
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA IN VITRO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIPER NIGRUM L. PRODUZIDO A PARTIR DA ASSOCIAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES FRENTE AO FITOPATÓGENO FUSARIUM SOLANI F. SP. PIPERIS

ISBN 978-85-85905-19-4

Área

Produtos Naturais

Autores

Almeida, L.S. (UFPA) ; da Trindade, R.C.S. (UFPA) ; de Oliveira, J.S.F. (UFPA) ; da Luz, S.F.M. (UFPA) ; de Menezes, I.C. (EMBRAPA-AMAZONIA ORIENTAL) ; Maia, J.G.S. (UFOPA) ; de Mello, A.H. (UNIFESSPA) ; Ramos, A.R. (UNIFESSPA) ; da Silva, J.K.R. (UFPA)

Resumo

O objetivo deste estudo é comparar a atividade antifúngica do óleo essencial (OE) das folhas de mudas inoculadas (OEPNFFM) e não inoculadas (OEPNF) com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs), frente ao *Fusarium solani*, agente etiológico da fusariose. Os OEs foram obtidos de folhas coletadas 90 dias após a inoculação (DAI) com FMAs e analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. No ensaio in vitro, avaliaram-se as concentrações de 1,5; 1,0; 0,5 e 0,25 mg/mL. O OE das folhas mostrou-se rico em compostos terpênicos como δ -elemeno, elemol, α -bisabolol. Os índices antifúngicos dos OEPNF e OEPNFFM não diferiram estatisticamente. Porém, o OEPNFFM, possui grande potencial para ser utilizado no controle biológico da fusariose.

Palavras chaves

composição química; controle alternativo; fusariose

Introdução

O Estado do Pará é o maior produtor brasileiro de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) (Lourinho et al., 2014). Contudo desde a década de 50 têm sofrido perdas na produtividade, devido a ocorrência da fusariose, ocasionada pelo fungo *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (Albuquerque, Duarte, 1986). Devido à inexistência de fungicidas eficazes e seguros ou cultivares de *P. nigrum* totalmente resistentes à fusariose (Embrapa, 2014), torna-se necessário investigar métodos alternativos de controle para a doença, que ofereçam menos riscos ao meio ambiente e que sejam mais sustentáveis (Bedoya et al., 2015). Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) são simbiotes vegetais obrigatórios, que auxiliam na nutrição e defesa das plantas. A inoculação de FMAs em mudas de *P. nigrum* reduziu a incidência da fusariose e aumentou a biomassa das mudas micorrizadas (Azcón-Aguilar, Barea, 1996; Chu et al., 1997). O uso de OEs como fungicidas naturais também tem sido relatado contra vários fungos fitopatógenos (Singh et al., 2004; Silva et al., 2014). O OE de *P. nigrum* é rico em terpenos tais como: limoneno, β -cariofileno, β -pineno, sabineno, mirceno, canfeno, entre outros (Singh et al., 2004; Zachariah, Parthasarathy, 2008). Embora o mesmo possua diversas atividades biológicas, tal como: antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, entre outras (Ahmad et al., 2012). Não há na literatura estudos que relacione a atividade do OE de *P. nigrum* em associação com FMAs contra *F. solani*. Se ativo, este produto natural poderá apresentar-se como uma alternativa de controle biológico à fusariose na Região Amazônica. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica in vitro do OE de *P. nigrum*, com e sem associação com FMAs, frente ao fitopatógeno *F. solani*.

Material e métodos

Mudas de *P. nigrum* cv. Bragantina foram obtidas no município de Castanhal com produtor de pimenta-do-reino, a cultura de *F. solani* em parceria com a Embrapa Amazônia Oriental e os inóculos de FMAs com a Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (UNIFESSPA). Cinco mudas de *P. nigrum* foram associadas com FMAs do gênero *Glomus*, diretamente nas raízes (PNFMA) e outras cinco constituíram os controles sem associação (PN). Folhas foram coletadas 90 dias após a inoculação (DAI) com FMAs. Os OEs foram extraídos por hidrodestilação, durante 3h, e analisados por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massas. A identificação química foi feita baseada nas bibliotecas do sistema e por comparação com a literatura (Nist, 2011; Adams, 2007). A atividade antifúngica do OE de *P. nigrum* seguiu o método de Zacaroni et al., 2009 (adaptado). Os OEs foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e os experimentos realizados em triplicata. Os OEs obtidos a partir das folhas de PNFMA e PN foram utilizados nas seguintes concentrações: 1,5; 1,0; 0,5 e 0,25 mg/mL. Discos de micélio de *F. solani* com aproximadamente 8,5 mm de diâmetro, foram colocados no centro das placas, as quais foram incubadas em câmara de germinação sob temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12h. O monitoramento do crescimento micelial iniciou após 24h e foi realizado durante 7 dias. Foram feitas medições do diâmetro das colônias, em dois sentidos perpendicularmente opostos e cada valor correspondeu à média das duas medidas. A inibição do crescimento micelial foi calculada pelo índice antifúngico, conforme a seguinte equação: Índice antifúngico = $1 - (\Delta Da / \Delta Db) \times 100$. Onde: ΔDa = variação do diâmetro do crescimento micelial nas placas das amostras e ΔDb = variação do diâmetro do crescimento micelial na placa controle.

Resultado e discussão

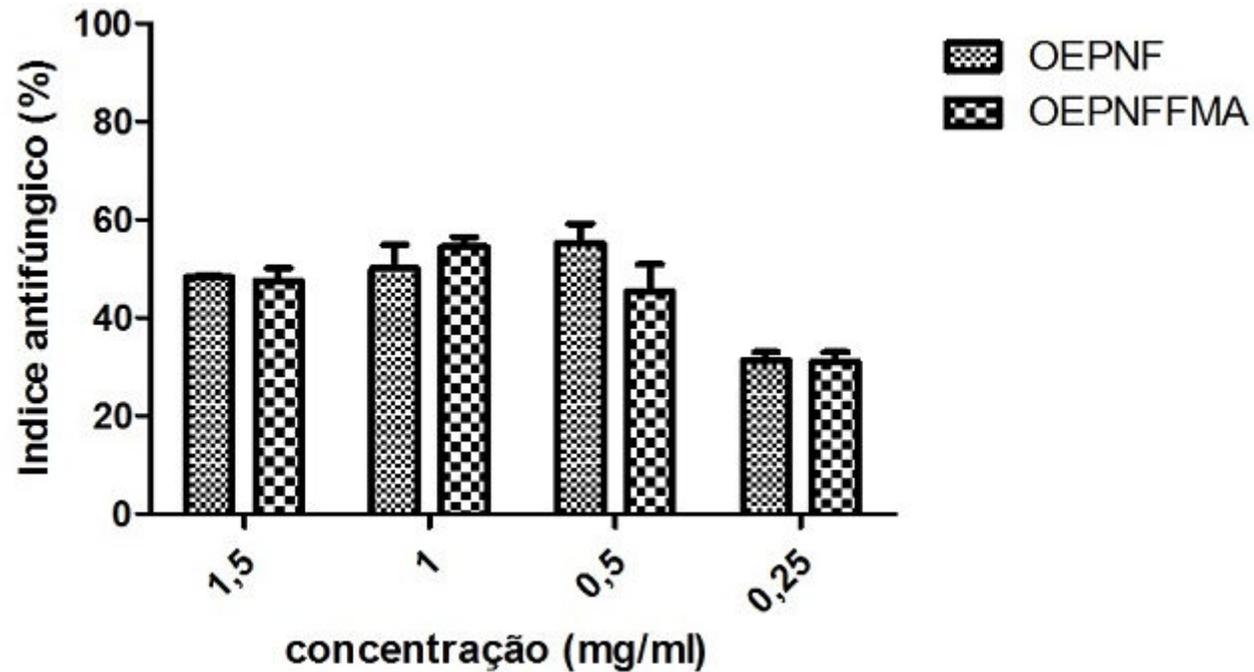
A composição química dos OEs foi identificada em 95,0%. A associação com FMAs provocou variações qualitativas e quantitativas nos compostos majoritários (Tab. 1). Os compostos pentano, β -pineno, Z- β -ocimeno, timol, 2-undecanona, α -ilangeno, Z- α -bisabolol, óxido de ledeno e α -eudesmol foram encontrados apenas no OE de PNFFMA. Houve um aumento superior a 30% de 3Z-hexenol (0,2-0,6%), E- β -ocimeno (0,9-1,2%), germacreno D (2,6-3,3%), β -bisaboleno (2,6-3,3%), Z-sesquilavandulol (0,8-1,2%) e α -eudesmol (0,9-1,2%). A associação com FMAs dobrou a concentração de elemol (11,4-23,2%) e elevou em 50% α -bisabolol (32,3- 48,5%). Houve diminuição considerável de δ -elemeno (9,5-0,1%) e outros compostos minoritários como β -elemeno (1,2-0,2%), β -cariofileno (2,4-1,1%), α -humuleno (0,8-0,4%), β -selineno (1,3-0,2%), E-nerolidol (4,8-1,9%), epi- β -bisabolol (0,9-0,6) e os derivados do farnesol e farnesal. O crescimento micelial do grupo controle e tratamentos com diferentes concentrações de OE diferiram significativamente. O índice antifúngico variou entre 31,3 a 55,2 % para o OE de PNF e 31,0 a 54,4 % para o OE de PNFFMA (Fig. 1). Os mesmos não diferiram estatisticamente. O OE de *P. nigrum*, contendo os constituintes majoritários: β -cariofileno, limoneno e sabineno apresentou eficácia de 100% no controle in vitro do crescimento micelial de *F. graminearum* na concentração de 6 μ l/mL (Singh et al., 2004). O OE de *P. divaricatum* mostrou alta atividade antifúngica contra *F. solani*, seus constituintes majoritários eugenol e metileugenol foram testados individualmente nas concentrações entre 0,75 de 2,5 mg/mL e apresentaram índice antifúngico de 100% (Silva et al., 2014). Os resultados sugerem que o óleo essencial de *P. nigrum* poderia ser mais efetivo em concentrações superiores a 2,0 mg/mL.

Tabela 1

Compostos	IR^a	IR^b	PNF	PNFFMA
δ -elemeno	1335	1335	9,5	0,1
elemol	1544	1548	11,4	23,2
α -bisabolol	1684	1685	32,3	48,5
Monoterpenos hidrocarbonetos			1,0	1,5
Monoterpenos oxigenados			1,4	1,1
Sesquiterpenos hidrocarbonetos			25,0	10,2
Sesquiterpenos oxigenados			67,0	82,7
Fenilpropanóides e outros			0,2	
Total identificado			94,6	95,3

Componentes majoritários da fração volátil das folhas de *P. nigrum* cv. bragantina inoculadas (PNFFMA) e não-inoculadas com FMAs (PNF).

Figura 1



Inibição do crescimento do fungo *F. solani*, frente ao óleo essencial de folhas de *P. nigrum* micorrizadas (OEPNFFMA) e não micorrizadas (PNF).

Conclusões

Embora o óleo essencial de *P. nigrum* associada ao FMA tenha apresentado baixa inibição do fungo *F. solani* e os índices antifúngicos de mudas inoculadas e não inoculadas com FMA não tenham diferido estatisticamente entre si, se utilizado em maiores concentrações pode ser empregado no controle biológico da fusariose na região amazônica.

Agradecimentos

A Embrapa Amazônia Oriental, a Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, ao CNPQ, a FAPESPA.

Referências

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 2007.
- AHMAD N, FAZAL H, ABBASI BH, FAROOQ S, ALI M, ET AL. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. Asian Pacific Journal of Tropical

Biomedicine, p. 1945-1953. 2012.

ALBUQUERQUE, F. C.; DUARTE, M. L. R. Estágio atual do conhecimento do melhoramento da cultura da pimenta-do-reino no trópico úmido brasileiro.

Simpósio do Trópico Úmido, 1. Anais Proceedings Anales, v. 4, p. 359-372. 1986.

AZCÓN-AGUIAR, C.; BAREA, J. M. Arbusculau mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisn involved.

Micorrhiza, v. 6, p. 457-464. 1996.

BEDOYA, O. A.; BENAVIDES, A. M. H.; DAZA, D. P.; CHAZATAR, L. S. Actividad inhibitoria del aceite esencial de Lippia origanoides H.B.K sobre el crecimiento de Phytophthora infestans. Acta Agronômica, v. 64, p. 116-124. 2015.

CHU, E.Y.; ENDO, T.; STEIN, R. L. H.; ALBUQUERQUE, F. C. Avaliação da inoculação de Fungos Micorrízicos Arbusculares sobre a incidência da fusariose da pimenta-da-reino. Fitopatologia brasileira, v. 22, p. 205-208. 1997.

EMBRAPA. Boas práticas agrícolas para aumento da produtividade e qualidade da pimenta-do-reino no Estado do Pará. Embrapa Amazônia Oriental. 2014.

LOURINHO, M. P.; COSTA, C. A.S.; SOUZA, L. C.; SOUZA, L. C.; NETO, C. F. O. Conjuntura da pimenta-do-reino no mercado nacional e na região norte do Brasil.

Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer- Goiânia, v. 10, p 1017-1031. 2014.

NIST (National Institute of Standards and Technology). Mass Spectral Library. The NIST Mass Spectrometry Data Center, Gaithersburg, 2011.

SILVA, J. K. R.; SILVA, J. R. A.; NASCIMENTO, S. B.; LUZ, S. F. M.; MEIRELES, E. N.; ALVES, C. N.; RAMOS, A. R.; MAIA, J. G. S. Antifungal activity and computational study of constituents from Piper divaricatum essential oil against Fusarium infection in black pepper. Molecules, v. 19, p. 17926-17942. 2014.

SINGH, G.; MARIBUTHU, P.; CATALAN, C.; DE LAMPASONA, M. P. Chemical, antioxidant and antifungal activities of volatile oil of black pepper and its acetone extract. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 84, p. 1878-1884. 2004.

ZACARONI, L. M.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; PIMENTEL, F. A.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P. Potencial fungitóxico do óleo essencial de Piper hispidinervum (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos Bipolaris sorokiniana, Fusarium oxysporum e Colletotrichum gloeosporioides. Acta Amazonica, v. 39, p. 193-198. 2009.

ZACHARIAH, T.J.; PARTHASARATHY V. A. Black Papper. In: PARTHASARATHY V. A.; CHENPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. (Ed). Chemistry of Spices. India: CAB international. p. 21-40. 2008.

Patrocinadores



(<http://www.capes.gov.br/>)



(<http://cnpq.br/>)



(<http://www.fapespa.pa.gov.br/>)

Apoio



(<http://www.ifpa.edu.br/>)



(<https://www.portal.ufpa.br/>)



(<http://www.uepa.br/>)



(<http://www.crq6.org.br/>)



(<http://www.iec.pa.gov.br/>)



(<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/pa?codUf=15>)



(<http://www.museu-goeldi.br/portal/>)

Realização



(<http://www.abq.org.br/>)



(<https://abqpa.wordpress.com/>)

SOBRE O CBQ

Todos os anos, este evento é organizado e realizado em um Estado. O evento tem por objetivo congrega a comunidade química, incentivando o estudo, a difusão e o conhecimento da química entre profissionais e estudantes. Realizado em diferentes Estados, facilita a participação das comunidades locais para apresentar os resultados da pesquisa e do desenvolvimento tecnológico específicos daquela região às comunidades das outras regiões do país. O evento engloba cursos, palestras, mesas redondas (debates ou painéis), além da apresentação de trabalhos. A cada ano são convidados vários pesquisadores do Brasil e do exterior.

CONTATO

📍 ABQ - ASSOCIAÇÃO
BRASILEIRA DE QUÍMICA |
Av. Presidente Vargas, 633
Sala 2208 Centro Rio de
Janeiro/RJ 20071-004

☎️ (21) 2224-4480

✉️ abqeventos@abq.org.br

ABQ - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE QUÍMICA (/)

(<http://www.jgi.com.br/>) 