	Chlorophyta	<i>Chlamydomonas</i> sp.
Suresh et al. (2014)	Manjalar dam in Tamil Nadu	India	Cyanobacteria	<i>Nostoc spongiforme</i> <i>Oscillatoria tenuis</i>
Vehapi et al. (2019)	Microalgae Bank	Turkey	Chlorophyta	<i>Chlorella minutissima</i> <i>C. protothecoides</i> <i>C. vulgaris</i>
Zielinski et al. (2020)	Microalgae Bank	United States	Chlorophyta	<i>Chlorella vulgaris</i>

Source: Authors (2023)

The first studies were published in the 2000s and focused on Chlorophyceae and Cyanobacteria (Herrero et al. 2006; Pawar and Puranik 2008; Rodríguez-Meizoso et al. 2008; Santoyo et al. 2009). A greater number of published articles were concentrated from 2015 to 2022, as were the number of

species (fungi and microalgae) studied (Figure 2). This is consistent with the fact that this period had greater biotechnological advancement and increased interest in bioprospecting for novel biopesticides, such as antifungal compounds from microalgae (Kumar et al. 2021; Murata et al. 2021).

**Figura 9 (tese). Figure 2.** Absolute frequency of published articles, species of microalgae studied and species of phytopathogenic fungi submitted to antifungal assays, grouped by year of publication.

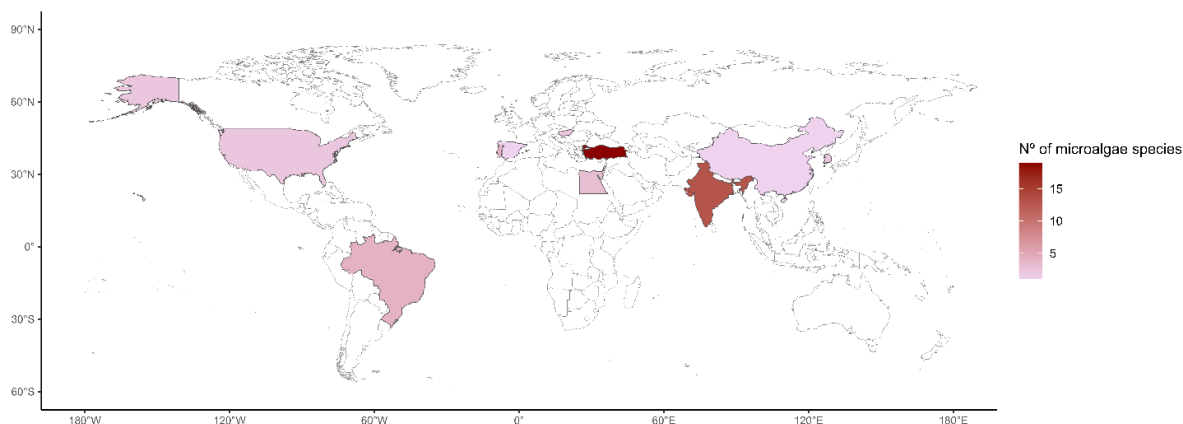


Source: Authors (2023)

The microalgal species studied were from four continents and distributed across 11 countries (Figure 3). It can be observed that a greater number of species ( $n > 10$ ) was studied in Turkey and India, which are highlighted on the map (Figure 3). Other countries, such as the United States, Brazil, Spain, Egypt, Hungary, Portugal, China, South Korea, and Israel, had fewer studied species ( $n < 5$ ).

Although the largest number of publications and species of microalgae studied are concentrated, respectively, in India (5), Spain (4), and Brazil (3) and in India (27), Turkey (26), and Egypt (13) (Table 1; Figure 3), the number of microalgal patents linked to agriculture is most concentrated in the United States (23.2%), China (13.6%), Canada (7.2%), and Mexico (6.4%) (Murata et al. 2021).

**Figura 10 (tese). Figure 3.** Absolute frequency of articles distributed by country of origin of microalgal collection.



Source: Authors (2023)

In the selected articles, eight phyla of microalgae (Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria, Haptophyta, Miozoa, Ochrophyta, Prasinodermatophyta and Rhodophyta) were tested. Cyanobacteria and Chlorophyta had the largest number of microalgal species studied, accounting for 37 and 20 species, respectively (Figure 4). Next were Bacillariophyta (11), Haptophyta (4), and Ochrophyta (3) (Figure 4). The other phyla (Miozoa, Prasinodermatophyta, and Rhodophyta) had only one species evaluated for antifungal potential (Figure 4).

The most studied genera of eukaryotic microalgae were *Chlorella*, *Chaetoceros*, *Dunaliella*, *Nannochloropsis*, *Scenedesmus* and *Tetraselmis* (Table 1). The most studied species were *Chlorella vulgaris*, *D. salina*, *H. pluvialis* and *P. tricorutum* (Table 1). Among the prokaryotic genera, the predominant were *Anabaena*, *Dolichospermum*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Spirulina* and *Synechocystis* (Table 1), with equal frequencies among the species studied.

Microalgae are a diverse group from phylogenetic and evolutionary perspectives, encompassing prokaryotic cyanobacteria and eukaryotic microalgae (Stirk and Staden 2022). Approximately 41,000 species of microalgae, distributed in 38 classes, have been described and elucidated to date (Sexton and Lomas 2018). Given the great biodiversity of this group, the 48 species and eight phyla detected in this literature review (Figure 4) reflect the sparse exploration of the antifungal potential of microalgae. Thus, there is a promising gap to be filled by new prospective antifungal studies that encompass different species of microalgae.

The phyla Chlorophyta and Cyanobacteria were the most explored in relation to the number of microalgal species prospected and the frequency of antifungal assays performed (Figures 4 and 5). These results can be attributed to the fact that these taxa are more commonly found in laboratory collections and microalgal banks. Considering that these are groups with wide biodiversity Chlorophyta, with approximately 8,000 described species (Bowles et al. 2022), and Cyanobacteria, with approximately 3,000 (Nabout et al. 2013), many other species can be used to detect antifungal biomolecules.



Among the eukaryotic microalgae, Chlorophyta is the phylum with the greatest diversity of biologically active compounds (Baudeflet et al. 2017). Several biological properties have been associated with this phylum, including antibacterial, antiviral, antiprotozoal, and antifungal (Saeed et al. 2022). Regarding the antifungal potential, despite the wide range of human, animal and plant fungi already explored, few species of eukaryotic microalgae have been contemplated so far, thus leading to the underestimation of the great biodiversity that this group presents (Falaise et al. 2016; Lage et al. 2022).

The phylum Cyanobacteria are popularly called "blue-green algae", although they are prokaryotic organisms and inserted in the domain of bacteria (Righini et al. 2022). Owing to their high rate of adaptation to fluctuating environmental conditions and the pressure of competing organisms, they produce several defense mechanisms, including metabolites with essential biotechnological applications (Zahra et al. 2020). Among the biological activities already reported, the ones that stand out are antioxidant, antitumor, antibacterial, antiviral, antiprotozoal, and antifungal (Saeed et al. 2022). Cyanobacteria have been investigated for their antifungal activities against a wide range of pharmaceutical and agricultural fungi (Lage et al. 2022; Righini et al. 2022).

The "diatoms", included in the phylum Bacillariophyta, are among the most diverse groups of microalgae, with an estimated 100,000 species (Archibaldi et al. 2017). Despite their great biodiversity, only 11 species have been investigated against phytopathogens. Antiviral (Fábregas et al. 1999), antifungal (Qasem et al. 2016), and antibacterial (Torres-Bayona et al. 2023) activities have been reported in species of this phylum.

The phylum Haptophyta is composed of "golden-brown algae" which are a well-defined group divided into two classes, Pavlovophyceae and Coccolithophyceae (Prymnesiophyceae), with 330 described species (Archibaldi et al. 2017). Four species of microalgae have been studied for activity against phytopathogenic fungi (Montalvão et al. 2016; Peraman and Nachimuthu 2019), however, previous work has found antiviral (Fábregas et al. 1999), antibacterial (Bashir et al. 2018; Torres-Bayona et al. 2023), and antifungal (Garcia-Mosaica and Rio-Garati 2022) activities in extracts and compounds of other species.

Ochrophyta is a phylum of "brown algae" that encompasses approximately 300 genera (Silberfeld et al. 2014). Among these, three species have been studied for their activity against phytopathogenic fungi (El Semary et al. 2013; Montalvão et al. 2016). Other studies have reported antiviral (Yanuhar et al. 2011), antifungal (Najdenski et al. 2013; Qasem et al. 2016), and antibacterial (Cepas et al. 2021) activities of this phylum.

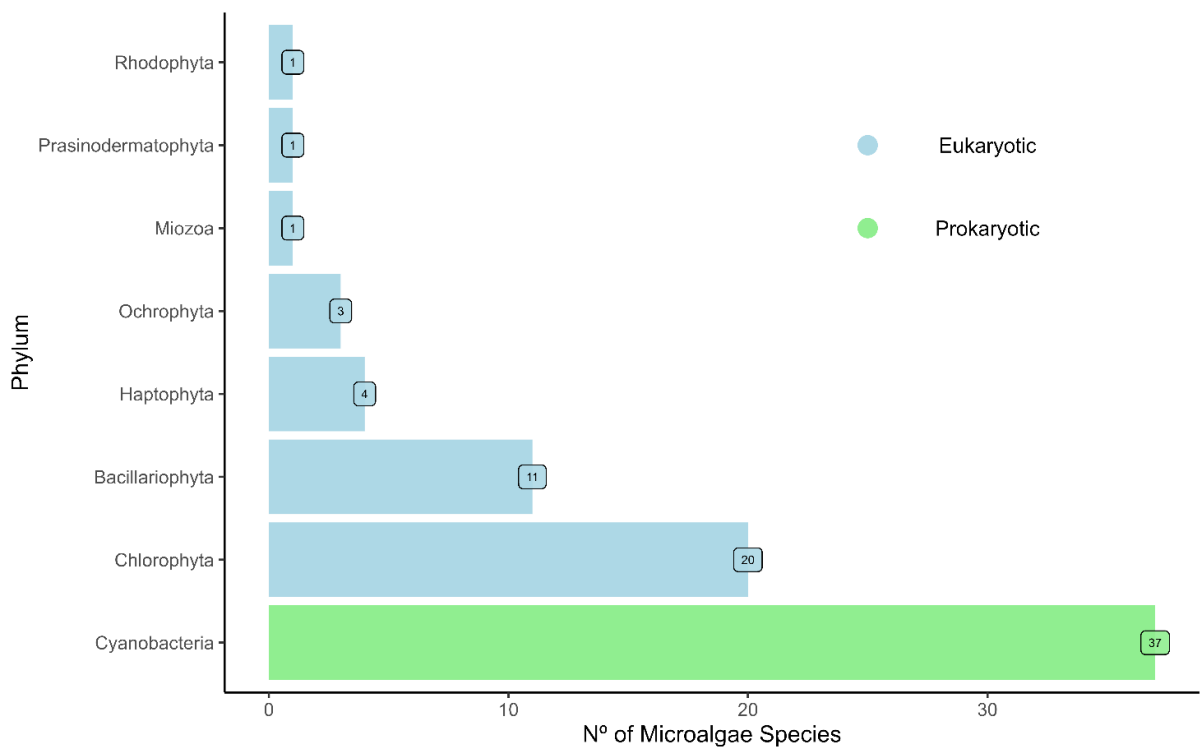
The phylum Miozoa encompasses the so-called "dinoflagellates", which contains approximately 4,500 species and concentrates most of the natural products isolated from microalgae (Gallardo-Rodrigues et al. 2012; Archibaldi et al. 2017). Only one compound isolated from the species *A. carterae* has been tested against phytopathogenic fungi (Martínez et al. 2019), even though antiviral (Yim et al. 2004; Hermawan et al. 2019), antiprotozoal (Washida et al. 2006), antibacterial (Washida et al. 2006;

Torres-Bayona et al. 2023) and antifungal (Washida et al. 2006; Satake et al. 2017) activities have already been detected in other species.

Prasinodermatophyta is a recently described phylum of "green algae" that is associated with the origin of green plants (Viridiplantae), along with the taxa Chlorophyta and Streptophyta (Bowles et al. 2022). In this study, only one species of Prasinodermatophyta was investigated for its antifungal potential against phytopathogens (Montalvão et al. 2016). No other studies have reported the biological activity of microalgal species in this group.

The phylum Rhodophyta contains only one species of microalgae (*P. cruentum*) investigated for its antifungal potential (Neto et al. 2015). However, the "red algae" group has more than 7,100 described species (Archibaldi et al. 2017), including macro and microalgae, and relevant biological activities have already been recorded, such as antiviral (Fábregas et al. 1999), antibacterial (Najdenski et al. 2013; Bashir et al. 2018), and antifungal (Najdenski et al. 2013) activities.

**Figura 11 (tese). Figure 4.** Number of microalgal species distributed by taxonomic classification (phylum). Color scale: level of cellular organization.



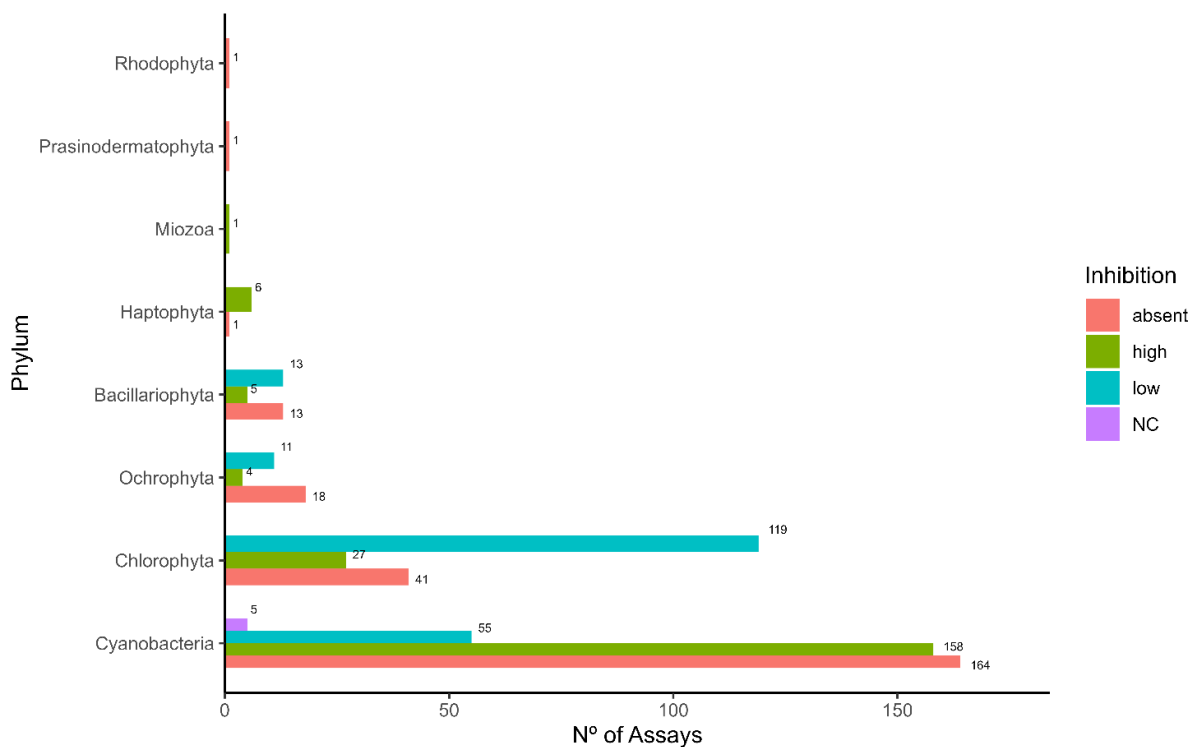
Source: Authors (2023)

A total of 643 antifungal assays were performed using microalgal extracts and compounds against phytopathogenic fungi. Considering the frequency of antifungal assays performed per microalgae phylum (Figure 5), the taxa with the highest number of assays performed were

Cyanobacteria (59.41%) and Chlorophyta (29.08%), both with more than 150 experiments, in contrast to the other phyla that had fewer than 50 assays performed each.

Regarding the categorized inhibition classification for the assays, high inhibition was observed in 31.26%, low inhibition in 30.79%, and absent in 37.17%. Considering the phyla with more than 30 experiments performed, we can observe that the assays with Cyanobacteria species showed the highest proportion of high inhibition (41.36%), followed by Bacillariophyta (16.13%), Chlorophyta (14.44%), and Ochrophyta (12.12%) (Figure 5). The lowest inhibition occurred with the highest proportion in the phylum Chlorophyta (63.63%), followed by Bacillariophyta (41.93%), Ochrophyta (33.33%), and Cyanobacteria (14.40%) (Figure 5). Ochrophyta presented the highest proportion of assays without inhibition (54.54%), followed by Cyanobacteria (42.93%), Bacillariophyta (41.93%), and Chlorophyta (21.93%) (Figure 5).

**Figura 12 (tese). Figure 5.** Classification of inhibition of antifungal assays performed by taxon (phylum) of microalgae. Color scale: Classification categories of the inhibition found in the assays. NC: Not classified.



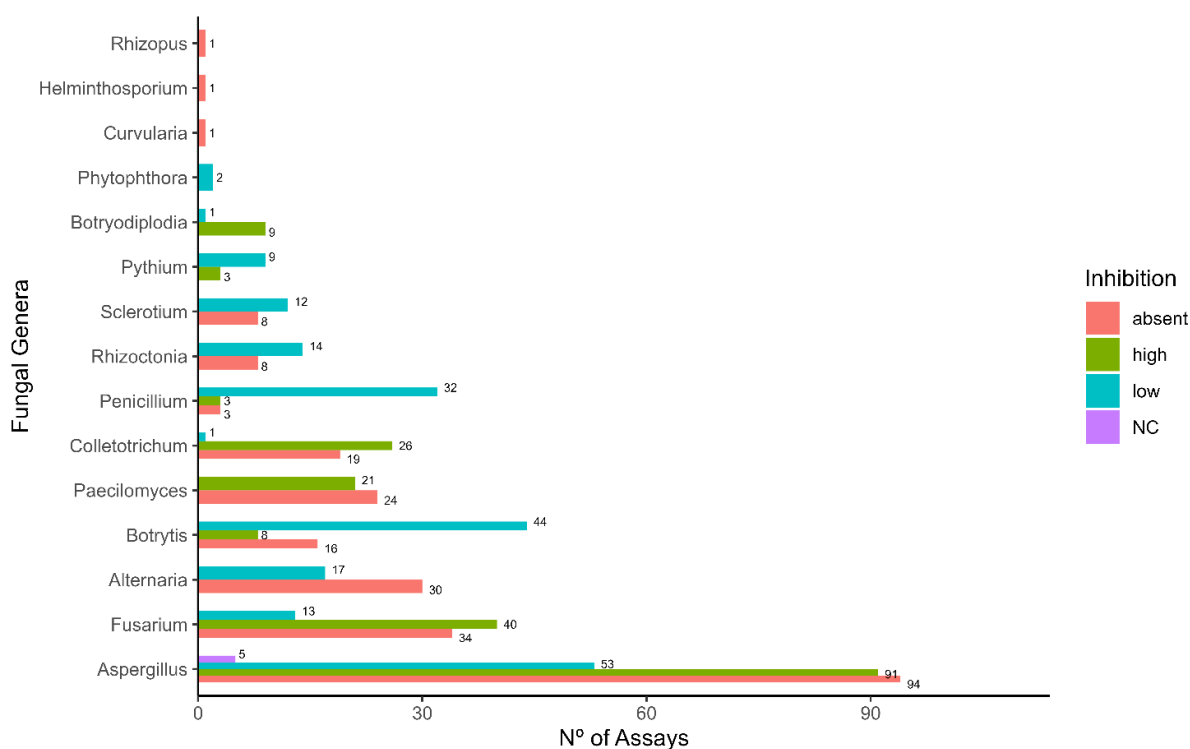
Source: Authors (2023)

The most tested plant pathogen species were *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, and *Rhizoctonia solani* (Figure 6), which is consistent with the fact that these microorganisms are frequently identified as infecting plants and generate major impacts on agriculture (Perrone et al. 2007; Anees et al. 2010; Dean et al. 2012). Among these fungi, *B. cinerea* and *F. oxysporum* were cited in the list of 10 phytopathogenic fungi with the greatest scientific

and agronomic importance (Dean et al. 2012; Kaur 2019), in a study conducted by the Journal of Molecular and Plant Biology based on votes from the international scientific community.

Regarding the categorized inhibition classification for the assays, most of the fungal genera evaluated showed low inhibition or absence of susceptibility to the extracts or compounds of the microalgae tested (Figure 6). Among the fungal genera for with the number of tests performed equaled or exceeded 30, the highest proportion of assays with high inhibition was exhibited by *Colletotrichum* (56.53%), followed by *Paecilomyces* (46.66%), *Fusarium* (45.98%), *Aspergillus* (37.45%), *Botrytis* (11.76%), and *Penicillium* (7.89%). In contrast, the genus *Alternaria* presented the highest proportion of assays without inhibition (63.83%), followed by *Paecilomyces* (53.33%), *Colletotrichum* (41.30%), *Fusarium* (39.08%), *Aspergillus* (38.68%), *Botrytis* (23.53%), and *Penicillium* (7.89%).

**Figura 13 (tese). Figure 6.** Absolute frequency of antifungal assays performed distributed by genus of phytopathogenic fungi. NC: Not classified.

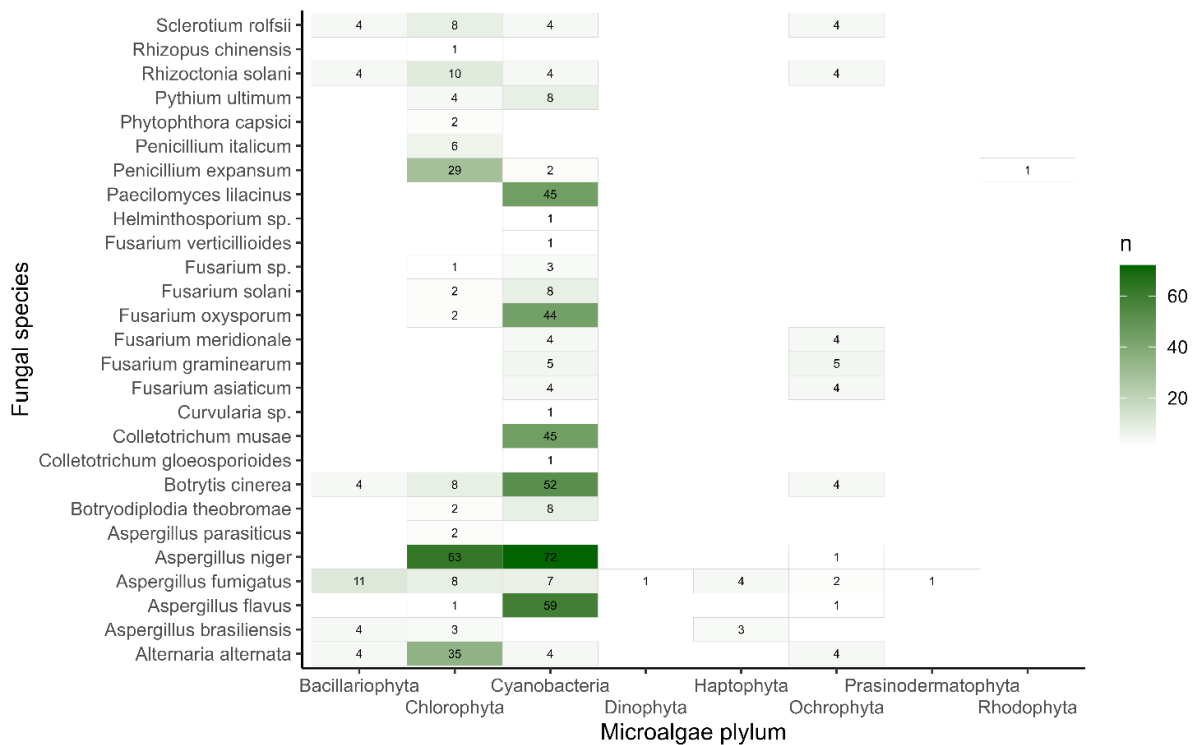


Source: Authors (2023)

The antifungal assays performed with extracts or compounds of microalgae were concentrated in two phyla and eight species of fungi, as shown in Figure 7, by the heat map that illustrates the absolute frequency of experiments carried out by phyla of microalgae and species of phytopathogenic fungus. Species of the phylum Cyanobacteria were further tested against fungi *A. niger*, *A. flavus*, *B. cinerea*, *P. lilacinus*, *C. musea*, and *F. oxysporum* (Figure 7). Species belonging to the phylum Chlorophyta were further tested against *A. niger*, *A. alternata*, and *P. expansum* (Figure 7). The low diversity of microalgae

and phytopathogenic fungal species reveals a field open to the bioprospection of sustainable fungicidal pesticides.

**Figura 14 (tese). Figure 7.** Heat map derived from the absolute frequency of tests performed against species of phytopathogenic fungi by phylum of microalgae.



Source: Authors (2023)

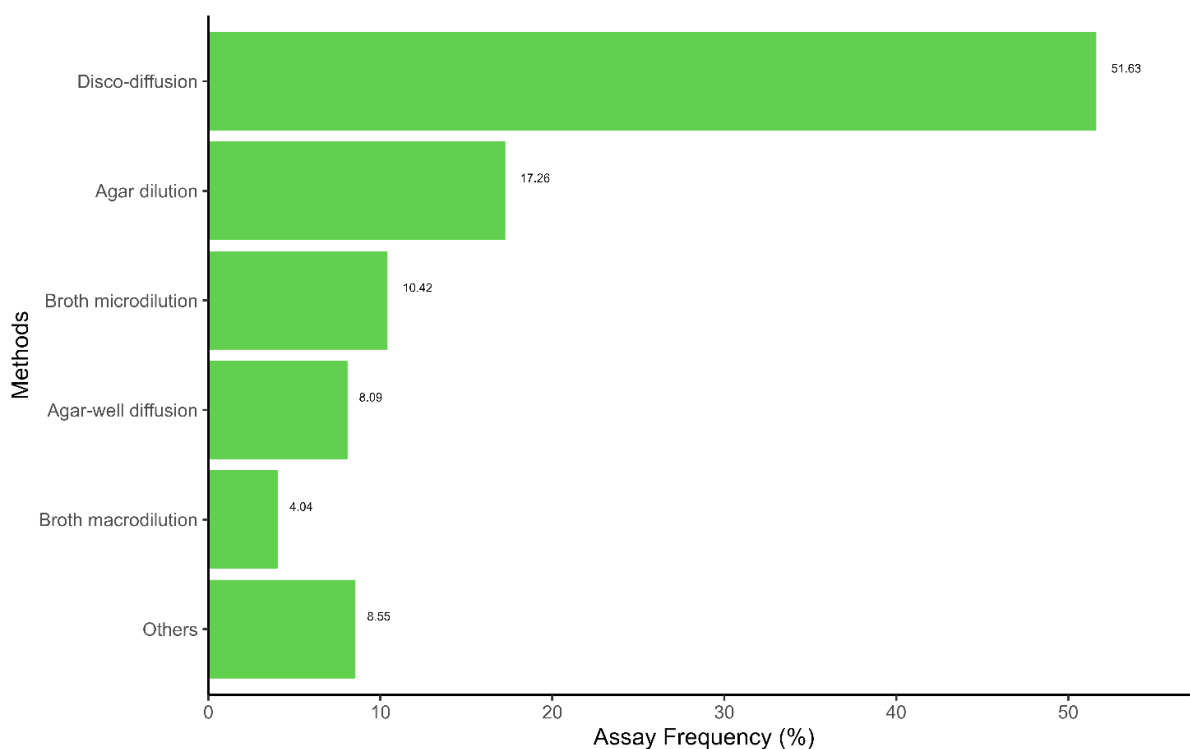
The methodologies for the evaluation of the antifungal potential were used in the articles individually or together, the most frequent being disc-diffusion (51.63%), agar dilution (17.26%), broth microdilution (10.42%), agar perforation (8.09%) and broth macrodilution (4.04%) (Figure 8). The other methodologies used totaled the frequency of 8.55% (Figure 8).

Analyzing the results obtained, it is observed that the methods of diffusion (disc-diffusion, dilution in agar and perforation in agar) and dilution (micro and macrodilution in broth) were the most used according to this review, which is consistent with the fact that these are the most known and easy methods to apply, thus being more commonly used (Balouiri et al. 2016).

A wide variety of laboratory methods can be used to evaluate or track antimicrobial activity of an extract or compound. Other relevant methodologies for the evaluation of antimicrobial activity, such as cytofluorometric method, ATP bioluminescence assay, time-kill test, thin layer chromatography (TLC) and antimicrobial gradient method (Etest) were little performed or absent in this review, which shows a gap to be filled in the area.

Among the solvents used to obtain the extracts or microalgae biocompounds, water and methanol stand out, used in 50.23% and 14.86% of the assays, respectively. Among the published studies, 24% (6/25) did not perform chemical analysis of the extracts. Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) or Flame Ionization (CG-FID) detectors were the most used chemical analysis methodologies in the studies (28%), followed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) coupled to diode (DAD), ultraviolet (UV) and mass (MS) detectors (20%) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis (20%).

**Figura 15 (tese). Figure 8.** Frequency in percentage of methodologies tested.



Source: Authors (2023)

Considering the size of the halo generated and the concentrations tested using the agar diffusion methodology, the extracts of the microalgae *Nannochloropsis* sp. and *Spirulina* sp. exhibited antifungal activity at the lowest concentration tested (40 µg/mL) against the phytopathogenic fungi *Fusarium asiaticum*, *F. graminearum*, and *F. meridionale* (Scaglioni et al. 2019a; Scaglioni et al. 2019b). Comparing the MIC and MFC values obtained by the broth microdilution methodology, the isolated compound "Amphidinol 22" from the microalgae *Amphidinium carterae* had a high antifungal performance against the phytopathogen *Aspergillus fumigatus*, with a MIC of 64 µg/mL (Martínez et al. 2019). In the broth macrodilution methodology, the lowest MIC value obtained was 58.88 µg/mL, referring to the cyanobacterium *P. tenue* against the phytopathogen *A. niger* (Pawar and Puranik 2008).

The lack of standardization and great variability of methodologies used in the articles prevented statistical analyses and robust comparisons between the data obtained.

In the present review, eight phyla of microalgae were detected in the articles searched, but it is known that this group of microalgae, despite not having a well-defined taxonomic classification, encompasses many other taxa, such as the phyla Charophyta, Chrysophyta, Euglenophyta, Raphidophyta, Xanthophyta and Zygnematophyta, *which did not have their extracts or isolated compounds tested against phytopathogenic fungi*. Given the great biodiversity of microalgae, this result reinforces the fact that many species have not yet been explored for their inhibitory activity against phytopathogenic fungi.

## Conclusions

Despite the great diversity and rich composition of biomolecules, there are limited studies on the antifungal activity of microalgae against phytopathogenic fungi, and only eight phyla have been considered (Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria, Haptophyta, Miozoa, Ochrophyta, Prasinodermatophyta, and Rhodophyta). Among them, Chlorophyta and Cyanobacteria had the largest number of registered publications, microalgal species studied, antifungal assays performed and were also the groups with the largest number of species of phytopathogenic fungi tested. The phylum that presented extracts or biocompounds of microalgal species with the highest proportion of high inhibitory activity against phytopathogens was Cyanobacteria.

The most tested species of phytopathogenic fungi were *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*. A higher number of publications was recorded from 2015 to 2022, and a greater number of publications was associated with India, Turkey, and Spain. The lack of standardization of antifungal tests makes it difficult to perform a more robust comparative analysis of the results as well as statistical analyses. Considering the need for novel biopesticides to control phytopathogenic fungi, bioactive compounds from microalgae can be exploited.

Considering that only approximately 0.12% of microalgal biodiversity has been contemplated in studies on phytopathogenic fungi, there are still a large number of secondary metabolites to be explored. In addition, no studies have evaluated the additive effects of microalgal extracts together with pesticides commonly used in the control of agricultural pests, a gap in the literature to be filled.

## Acknowledgments

We thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) for funding the doctoral scholarship, Universal Project Call CNPq/MCTI/ FNDCT n°18/2021, and BCALGAUFBA Project Call MCTI/FINEP/CT-INFRA n°03/2018 for project financing and support.

## References

- Alvarez A.L., Weyers S.L., Goemann H.M., Peyton B.M., Gardner R.D. (2021) Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Res.* <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>
- Anees M., Edel-Hermann V., Steinberg C. (2010) Buildup of patches caused by *Rhizoctonia solani*. *Soil Biol Biochem.* <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.05.013>
- Archibaldi J.M., Simpson A.G.B., Slamovits C.H. (2017) *Handbook of the Protists*. Springer, Boston. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0>
- Balouiri M., Sadiki M., Ibensouda S.K. (2016) Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Bashir K.M.I., Lee J.H., Petermann M.J., et al. (2018) Estimation of Antibacterial Properties of Chlorophyta, Rhodophyta and Haptophyta Microalgae Species. *Microbiol Biotechnol Lett.* <https://doi.org/10.4014/mbl.1802.02015>
- Baudelet P.H., Ricochon G., Linder M., Muniglia L. (2017) A new insight into cell walls of Chlorophyta. *Algal Res.* <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.008>
- Bowles A.M.C., Williamson C.J., Williams T.A., Lenton T.M., Donoghue P.C.J. (2022) The origin and early evolution of plants. *Trends Plant Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.09.009>
- Brauer V.S., Rezende C.P., Pessoni A.M., et al. (2019) Antifungal Agents in Agriculture: Friends and Foes of Public Health. *Biomolecules.* <https://doi.org/10.3390/biom9100521>
- Carneiro M., Ranglová K., Lakatos G.E., et al. (2021) Growth and bioactivity of two chlorophyte (*Chlorella* and *Scenedesmus*) strains co-cultured outdoors in two different thin-layer units using municipal wastewater as a nutrient source. *Algal Res.* <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102299>
- Cepas V., Del-Rio I.G., López Y., et al. (2021) Microalgae and Cyanobacteria Strains as Producers of Lipids with Antibacterial and Antibiofilm Activity. *Mar Drugs.* <https://doi.org/10.3390/md19120675>
- Chandrasekaran M., Thangavelu B., Chun S.C., Sathiyabama M. (2016) Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. *J Gen Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1007/s10327-016-0672-9>
- Costa J.A.V., Freitas B.C.B., Cruz C.G., Silveira J., Morais M.G. (2019) Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. *J Environ Sci Health.* <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1571366>
- Costa J.A.V., Cassuriaga A.P.A., Moraes L., Morais M.G. (2022) Biosynthesis and potential applications of terpenes produced from microalgae. *Bioresour Technol Rep.* <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101166>
- Davoodbasha M., Edachery B., Nooruddin T., Lee S.Y., Kim J.W. (2018) An evidence of C16 fatty acid methyl esters extracted from microalga for effective antimicrobial and antioxidant property. *Microb Pathog.* <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.049>
- Dean R., Kan J.A.L.V., Pretorius Z.A., et al. (2012) The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol.* <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- El Semary N.A., Mabrouk M. (2013) Molecular characterization of two microalgal strains in Egypt and investigation of the antimicrobial activity of their extracts. *Biotechnol Agron Soc Environ* 17:312-320.
- Fábregas J., García D., Fernandez-Alonso M., et al. (1999) *In vitro* inhibition of the replication of haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae. *Antivir Res.* [https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(99\)00049-2](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(99)00049-2)



Falaise C., François C., Travers M.A., et al. (2016) Antimicrobial Compounds from Eukaryotic Microalgae against Human Pathogens and Diseases in Aquaculture. *Mar Drugs*. <https://doi.org/10.3390/md14090159>

Gallardo-Rodríguez J., Sánchez-Mirón A., García-Camacho F., López-Rosales L., Chisti Y., Molina-Grima E. (2012) Bioactives from microalgal dinoflagellates. *Biotechnol Adv*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.07.005>

Hermawan I., Higa M., Hutabarat P.U.B., et al. (2019) Kabirimine, a New Cyclic Imine from an Okinawan Dinoflagellate. *Mar Drugs*. <https://doi.org/10.3390/md17060353>

Herrero M., Ibáñez E., Cifuentes A., Reglero G., Santoyo S. (2006) *Dunaliella salina* Microalga Pressurized Liquid Extracts as Potential Antimicrobials. *J Food Prot*. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.10.2471>

Kashif S.A., Hwang Y.J., Park J.K. (2018) Potent biomedical applications of isolated polysaccharides from marine microalgae *Tetraselmis* species. *Bioprocess Biosyst Eng*. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-1987-z>

Kaur L. (2019) A review: Top ten fungal pathogens. *Int J Res Anal* 6:532-542.

Khan M., Salman M., Jan S.A., Shinwari Z.K. (2021) Biological control of fungal phytopathogens: A comprehensive review based on *Bacillus* species. *MOJ Biol Med*. <https://doi.org/10.15406/mojbm.2021.06.00137>

Kumar J., Ramlal A., Mallick D., Mishra V. (2021) An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants10061185>

Lage V.M.G.B., Deegan K.R., Santos G.F., Barbosa C.J., Lima S.T.C. (2022) Biological activity of microalgae in dermatophytes: Review. *Res Soc Dev*. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33404>

Leanne-Riolland V., Atanasova V., Chereau S., Tonk-Rügen M., Cabezas-Cruz A., Richard-Forget F. (2022) Use of Defensins to Develop Eco-Friendly Alternatives to Synthetic Fungicides to Control Phytopathogenic Fungi and Their Mycotoxins. *J Fungi*. <https://doi.org/10.3390/jof8030229>

Martínez K.A., Lauritano C., Druka D., et al. (2019) Amphidinol 22, a New Cytotoxic and Antifungal Amphidinol from the Dinoflagellate *Amphidinium carterae*. *Mar Drugs*. <https://doi.org/10.3390/md17070385>

Mishra J., Arora N.K. (2018) Secondary metabolites of fluorescent pseudomonads in biocontrol of phytopathogens for sustainable agriculture. *Appl Soil Ecol*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.12.004>

Montalvão S., Demirel Z., Devi B., et al. (2016) Large-scale bioprospecting of cyanobacteria, micro- and macroalgae from the Aegean Sea. *N Biotechnol*. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.02.002>

Morales-Jiménez M., Gouveia L., Yáñez-Fernández J., Castro-Muñoz R., Barragán-Huerta B.E. (2020) Production, Preparation and Characterization of Microalgae-Based Biopolymer as a Potential Bioactive Film. *Coatings*. <https://doi.org/10.3390/coatings10020120>

Murata M.M., Morioka L.R.I., Marques J.B.S., Bosso A., Sugimoto H.H. (2021) What do patents tell us about microalgae in agriculture? *AMB Express*. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01315-4>

Nabout J.C., Rocha B.S., Carneiro F.M., Sant'Anna C.L. (2013) How many species of Cyanobacteria are there? Using a discovery curve to predict the species number. *Biodivers Conserv*. <https://doi.org/10.1007/s10531-013-0561-x>

Najdenski H.M., Gigova L.G., Iliev I.I., et al. (2013) Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *Int J Food Sci Technol*. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12122>

Neto A.C.R., Souza L.S., Angelo E., et al. (2015) Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de algas no controle de *Penicillium expansum* Link (Trichocomaceae, Ascomycota). Biotemas. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2015v28n4p23>

Omran B.A., Baek K.H. (2022) Control of phytopathogens using sustainable biogenic nanomaterials: Recent perspectives, ecological safety, and challenging gaps. J Clean Prod. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133729>

Ons L., Bylemans D., Thevissen K., Cammue B.P.A. (2020) Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control. Microorganisms. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121930>

Patil L., Kaliwal B.B. (2019) Microalga *Scenedesmus bajacalifornicus* BBKLP-07, a new source of bioactive compounds with in vitro pharmacological applications. Bioprocess Biosyst Eng. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02099-5>

Pawar S.T., Puranik P.R. (2008) Screening of terrestrial and freshwater halotolerant cyanobacteria for antifungal activities. World J Microbiol Biotechnol. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9565-6>

Peraman M., Nachimuthu S. (2019) Identification and Quantification of Fucoxanthin in Selected Carotenoid-Producing Marine Microalgae and Evaluation for their Chemotherapeutic Potential. Pharmacogn Mag 15:243-249.

Perrone G., Susca A., Cozzi G., et al. (2007) Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. Stud Mycol. <https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.07>

Qasem W.M.A., Mohamed E.A., Hamed A.A., El-Sayed A.E.B., El-Din R.A.S. (2016) Antimicrobial and Anticancer Activity of Some Microalgae Species. Egypt J Phycol. <https://doi.org/10.21608/egyjs.2016.115978>

Ranglová K., Lakatos G.E., Manoel J.A.C., et al. (2021) Growth, biostimulant and biopesticide activity of the MACC-1 *Chlorella* strain cultivated outdoors in inorganic medium and wastewater. Algal Res. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102136>

Righini H., Francioso O., Di Foggia M., Quintana A.M., Roberti R. (2021) Assessing the Potential of the Terrestrial Cyanobacterium *Anabaena minutissima* for Controlling *Botrytis cinerea* on Tomato Fruits. Horticulturae. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7080210>

Righini H., Francioso O., Di Foggia M., Quintana A.M., Roberti R. (2020) Preliminary Study on the Activity of Phycobiliproteins against *Botrytis cinerea*. Mar Drugs. <https://doi.org/10.3390/md18120600>

Righini H., Francioso O., Quintana A.M., Roberti R. (2022) Cyanobacteria: A Natural Source for Controlling Agricultural Plant Diseases Caused by Fungi and Oomycetes and Improving Plant Growth. Horticulture. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010058>

Rio-Garati A.D., Garcia-Mosaica C. (2022) Antimicrobial activity of marine microalgae: *Isochrysis galbana*, *Isochrysis litoralis* and *Isochrysis maritima*. J Anal Sci Appl Biotechnol. <https://doi.org/10.48402/IMIST.PRSM/jasab-v4i2.39137>

Rodríguez-Meizoso I., Jaime L., Santoyo S., et al. (2008) Pressurized Fluid Extraction of Bioactive Compounds from *Phormidium* Species. J Agric Food Chem. <https://doi.org/10.1021/jf703719p>

Saeed M.U., Hussain N., Shahbaz A., Hameed T., Iqbal H.M.N., Bilal M. (2022) Bioprospecting microalgae and cyanobacteria for biopharmaceutical applications. J Basic Microbiol. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100445>

Santoyo S., Rodríguez-Meizoso I., Cifuentes A., et al. (2009) Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. LWT - Food Sci Technol. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.012>

Satake M., Cornelio K., Hanashima S., et al. (2017) Structures of the Largest Amphidinol Homologues from the Dinoflagellate *Amphidinium carterae* and Structure–Activity Relationships. *J Nat Prod.* <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00345>

Scaglioni P.T., Garcia S.O., Badiale-Furlong E. (2019) Inhibition of *in vitro* trichothecenes production by microalgae phenolic extracts. *Food Res Int.* <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.008>

Scaglioni P.T., Pagnussatt F.A., Lemos A.C., Nicolli C.P., Del Ponte E.M., Badiale-Furlong E. (2019) *Nannochloropsis* sp. and *Spirulina* sp. as a Source of Antifungal Compounds to Mitigate Contamination by *Fusarium graminearum* Species Complex. *Curr Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01663-2>

Schmid B., Coelho L., Schulze P.S.C., et al. (2022) Antifungal properties of aqueous microalgal extracts. *Bioresour Technol Rep.* <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101096>

Senousy H.H., El-Sheekh M.M., Saber A.A., et al. (2022) Biochemical Analyses of Ten Cyanobacterial and Microalgal Strains Isolated from Egyptian Habitats, and Screening for Their Potential against Some Selected Phytopathogenic Fungal Strains. *Agronomy.* <https://doi.org/10.3390/agronomy12061340>

Sexton J.P., Lomas M.W. (2018) Microalgal Systematics. In: Levine I, Fleurence J (eds) *Microalgae in Health and Disease Prevention*. Academic Press, Cambridge, pp 73-107.

Silberfeld T., Rousseau F., Reviere B. (2014) An updated classification of brown algae (Ochrophyta, Phaeophyceae). *Algologie.* <https://doi.org/10.7872/crya.v35.iss2.2014.117>

Stirk W.A., Staden J. (2022) Bioprospecting for bioactive compounds in microalgae: Antimicrobial compounds. *Biotechnol Adv.* <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107977>

Sun J., Zhao J., Fu D., Gu S., Wang D. (2017) Extraction, Optimization and Antimicrobial Activity of IWSP from Oleaginous Microalgae *Chlamydomonas* sp. YB-204. *Food Sci Technol Res.* <https://doi.org/10.3136/fstr.23.819>

Suresh A., Praveenkumar R., Thangaraj R., et al. (2014) Microalgal fatty acid methyl ester a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pac J Trop Dis.* [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60769-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60769-6)

Torres-Bayona C., Rojas J.L., Fernandez R., Prieto-Guevara M., Pulido A., Moreno-Garrido I. (2023) Microalgae and Cyanobacteria, a Promising Source of Antimicrobial Molecules Against Aquatic Pathogen. *Turkish J Fish Aquat Sci.* <https://doi.org/10.4194/TRJFAS21184>

Vehapi M., Koçer A.T., Yılmaz A., Özçimen D. (2019) Investigation of the antifungal effects of algal extracts on apple-infecting fungi. *Arch Microbiol.* <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01760-7>

Verweij P.E., Arendrup M.C., Alastruey-Izquierdo A., et al. (2022) Dual use of antifungals in medicine and agriculture: How do we help prevent resistance developing in human pathogens? *Drug Resist Updat.* <https://doi.org/10.1016/j.drug.2022.100885>

Vicente T.F.L., Lemos M.F.L., Félix R., Valentão P., Félix C. (2021) Marine Macroalgae, a Source of Natural Inhibitors of Fungal Phytopathogens. *J Fungi.* <https://doi.org/10.3390/jof7121006>

Washida K., Koyama T., Yamada K., Kita M., Uemura D. (2006) Karatungiols A and B, two novel antimicrobial polyol compounds, from the symbiotic marine dinoflagellate *Amphidinium* sp. *Tetrahedron Lett.* <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.02.045>

Yanuhar U., Nurdiani R., Hertika A.M.S. (2011) Potency of *Nannochloropsis oculata* as Antibacterial, Antioxidant and Antiviral on Humpback Grouper Infected by *Vibrio alginolyticus* and Viral Nervous Necrotic. *J Food Sci Eng* 5:323-330.

Yim J.H., Kim S.J., Ahn S.H., Lee C.K., Rhie K.T., Lee H.K. (2004) Antiviral effects of sulfated exopolysaccharide from the marine microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03. Mar Biotechnol. <https://doi.org/10.1007/s10126-003-0002-z>

Zahra Z., Choo D.H., Lee H., Parveen A. (2020) Cyanobacteria: Review of current potentials and applications. Environments. <https://doi.org/10.3390/environments7020013>

Zielinski D., Fraczyk J., Debowski M., et al. (2020) Biological Activity of Hydrophilic Extract of *Chlorella vulgaris* Grown on Post-Fermentation Leachate from a Biogas Plant Supplied with Stillage and Maize Silage. Molecules. <https://doi.org/10.3390/molecules25081790>

## **CAPÍTULO 4**

### **ARTIGO: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE MICROALGAS EM FITOPATÓGENOS**

## ARTIGO 4: ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE MICROALGAS EM FITOPATÓGENOS

### Atividade antifúngica de microalgas em fitopatógenos

Vivian Marina Gomes Barbosa Lage<sup>1</sup>, Kathleen Ramos Deegan<sup>1</sup>, Ramon Rodrigues Sá<sup>1</sup>, Daniel Igor Amorim Carvalho dos Santos<sup>1</sup>, Luciana Veiga Barbosa<sup>1</sup>, Luzimar Gonzaga Fernandez<sup>1</sup>, Cristiane de Jesus Barbosa<sup>2</sup>, Suzana Telles da Cunha Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia – UFBA, Campus Ondina, 40170-115, Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Unidade Mandioca e Fruticultura, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

#### Resumo

Os extratos etanólicos das microalgas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis* foram investigados *in vitro* quanto à sua atividade antifúngica frente aos fungos fitopatógenos *Colletotrichum fructicola*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Neoscytalidium dimidiatum*. Foi utilizada a metodologia de microdiluição em caldo, sendo testado o intervalo de 0.0115 a 6 mg mL<sup>-1</sup>. Quatro dos extratos avaliados apresentaram potencial antifúngico (*A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*) contra dois fitopatógenos (*C. fructicola* e *C. gloeosporioides*). Dois dos fungos avaliados (*F. oxysporum* f. sp. *cubense* e *N. dimidiatum*) não foram inibidos pelos extratos microalgais. Os menores valores de CIM registrados foram referentes ao extrato de *K. lunaris* frente a *C. fructicola* (CIM 0.047 mg mL<sup>-1</sup>) e *C. gloeosporioides* (CIM 0.75 mg mL<sup>-1</sup>). Este foi um trabalho pioneiro acerca da atividade antifúngica destas microalgas em fitopatógenos. Espera-se que, a partir deste estudo, novas pesquisas possam ser realizadas direcionadas ao isolamento e identificação destas biomoléculas ativas com propriedade antifúngica. Assim como, no futuro, novos biopesticidas possam ser formulados a partir destes extratos.

**Palavras-chave:** Microalgas; Potencial antifúngico; Fungos fitopatogênicos; Antracnose; Fusariose; Podridão negra.

#### Introdução

Os fungos fitopatogênicos são um grupo de organismos que habitam o interior dos tecidos vegetais e, diante de estresses bióticos e abióticos, podem ocasionar doenças em plantas por meio de distúrbios no seu metabolismo celular (Chandrasekaran et al. 2016). Estes são responsáveis por

grandes impactos na agricultura desde a antiguidade, devido as perdas geradas às culturas agrícolas e os prejuízos associados à saúde humana (Pontes et al. 2020). Estima-se que os fungos fitopatogênicos sejam responsáveis por 8-40% das perdas na produção agrícola mundial (Khan et al. 2021).

Os pesticidas, também denominados defensivos agrícolas ou agrotóxicos, são um grupo de substâncias químicas utilizadas com a finalidade de controlar pragas e prevenir doenças em plantas (Bernardes et al. 2015). Estes, por sua vez, são considerados importantes para o desenvolvimento da agricultura porque auxiliam na redução da perda de produtos agrícolas, na qualidade e rendimento dos alimentos e, conseqüentemente, tornam os preços dos produtos mais acessíveis (Tudi et al. 2021). Apesar das vantagens atribuídas aos defensivos agrícolas, o uso contínuo destes tem como consequência a poluição do meio ambiente e impactos significativos à saúde humana (Alengebawy et al. 2021).

Aliado ao problema dos impactos na saúde humana e ambiental, outra questão a ser superada pelo uso contínuo de defensivos agrícolas é o aparecimento de cepas resistentes à estes compostos ativos (Fontana et al. 2021). Diante deste cenário, surgiram os biopesticidas, que são compostos derivados de materiais naturais empregados no controle de pragas e doenças de plantas (Abdollahdokht et al. 2022). Dentre as vantagens associadas ao uso dos biopesticidas, destacam-se a menor toxicidade, alta potência em pequenas doses, rápida decomposição no meio ambiente, baixa resistência do patógeno e alta especificidade, ou seja, atua exclusivamente sobre a praga em questão (Zhao et al. 2022).

As microalgas são um grupo altamente diversificado de microrganismos fotossintetizantes que sintetizam produtos químicos alelopáticos, ou seja, metabólitos que afetam outros indivíduos que não aqueles que o produzem, podendo ser empregados com finalidade algicida, herbicida, inseticida, nematocida e fungicida (Alvarez et al. 2021). Na agricultura, o controle biológico de doenças de plantas através do uso de microalgas é uma área que vem crescendo (Berthon et al. 2021; Asimakis et al. 2022). Alguns metabólitos de microalgas já tiveram sua estrutura química e atividade fungicida registradas em estudos *in vivo* e *in vitro*, no entanto, existem poucos biopesticidas formulados a partir de microalgas e muitas espécies ainda não foram estudadas (Alvarez et al. 2021).

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antifúngica das microalgas *Ankistrodesmus falcatus*, *Chaetoceros neogracilis*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Dunaliella tertiolecta*, *Kirchneriella lunaris* e *Tetraselmis gracilis* sobre os fungos fitopatogênicos *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Neoscytalidium dimidiatum*.

## **Metodologia**

### **Cultivo e obtenção da biomassa microalgal**

As cepas das microalgas *A. falcatus* (ALCB137416), *C. neogracilis* (ALCB137425), *D. brasiliensis* (ALCB137414), *D. tertiolecta* (ALCB137436), *K. lunaris* (ALCB137418) e *T. gracilis* (ALCB137433) foram advindas do Banco de Microalgas do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia

(LABBIOTEC), localizado no Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) em Salvador, Bahia. As cepas estão registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o cadastro nºA653955.

O cultivo desses microrganismos foi realizado de acordo com as normas propostas por Nascimento et al. (2015). As condições de cultivo empregadas foram: fotoperíodo 12h (ciclos claro/escuro), luminosidade de 35  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , temperatura de 22°C, pH 7.0 e aeração constante. Foram utilizados os meios de cultivo Oligo (Richmond 2004) e Conway (Lourenço 2006) para as microalgas dulcícolas e marinhas, respectivamente. Para a diatomácea *C. neogracilis* houve o acréscimo de 2 mL  $\text{L}^{-1}$  a 0.32 mM de silicato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) no meio de cultivo (Chisti 2004).

Para obtenção de biomassa, o volume do cultivo foi gradualmente aumentado até atingir a etapa final, sendo esta em um fotobiorreator tubular com capacidade de 10 L. A biomassa microalgal foi coletada na fase estacionária de crescimento das culturas, através do processo de centrifugação, em centrífuga MPW®-351, a 5.000 rpm durante 20 minutos (Chu et al. 2004). O precipitado resultante da centrifugação foi armazenado em recipientes de vidro estéreis no freezer a -20°C, enquanto o sobrenadante foi descartado. Para obtenção da biomassa seca, o material congelado foi liofilizado por um período de 48 horas, a um vácuo de 0137 $\mu\text{Hg}$  e -30°C em liofilizador modelo Enterprise II, Terroni®. A biomassa seca obtida foi pesada e armazenada no freezer a -20°C, até o momento da extração.

### **Procedimento de extração**

Após o processo de liofilização, uma alíquota de biomassa seca de cada cepa foi submetida ao processo de extração. Em um erlenmeyer, 1g de biomassa seca foi adicionada junto a 100mL do solvente escolhido, nesse caso, o álcool etílico absoluto (99,9%) da Merck®. Esse material foi homogeneizado em vórtex e, posteriormente, submetido ao processo de sonicação em gelo para promover a lise celular, em dois ciclos de 6 minutos a 10% de potência, utilizando Sonicador modelo Sonopuls HD 2070 da Bandelin®. Ao retirar a amostra do sonicador, as amostras foram submetidas ao processo de agitação em mesa agitadora pendular por 72 horas. Após esse período, o material foi inserido em tubos Falcon de 15mL e centrifugado a 4.500 rpm por 10 minutos. O sobrenadante resultante desse processo foi posto em frascos de vidro estéreis para assim iniciar a secagem em temperatura ambiente até a completa evaporação do solvente e assim gerar os extratos. O material precipitado resultante da centrifugação passou pelo processo de extração por três ciclos e, ao final destas três repetições, os precipitados foram descartados.

### **Cultura dos fungos**

Os extratos microalgais foram testados frente aos fitopatógenos *Colletotrichum fructicola* (PPAM13), *Colletotrichum gloeosporioides* (PPAM06), *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC218A) e *Neoscytalidium dimidiatum* (SYM01), microrganismos advindos do Laboratório de Fitopatologia da



Embrapa Mandioca e Fruticultura em Cruz das Almas, Bahia. Para o armazenamento, todas as espécies foram cultivadas em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) a 32°C até as próximas etapas. O repique dos cultivos foi realizado a cada cinco dias.

### Ensaio de susceptibilidade

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, segundo as normas propostas pelo NCCLS (2002), com modificações propostas por Hlima et al. (2019). Os extratos etanólicos das microalgas foram avaliados no intervalo de concentração de 0.0115 a 6 mg mL<sup>-1</sup> (DMSO a 4%). Foi utilizado o meio de cultura Caldo Sabouraud Dextrose da TM MEDIA®. As suspensões fúngicas foram ajustadas na escala 0.5 de McFarland e diluídas 1:20 em meio Caldo Sabouraud Dextrose 2X, o que produz o inóculo com concentração final de 1.5 x 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

Em placas de 96 poços, 50 µL de cada diluição seriada dos extratos foram adicionadas a 50 µL do inóculo. A concentração mais baixa do extrato que limitou o crescimento fúngico visível após 5 dias de incubação a 32°C foi considerada como a Concentração Inibitória Mínima (CIM).

O conteúdo dos poços sem crescimento micelial visível foi semeado em placa de Petri contendo meio Ágar Dextrose Batata (BDA) (Bona et al. 2014). Essas placas foram incubadas nas condições padronizadas (32°C por 5 dias) e, ao final do período delimitado, pode-se determinar se houve completa inibição do inóculo, determinando o valor de CFM. A razão entre CFM/CIM foi calculada a fim de determinar se o extrato testado tem ação fungicida, resultado da razão < 4, ou fungistática, resultado da razão ≥ 4 (Freires et al. 2016). Os experimentos foram realizados em condições estéreis e em triplicatas.

### Resultados

Quatro dos extratos microalgais avaliados neste trabalho apresentaram atividade antifúngica, sendo estes referentes às espécies *A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*. Os extratos inibiram o crescimento de duas espécies de fitopatógenos (*Colletotrichum fructicola* e *C. gloeosporioides*), com valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) variando de 0.047 a 6 mg mL<sup>-1</sup> (Tabelas 1 e 2). O tipo de atividade apresentada foi fungicida para todos os extratos ativos (Tabelas 1 e 2). Os fitopatógenos *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e *N. dimidiatum* não foram inibidos pelos extratos.

O extrato etanólico de *K. lunaris* foi o que registrou os menores valores de CIM para *C. fructicola* (0.047 mg mL<sup>-1</sup>) e *C. gloeosporioides* (0.75 mg mL<sup>-1</sup>), revelando-se como o extrato com maior atividade antifúngica deste estudo. Em seguida, o extrato de *D. brasiliensis* registrou os valores de CIM de 0.188 mg mL<sup>-1</sup> (*C. fructicola*) e 1.5 mg mL<sup>-1</sup> (*C. gloeosporioides*), resultado semelhante, em parte, ao obtido pelo extrato de *C. neogracilis*, com valores de CIM de 0.188 mg mL<sup>-1</sup> (*C. fructicola*) e 3 mg mL<sup>-1</sup> (*C. gloeosporioides*). Por fim, dentre os extratos que registraram algum tipo de atividade antifúngica, o

menos ativo foi o da microalga *A. falcatus*, com os valores de CIM de 0.375 mg mL<sup>-1</sup> (*C. fructicola*) e 6 mg mL<sup>-1</sup> (*C. gloeosporioides*).

**Tabela 9 (tese). Tabela 1** - Valores de CIM (mg mL<sup>-1</sup>), CFM (mg mL<sup>-1</sup>) e razão CFM/CIM dos extratos etanólicos das microalgas marinhas frente à fitopatógenos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungicida (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM.

Fungi	<i>Chaetoceros neogracilis</i>				<i>Dunaliella tertiolecta</i>				<i>Tetraselmis gracilis</i>			
	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity
<i>C. fructicola</i>	0.188	0.188	1	FC	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. gloeosporioides</i>	6	6	1	FC	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. oxysporum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. dimidiatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabela 10 (tese). Tabela 2** - Valores de CIM (mg mL<sup>-1</sup>), CFM (mg mL<sup>-1</sup>) e razão CFM/CIM dos extratos etanólicos das microalgas dulcícolas frente à fitopatógenos. O extrato avaliado foi considerado com atividade fungicida (FC) ou fungicida (FT) de acordo com o resultado obtido na razão CFM/CIM.

Fungi	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>				<i>Desmodesmus brasiliensis</i>				<i>Kirshnariella lunaris</i>			
	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity	MIC	MFC	MFC/ MIC	Activity
<i>C. fructicola</i>	0.375	0.375	1	FC	0.188	0.188	1	FC	0.047	0.047	1	FC
<i>C. gloeosporioides</i>	3	6	2	FC	1.5	1.5	1	FC	0.75	1.5	2	FC
<i>F. oxysporum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. dimidiatum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## Discussão

Os fungos *C. fructicola* e *C. gloeosporioides* apresentaram sensibilidade frente à quatro dos extratos de microalgas avaliados (Tabelas 1 e 2). A sensibilidade de espécies do gênero *Colletotrichum*

frente à extratos microalgais e seus compostos isolados já foi investigada anteriormente (Biondi et al. 2004; Kim 2006; Sakthivel e Kathiresan 2012; Kim et al. 2018).

Kim et al. (2018) reportaram o potencial antifúngico da clorófitica *Chlorella fusca* frente à *Colletotrichum orbiculare*. Foi verificado que a pré-pulverização da suspensão de *C. fusca* em culturas de pepinos pode induzir a resistência sistêmica adquirida (SAR) das plantas contra *C. orbiculare* através da ativação de respostas de defesa das células hospedeiras.

Kim (2006) avaliou o potencial de 142 cianobactérias frente a diferentes espécies de fungos fitopatógenos, incluindo *C. gloeosporioides*. Seis cianobactérias (*Dolichospermum solitarium*, *Calothrix brevissima*, *Nostoc commune*, *N. muscorum*, *Nodularia* sp. e *Oscillatoria angustissima*) registraram inibição do crescimento de *C. gloeosporioides*, sendo a espécie *N. muscorum* a que apresentou maior potencial antifúngico.

Biondi et al. (2004) avaliaram o potencial antifúngico da cianobactéria *Nostoc* sp. frente a diferentes espécies de fungos fitopatógenos, incluindo *C. coffeanum* e *C. trifolii*. Não foi observada inibição do crescimento dos fungos.

Sakthivel e Kathiresan (2012) avaliaram a atividade antifúngica de sete cianobactérias (*Synechocystis salina*, *Spirulina subsalsa*, *Oscillatoria cortiana*, *O. salina*, *O. willei*, *Phormidium tenue* e *P. fragile*) frente a diferentes espécies de fungos fitopatógenos, incluindo *Colletotrichum falcatum*. Nenhuma das cianobactérias registrou inibição do crescimento de *C. falcatum*.

No presente trabalho, o fungo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* não apresentou inibição frente aos extratos microalgais avaliados. Outros estudos investigaram a sensibilidade de *F. oxysporum* frente à extratos de microalgas e seus compostos isolados (Ghazal et al. 2006; Kim et al. 2020; Dinev et al. 2021; Win et al. 2021).

Ghazal et al. (2006) reportaram a atividade antifúngica das microalgas *Spirulina maxima*, *Oscillatoria agardhii* e *Chlorella vulgaris* frente a diferentes espécies de fitopatógenos, incluindo *F. oxysporum*. Todas as microalgas inibiram o crescimento de *F. oxysporum*, sendo o percentual de inibição de 40% (*C. vulgaris*), 34.7% (*O. agardhii*) e 21.3% (*S. maxima*).

Kim et al. (2020) investigaram o potencial antifúngico da clorófitica *Chlorella fusca* frente a espécie *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*. Para análise, foi realizada a pulverização da suspensão de *C. fusca* em culturas de morango pré-infectadas e foi verificado que a incidência de *F. oxysporum* reduziu em 9.8% em comparação ao controle sem tratamento.

Dinev et al. (2021) avaliaram o potencial antifúngico das clorófiticas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus dimorphus* frente a diferentes espécies de fungos fitopatógenos, incluindo *F. oxysporum*. Ambas as espécies não inibiram o crescimento do fungo.

Nanopartículas de óxido de ferro isoladas da clorófitica *Chlorella* K01 foram testadas *in vitro* quanto ao seu potencial antagônico frente a diferentes fitopatógenos, incluindo *F. oxysporum*. Na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup>, as nanopartículas geraram uma zona de inibição de 10 mm (Win et al. 2021).

No presente estudo, o fungo *N. dimidiatum* não apresentou inibição frente aos extratos microalgais avaliados. Na literatura não há registros de investigação da atividade antifúngica de micro e macroalgas frente à *N. dimidiatum*, assim como outras espécies do gênero *Neoscytalidium*.

Para as microalgas, diferentes fatores podem influenciar, sinergicamente ou não, os resultados obtidos. Fatores que vão desde a estação do ano e o local de origem da coleta até as condições de cultivo empregadas no laboratório (luminosidade, temperatura, pH, aeração e meio de cultivo) (Noaman et al. 2004). Além disso, o tipo de solvente empregado na extração, a fase de crescimento no momento da coleta da biomassa e o método de coleta da biomassa (centrifugação, eletrofloculação ou decantação) também são fatores que podem impactar nos resultados (Ramos et al. 2017; Grubišić et al. 2022).

Quatro microalgas deste estudo revelaram atividade antifúngica (*A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*), todas do tipo fungicida. Apenas as espécies *C. fructicola* e *C. gloeosporioides* apresentaram sensibilidade frente aos extratos. A microalga *K. lunaris* destaca-se por ter registrado os menores valores de CIM: 0.047 mg mL<sup>-1</sup> (*C. fructicola*) e 0.75 mg mL<sup>-1</sup> (*C. gloeosporioides*), revelando maior atividade antifúngica.

Este trabalho foi pioneiro na investigação *in vitro* da atividade antifúngica dessas espécies de microalgas sobre fitopatógenos. Além disso, também foi o primeiro artigo acerca da susceptibilidade do fungo *N. dimidiatum* frente à extratos microalgais.

## Conclusão

Quatro microalgas deste estudo apresentaram atividade antifúngica *in vitro* frente às espécies de fitopatógenos avaliadas. As microalgas *A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris* inibiram o crescimento de duas espécies de fitopatógenos (*C. fructicola* e *C. gloeosporioides*) e registraram atividade fungicida. A clorófitica *K. lunaris* apresentou os menores valores de CIM para ambas as espécies inibidas, *C. fructicola* (CIM: 0.047 mg mL<sup>-1</sup>) e *C. gloeosporioides* (CIM: 0.75 mg mL<sup>-1</sup>), revelando maior atividade antifúngica dentre os extratos. Os fitopatógenos *F. oxysporum* e *N. dimidiatum* não foram inibidos pelos extratos. Este trabalho foi pioneiro no estudo da atividade antifúngica destas espécies de microalgas em fitopatógenos. Espera-se que, estudos futuros identifiquem e isolem as biomoléculas ativas responsáveis pela atividade antifúngica, para que os extratos microalgais ou as biomoléculas derivadas deles possam compor novos biopesticidas.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento da bolsa de doutorado. Projeto Universal Chamada CNPq/MCTI/FNDCT n°18/2021 e Projeto BCALGAUFBA Chamada MCTI/FINEP/CT-INFRA n°03/2018 pelo financiamento e suporte ao desenvolvimento do projeto.

## Referências

ABDOLLAHDOKHT, D.; GAO, Y.; FARAMARZ, S.; POUSTFOROOSH, A.; ABBASI, M.; ASADIKARAM, G.; NEMATOLLAHI, M. H. Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview

on recent advances. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v. 9, n. 13, 2022. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00281-0>

ALENGEBAWY, A.; ABDELKHALEK, S. T.; QURESHI, S. R.; WANG, M.-Q. Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. **Toxics**, v. 9, n. 42, 2021. <https://doi.org/10.3390/toxics9030042>

ALVAREZ, A. L.; WEYERS, S. L.; GOEMANN, H. M.; PEYTON, B. M.; GARDNER, R. D. Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. **Algal research**, v. 54, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>

ASIMAKIS, E.; SHEHATA, A. A.; EISENREICH, W.; ACHEUK, F.; LASRAM, S.; BASIOUNI, S.; EMEKCI, M.; NTOUGIAS, S.; TANER, G.; MAY-SIMERA, H.; YILMAZ, M.; TSIAMIS, G. Algae and Their Metabolites as Potential Bio-Pesticides. **Microorganisms**, v. 10, 2022. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020307>

BERNARDES, M. F. F.; PAZIN, M.; PEREIRA, L. C.; DORTA, D. J. Impact of Pesticides on Environmental and Human Health. In: **Toxicology Studies—Cells, Drugs and Environment**; IntechOpen: London, UK, 2015; pp. 195–233.

BERTHON, J.-Y.; MICHEL, T.; WAUQUIER, A.; JOLY, P.; GERBORE, J.; FILAIRE, E. Seaweed and microalgae as major actors of blue biotechnology to achieve plant stimulation and pest and pathogen biocontrol – a review of the latest advances and future prospects. **The Journal of Agricultural Science**, v. 159, p. 523–534, 2021. <https://doi.org/10.1017/S002185962100088>

BIONDI, N.; PICCARDI, R.; MARGHERI, M. C.; RODOLFI, L.; SMITH, G. D.; TREDICI, M. R. Evaluation of *Nostoc* Strain ATCC 53789 as a Potential Source of Natural Pesticides. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 6, p. 3313–3320, 2004. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.6.3313-3320.2004>

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 218–225, 2014.

CHANDRASEKARAN, M.; THANGAVELU, B.; CHUN, S. C.; SATHIYABAMA, M. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. **Journal of General Plant Pathology**, v. 82, n. 5, p. 233–239, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10327-016-0672-9>

CHISTI, Y. **Microalgae: our marine forests: handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Blackwell, London. 577 p. 2004.

CHU, C. Y.; LIAO, W. R.; HUANG, R.; LIN, L. P. Haemagglutinating and antibiotic activities of freshwater microalgae. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 8, p. 817–825, 2004. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-8712-6>

DINEV, T.; TZANOVA, M.; VELICHKOVA, K.; DERMENDZHIEVA, D.; BEEV, D. Antifungal and Antioxidant Potential of Methanolic Extracts from *Acorus calamus* L., *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Lemna minuta* Kunth and *Scenedesmus dimorphus* (Turpin) Kützing. **Applied Sciences**, v. 11, n. 11, 2021. <https://doi.org/10.3390/app11114745>

FONTANA, D. C.; PAULA, S.; TORRES, A. G.; SOUZA, V. H. M.; PASCHOLATI, S. F.; SCHMIDT, D.; NETO, D. D. Endophytic Fungi: Biological Control and Induced Resistance to Phytopathogens and Abiotic Stresses. **Pathogens**, v. 10, n. 5, 2021. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050570>

FREIRES, I. A.; QUEIROZ, V. C. P. P.; FURLETTI, V.F.; IKEGAKI, M.; DE ALENCAR, S. M.; DUARTE, M. C. T.; ROSALEN, P. L. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 26, p. 122–32, 2016.

GHAZAL, F. M.; DEYAB, M. A.; EL-GAMAL, M. A. H. Allelopathic activity of algal blooms against some plant pathogenic fungi in Egypt. **Egyptian Journal of Phycology**, v. 7, n. 1, p. 79–92, 2006.

GRUBISIC, M.; SANTEK, B.; ZORIC, Z.; COSIC, Z.; VRANA, I.; GASPAROVIC, B.; COZ-RAKOVAC, R.; IVANCIC, M. Bioprospecting of Microalgae Isolated from the Adriatic Sea: Characterization of Biomass, Pigment, Lipid and Fatty Acid Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Molecules*, v. 27, p. 1248, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27041248>

HLIMA, H. B.; BOHLI, T.; KRAIEM, M.; OUEDERNI, A.; MELLOULI, L.; MICHAUD, P.; ABDELKAFI, S.; SMAOUI, S. Combined effect of *Spirulina platensis* and *Punica granatum* peel extracts: Phytochemical Content and Antiphytopathogenic Activity. *Applied Sciences*, v. 9, n. 24, 2019. <https://doi.org/10.3390/app9245475>

KHAN, M.; SALMAN, M.; JAN, S. A.; SHINWARI, Z. K. Biological control of fungal phytopathogens: A comprehensive review based on Bacillus species. *MOJ Biology and Medicine*, v. 6, n. 2, p. 90-92, 2021. <https://doi.org/10.15406/mojbm.2021.06.00137>

KIM, J-D. Screening of Cyanobacteria (Blue-Green algae) from Rice Paddy Soil for Antifungal Activity against Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology*, v. 34, n. 3, p. 138-142, 2006. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2006.34.3.138>

KIM, M-J.; SHIM, C-K.; KO, B-G.; KIM, J. Effect of the Microalga *Chlorella fusca* CHK0059 on Strawberry PGPR and Biological Control of *Fusarium* Wilt Disease in Non-Pesticide Hydroponic Strawberry Cultivation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 30, n. 5, p. 708–716, 2020. <https://doi.org/10.4014/jmb.2001.01015>

KIM, S. J.; KO, E. J.; HONG, J. K.; JEUN, Y. C. Ultrastructures of *Colletotrichum orbiculare* in Cucumber Leaves Expressing Systemic Acquired Resistance Mediated by *Chlorella fusca*. *The Plant Pathology Journal*, v. 34, n. 2, p. 113-120, 2018. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2017.0204>

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1ª ed. Editora Rima, Brasil. 606 p. 2006.

NASCIMENTO, I. A.; CABANELAS, I. T. D.; SANTOS, J. N.; NASCIMENTO, M. A.; SOUZA, L.; SANSONE, G. Biodiesel yields and fuel quality as criteria for algal-feedstock selection: Effects of CO<sub>2</sub>-supplementation and nutrient levels in cultures. *Algal research*, v. 8, p. 53-60, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.001>

NCCLS (2002) Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos: Norma Aprovada (M38-A). [https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi\\_OPAS1M38-A.pdf](https://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi_OPAS1M38-A.pdf); accessed 11 october 2022.

NOAMAN, N. H.; KHALEAFA, A. F. M.; ZAKY, S. H. Factors affecting antimicrobial activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Microbiological Research*, v. 159, n. 4, p. 395-402, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.09.001>

PONTES, J. G. M.; FERNANDES, L. S.; SANTOS, R. V.; TASIC, L.; FILL, T. Virulence Factors in the Phytopathogen-Host Interactions: An Overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 68, n. 29, p. 7555-7570, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02389>

RAMOS, L. C.; SOUZA, L. J.; SILVA, A. F.; FALCÃO, V. G. O.; LIMA, S. T. C. Evaluation of Electro-Flocculation for Biomass Production of Marine Microalgae *Phaodactylum tricorutum*. *International Journal of Energy and Power Engineering*, v. 11, n. 6, p. 391-394, 2017.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. Editora Blackwell, Oxford. 584 p. 2004.

SAKTHIVEL, K.; KATHIRESAN, K. Antimicrobial activities of marine cyanobacteria isolated from mangrove environment of south east coast of India. *Journal of Natural Products*, v. 5, p. 147-156, 2012.

TUDI, M.; RUAN, H. D.; WANG, L.; LYU, J.; SADLER, R.; CONNELL, D.; CHU, C.; PHUNG, D. T. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **Environmental Research and Public Health**, v. 18, p. 1-23, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>

WIN, T. T.; KHAN, S.; BO, B.; ZADA, S.; FU, P. C. Green synthesis and characterization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles using *Chlorella*-K01 extract for potential enhancement of plant growth stimulating and antifungal activity. **Scientific reports**, v. 11, n. 21996, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01538-2>

ZHAO, J.; LIANG, D.; LI, W.; YAN, X.; QIAO, J.; CAIYIN, Q. Research Progress on the Synthetic Biology of Botanical Biopesticides. **Bioengineering**, v. 9, n. 5, 2022. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9050207>

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- No capítulo 1, foi realizada uma revisão narrativa da literatura acerca da atividade biológica das microalgas frente aos dermatófitos. Após a busca, foram selecionados 18 artigos, sendo que, apenas quatro grupos de microalgas registraram publicações associadas ao tema (clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias), totalizando 40 espécies de microalgas já testadas em 19 espécies de dermatófitos. As diatomáceas e cianobactérias registraram o maior número de testes realizados contra dermatófitos. As espécies de dermatófitos mais testadas foram o *T. rubrum* e o *T. menthagrophytes*. Os extratos de *S. platensis*, *C. braunii*, *T. nodosa* e *T. tenuis* e os compostos isolados das espécies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* e *Amphidinium* sp. apresentaram maior atividade inibitória. A falta de padronização dos testes realizados impossibilita uma análise comparativa mais robusta dos resultados obtidos. Tendo em vista a necessidade de novos fármacos no tratamento das dermatofitoses, existe uma lacuna promissora que pode ser explorada pelos compostos bioativos extraídos de produtos naturais, como das microalgas.
- No capítulo 2, todas as microalgas do estudo apresentaram atividade antifúngica *in vitro* frente às espécies de dermatófitos avaliadas. As microalgas *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris* destacaram-se pela inibição de todas as quatro espécies de dermatófitos avaliadas e pela atividade fungicida. Os menores valores de CIM obtidos foram das clorofíceas *D. brasiliensis* e *K. lunaris* (0.188 mg mL<sup>-1</sup>), revelando a maior atividade antifúngica dentre os extratos. Os extratos de *A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris* inibiram o dermatófito *N. nana*, resistente ao fármaco itraconazol. Este trabalho foi pioneiro no estudo da atividade antifúngica destas espécies de microalgas frente à dermatófitos. Espera-se que, estudos futuros identifiquem e isolem as biomoléculas ativas responsáveis pela atividade antifúngica, para que os extratos microalgais ou as biomoléculas derivadas deles possam compor novos fitoterápicos.



- No capítulo 3, foi realizada uma revisão sistemática da literatura acerca da atividade biológica das microalgas frente à fungos fitopatógenos. Após a busca, foram selecionados 25 artigos e apenas oito filos de microalgas foram contemplados (Bacillariophyta, Chlorophyta, Cyanobacteria, Haptophyta, Miozoa, Ochrophyta, Prasinodermatophyta e Rhodophyta). Dentre estes, Chlorophyta e Cyanobacteria tiveram o maior número de publicações registradas, espécies de microalgas estudadas, ensaios antifúngicos realizados e também foram os grupos com o maior número de espécies de fungos fitopatógenos testadas. O filo que apresentou extratos ou biocompostos de espécies de microalgas com maior proporção de atividade inibitória alta sobre os fitopatógenos foi Cyanobacteria. As espécies de fungos fitopatógenos mais testadas foram *Aspergillus niger* e *Botrytis cinerea*. Tendo em vista a necessidade de novos biopesticidas e moléculas de referência para síntese de novos defensivos agrícolas, aliado à grande biodiversidade de microalgas, existe uma lacuna promissora que pode ser explorada pelos compostos bioativos advindos das microalgas.
- No capítulo 4, quatro dos extratos microalgais avaliados apresentaram atividade antifúngica (*A. falcatus*, *C. neogracilis*, *D. brasiliensis* e *K. lunaris*) frente a dois fitopatógenos (*C. fructicola* e *C. gloeosporioides*). A cloróficea *K. lunaris* registrou os menores valores de CIM para ambas as espécies inibidas, *C. fructicola* (CIM: 0.047 mg mL<sup>-1</sup>) e *C. gloeosporioides* (CIM: 0.75 mg mL<sup>-1</sup>), revelando maior atividade antifúngica dentre os extratos. O tipo de atividade registrada por todos os extratos ativos foi fungicida. Dois dos fitopatógenos avaliados (*F. oxysporum* e *N. dimidiatum*) não foram inibidos pelos extratos. Este trabalho foi pioneiro no estudo da atividade antifúngica destas espécies de microalgas em fitopatógenos. Espera-se que, estudos futuros identifiquem e isolem as biomoléculas ativas responsáveis pela atividade antifúngica, para que os compostos-alvo derivados deles possam compor novos biopesticidas.
- O presente estudo reuniu informações acerca do potencial antifúngico de microalgas contra dois importantes grupos de fungos, dermatófitos e fitopatógenos. Pode-se observar que, apesar do considerável número de artigos publicados acerca do assunto, comparado a biodiversidade de

microalgas existente, ainda há uma lacuna muito grande a ser preenchida, sendo necessária e encorajada a realização de novos estudos nessa área. O mesmo se aplica em relação aos fungos, visto que, é um grupo que também apresenta ampla biodiversidade. Sendo assim, outros táxons de fungos também devem ser explorados quanto à susceptibilidade frente à extratos microalgais.

## 5. REFERÊNCIAS

ABEDIN, R. M. A.; TAHA, H. M. Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae, evaluation of medium components by plackett-burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. **Global Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 1, p. 22–31, 2008.

AL-HATMI, A. M. S.; MEIS, J. F.; HOOG, G. S. *Fusarium*: Molecular diversity and intrinsic drug resistance. **Plos Pathology**, v. 12, 2016.

AL-JANABI, A. A. H. S.; AL-KHIKANI, F. H. O. Dermatophytoses: A short definition, pathogenesis, and treatment. **International Journal of Health & Allied Sciences**, v. 9, n. 3, p. 210-214, 2020.

ALALLAF, A. L.; KOTTB, M.; EL-SAYED, A. K.; SHAFIK, H. In Vitro Efficacy Of Biologically Active Compounds Derived From *Navicula Arenaria* Against Soil Borne Phytopathogenic *Macrophomina Phaseolina* And *Fusarium Oxysporum*. **Alfarama Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 2, n. 2, p.285-296, 2021.

ANDERSEN, E. J.; ALI, S.; BYAMUKAMA, E.; YEN, Y.; NEPAL, M. P. Disease Resistance Mechanisms in Plants. *Genes*, v. 9, n. 7, 2018.

ARSAD, S.; MULASARI, Y.W.; SARI, N.Y.; LUSIANA, E.D.; RISJANI, Y.; MUSA, M.; MAHMUDI, M.; PRASETIYA, F.S.; SARI, L.A. Microalgae diversity in several different sub-habitats. **Global Journal of Environmental Science and Management**, v. 8, n. 4, p. 561-574, 2022.

AZEVEDO, E.; BARATA, M. Diversidade no reino Fungi e aplicações à Indústria. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, n. 4, 2018.

BALL, B.; BERMAS, A.; CARRUTHERS-LAY, D.; GEDDES-MCALISTER, J. Mass Spectrometry-Based Proteomics of Fungal Pathogenesis, Host–Fungal Interactions, and Antifungal Development. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 2, 2019.

BAHRAM, M.; NETHERWAY, T. Fungi as mediators linking organisms and ecosystems. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 46, p. 1–16, 2022.

BAKER, R.; GUNTER, C. The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. **Trends in Food Science & Technology**, n. 15, p. 484-488, 2004.

BARBOSA, M. J.; JANSSEN, M.; SUDFELD, C.; D'ADAMO, S.; WIJFFELS, R. H. Hypes, hopes, and the way forward for microalgal biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 452-471, 2023.

BARKIA, I.; SAARI, N.; MANNING, S. R. Microalgae for High-Value Products Towards Human Health and Nutrition. **Marine Drugs**, v. 17, n. 5, 2019.

BASE DE DADOS: EMBRAPA – RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA (2009). Disponível em: <Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia>. Acesso em: 12 de outubro de 2021.

BASHEER, S.; HUO, S.; ZHU, F.; QIAN, J.; XU, L.; CUI, F.; ZOU, B. Microalgae in Human Health and Medicine. **Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products**, p. 149-174, 2020.

BEGUM, H.; YUSOFF, F. M. D.; BANERJEE, S.; KHATOON, H.; SHARIFF, M. Availability and Utilization of Pigments from Microalgae. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, p. 2209-2222, 2016.

BHATTACHARYA, M.; GOSWAMI, S. Microalgae – A green multi-product biorefinery for future industrial prospects. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 25, 2020.

BIELSKA, E.; MAY, R. C. Extracellular vesicles of human pathogenic fungi. **Current Opinion in Microbiology**, v. 52, p. 90-99, 2019.

BIONDI, N.; PICCARDI, R.; MARGHERI, M. C.; RODOLFI, L.; SMITH, G. D.; TREDICI, M. R. Evaluation of *Nostoc* Strain ATCC 53789 as a potential source of natural pesticides. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3313–3320, 2004.

BOMFIM, A. G. J. **Controle de fungos fitopatogênicos de palma forrageira por meio de fungos endofíticos isolados de cactáceas**. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos), Departamento de Micologia, Universidade Federal de Pernambuco. Pernambuco, Brasil, p. 69. 2015.

BOMFIM, A. G. J.; ALBUQUERQUE, G. M. R.; BEZERRA, J. D. P.; SILVA, D. C. V.; SVEDESE, V. M.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. Fungos fitopatogênicos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cultivada em área de floresta tropical seca no Brasil. **Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas**, v. 10, n. 2, p. 27-33, 2013.

BOROWITZKA, M. A. **Systematics, Taxonomy and Species Names: Do They Matter?** In: *The Physiology of Microalgae*, vol. 6, p. 655-681. Editora Springer, 2016.

BRADSHAW, M. J.; BARTHOLOMEW, H. P.; FONSECA, J. M.; GASKINS, V. L.; PRUSKY, D.; JURICK, W. M. Delivering the goods: Fungal secretion modulates virulence during host–pathogen interactions. **Fungal Biology Reviews**, v. 36, p. 76-86, 2021.

BRITO, A. C. Q.; MELLO, J. F.; CÂMERA, M. P. S.; VIEIRA, J. C. B.; MICHEREFF, S. J.; SOUZA-MOTTA, C. M.; MACHADO, A. R. Diversity and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species associated with black root rot and stem cutting dry rot in *Manihot esculenta* in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, p. 583-598, 2020.

BROWN, G. D.; BROWN, G. D.; DENNING, D. W.; GOW, N. A. R.; LEVITZ, S. M.; NETEA, M. G.; WHITE, T. C. Hidden killers: human fungal infections. **Science Translational Medicine**, v. 4, p. 1–10, 2012.

BURSTEIN, V. L.; BECCACECE, I.; GUASCONI, L.; MENA, C. J.; CERVI, L.; CHIAPELLO, L. S. Skin Immunity to Dermatophytes: From Experimental Infection Models to Human Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020.

CALIGIORNE, R. B.; RESENDE, M. A.; OLIVEIRA, R. C. B. W.; CORDEIRO, R. A.; AZEVEDO, V. Fungos dematiáceos. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**. v. 11. p. 22-25, 2010.

CALIJURI, M. L.; SILVA, T. A.; MAGALHÃES, I. B.; PEREIRA, A. S. A. P.; MARANGON, B. B.; ASSIS, L. R.; LORENTZ, J. F. Bioproducts from microalgae biomass: Technology, sustainability, challenges and opportunities. **Chemosphere**, v. 305, p. 135508, 2022.

CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 181-213, 2012.

CAROPPO, C.; PAGLIARA, P. Microalgae: A Promising Future. **Microorganisms**, v. 10, n. 8, 2022.

CARVALHO, F. P. Pesticides, environment, and food safety. **Food and Energy Security**, v. 6, n. 2, p. 48-60, 2017.

CHANDRASEKARAN, M.; THANGAVELU, B.; CHUN, S. C.; SATHIYABAMA, M. Proteases from phytopathogenic fungi and their importance in phytopathogenicity. **Journal of General Plant Pathology**, v. 82, n. 5, p. 233–239, 2016.

CHEW, K. W.; YAP, J. Y.; SHOW, P. L.; SUAN, N. H.; JUAN, J. C.; LING, T. C.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53-62, 2017.

COOLS, H. J.; HAWKINS, N. J.; FRAAIJE, B. A. Constraints on the evolution of azole resistance in plant pathogenic fungi. **Plant Pathology**, v. 62, p. 36-42, 2013.

COSTA, J. A. V.; FREITAS, B. C. B.; CRUZ, C. G.; SILVEIRA, J.; MORAIS, M. G. Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 54, n. 5, p. 366-375, 2019.

CROUS, P. W.; ROSSMAN, A. Y.; AIME, M. C.; ALLEN, W. C.; BURGESS, T.; GROENEWALD, J. Z.; CASTLEBURY, L. A. Names of Phytopathogenic Fungi: A Practical Guide. **Phytopathology**, v. 111, n. 9, p. 1490-1691, 2021.

DE SILVA, D. D.; CROUS, P. W.; ADES, P. K.; HYDE, K. D.; TAYLOR, P. W. J. Life styles of *Colletotrichum* species and implications for plant biosecurity. **Fungal Biology Reviews**, v. 31, n. 3, p. 155–168, 2017.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E. DI PIETRO, A. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, p. 414–430, 2012.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, 2006.

DEWI, I. C.; FALAISE, C.; HELLIO, C.; BOURGOUGNON, N.; MOUGET, J. C. Anticancer, Antiviral, Antibacterial, and Antifungal Properties in Microalgae. **Microalgae in Health and Disease Prevention**, p. 235-261, 2018.

DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. Human fusariosis. **Clinical microbiology and infection**, v. 10, n. 1, p. 67-75, 2004.

DINESHKUMAR, R.; NARENDRAN, R.; JAYASINGAM, P.; SAMPATHKUMAR, P. Cultivation and Chemical Composition of Microalgae *Chlorella vulgaris* and its Antibacterial Activity against Human Pathogens. **Journal of Aquaculture & Marine Biology**, v. 5, n. 3, 2017.

DJOHAN, A.; KUSWINANTI, T.; BAHARUDDIN; MELINA, M. Wilt disease of banana (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*): Grouping of isolates in their physiological races. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 486, 2020.

DOWLING, M.; PERES, N.; VILLANI, S.; SCHNABEL, G. Managing *Colletotrichum* on Fruit Crops: A “Complex” Challenge. **Plant Disease**, v. 104, n. 9, 2020.

EL-BACK, H. H. A.; EL-BAROTY, G. S. Healthy Benefit of Microalgal Bioactive Substances, **Journal of Aquatic Science**, v. 1, n. 1, p. 11-23, 2013.

EL-HACK, M. E. A.; ABDELNOUR, S.; ALAGAWANY, M.; ABDO, M.; SAKR, M. A.; KHAFAGA, A. F.; MAHGOUB, S. A.; ELNESR, S. S.; GEBRIEL, M. G. Microalgae in modern cancer therapy: Current knowledge. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 42-50, 2019.

EL-SHEECK, M. M.; EL-SHAFAY, S. M.; EL-BALAT, E. Production and characterization of antifungal active substance from some marine and freshwater algae. **International Journal of Environmental Science and Engineering**, v. 6, p. 85-92, 2015.

FALAISE, C.; FRANÇOIS, C.; TRAVERS, M. A.; MORGA, B.; HAURE, J.; TREMBLAY, R.; TURCOTTE, F.; PASETTO, P.; GASTINEAU, R.; HARDIVILLIER, Y.; LEIGNEL, V.; MOUGET, J. L. Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. **Marine drugs**, v. 14, n. 159, 2016.

FERNÁNDEZ, F. G. A.; REIS, A.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M.; VERDELHO, V.; LLAMAS, B. The role of microalgae in the bioeconomy. **New Biotechnology**, v. 61, p. 99-107, 2021.

FISHER, M. C.; GURR, S. J.; CUOMO, C. A.; BLEHERT, D. S.; JIN, H.; STUKENBROCK, E. H.; STAJICH, J. E.; KAHMANN, R.; BOONE, C.; DENNING, D. W.; GOW, N. A. R.; KLEIN, B. S.; KRONSTAD, J. W.; SHEPPARD, D. C.; TAYLOR, J. W.; WRIGHT, G. D.; HEITMAN, J.; CASADEVALL, A.; COWEN, L. E. Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. **ASM Journals**, v. 11, n. 3, 2020.

GARNICA, D. P.; NEMRI, A.; UPADHYAYA, N. M.; RATHJEN, J. P.; DODDS, P. N. The Ins and Outs of Rust *Haustoria*. **PLoS Pathogens**, v. 10, 2014.

GHASEMI, Y.; MORADIAN, A.; MOHAGHEGHZADEH, A.; SHOKRAVI, S.; MOROWWAT, M. H. Antifungal and antibacterial activity of the microalgae collected from paddy fields of Iran: characterization of antimicrobial activity of *Chroococcus dispersus*. **Journal of Biological Sciences**, v. 7, p. 904–910, 2007.

GHASEMI, Y.; YAZDI, M. T.; SHAFIEE, A.; AMINI, M.; SHOKRAVI, S.; ZARRINI, G. Parsiguine, a novel antimicrobial substance from *Fischerella ambigua*. **Pharmaceutical Biology** v. 42, p. 318–322, 2004.

GNAT, S.; LAGOWSKI, D.; NOWAKIEWICZ, A.; DYLAG, M. A global view on fungal infections in humans and animals: opportunistic infections and microsporidiosis. **Journal of Applied Microbiology**, v.131, n. 5, p. 2081-2609, 2021.

GOIRIS, K.; MUYLEAERT, K.; FRAEYE, I.; FOUBERT, I.; BRABANTER, J.; COOMAN, L. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, p. 1477–1486, 2012.

GUPTA, A. K.; TU, L. Q. Dermatophytes: Diagnosis and treatment. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 54, n. 6, p. 1050-1055, 2006.

HOFLING, J. F.; GONÇALVES, R. B. **Isolamento e Caracterização de Fungos Patogênicos de Importância Médica**. Editora Paco Editorial, São Paulo. 240p. 2016.

HOOG, G. S.; DUKIK, K.; MONOD, M.; PACKEU, A.; STUBBE, D.; HENDRICKX, M.; KUPSCH, C.; STIELOW, B.; FREEKE, J.; GOKER, M.; REZAEI-MATEHKOLAEI, A.; MIRHENDI, H.; GRASER, Y. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, p. 5-31, 2017.

HAWKSWORTH, D.; LUCKING, R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. **Microbiology spectrum**, v. 5, n. 4, p. 79-95, 2017.

HEIMANN, K.; HUERLIMANN, R. **Microalgal Classification: Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species**. In: Handbook of Marine Microalgae, cap. 3, p. 25-41. Editora Academic Press, 2015.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, A.; LABBÉ, J. I. Microalgas, cultivo y beneficios. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v.49, n. 2, p. 157-173, 2014.

HORBACH, R.; NAVARRO-QUESADA, A. R.; KNOGGE, W.; DEISING, H. B. When and how to kill a plant cell: Infection strategies of plant pathogenic fungi. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, p. 51–62, 2011.

HUANG, S.; TANGTHIRASUNSUN, N.; PHILLIPS, A. J. L.; DAI, D. Q.; WANASINGHE, D. N.; WEN, T. C.; BAHKALI, A. H.; HYDE, K. D.; KANG, J. C. Morphology and Phylogeny of *Neoscytalidium orchidacearum* sp. nov. (Botryosphaeriaceae). **Mycobiology**, v. 44, n. 2, p. 74-84, 2016.

HYDE, K. D.; CAI, L.; MCKENZIE, E. H. C.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z.; PRIHASTUTI, H. *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 1-17, 2009.

IBRAHIM, T. N. B. T.; FEISAL, N. A. S.; KAMALUDIN, N. H.; CHEAH, W. Y.; HOW, V.; BHATNAGAR, A.; MA, Z.; SHOW, P. L. Biological active metabolites from



microalgae for healthcare and pharmaceutical industries: A comprehensive review. **Bioresource Technology**, v. 372, p 128661, 2023.

JADHAV, H. P.; SHAIKH, S. S.; SAYYED, R. Z. Role of Hydrolytic Enzymes of Rhizoflora in Biocontrol of Fungal Phytopathogens: An Overview. **Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation**, p. 183–203, 2017.

JENA, J.; SUBUDHI, E. **Microalgae: An Untapped Resource for Natural Antimicrobials**. In: SUKLA, L.; SUBUDHI, E.; PRADHAN, D. (eds) *The Role of Microalgae in Wastewater Treatment*. Springer, Singapore, 2019.

JOOP, G.; VILCINSKAS, A. Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. **Zoology**, v. 119, n. 4, p. 350-358, 2016.

JUNIOR, W. G. M.; GORGICH, M.; CORRÊA, P. S.; MARTINS, A. A.; MATA, T. M.; CAETANO, N. S. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020.

KAMBLE, S. P.; GAIKAR, R. B.; PADALIA, R. B.; SHINDE, K. D. Extraction and purification of C-phycoyanin from dry Spirulina powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 8, p. 149-153, 2013.

KHAN, R. A. A.; NAJEEB, S.; HUSSAIN, S.; XIE, B.; LI, Y. Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, 2020.

KIRAN, B. D.; MOHAN, S. V. Microalgal Cell Biofactory - Therapeutic, Nutraceutical and Functional Food Applications. **Plants**, v. 10, n. 5, 2021.

KHURANA, A.; SARDANA, K.; CHOWDHARY, A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genetics and Biology**, v. 132, p. 1087-1845, 2019.

KOHLER, J. R.; HUBE, B.; PUCCIA, R.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. Fungi that Infect Humans. **ASM Journal**, v. 5, n. 3, 2017.

KUMAR, J.; RAMLAL, A.; MALLICK, D.; MISHRA, V. An Overview of Some Biopesticides and Their Importance in Plant Protection for Commercial Acceptance. **Plants**, v. 10, n. 6, 2021.

LEE, H. W.; ROH, S. W.; CHO, K.; KIM, K. N.; CHA, I. T.; YIM, K. J.; SONG, H. S.; NAM, Y. D.; ODA, T.; CHUNG, Y. H.; KIM, S. J.; CHOI, J. S.; KIM, D. Phylogenetic

analysis of microalgae based on highly abundant proteins using mass spectrometry. **Talanta**, v. 132, p. 630-634, 2015.

LEE, S. J.; ROSE, J. K. C. Mediation of the transition from biotrophy to necrotrophy in hemibiotrophic plant pathogens by secreted effector proteins. **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, p. 769–772, 2010.

LI, Y.; LAMMI, C.; BOSCHIN, G.; ARNOLDI, A.; AIELLO, G. Recent Advances in Microalgae Peptides: Cardiovascular Health Benefits and Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 43, p. 11825-11838, 2019.

LI, Z.; CHANG, P.; GAO, L.; WANG, X. The endophytic fungus *Albifimbria verrucaria* from wild grape as an antagonist of *Botrytis cinerea* and other grape pathogens. **Phytopathology**, v. 110, p. 843-850, 2020.

LININGTON, R. G.; CLARK, B. R.; TRIMBLE, E. E.; ALMANZA, A.; UREÑA, L. D.; KYLE, D. E.; GERWICK, W. H. Antimalarial Peptides from Marine Cyanobacteria: Isolation and Structural Elucidation of Gallinamide. **Algerian Journal of Natural Products**, v. 72, p. 14–17, 2009.

LOCKHART, S. R.; GUARNER, J. Emerging and reemerging fungal infections. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 36, n. 3, p. 177-181, 2019.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1ª ed. Editora Rima, Brasil. 606 p. 2006.

LUCHI, N.; LOOS, R.; SANTINI, A. Fast and reliable molecular methods to detect fungal pathogens in woody plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 2453-2468, 2020.

MA, L.-J.; GEISER, D. M.; PROCTOR, R. H.; ROONEY, A. P.; O'DONNELL, K.; TRAIL, F.; GARDINER, D. M.; MANNERS, J. M.; KAZAN, K. *Fusarium* Pathogenomics. **Annual Review of Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 399–416, 2013.

MADRID, H.; RUÍZ-CENDOYA, M.; CANO, J.; STCHIGEL, A.; OROFINO, R.; GUARRO, J. Genotyping and in vitro antifungal susceptibility of *Neoscytalidium dimidiatum* isolates from different origins. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 4, p. 351-354, 2009.

MARQUES, M. W.; LIMA, N. B.; MORAIS, M. A.; MICHEREFF, S. J. *Botryosphaeria*, *Neofusicoccum*, *Neoscytalidium* and *Pseudofusicoccum* species associated with mango in Brazil. **Fungal Diversity**, v. 61, p. 195–208, 2013.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOBLÍZEK, M. **Photosynthesis in Microalgae**. In: Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, cap. 2, p. 21-36. Blackwell Publishing, 2013.

MEDEIROS, F.; CREPALDI, N.; TOGNOLI, L.; PEREIRA, R. E. P. Dermatofitos: Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 12, 2009.

MENDGEN, K.; HAHN, M. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. **Trends in Plant – Science**, v. 7, p. 352–356, 2002.

MENDIOLA, J. A.; SANTOYO, S.; CIFUENTES, A.; REGLERO, G.; IBÁÑEZ, E.; SEÑORÁNS, F. J. Antimicrobial activity of sub-and supercritical CO<sub>2</sub> extracts of the green alga *Dunaliella salina*. **Journal of Food Protection**, v. 71, p. 2138–2143, 2008.

MERCER, D. K.; STEWART, C. S. Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**, n. 57, p. 13-22, 2019.

MEYER, V.; BASENKO, E. Y.; BENZ, J. P.; BRAUS, G. H.; CADDICK, M. X.; CSUKAI, M.; VRIES, R. P.; ENDY, D.; FRISVAD, J. C.; GUNDE-CIMERMAN, N.; HAARMANN, T.; HADAR, Y.; HANSEN, K.; JOHNSON, R. I.; KELLER, N. P.; KRASEVEC, N.; MORTENSEN, U. H.; PEREZ, R.; RAM, A. F. J.; RECORD, E.; ROSS, P.; SHAPAVAL, V.; STEINIGER, C.; BRINK, H.; MUNSTER, J.; YARDEN, O.; WOSTEN, H. A. B. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 7, n. 5, 2020.

MURRAY, B. A.; FITZGERALD, R. J. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins: Biochemistry, Bioactivity and Production. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, n. 8, p. 773-791, 2007.

NAGAI, H.; MIKAMI, Y.; YAZAWA, K.; GONOI, T.; YASUMOTTO, T. Biological activities of novel polyether antifungals, Gambieric Acids A e B from a Marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. **The Journal of Antibiotics**, v. 46, n. 3, p. 520-522, 1993.

NAJDENSKI, H. M.; GIGOVA, L. G.; ILIEV, I. I.; PILARSKI, P. S.; LUKAVSKY, J.; TSVETKOVA, I. V.; NINOVA, M. S.; KUSSOVSKI, V. K. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1533–1540, 2013.

NARANJO-ORTIZ, M. A.; GABALDÓN, T. Fungal evolution: major ecological adaptations and evolutionary transitions. **Biological Reviews**, v. 94, n. 4, p. 1443-1476, 2019.

NUNES, A.; SCHMITZ, C.; MOURA, S.; MARASCHIN, M. The use of pesticides in Brazil and the risks linked to human health. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 37885-37904, 2021.

OLIVEIRA, S. A. A.; SILVA, L. L.; NASCIMENTO, D. S.; DIAMANTINO, M. S. A. S.; FERREIRA, C. F.; OLIVEIRA, T. A. S. *Colletotrichum* species causing cassava (*Manihot esculenta* Crantz) anthracnose in different eco-zones within the Recôncavo Region of Bahia, Brazil. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 127, p. 411-416, 2020.

OZCIMEN, D. Investigation of antifungal effect of *Chlorella protothecoides* microalgae oil against *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* fungi. **Journal of Tekirdag Agricultural Faculty**, v. 15 n. 2, p.45-52, 2018.

OZDEMIR, G.; ULKU, K. N.; DALAY, M. C.; PAZARBASI, B. Antibacterial activity of volatile component and various extracts of *Spirulina platensis*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 754–757, 2004.

PENG, Y.; LI, S. J.; YAN, J.; TANG, Y.; CHENG, J. P.; GAO, A. J.; YAO, X.; RUAN, J. J.; XU, B. L. Research Progress on Phytopathogenic Fungi and Their Role as Biocontrol Agents. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

PERES, N. T. A.; ROSSI, A.; MARANHÃO, F. C. A.; MARTINEZ-ROSSI, N. M. Dermatofitos: Interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

PETER, A. P.; KOYANDE, A. K.; CHEW, K. W.; HO, S. H.; CHEN, W. H.; CHANG, J. S.; KRISHNAMOORTHY, R.; BANAT, F.; SHOW, P. L. Continuous cultivation of microalgae in photobioreactors as a source of renewable energy: Current status and future challenges. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 154, 2022.

PIHET, M.; GOVIC, Y. L. Reappraisal of Conventional Diagnosis for Dermatophytes. **Mycopathologia**, v. 182, p. 169-180, 2016.

PRÉCIGOUT, P. A.; CLAESSEN, D.; MAKOWSKI, D.; ROBERT, C. Does the Latent Period of Leaf-Fungal Pathogens Reflect Their Trophic Type? A Meta-Analysis of Biotrophs, Hemibiotrophs, and Necrotrophs. **Phytopathology**, v. 110, n. 2, 2020.

RAI, A.; DAS, M.; TRIPATHI, A. Occurrence and toxicity of a *Fusarium* mycotoxin, zearalenone. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–20, 2019.

RAPOSO, M. F. J.; MORAIS, A. M. M. B. Microalgae for the prevention of cardiovascular disease and stroke. *Life Sciences*, v. 125, p. 32-41, 2015.

RENUKA, N.; GULDHE, A.; PRASANNA, R.; SINGH, P.; BUX, F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. **Biotechnology Advances**, v. 36, p. 1255–1273, 2018.

RICCIO, G.; LAURITANO, C. Microalgae with Immunomodulatory Activities. **Marine Drugs**, v. 18, n. 1, 2020.

ROCHA, A. J.; FERREIRA, M. S.; ROCHA, L. S.; OLIVEIRA, S. A. S.; AMORIM, E. P.; MIZUBUTI, E. S. G.; HADDAD, F. Interaction between *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *Radopholus similis* can lead to changes in the resistance of banana cultivars to *Fusarium* wilt. **European Journal of Plant Pathology**, v. 158, p. 403–417, 2020.

RODRIGUEZ-GARCIA, I.; GUIL-GUERRERO, J. L. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. **Food Chemistry**, v. 108, p. 1023–1026, 2008.

ROKAS, A. Evolution of the human pathogenic lifestyle in fungi. **Nature Microbiology**, v. 7, p. 607-619, 2022.

ROSALES-MENDOZA, S.; GARCÍA-SILVA, I.; GONZÁLEZ-ORTEGA, O.; SANDOVAL-VARGAS, J. M.; MALLA, A.; VIMOLMANGKANG, S. The Potential of Algal Biotechnology to Produce Antiviral Compounds and Biopharmaceuticals. **Molecules**, v. 25, n. 18, 2020.

SANGLARD, D. Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. **Frontiers of Medicine**, v. 3, p. 1–10, 2016.

SANSONE, C.; BRUNET, C. Promises and Challenges of Microalgal Antioxidant Production. **Antioxidants**, v. 8, n. 7, 2019.

SATHASIVAM, R.; RADHAKRISHNAN, R.; HASHEM, A.; ALLAH, E. F. A. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 709-722, 2019.

SCHMIT, J. P.; MUELLER, G. M. An estimate of the lower limit of global fungal diversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 1, p. 99–111, 2007.

SCHMID, B.; COELHO, L.; SCHULZE, P. S. C.; PEREIRA, H.; SANTOS, T.; MAIA, I. B.; REIS, M.; VARELA, J. Antifungal properties of aqueous microalgal extracts. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101096, 2022.

SEXTON, J. P.; LOMAS, M. W. **Microalgal Systematics**. In: *Microalgae in Health and Disease Prevention*, cap. 4, p. 73-107. Editora Elsevier, Amsterdam, 2018.

SHARMA, P.; BHALLA, M.; THAMI, G. P.; CHANDER, J. Evaluation of efficacy and safety of oral terbinafine and itraconazole combination therapy in the management of dermatophytosis. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 31, n. 7, p. 1-18, 2019.

SHISHIDO, T. K.; HUMISTO, A.; JOKELA, J.; LIU, L.; WAHLSTEN, M.; TAMRAKAR, A.; FEWER, D. P.; PERMI, P.; ANDREOTE, A. P. D.; FIORE, M. F.; SIVONEN, K. Antifungal compounds from cyanobacteria. **Marine Drugs**, v. 13, p. 2124–2140, 2015.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia médica á luz de autores contemporâneos**. 1ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 408p., 2004.

SILVA, C. J. A.; MALTA, D. J. N. A importância dos fungos na biotecnologia. **Cadernos de Graduação – Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 2, n. 3, p. 49-66, 2016.

SILVA, L. L.; MORENO, H. L. A.; CORREIA, H. L. N.; SANTANA, M. F.; QUEIROZ, M. V. *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, p. 1891-1904, 2020.

SOUZA, A. **O gênero *Neoscytalidium* e seu papel nas infecções: Revisão narrativa da literatura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 60 p., 2020.

STROBEL, G.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. Natural Products From Endiohytic Microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 257-268, 2004.

SUMMERELL, B. A. Resolving *Fusarium*: Current Status of the Genus. **Annual Review of Phytopathology**, v. 57, n. 1, 2019.

SWAIN, S. S.; PAIDSETTY, S. K.; PADHY, R. N. Antibacterial, antifungal and antimycobacterial compounds from cyanobacteria. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 90, p. 760–776, 2017.

TERRA, A. L. M.; KOSINSKI, R. C.; MOREIRA, J. B.; COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. Microalgae biosynthesis of silver nanoparticles for application in the control of agricultural pathogens. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 54, n. 8, p. 709-716, 2019.

TORIBIO, A. J.; JURADO, M. M.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; LÓPEZ-GONZÁLEZ, J. A.; MARTÍNEZ-GALLARDO, M. R.; LÓPEZ, M. J. Application of sonicated extracts of cyanobacteria and microalgae for the mitigation of bacterial canker in tomato seedlings. **Journal of Applied Phycology**, 2021.

TORRES-TIJI, Y.; FIELDS, F. J.; MAYFIELD, S. P. Microalgae as a future food source. **Biotechnology Advances**, v. 41, n. 1, 2020.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TURKMEN, A.; AKYURT, I. Antiviral Effects of Microalgae. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 412-419, 2021.

TURKOLMEZ, S.; DERVIS, S.; CIFTCI, O.; SERÇE, C. U.; DIKILITAS, M. New disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* devastates tomatoes (*Solanum lycopersicum*) in Turkey. **Crop Protection**, v. 118, p. 21-30, 2019.

VEHAPI, M.; YILMAZ, A.; OZÇIMEN, D. Antifungal Activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* Microalgae Cultivated in Bold Basal Medium, Wastewater and Tree Extract Water Against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. **Romanian Biotechnological Letters**, 2018.

VESTOLA, J.; SHISHIDO, T. K.; JOKELA, J.; FEWER, D. P.; AITIO, O.; PERMI, P.; WAHLSTEN, M.; WANG, H.; ROUHIAINEN, L.; SIVONEN, K. Hassallidins, antifungal glycolipopeptides, are widespread among cyanobacteria and are the end-product of a nonribosomal pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, p. 1909–1917, 2014.

VISO, A. C.; PESANDO, D.; BABY, C. Antibacterial and antifungal properties of some marine diatoms in culture. **Botanica Marina**, v. 30, n. 1, p. 41-45, 1987.

WALTER, C. S.; MAHESH, R. Antibacterial and antifungal activities of some marine diatoms in culture. **Indian Journal of Marine Sciences**, v. 29, p. 238-242, 2000.

WARMAN, N. M.; AITKEN, E. A. B. The Movement of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Sub-Tropical Race 4) in Susceptible Cultivars of Banana. **Frontiers in Plant Science**, n. 27, 2018.

WASHIDA, K.; KOYAMA, T.; YAMADA, K.; KITA, M.; UEMURA, D. Karatungiols A and B, two novel antimicrobial polyol compounds, from the symbiotic marine dinoflagellate *Amphidinium* sp. **Tetrahedron Letters**, v. 47, p. 2521–2525, 2006.

WEIR, B. S.; JOHNSTON, P. R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gbeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 115-180, 2012.

WHITE, T. C.; OLIVER, B. G.; GRASER, Y.; HENN, M. R. Generating and Testing Molecular Hypothesis in the Dermatophytes. **Eucaryotic Cell**, v. 7, n. 8, p. 1238-1245, 2008.

WU, Y.; HUANG, B.; PENG, X.; ZHANG, J. Development of an in vitro hydroponic system for studying the interaction between banana plantlet and *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 146, p. 107-114, 2021.

YAN, L.; ZHU, J.; ZHAO, X.; SHI, J.; JIANG, C.; SHAO, D. Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 3327–3340, 2019.

YI, R. H.; LIN, Q. L.; MO, J. J.; WU, F. F.; CHEN, J. Fruit internal brown rot caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on pitahaya in Guangdong province, China. **Australasian Plant Disease Notes**, v.10, 2015.

ZHOU, L.; LI, K.; DUAN, X.; HILL, D.; BARROW, C.; DUNSHEA, F.; MARTIN, G.; SULERIA, H. Bioactive compounds in microalgae and their potential health benefits. **Food Bioscience**, v. 49, 2022.



## 6. ANEXOS

- Publicações

## Atividade biológica das microalgas em dermatófitos: Revisão

### Biological activity of microalgae in dermatophytes: Review

### Actividad biológica de microalgas frente a dermatofitos: Revisión

Recebido: 26/07/2022 | Revisado: 06/08/2022 | Aceito: 08/08/2022 | Publicado: 17/08/2022

#### **Vivian Marina Gomes Barbosa Lage**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9879-8548>  
Universidade Federal da Bahia, Brasil  
E-mail: [vivianmarina@hotmail.com](mailto:vivianmarina@hotmail.com)

#### **Kathleen Ramos Deegan**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5466-3040>  
Universidade Federal da Bahia, Brasil  
E-mail: [kathdeegan@msn.com](mailto:kathdeegan@msn.com)

#### **Gabriela Fontes Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6989-6819>  
Universidade Federal da Bahia, Brasil  
E-mail: [gabbfontes@outlook.com](mailto:gabbfontes@outlook.com)

#### **Cristiane de Jesus Barbosa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2745-6588>  
Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasil  
E-mail: [cristiane.barbosa@embrapa.br](mailto:cristiane.barbosa@embrapa.br)

#### **Suzana Telles da Cunha Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9099-324X>  
Universidade Federal da Bahia, Brasil  
E-mail: [stcunhalima@ufba.br](mailto:stcunhalima@ufba.br)

#### **Resumo**

As microalgas são consideradas uma rica fonte de metabólitos biologicamente ativos com potencial uso farmacológico. Na indústria farmacêutica, extratos microalgais se destacam por apresentarem importantes atividades biológicas, como a antifúngica. As dermatofitoses são micoses cutâneas ocasionadas por fungos denominados dermatófitos, microrganismos que possuem um biotropismo especial por tecidos queratinizados. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura acerca da atividade biológica de extratos e compostos das microalgas em fungos dermatófitos. Trata-se de uma revisão narrativa da literatura, realizada nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e Google Scholar. Após a busca, foram selecionados 18 artigos publicados entre os anos de 1960 e 2021, nos idiomas inglês e francês. Quatro grupos de microalgas já foram explorados quanto à atividade antifúngica: clorófitas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias, totalizando 40 espécies de microalgas já testadas em 19 espécies de dermatófitos. As diatomáceas e cianobactérias possuem o maior número de testes realizados contra dermatófitos. As espécies de dermatófitos mais testadas foram o *T. rubrum* e o *T. menthagrophytes*. Os extratos de *S. platensis*, *C. Braunii*, *T. nodosa* e *T. tenuis* e os compostos isolados das espécies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* e *Amphidinium* sp. apresentaram maior atividade inibitória. A falta de padronização dos testes e o potencial antifúngico das microalgas já registrado para os dermatófitos, encoraja a realização de novos estudos para contemplar a grande biodiversidade e testar o efeito sinérgico aditivo com drogas comerciais.

**Palavras-chave:** Microalgas; Bioextratos; Dermatofitoses; Atividade antifúngica.

#### **Abstract**

Microalgae are considered a rich source of biologically active metabolites with potential pharmacological use. In the pharmaceutical industry, microalgae extracts are found to present important biological activities, such as antifungal. Dermatophytosis are cutaneous mycoses caused by fungi called dermatophytes, microorganisms that have a special biotropism for keratinized tissues. The aim of this work was to conduct a literature review on the biological activity of microalgae extracts and compounds in dermatophyte fungi. This is a narrative review of the literature, carried out in the databases PubMed, LILACS, SciELO and Google Scholar. After search, eighteen articles published between 1960 and 2021, in English and French, were selected. Four groups of microalgae have already been explored for their antifungal activity: chlorophytes, diatoms, dinoflagellates and cyanobacteria, totaling 40 species of microalgae already tested in 19 species of dermatophytes. Diatoms and cyanobacteria have the largest number of tests performed against dermatophytes. The most tested species of dermatophytes are *T. rubrum* and *T. menthagrophytes*. The extracts of *S. platensis*, *C. Braunii*, *T. nodosa* and *T. tenuis* and the compounds isolated from the dinoflagellates *Goniodoma* sp., *G. toxicus* and *Amphidinium* sp. have the greatest inhibitory activity. The lack of standardization of tests and the

antifungal activity of microalgae extracts already registered for dermatophytes encourages the carrying out of new studies to contemplate the great biodiversity and test the synergistic effect with commercial antifungals.

**Keywords:** Microalgae; Bioextracts; Dermatophytosis; Antifungal activity.

### Resumen

Las microalgas se presentan como una fuente valiosa de metabolitos biológicamente activos, con potencial uso farmacológico. En la industria farmacéutica, los extractos de microalgas se han destacado por sus importantes actividades biológicas, incluso la actividad antifúngica. Las dermatofitosis son micosis cutáneas causadas por hongos denominados dermatofitos, microorganismo que presenta biotropismo para los tejidos queratinizados. El objetivo de este trabajo consiste en generar una revisión bibliográfica respecto la actividad biológica de extractos y compuestos de microalgas frente a hongos dermatofitos. Consiste en una revisión narrativa de la literatura, en que se ha utilizado los portales web y bases de datos de PubMed, LILACS, SciELO y Google Scholar. Tras la búsqueda, se han seleccionado 18 artículos publicados entre los años 1960 y 2021, en inglés y francés. Se han evaluado cuatro grupos de microalgas respecto a su actividad antifúngica: clorofitas, diatomeas, dinoflagelados y cianobacterias, totalizando 40 especies de microalgas probadas contra 19 especies de dermatofitos. Las diatomeas y las cianobacterias tienen el mayor número de pruebas realizadas contra los dermatofitos. Las especies de dermatofitos más estudiadas han sido *T. rubrum* y *T. menthagrophytes*. Los extractos obtenidos de *S. platensis*, *C. braunii*, *T. nodosa* y *T. tenuis* han mostrado una mayor actividad inhibitoria en los hongos estudiados, además de compuestos aislados de las especies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* y *Amphidinium* sp.. La falta de estandarización de las pruebas y el hecho de que ya se hayan identificado las actividades antifúngicas de las especies de microalgas para el control de los dermatofitos, anima a realizar más estudios centrados en la biodiversidad y el efecto sinérgico con los fármacos comerciales.

**Palabras clave:** Microalgas; Bioextractos; Dermatofitosis; Actividad antifúngica.

## 1. Introdução

As microalgas são microrganismos fotossintezantes que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com a luz solar para produzirem variadas formas de energia e biomassa (Rizwan, et al., 2018). São consideradas uma rica fonte de metabólitos biologicamente ativos e com potencial aplicação biotecnológica, sendo empregadas na indústria alimentícia, produção de cosméticos e fármacos, biocombustíveis, bioindicadores ambientais, biorremediações e biomedicina (Sathasivam, et al., 2019). Dentro da área farmacológica, diversas substâncias extraídas das microalgas já foram relatadas desempenhando atividades biológicas, como antitumoral, antioxidante, imunomoduladora, anti-hipertensiva, antibacteriana, antiviral e antifúngica (Kiran & Mohan, 2021).

Nos últimos anos, o surgimento de fungos resistentes a fármacos tornou-se uma situação alarmante em todo o mundo (Khurana, et al., 2019). Consequentemente, este fato levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes patógenos, principalmente para a busca por novos medicamentos e tratamentos alternativos (Al-Janabi & Al-Khikani, 2020). Nessa busca, os produtos naturais são considerados a maior aposta e, dentre eles, os extraídos das microalgas recebem destaque por sua rica composição em metabólitos secundários biologicamente ativos e suas diversas propriedades biológicas já registradas (Falaise, et al., 2016).

A dermatofitose, também conhecida como tinea, é uma doença causada por fungos filamentosos denominados dermatófitos (Burstein, et al., 2020). Estes microrganismos possuem um biotropismo especial por tecidos de estruturas queratinizadas, infectando principalmente a pele, os pelos e as unhas (Peres, et al., 2010). É considerada uma das doenças mais comuns entre humanos e animais, além de possuir uma ampla disseminação zoonótica, principalmente devido ao relacionamento estreito do ser humano com os animais domésticos (Al-Janabi & Al-Khikani, 2020). O aumento do número de cepas de dermatófitos resistentes nos últimos anos levou a um renovado interesse de pesquisas direcionadas a estes parasitas, principalmente para a busca de novos fármacos e tratamentos alternativos (Khurana, et al., 2019).

A presente revisão de literatura serve como referência sobre os estudos que avaliaram a atividade biológica de extratos e compostos de microalgas em fungos dermatófitos.

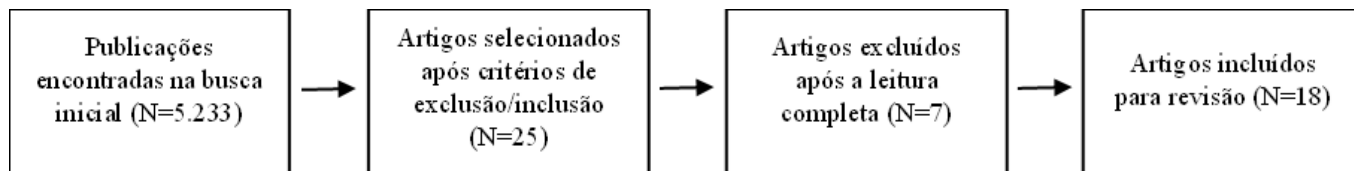
## 2. Metodologia

O presente artigo é uma revisão narrativa (RN), onde é construído um resumo da literatura acerca de determinado tema visando a descrição do estado da arte sob o ponto de vista teórico ou contextual (Horsley, 2019). A RN é uma forma não sistemática de revisar a literatura, sendo um processo mais simplificado e com a possibilidade de abordar um tema de forma livre, sob a ótica e análise crítica dos autores (Casarin, et al., 2020). Para isso, foram seguidos os critérios de construção de uma RN propostos por Roman e colaboradores (2017).

Nesta revisão, o tema em questão foi a atividade antifúngica de extratos e compostos de microalgas sob espécies de dermatófitos, sendo realizada a partir da busca por artigos científicos relacionados ao assunto. As buscas foram conduzidas nas bases de dados PubMed, LILACS, SciELO e Google Scholar. O corte temporal empregado foi de janeiro de 1960 a dezembro de 2021. A estratégia de busca foi igual em todas as bases de dados. As palavras-chave foram pesquisadas nos idiomas português, inglês, espanhol e francês. Os descritores e termos consultados nas buscas foram: Microalga/ Microalgae/ Microalgas/ Microalgues AND Dermatófitos/ Dermatophytes/ Dermatofitos/ Dermatophytes, assim como Microalga/ Microalgae/ Microalgas/ Microalgues AND Fungo/ Fungi/ Hongo/ Champignon.

Para a seleção dos artigos usou-se os seguintes critérios de inclusão: (I) Artigos científicos originais publicados em periódicos nacionais e internacionais; (II) Artigos nos idiomas português, inglês, espanhol e francês; (III) Artigos publicados entre 1960 e 2021; (IV) Artigos que testaram a ação antifúngica de extratos de microalgas em fungos dermatófitos; (V) Estudos experimentais *in vivo* ou *in vitro*. Foram excluídos os estudos: (I) No formato de cartas, editoriais, notícias, comentários e estudos de caso; (II) Artigos com acesso restrito; (III) Publicados em outros idiomas; (IV) Publicados fora do período de 1960 a 2021; (V) Artigos de revisão e capítulos de livros; (VI) Estudos clínicos da doença. O fluxograma a seguir representa o processo de busca e seleção dos artigos (Figura 1).

**Figura 1.** Fluxograma horizontal do processo de busca e seleção dos artigos.



Fonte: Autores.

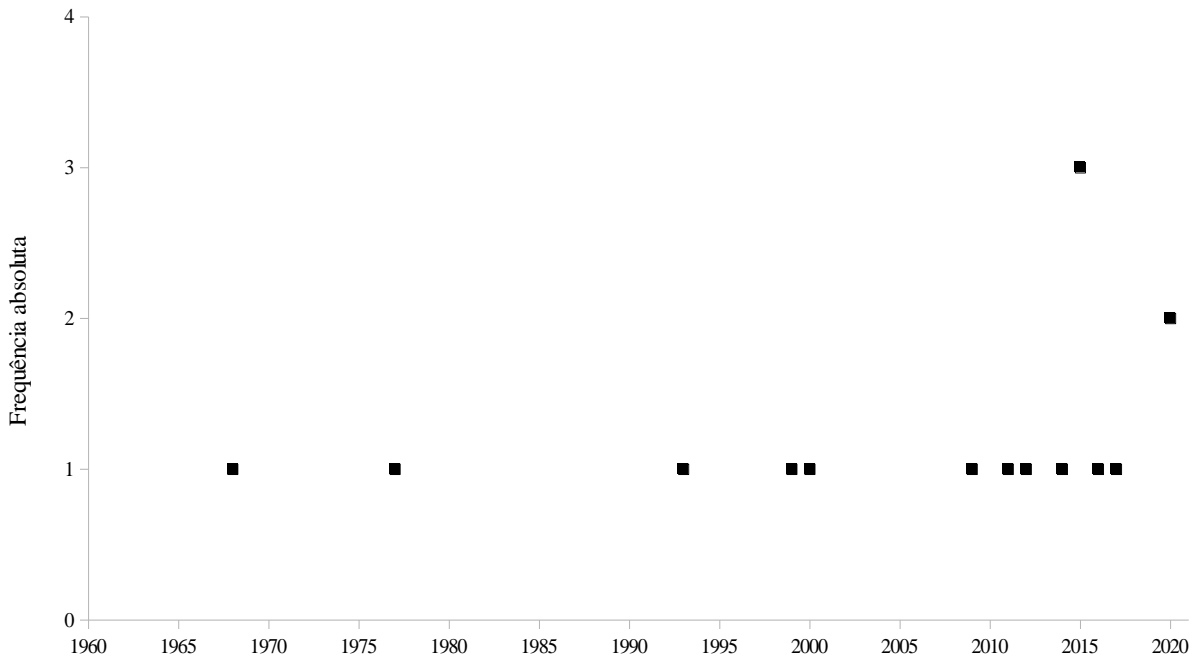
## 3. Resultados e Discussão

Foram selecionados 18 artigos que testaram a atividade antifúngica de extratos de microalgas em dermatófitos. Os primeiros trabalhos foram publicados entre as décadas de 60 e 70, tendo como foco as diatomáceas e os dinoflagelados (Sharma, et al., 1968; Gueho, et al., 1977). Há um maior número de artigos publicados entre 2009 e 2020 (Figura 2), fato que pode ser explicado pelo aumento do interesse na bioprospecção de agentes antifúngicos, devido ao aumento de relatos de fungos resistentes aos azóis (Ghannoum, 2016).

As espécies de microalgas estudadas pertencem a quatro grupos de microalgas: clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias (Figura 3). Entre estes grupos, as cianobactérias possuem o maior número de estudos registrados reportando atividade inibitória contra espécies de dermatófitos, com dez artigos selecionados. As clorofíceas e as diatomáceas foram as que tiveram menos estudos publicados, totalizando três artigos para cada. Os dinoflagelados foram testados em quatro trabalhos publicados. Desta busca, dois artigos testaram extratos de ambas: clorofíceas e cianobactérias. O grupo das diatomáceas possui o maior número de espécies de algas, tipos de extratos e fungos testados (Figura 3). As espécies

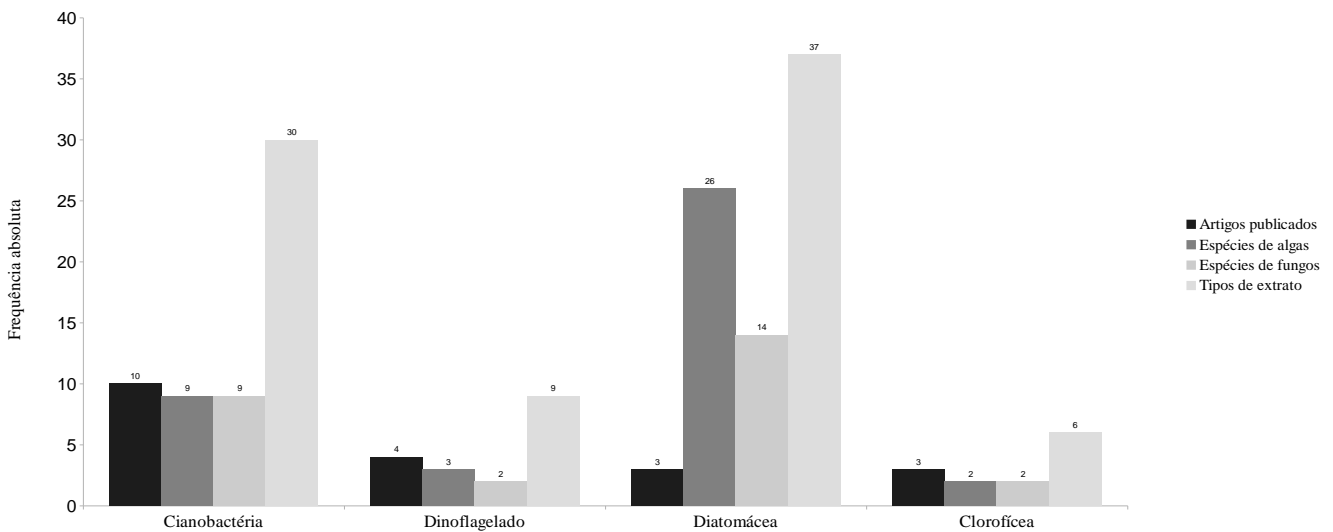
de microalgas mais testadas foram a *S. platensis*, com 23 extratos, a *C. lauderi*, com 16 extratos, e a *T. frauenfeldii*, com 12 extratos.

**Figura 2.** Frequência absoluta de artigos publicados por ano.



A figura representa um gráfico de pontos (*Dot plot*) acerca da frequência absoluta de artigos publicados por ano referente a temática atividade antifúngica de microalgas sob espécies de dermatófitos. No eixo X está inserido o corte temporal aplicado a busca (1960 a 2021) e no eixo Y a frequência absoluta de artigos encontrados. Fonte: Autores.

**Figura 3.** Frequência absoluta de artigos publicados, espécies de algas, de fungos e tipos de extratos testados, por grupo de microalga.



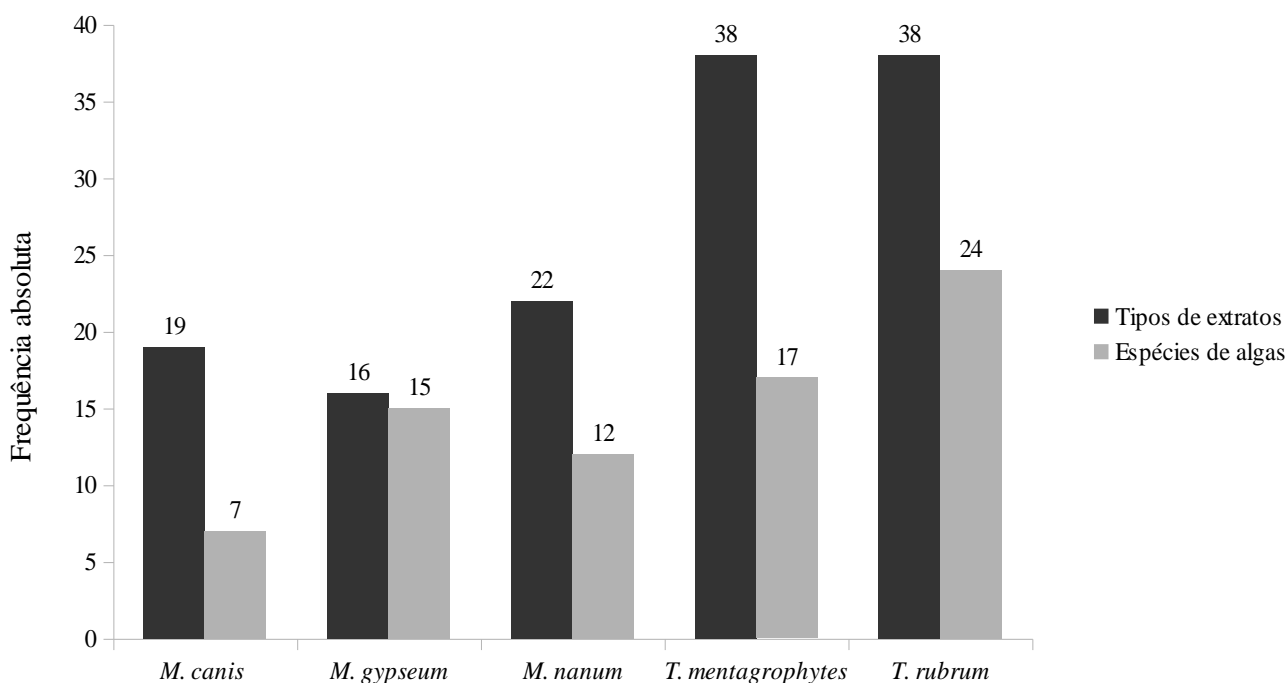
A figura representa um esquema gráfico acerca da frequência absoluta de artigos publicados, espécies de algas, de fungos e tipos de extrato testados por grupo de microalga. No eixo X estão inseridos os grupos de microalgas encontrados na busca (Cianobactérias, dinoflagelados, diatomáceas e clorofíceas) e no eixo Y a frequência absoluta encontrada relacionada a quatro variáveis: 1- Artigos publicados; 2- Espécies de algas; 3- Espécies de fungos e 4- Tipos de extratos. Fonte: Autores.

As espécies de dermatófitos mais testadas foram *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. nanum*, *M. canis* e *M. gypseum* (Figura 4), o que é condizente com o fato destes microrganismos serem os grupos de fungos filamentosos mais detectados infectando humanos e animais domésticos (Peres, et al., 2010).

As metodologias mais utilizadas para avaliação do potencial antifúngico foram a difusão em ágar, com oito artigos, seguido da disco-difusão, com seis artigos publicados. A microdiluição em caldo foi utilizada em quatro artigos e a macrodiluição em caldo em uma publicação. Apenas um trabalho realizou experimentação controlada *in vivo* em ratos, testando tratamento tópico de pomada preparada à base da microalga (Tabelas 1 a 4).

Os compostos testados variaram entre extratos brutos de cultura de microalga, extratos com solventes de diferentes polaridades e novos compostos isolados (Tabelas 1 a 4).

**Figura 4.** Frequência absoluta de extratos e espécies de microalgas testados por espécie de dermatófito.



A figura representa um gráfico de barras acerca da frequência absoluta de tipos de extratos e espécies de algas testados por espécie de dermatófito. No eixo X estão inseridas as espécies de dermatófitos mais encontradas na busca (*M. canis*; *M. gypseum*; *M. nanum*; *T. mentagrophytes* e *T. rubrum*) e no eixo Y a frequência absoluta relacionada a tipos de extratos microalgais (gráfico preto) e espécies de algas (gráfico cinza). Fonte: Autores.

### Microalgas e dermatófitos

A busca por compostos bioativos com propriedades antifúngicas entre as microalgas iniciou-se mais tarde do que a triagem por compostos com atividade antibacteriana (Falaise, et al., 2016). Esta busca tardia está relacionada ao fato de que os fungos só começaram a ser considerados patógenos humanos por volta de 1970, quando a taxa de infecções fúngicas em pacientes internados em hospitais aumentou, assim como a taxa de mortalidade associada (Peres, et al., 2010).

Atualmente, com a crescente participação das microalgas na área de biotecnologia e recursos associados, a busca por novos compostos bioativos oriundos de microalgas com atividade antifúngica vem sendo cada vez mais explorada (Kiran & Mohan, 2021). Dentro desse contexto, os trabalhos já realizados testam o potencial inibitório frente a fungos de interesse em diversas áreas, como agronomia, veterinária e saúde humana.

## Clorofíceas

A maioria dos trabalhos antimicrobianos com clorofíceas concentra-se nos potenciais antibacteriano e antiviral, tendo alguns compostos já isolados relacionados como fontes de atividade antimicrobiana (Falaise, et al., 2016). Para os fungos, ainda existem poucos trabalhos publicados acerca do potencial das clorófitas. Extratos brutos e fracionados de diferentes espécies de clorófitas já foram testados contra fungos patogênicos de humanos e animais (Najdenski, et al., 2013), assim como fitopatógenos (Vehapi, et al., 2018), ambos apresentando expressiva atividade de inibição do crescimento fúngico. Para os dermatófitos, até o momento, as únicas clorofíceas que tiveram seu potencial antifúngico explorado foram a *Chlorella vulgaris* (El-Sheekh, et al., 2015; El-Sheekh, et al., 2016) e a *Scenedesmus quadricauda* (Al-Rekabi, 2011).

Al-Rekabi (2011) avaliou a atividade antifúngica da clorofíceas *S. quadricauda* frente a quatro espécies de fungos, sendo dois destes dermatófitos, *T. rubrum* e *M. canis*. O extrato aquoso da microalga foi testado por meio das metodologias de difusão em ágar e ágar-diluição. Na difusão em ágar, a concentração de 400 µg/mL, gerou halos de inibição para as duas espécies de dermatófitos, de 3 mm para *T. rubrum* e de 2 mm para *M. canis*. No teste de ágar-diluição, a microalga inibiu o crescimento do *T. rubrum* e do *M. canis*, ambos com as taxas de Concentração Inibitória Mínima (CIM) igual a 400 µg/mL e Concentração Fungicida Mínima (CFM) igual a 1250 µg/mL (Tabela 1).

A susceptibilidade dos dermatófitos *T. rubrum* e *M. canis* também foi avaliada por El-Sheekh e colaboradores (2015). Extratos etanólico, metanólico, clorofórmico e etil acetanólico da clorofíceas *C. vulgaris* foram testados por meio do método de difusão em ágar na concentração de 50 mg/mL e nas concentrações entre 1 e 200 mg/mL para determinação da concentração inibitória mínima. Todos os extratos avaliados apresentaram potencial antifúngico contra as cepas testadas. O extrato metanólico apresentou maior inibição, com halo de 38 mm para *T. rubrum* e de 40 mm para *M. canis* e CIM de 12.5 mg/mL para ambos, concentração inibitória 50 vezes maior que a encontrada por Al-Rekabi (2011) no teste com o extrato aquoso de *S. quadricauda* (Tabela 1).

No estudo de El-Sheekh e colaboradores (2016), o potencial antifúngico do extrato metanólico da microalga *C. vulgaris* foi avaliado em experimento *in vivo* frente ao dermatófito *M. canis*. Para a realização dos testes, camundongos foram infectados com o patógeno avaliado e, após o surgimento de lesões na derme, foram tratados com uma pomada feita a partir do extrato metanólico da microalga. A avaliação dos resultados foi feita a partir do exame histológico dos tecidos infectados e o extrato foi considerado ativo frente ao dermatófito *M. canis* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade antifúngica de extratos de clorófitas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências			
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	aquoso	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Ágar-diluição	N.A.	400	1250	Al-Rekabi (2011)			
				Difusão em ágar	400 µg/mL	3	N.A.				
		<i>M. canis</i>		Ágar-diluição	N.A.	400	1250				
				Difusão em ágar	400 µg/mL	2	N.A.				
<i>Chlorella vulgaris</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50000 µg/mL			El-Sheekh e colaboradores (2015)			
		<i>M. canis</i>							28.67±1.16	N.A.	
	metanólico	<i>T. rubrum</i>							34.33±1.16		
		<i>M. canis</i>							38.67±1.53	12500	
	etil acetanólico	<i>T. rubrum</i>							40.33±0.58	12500	N.A.
		<i>M. canis</i>							18.33±1.53		N.A.
	clorofórmico	<i>T. rubrum</i>							22.00±1.73		
		<i>M. canis</i>							12.00±0.0		N.A.
<i>Chlorella vulgaris</i>	metanólico	<i>M. canis</i>	<i>in vivo</i>	Tratamento tópico, experimento controlado	N.A.			El-Sheekh e colaboradores (2016)			

Fonte: Autores.



## Diatomáceas

As diatomáceas já foram testadas contra diversos fungos patogênicos de humanos e animais, como *Candida albicans*, assim como fungos fitopatogênicos, como *Aspergillus niger*, apresentando potente atividade inibitória (Sherief, et al., 2020). Para os dermatófitos, poucos trabalhos foram publicados até o momento, contudo, os estudos publicados contemplaram 26 espécies de microalgas e 37 tipos de extratos em 14 espécies de fungos (Figura 3), com 16 testes realizados com extratos da espécie *Chaetoceros lauderi*, a mais explorada do grupo (Tabela 2) (Gueho, et al., 1977; Viso, et al., 1986; Walter & Mahesh, 2000).

Viso e colaboradores (1986) avaliaram o potencial antifúngico, por meio da difusão em ágar, de extratos brutos de 15 diatomáceas, sendo 11 destas espécies do gênero *Chaetoceros*. Duas cepas de dermatófitos foram testadas (*N. gypsea* e *T. rubrum*). As microalgas *C. lauderi* e *C. didymus* inibiram o crescimento de ambos os dermatófitos avaliados e as microalgas *C. diadema* e *Asterionella glacialis* inibiram apenas o *T. rubrum*. A diatomácea *C. lauderi* também foi testada por Gueho e colaboradores (1977), utilizando a metodologia de macrodiluição em caldo contra 14 espécies de dermatófitos e foi capaz de inibir o crescimento de todos na concentração de 25 mg/mL (Tabela 2).

Walter e Mahesh (2000) avaliaram o potencial antifúngico do extrato bruto de onze espécies de diatomáceas sobre oito cepas de fungos patogênicos, sendo dois dermatófitos (*N. nana* e *T. mentagrophytes*). A metodologia empregada foi a de disco-difusão. As espécies *Nitzschia sigma* e *Thalassiothrix frauenfeldii* apresentaram zona de inibição e foram testadas suas frações cetônica, clorofórmica, clorofórmica-metanólica, metanólica-aquosa e aquosa, através do método de disco-difusão. Os discos foram impregnados com 0,5 mL dos extratos. O extrato cetônico de *N. sigma* apresentou maiores halos de inibição para *T. mentagrophytes* (2 mm) e *N. nana* (0,5 mm), seguido do extrato clorofórmico que apresentou halos de 0.5 mm para ambas. Para a microalga *T. frauenfeldii*, os extratos mais ativos também foram o cetônico, com halo de 1.0 mm para *N. nana*, e o clorofórmico, com halo de 0.5 mm para *N. nana* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Atividade antifúngica de extratos de diatomáceas sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado; S.I.: Sem inibição).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Chaetoceros lauderi</i>	aquoso	<i>E. floccosum</i>	in vitro	Macrodiluição em caldo	N.A.	25000	N.A.	Gueho e colaboradores (1977)
		<i>M. audouini</i>						
		<i>M. ferrugineum</i>						
		<i>M. canis</i>						
		<i>M. gypseum</i>						
		<i>M. nanum</i>						
		<i>M. persicolor</i>						
		<i>T. interdigitale</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. schoenleinii</i>						
		<i>T. soudanense</i>						
<i>T. tonsurans</i>								
<i>T. violaceum</i>								
<i>Asterionella glacialis</i>		<i>M. gypseum</i>			670000 células/mL		S.I.	
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros affinis</i>		<i>M. gypseum</i>			165000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros brevis</i>		<i>M. gypseum</i>			126000 células/mL		S.I.	
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros diadema</i>		<i>M. gypseum</i>			290000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros pseudocurvisetus</i>		<i>M. gypseum</i>			267000 células/mL		S.I.	
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros danicus</i>		<i>M. gypseum</i>			16000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros didymus</i>		<i>M. gypseum</i>			140000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros lauderi</i>	cultura bruta	<i>M. gypseum</i>	in vitro	Difusão em ágar	29000 células/mL		N.A.	Viso e colaboradores (1986)
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros protuberans</i>		<i>M. gypseum</i>			94500 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros socialis</i>		<i>M. gypseum</i>			161000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros simplex</i>		<i>M. gypseum</i>			N.C.			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Chaetoceros septentrionalis</i>		<i>M. gypseum</i>			966000 células/mL		S.I.	
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Fragilaria pinnata</i>		<i>M. gypseum</i>			310000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Thalassiosira sp.</i>		<i>M. gypseum</i>			103000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Rhizosolenia sp.</i>		<i>M. gypseum</i>			47000 células/mL			
		<i>T. rubrum</i>						

<i>Biddulpha mobiliensis</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Climacosphenya moniligera</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Coscinodiscus excentricus</i>		<i>M. nanum</i>				S.I.		
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Fragilaria oceanica</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Leptocylindrus danicus</i>	cultura bruta	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Navicula longa</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Nitzschia sigma</i>		<i>M. nanum</i>				1		
		<i>T. mentagrophytes</i>				2		
<i>Pleurosigma angulatum</i>		<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Skeletonema costatum</i>		<i>M. nanum</i>				S.I.		
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i>		<i>M. nanum</i>	in vitro	Disco-difusão	0,5 mL	1	N.A.	Walter e Mahesh (2000)
		<i>T. mentagrophytes</i>				2		
<i>Nitzschia sigma</i>	cetônico	<i>M. nanum</i>				S.I.		
		<i>T. mentagrophytes</i>				2		
	clorofórmico	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
clorofórmico-metanólico	<i>M. nanum</i>							
		<i>T. mentagrophytes</i>				S.I.		
	metanólico-aquoso	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
aquoso	<i>M. nanum</i>							
	<i>T. mentagrophytes</i>					1		
<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i>	cetônico	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
	clorofórmico	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
	clorofórmico-metanólico	<i>M. nanum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>					S.I.	
metanólico-aquoso	<i>M. nanum</i>							
	<i>T. mentagrophytes</i>							
aquoso	<i>M. nanum</i>							
	<i>T. mentagrophytes</i>							

Fonte: Autores.

## Dinoflagelados

Os dinoflagelados possuem um grande potencial antimicrobiano, com diversos compostos químicos já isolados e patenteados apresentando esta atividade (Kiran & Mohan, 2021). Para os fungos, os dinoflagelados já apresentaram atividade inibidora contra uma ampla gama de organismos, sendo que para os dermatófitos apenas os gêneros *Goniodoma*, *Gambierdiscus* e *Amphidinium* tiveram o seu potencial avaliado. O grande diferencial deste grupo de microalgas é que alguns compostos químicos já foram isolados e associados à atividade antidermatófitos, tais como o “goniodomin” (Sharma, et al., 1968), o ácido gambérico (Nagai, et al., 1993) e a anfidinina (Kubota, et al., 2014; Kubota, et al., 2015).

Sharma e colaboradores (1968) isolaram e identificaram um novo composto denominado “goniodomin” a partir de dinoflagelados do gênero *Goniodoma*. O potencial antifúngico deste novo composto foi avaliado por meio da disco-difusão,

diante de diferentes cepas fúngicas, incluindo o dermatófito *T. mentagrophytes*. Na concentração de 0.5 µg/mL o composto demonstrou atividade inibitória, com halo de 3 mm (Tabela 3).

Dois compostos isolados a partir do dinoflagelado *Gambierdiscus toxicus*, denominados ácido gambérico “A” e “B”, tiveram o seu potencial antifúngico testado frente a oito cepas de fungos patogênicos, dentre eles dermatófitos das espécies *E. floccosum* e *T. mentagrophytes*, por meio da metodologia de microdiluição em caldo (Nagai, et al, 1993). O ácido gambérico “B” apresentou menor valor de CIM que o ácido gambérico “A” frente ao *E. floccosum* (CIM: 1.56 µg/mL e 3.13 µg/mL, respectivamente). Frente ao *T. mentagrophytes*, ambos apresentaram valor de CIM igual a 0.78 µg/mL (Tabela 3).

Novos policetídeos, denominados anfidininas e amphidinolida foram isolados a partir do dinoflagelado *Amphidinium* sp. (Kubota, et al., 2014; Kubota, et al., 2015). Estes novos compostos foram avaliados quanto ao seu potencial antifúngico por meio da microdiluição em caldo frente dermatófito *T. mentagrophytes*. As anfidinas “C”, “D” e “E” apresentaram CIM de 16 µg/mL, a anfidina “F” e a amphidinolida “Q” apresentaram CIM de 32 µg/mL (Kubota, et al., 2014), e a anfidina “G” apresentou IC<sub>50</sub> igual a 8 µg/mL (Kubota, et al., 2015) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Atividade antifúngica de extratos de dinoflagelados sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração/ halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Goniodoma</i> sp.	Composto isolado: "Goniodomin"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	0,5 µg/mL 3	N.A.		Sharma e colaboradores (1968)
<i>Gambireiros toxicus</i>	Composto isolado: "Ácido gambérico A"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	0,78	N.A.	Nagai e colaboradores (1993)
		<i>E. floccosum</i>				3,13		
	Composto isolado: "Ácido gambérico B"	<i>T. mentagrophytes</i>				0,78		
		<i>E. floccosum</i>				1,56		
<i>Amphidinium</i> sp.	Composto isolado: "Anfidinina C"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	16	N.A.	Kubota e colaboradores (2014)
	Composto isolado: "Anfidinina D"							
	Composto isolado: "Anfidinina E"							
	Composto isolado: "Anfidinina F"							
	Composto isolado: Amphidinolide Q							
<i>Amphidinium</i> sp.	Composto isolado: "Anfidinina G"	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	8	N.A.	Kubota e colaboradores (2015)

Fonte: Autores.

## Cianobactérias

O grupo de microalgas com o maior número de trabalhos científicos destinados à atividade antifúngica é o das cianofíceas. Diversos estudos já foram publicados acerca do potencial inibidor de cianobactérias contra fungos patogênicos de humanos e animais (Najdenski, et al., 2013), assim como de interesse agrônômico (Shaieb, et al., 2014). A *Spirulina platensis* é a espécie de microalga mais testada frente aos dermatófitos, com 23 testes realizados (Tabela 4).

*Oscillatoria angustissima* e *Calothrix parietina* apresentaram atividade inibitória contra os dermatófitos *T. gourgii*, *T. rubrum* e *M. canis*, quando avaliada por meio da disco-difusão (Issa, 1999). A cianobactéria *O. angustissima* formou halos de inibição entre 6 a 10 mm para *T. gourgii* e entre 11 a 15 mm para *T. rubrum* e *M. canis*. A *C. parietina* apresentou halos medindo entre 11 e 15 mm, para as três espécies de dermatófitos avaliadas. Al-Rekabi (2011) também avaliou o gênero *Oscillatoria*. O extrato aquoso da espécie *O. irrigua* foi testado frente a *T. rubrum* e *M. canis*. Na difusão em ágar, a concentração de 400 µg/ml do extrato microalgal gerou halos de 6 mm para *T. rubrum* e de 5 mm para *M. canis*. No teste de ágar-diluição, a microalga inibiu o crescimento de ambos, com valores iguais de CIM (250 µg/mL) e CFM (1000 µg/mL) (Tabela 4).

Outras duas espécies do gênero *Calothrix* já foram avaliadas (Malathi, et al., 2015; Nehul, 2020). Extratos aquoso, clorofórmico, etil acetanólico, hexânico e metanólico de *Calothrix braunii* foram avaliados frente a *T. mentagrophytes*, utilizando o método da disco-difusão, com discos contendo 2,5 µg do extrato. Os cinco extratos avaliados apresentaram halos de inibição: 7,3 mm (hexânico), 8 mm (aquoso e metanólico), 10,3 mm (etil acetanólico) e 11 mm (clorofórmico) (Malathi et al., 2015). Extratos clorofórmico, metanólico, hexânico e aquoso da cianobactéria *Calothrix javanica* foram testados contra a espécie *T. capitatum*, na concentração de 5000 mg/ml, pelo método da difusão em ágar. O único extrato de *C. javanica* que apresentou atividade foi o metanólico, apresentando halo de inibição de 11 mm (Nehul, 2020) (Tabela 4).

Thillairajasekar e colaboradores (2009) avaliaram, por meio da microdiluição em caldo, a atividade antifúngica de extratos hexânico e etil acetanólico da cianobactéria *Trichodesmium erythraeum* contra fungos patogênicos, incluindo os dermatófitos *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *T. simii*. O extrato etil acetanólico apresentou os menores valores de CIM para os dermatófitos *T. rubrum* (CIM: 500 µg/mL para ambos) e *T. simii* (CIM: 16,2 µg/mL). *T. mentagrophytes* apresentou o mesmo valor de CIM para ambos os extratos, igual a 1000 µg/mL. O extrato hexânico também inibiu o crescimento dos dermatófitos, contudo apresentou o dobro do valor de CIM para os isolados *T. rubrum* e *T. simii* (1000 e 31,25 µg/mL, respectivamente) (Tabela 4).

Quatro publicações já reportaram a atividade antifúngica da cianobactéria *Spirulina platensis*. Kumar e colaboradores (2012), por meio da difusão em ágar, testou a inibição de dermatófitos *M. canis* e *M. fulvum* frente a quatro tipos de extratos (hexânico, clorofórmico, cetônico e metanólico) de 4 isolados da cianobactéria, de diferentes localidades, em três concentrações (25, 50 e 100 µg/mL). Todos os extratos apresentaram inibição. Os extratos cetônico e metanólico mostraram-se mais efetivos, com halos entre 11 e 23 mm para *M. canis* e entre 9 e 23 mm para *M. fulvum*, nas concentrações de 50 e 100 µg/mL (Tabela 4).

A susceptibilidade do *M. canis* e *T. rubrum* frente a extratos etanólico, metanólico, etil acetanólico e clorofórmico foram testados na concentração de 50 mg/mL na difusão em ágar (El-Sheekh, et al., 2015), concentração 1000 vezes maior que a testada no trabalho de Kumar e colaboradores (2012). Todos os extratos avaliados apresentaram potencial antifúngico contra as cepas testadas e o extrato metanólico novamente apresentou maior tamanho de halo (27.67 mm para *T. rubrum* e de 28.67 mm para *M. canis*) (El-Sheekh et al., 2015). Jangi e colaboradores (2019) também encontraram atividade antifúngica da cianobactéria *S. platensis* frente ao dermatófito *M. canis* empregando o método de disco-difusão. Discos contendo 160 mg do extrato hidroalcoólico geraram halos de inibição medindo entre 0,5 e 19 mm (Tabela 4).

As espécies *T. rubrum*, *T. interdigitale* e *T. concentricum* foram avaliadas frente aos extratos etanólico e alcaloide, por meio do teste de difusão em ágar (Wali & Abdljbaar, 2020). O extrato bruto 100% concentrado inibiu o dermatófito *T. rubrum* com halos de 17 cm (extrato alcoólico) e 16 cm (extrato alcalóide) e o *T. concentricum* com halos de 23 cm (extrato alcoólico) e 14 cm (extrato alcalóide). Na concentração de 50%, o *T. interdigitale*, exibiu halos de 18 cm (extrato alcoólico) e 19 cm (extrato alcalóide) (Wali & Abdljbaar, 2020) (Tabela 4).

Duas espécies de cianobactérias do gênero *Tolypothrix*, *T. nodosa* e *T. tenuis*, tiveram seu potencial antifúngico avaliado por meio da disco-difusão contra quatro cepas de fungos patogênicos, incluindo o dermatófito *T. rubrum*. Os extratos acetanólico, metanólico e etílico formaram halo de inibição na concentração de 1 mg/mL. *T. nodosa* apresentou halos de 7.6 mm (acetona), 9 mm (metanol) e 8 mm (éter de petróleo) e *T. tenuis* halos de 8 mm (acetona), 9.33 mm (metanol) e 7.66 (éter de petróleo) (Babu, et al., 2017) (Tabela 4).

**Tabela 4.** Atividade antifúngica de extratos de cianobactérias sob dermatófitos (CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; N.I.: Não informado; N.A.: Não avaliado).

Espécies de microalgas	Extrato	Dermatófitos testados	Modelo de ensaio	Metodologia	Concentração /Halo (mm)	CIM (µg/mL)	CFM (µg/mL)	Referências
<i>Oscillatoria angustissima</i>	etil acetanólico	<i>T. gourgii</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	N.I.	6 a 10	N.A.	Issa (1999)
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>M. canis</i>						
		<i>T. gourgii</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
<i>Calothrix parietina</i>	etil acetanólico	<i>M. canis</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	N.I.	6 a 10	N.A.	Issa (1999)
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. rubrum</i>						
		<i>M. canis</i>						
<i>Trichodesmium erythraeum</i>	hexânico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Microdiluição em caldo	N.A.	N.A.	N.A.	Thillairajasekar e colaboradores (2009)
		<i>T. mentagrophytes</i>						
		<i>T. simii</i>						
	etil acetanólico	<i>T. rubrum</i>						
		<i>T. mentagrophytes</i>						
<i>Oscillatoria irrigua</i>	aquoso	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Ágar-diluição	N.A.	250	1000	Al-Rekabi (2011)
		<i>T. rubrum</i>		Difusão em ágar	400 µg/mL	6	N.A.	
		<i>M. canis</i>		Ágar-diluição	N.A.	250	1000	
		<i>M. canis</i>		Difusão em ágar	400 µg/mL	5	N.A.	
		<i>M. canis</i>		Difusão em ágar	400 µg/mL	5	N.A.	
<i>Spirulina platensis</i>	hexânico	<i>M. canis</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50 e 100 µg/mL	N.A.	N.A.	Kumar e colaboradores (2012)
		<i>M. fulvum</i>						
	clorofórmico	<i>M. canis</i>						
		<i>M. fulvum</i>						
		<i>M. canis</i>						
	cetônico	<i>M. fulvum</i>						
		<i>M. canis</i>						
metanólico	<i>M. canis</i>							
	<i>M. fulvum</i>							



<i>Calothrix braunii</i>	aquoso	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	2,5 µg	8.00 ± 0.00	N.A.	Malathi e colaboradores (2015)						
	clorofórmico					11.00 ± 0.57								
	etil acetanólico					10.33 ± 0.88								
	hexânico					7.33 ± 0.33								
	metanólico					8.00 ± 0.57								
<i>Spirulina platensis</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	50000 µg/mL	23.67±1.16	N.A.	El-Sheekh e colaboradores (2015)						
		<i>M. canis</i>				25.00±0.0								
		<i>T. rubrum</i>				27.67±0.58								
	metanólico	<i>M. canis</i>				28.67±1.16								
		<i>T. rubrum</i>				9.33±1.16								
	etil acetanólico	<i>M. canis</i>				9.33±1.16								
		<i>T. rubrum</i>				9.67±0.58								
	clorofórmico	<i>M. canis</i>				9.33±1.16								
	<i>Tolypothrix nodosa</i>	cetônico				<i>T. rubrum</i>			<i>in vitro</i>	Disco-difusão	50 µg	7.66 ± 0.33	N.A.	Babu e colaboradores (2017)
		metanólico										9.00 ± 0.57		
éter de petróleo		8.00 ± 0.57												
cetônico		8.00 ± 0.57												
metanólico		9.33 ± 0.33												
<i>Tolypothrix tenuis</i>	éter de petróleo					7.66 ± 0.33								
<i>Spirulina platensis</i>	Hidroalcoólico	<i>M. canis</i>	<i>in vitro</i>	Disco-difusão	160 . 10 <sup>3</sup> µg	0,5 a 19	N.A.	Jangi e colaboradores (2019)						
<i>Spirulina platensis</i>	etanólico	<i>T. rubrum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar		100,00%	N.A.	Wali e Adbljbaar (2020)						
		<i>T. interdigitale</i>				50,00%			17					
		<i>T. concentricum</i>				100,00%			18					
		<i>T. rubrum</i>				100,00%			23					
	alcaloide	<i>T. interdigitale</i>				100,00%			16					
		<i>T. concentricum</i>				50,00%			19					
<i>Calothrix javanica</i>	clorofórmico	<i>T. capitatum</i>	<i>in vitro</i>	Difusão em ágar	5000 . 10 <sup>3</sup> µg/mL	N.I.	N.A.	Nehul (2020)						
	metanólico					11±1.8								
	hexânico													
	aquoso					N.I.								

Fonte: Autores.

A falta de padronização e alta variabilidade das metodologias empregadas nos trabalhos publicados impede a realização de comparações estatísticas entre os testes. Alguns extratos microalgais não apresentaram atividade inibitória frente aos isolados de dermatófitos testados, todas estas espécies pertencem ao grupo das diatomáceas (Viso, et al., 1986; Walter & Mahesh, 2000).

Considerando o tamanho do halo e as concentrações dos extratos microalgais testados pela metodologia de difusão em ágar, os extratos da cianobactéria *S. platensis* evidenciam a atividade antifúngica na menor concentração testada (50 µg/mL) frente a isolados de *M. canis* e *M. fulvum* (Kumar, et al., 2021). Considerando o halo produzido na metodologia de disco-difusão, é possível observar que baixas concentrações do extrato das cianobactérias *C. braunii* (Malathi, et al., 2015), *T. nodosa* e *T. tenuis* (Babu, et al., 2017) são capazes de inibir o crescimento do *T. mentagrophytes* (Malathi, et al., 2015) e do *T. rubrum* (Babu, et al., 2017). Comparando-se os valores determinados de CIM na microdiluição em caldo, os ácidos gambéricos

“A” e “B” (Nagai, et al., 1993) mostraram-se mais eficazes em inibir o *T. mentagrophytes* do que as anfidininas (Kubota, et al., 2014; Kubota, et al., 2015). O composto “goniodomina” também se mostrou eficaz na inibição do *T. mentagrophytes*, no teste de disco-difusão (Sharma, et al., 1968).

As microalgas ainda possuem um grande número de espécies cujo potencial antifúngico não foi investigado, mesmo sendo considerado um grupo promissor para a bioprospecção de novos fármacos. É necessário investir na padronização dos testes antifúngicos, visto que os ensaios já realizados divergem nas metodologias utilizadas, fator que dificulta a comparação dos resultados obtidos e impede a realização de análises estatísticas. Não foram encontrados estudos que avaliassem o efeito aditivo dos extratos microalgas junto aos antifúngicos comerciais, uma importante lacuna na literatura a ser preenchida.

#### 4. Conclusão

Os extratos de microalgas apresentam grande potencial antifúngico sobre os dermatófitos. Apesar da rica composição de biomoléculas de interesse farmacológico e das atividades antimicrobianas reportadas, ainda existem poucos estudos acerca do potencial inibidor de microalgas frente a fungos dermatófitos, com apenas 40 espécies de microalgas contempladas. Apenas quatro grupos de microalgas registraram publicações associadas ao tema, sendo estes: clorofíceas, diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias. Dentre estes grupos, diatomáceas e cianobactérias possuem o maior número de testes realizados contra dermatófitos. As espécies de dermatófitos mais testadas são o *T. rubrum* e o *T. mentagrophytes*. Os extratos de *S. platensis*, *C. braunii*, *T. nodosa* e *T. tenuis* e os compostos isolados das espécies de dinoflagelados *Goniodoma* sp., *G. toxicus* e *Amphidinium* sp. apresentaram maior atividade inibitória.

A falta de padronização dos testes realizados impossibilita uma análise comparativa mais robusta dos resultados obtidos. Tendo em vista a necessidade de novos fármacos no tratamento das dermatofitoses, existe uma lacuna promissora que pode ser explorada pelos compostos bioativos extraídos de produtos naturais, como das microalgas. Novos estudos ainda são necessários para elucidar e contribuir com a temática do potencial antifúngico das microalgas em dermatófitos.

#### Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo financiamento da bolsa de doutorado.

#### Referências

- Al-Janabi, A. A. H. S., & Al-Khikani, F. H. O. (2020). Dermatophytoses: A short definition, pathogenesis, and treatment. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 9 (3), 210-214.
- Al-Rekabi, H. Y. (2011). Study the effect of some algae extracts against activity of some fungi. *Journal of Thi-Qar University*, 6 (4), 35-42.
- Babu, M. R., Malathi, T., & Rao, B. D. (2017). Antifungal activity of selected cyanobacteria against fungal pathogens. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 7 (4), 207-213.
- Burstein, V. L., et al. (2020). Skin Immunity to Dermatophytes: From Experimental Infection Models to Human Disease. *Frontiers in Immunology*, 11.
- Casarin, S. T., Porto, A. R., Gabatz, R. I. B., Bonow, C. A., Ribeiro, J. P., & Mota, M. S. (2020). Tipos de revisão de literatura: considerações das editoras do Journal of Nursing and Health. *Journal of Nursing and Health*, 10 (5).
- El-Sheekh, M. M., El-Shafay, S. M., & El-Ballat, E. M. (2015). Production and characterization of antifungal active substance from some marine and freshwater algae. *International Journal of Environmental Science and Engineering*, 6, 85-92.
- El-Sheekh, M. M., El-Shafay, S. M., & El-Ballat, E. M. (2016). In vivo evaluation of antimicrobial effect of methanolic extract of *Chlorella vulgaris* on impetigo and some dermatophytes. *Egyptian Journal of Botany*, 56 (2), 423-437.
- Falaise, C., et al. (2016). Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine drugs*, 14 (9):159.
- Gueho, E., Pesando, D., & Barelli, M. (1977). Propriétés antifongiques d'une diatomée *Chaetoceros lauderi* Ralfs C C. *Mycopathologia*, 60 (2), 105-107.

- Horsley, T. (2019). Tips for improving the writing and reporting quality of systematic, scoping, and narrative reviews. *Journal of Continuing Education in the Health Professions*, 39 (1), 54-57.
- Issa, A. A. (1999). Antibiotic production by the cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8, 33-37.
- Jangi, M., Samaneh, E., & Hamideh, G. A. (2019). Effects of Iranian *Spirulina platensis* extract on *Microsporium canis* isolates. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 85 (24), 10-17.
- Khurana, A., Sardana, K., & Chowdhary, A. (2019). Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. *Fungal Genetics and Biology*, 132, 1087-1845.
- Kiran, B. D., & Mohan, S. V. (2021). Microalgal Cell Biofactory - Therapeutic, Nutraceutical and Functional Food Applications. *Plants*, 10 (5).
- Kubota, T., et al. (2014). Amphidinins C–F, Amphidinolide Q Analogues from Marine Dinoflagellate Amphidinium sp. *Organic Letters*, 21 (16), 5624-5627.
- Kubota, T., et al. (2015). Amphidinin G, a putative biosynthetic precursor of amphidinin A from marine dinoflagellate Amphidinium sp. *Tetrahedron Letters*, 56 (8), 990-993.
- Kumar, V., Bhatnagar, A. K., & Srivastava, J. N. (2012). Comparative study of different strains of *Spirulina platensis* (Geitler) against some human pathogens. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3 (3), 39-45.
- Malathi, T., et al. (2015). Antimicrobial activity of Blue-Green Algae, *Calothrix braunii* (A. Br.) Bornet et Flahault. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 8 (2), 104-112.
- Nagai, H., et al. (1993). Biological activities of novel polyether antifungals, Gambieric Acids A e B from a Marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *The Journal of Antibiotics*, 46 (3), 520-522.
- Najdenski, H. M., et al. (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 1533–1540.
- Nehul, J. N. (2020). Assesment of antifungal activity of a cyanobacterium *Calothrix javanica* de wilde. *International Journal of Researches in Biosciences, Agriculture and Technology*, 8 (2), 92-95.
- Peres, N. T. A., et al. (2010). Dermatofitos: Interação patógeno-hospedeiro e resistência a antifúngicos. *Anais brasileiros de dermatologia*, 85 (5), 657-667.
- Rizwan, M., et al. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394-404.
- Roman, C., Ellwanger, J., Becker, G. C., Silveira, A. D., Machado, C. L. B., & Manfroi, W. C. (2017). Metodologias ativas de ensino-aprendizagem no processo de ensino em saúde no Brasil: Uma revisão narrativa. *Clinical and Biomedical Research*, 37 (4), 349-357.
- Sathasivam, R., et al. (2019). Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 (4), 709-722.
- Shaieb, F. A., Issa, A. A., & Meragaa, A. (2014). Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis*. *Archives of Biomedical Sciences*, 2 (2), 34-41.
- Sharma, G. M., Michaels, L., & Burkholder, P. R. (1968). Goniiodomin, a new antibiotic from a dinoflagellate. *The Journal of Antibiotics*, 21 (11), 659-664.
- Sherief, M. A., et al. (2020). Modification of diatom using silver nanoparticle to improve antimicrobial activity. *Materialstoday: Proceedings*, 43 (6), 3369-3374.
- Thillairajasekar, K., et al. (2009). Antimicrobial activity of *Trichodesmium erythraeum* (Ehr) (microalga) from South East coast of Tamil Nadu, India. *International Journal of Integrative Biology*, 5 (3), 167-170.
- Vehapi, M., Yilmaz, A., & Ozçimen, D. (2018). Antifungal activities of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella minutissima* microalgae cultivated in bold basal medium, wastewater and tree extract water against *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*. *Romanian Biotechnological Letters*.
- Viso, A. C., Pesando, D., & Baby, C. (1987). Antibacterial and antifungal properties of some marine diatoms in culture. *Botanica Marina*, 30 (1), 41-45.
- Wali, N. M., & Abdjbaar, A. S. (2020). Effect of ethanol and alkaloid extract of *Spirulina platensis* against dermatophyte fungi. *Plant Archives*, 20 (1), 2736-2743.
- Walter, C. S., & Mahesh, R. (2000). Antibacterial and antifungal activities of some marine diatoms in culture. *Indian Journal of Marine Sciences*, 29, 238-242.