

ÓLEO ESSENCIAL DE *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg.: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Nadia Helena Bianchini ¹

Nadia Helena Bianchini ²

Daniela Thomas da Silva ³

Samantha Spall ⁴

Bianca Schindler ⁵

Marlove Fátima Brião Muniz ⁶

Berta Maria Heinzmann ⁷

Resumo:

A madeira pode ser degradada por diversos organismos xilófagos, tais como os fungos apodrecedores da madeira, que utilizam como fonte de nutrição seus polímeros presentes na parede celular. Entre os principais causadores de danos econômicos devido à deterioração da madeira, estão os fungos causadores de podridão-branca (*Pycnoporus sanguineus*) e podridão-parda (*Gloeophyllum trabeum*). Para elevar a durabilidade da madeira, utiliza-se preservantes químicos de uso convencional, que apesar de serem muito eficazes, a tendência é de serem substituídos, devido sua elevada toxicidade. Os preservantes naturais, tais como os óleos essenciais (OE), surgem como uma possibilidade ecologicamente aceitável para o controle destes fitopatógenos. Dentre as espécies produtoras de OE, está a *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg. (Myrtaceae), que tem em sua composição química, previamente descrita na literatura, substâncias capazes de combater organismos xilófagos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do OE de *B. salicifolius* para o desenvolvimento de um preservante da madeira, analisando-se sua composição química e fungitoxicidade frente aos fungos supracitados. O OE foi obtido por meio da hidrodestilação de folhas frescas de *B. salicifolius*. Para os testes de fungitoxicidade, incorporou-se o OE (0, 2,0 e 5,0 L mL⁻¹) ao meio de cultura, onde discos de 12 mm contendo micélio de cada um dos fungos isolados (*P. sanguineus* e *G. trabeum*) foram transferidos para o centro das placas, separadamente. Em seguida, foram incubadas em câmara BOD com temperatura controlada de 25 ± 3°C e fotoperíodo de 12 h, por até 7 dias. O OE apresentou um rendimento de extração de 2,29% e densidade de 0,89 g/mL. A análise química do OE possibilitou a identificação de 19 constituintes, representando 92,93% da composição total, sendo que os componentes majoritários foram o 1,8-cineol, compondo 63,44% do OE, -cariofileno (13,6%), -terpineol (2,22%), humuleno (1,96%) e -pineno (1,94%). Na realização do bioensaio antifúngico frente ao fungo *P. sanguineus*, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Entretanto, os resultados encontrados nos testes com o fungo *G. trabeum* evidenciaram que houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações analisadas (F= 847,709; P

Palavras-chave: *Blepharocalyx salicifolius*; Óleo essencial; Atividade antifúngica; Fungos apodrecedores da madeira

Modalidade de Participação: Pesquisador

ÓLEO ESSENCIAL DE *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg.: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

¹ Aluno de pós-graduação. nhbianchini@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. nhbianchini@gmail.com. Apresentador

³ Outro. dthomasdasilva@gmail.com. Co-autor

⁴ Outro. samanthaspall@gmail.com. Co-autor

⁵ Outro. bia.schindler@gmail.com. Co-autor

⁶ Docente. marlovemuniz@yahoo.com.br. Co-orientador

⁷ Docente. berta.heinzmann@gmail.com. Co-orientador



ÓLEO ESSENCIAL DE *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg.: COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

1. INTRODUÇÃO

A madeira é um material de origem biológica amplamente utilizado por possuir diversas e importantes aplicações, desde a utilização do seu lenho na construção civil, até a utilização de suas fibras para fabricação de papel. Biologicamente, a madeira é degradada por organismos xilófagos, que utilizam como fonte de nutrição seus polímeros presentes na parede celular (ALVES, 2008). Entre os principais causadores de danos econômicos devido à deterioração da madeira, estão os fungos causadores de podridão-branca (*Pycnoporus sanguineus*) e podridão-parda (*Gloeophyllum trabeum*).

Para elevar a durabilidade da madeira, surgiram os preservantes químicos de uso convencional. Apesar de serem muito eficazes para o controle de fitopatógenos, a tendência é de serem substituídos (BARNES, 2008), já que estes causam poluição ambiental, desenvolvimento da resistência dos xilófagos e apresentam elevada toxicidade à saúde humana (YOON et al., 2013). Neste contexto, os preservantes naturais, tais como os óleos essenciais (OE), surgem como uma possibilidade ecologicamente aceitável, por apresentarem baixo efeito residual, baixa persistência no meio ambiente e baixa toxicidade aos animais (KARTAL et al 2006; MAOZ et al., 2007; ZIGLIO, 2010).

Dentre as espécies produtoras de OE, está a *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O.Berg. (Myrtaceae), uma espécie florestal nativa do Brasil, conhecida popularmente como murta na região Sul do país. É uma possível alternativa como preservante natural da madeira, uma vez que tem em sua composição química, previamente descrita na literatura, substâncias capazes de combater organismos xilófagos (CERON et al., 2006; SIQUEIRA et al., 2011; VIVOT et al., 2012). Considerando o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do OE de *B. salicifolius* para o desenvolvimento de um preservante da madeira, analisando-se sua composição química e fungitoxicidade frente aos fungos supracitados.

2. METODOLOGIA

Folhas de *B. salicifolius* foram coletadas durante o verão, na cidade de Santa Maria - RS. Para a extração do OE, folhas frescas foram fracionadas e extraídas por meio de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger por 3 horas (SARTOR, 2009). Posteriormente, calculou-se o rendimento do OE em relação ao peso seco de material vegetal extraído (% m m⁻¹) e determinou-se sua densidade (g mL⁻¹). A composição química do OE foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foi utilizado um sistema hifenado Agilet 7890A, equipado com um detector seletivo de massas série 5975C.

Os testes de fungitoxicidade foram realizados no Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Defesa Fitossanitária (CCR/UFSM). O OE de *B. salicifolius* foi incorporado ao meio de cultura de batata-sacarose-ágar (BSA) nas concentrações 1,0, 2,0 e 5,0 µL mL⁻¹ (previamente diluído em etanol na proporção 1:1 - v/v). Para o controle negativo, utilizou-se placas contendo BSA e etanol na maior concentração utilizada como diluente. Após a solidificação do meio, discos de 12 mm contendo micélio de cada um dos fungos isolados (*P. sanguineus* e *G. trabeum*) foram

transferidos para o centro das placas. Estas foram incubadas em câmara BOD com temperatura controlada de $25 \pm 3^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h, por até 7 dias.

A avaliação do experimento iniciou-se após 24 h, por meio de medições do diâmetro das colônias realizadas a cada dois dias, até as colônias fúngicas da testemunha atingirem $\frac{3}{4}$ do diâmetro da placa. O índice de crescimento micelial (ICM), foi calculado pela fórmula adaptada por Oliveira (1992), onde $\text{ICM} = [(C_1/N_1) + (C_2/N_2) + \dots + (C_n/N_n)]$, sendo C_1, C_2, C_n = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação; N_1, N_2, N_n = número de dias após a inoculação. A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada através da fórmula: $\% = [(C_T - C_t) \cdot 100] / C_T$, onde C_T e C_t correspondem ao crescimento micelial na testemunha e no tratamento, respectivamente.

Para análise do teste de crescimento micelial, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variâncias e normalidade dos dados anteriormente às análises estatísticas. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparar os dados de ICM obtidos para os OE e entre as concentrações avaliadas. Os pós-testes de Tukey e Kruskal-Wallis foram utilizados para verificar diferença estatística, ao nível mínimo de probabilidade ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas no software SigmaPlot, versão 11.0.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

O OE obtido a partir de folhas frescas de *B. salicifolius* apresentou um rendimento de 2,29% e densidade de 0,89 g/mL. A análise química do OE possibilitou a identificação de 19 constituintes, representando 92,93% da composição total. Entre eles, 47,4% constituem hidrocarbonetos monoterpênicos, 21,05% monoterpênicos oxigenados e 31,57% são hidrocarbonetos sesquiterpênicos. Os componentes majoritários foram o 1,8-cineol, compondo 63,44% do OE, β -cariofileno (13,6%), α -terpineol (2,22%), humuleno (1,96%) e β -pineno (1,94%).

Na realização do bioensaio antifúngico frente ao fungo *P. sanguineus*, os dados não apresentaram homogeneidade de variâncias, e foram analisados por meio do teste Kruskal – Wallis de uma via. No entanto, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Quanto à avaliação da susceptibilidade do fungo *G. trabeum* ao OE, os dados paramétricos apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as três concentrações analisadas ($F = 847,709$; $P < 0,001$; Figura 1).

Em relação ao rendimento do OE das folhas de *B. salicifolius*, em estudos anteriores foram relatados valores inferiores ao encontrado neste estudo, sendo de 0,12% (CASTELO, 2010), 0,70% (GODINHO, 2014), e 0,90% (LIMBERGER et al., 2001). Cabe ressaltar que a variação do rendimento dos OEs nas plantas está diretamente relacionada a fatores abióticos como estresse nutricional, tipo de solo e variação climática, além dos componentes bióticos como fatores genéticos, ataques por micro-organismos, insetos e outras plantas (MING, 1992; LUZ et al, 2009).

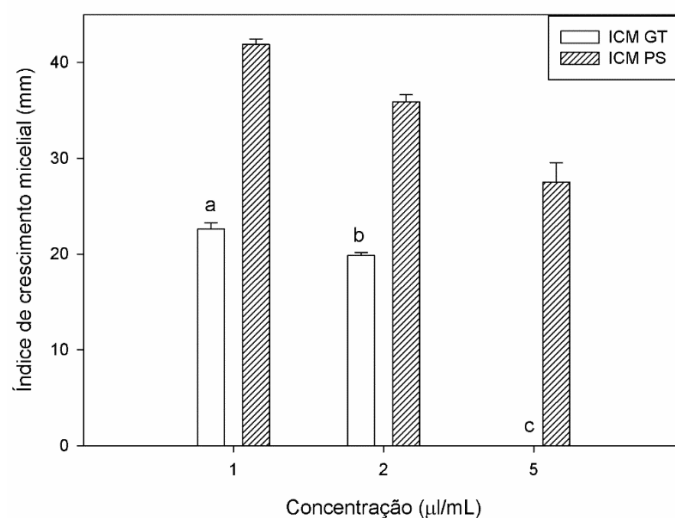


Figura 1. Bioensaio antifúngico do óleo essencial de folhas de *Blepharocalyx salicifolius* frente a fungos deterioradores da madeira. ICM GT = Índice de crescimento micelial do fungo *Gloeophyllum trabeum*; ICM PS = Índice de crescimento micelial do fungo *Pycnoporus sanguineus*; C₁ = 1 µL mL⁻¹; C₂ = 2 µL mL⁻¹; C₃ = 5 µL mL⁻¹. Letras minúsculas indicam diferença estatística por meio do teste Tukey (p<0,05.)

Chang et al. (2000) mostraram que os constituintes α -cadinol, τ -cadinol e τ -muurolol extraídos de *Taiwania cryptomerioides* (Hayata) inibiram o crescimento de *Trametes versicolor* e *Laetiporus sulphureus*. Corroborando esses resultados, Cheng et al. (2004) também observaram que os sesquiterpenoides α -cadinol e τ -muurolol se mostraram eficientes no combate aos fungos xilófagos *Lenzites betulina*, *Pycnoporus coccineus*, *T. versicolor* e *L. sulphureus*. Portanto, os derivados de núcleo cadinano existentes no OE *B. salicifolius*, mesmo que em pequena proporção, podem estar contribuindo para a atividade antifúngica detectada.

Constituintes como o metil salicilato, β -cariofileno, (*E*)- β -ocimeno, linalol, entre outros, são conhecidos pela sua função na defesa indireta das plantas (DAS et al., 2013). Adicionalmente, foi comprovado que constituintes de OEs como terpenoides podem atuar como defensores diretos por meio da sua toxicidade generalizada (MOORE et al., 2014). Entre as classes de substâncias que atuam na defesa direta das plantas, estão as contidas nas óleo-resinas e os terpenoides limoneno, 1,8-cineol, mirceno e humuleno (DAS et al., 2013). Neste contexto, a presença do humuleno entre os constituintes voláteis majoritários pode ser uma das explicações para a atividade antifúngica alcançada na maior concentração frente ao fungo *G. trabeum*.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Folhas de *B. salicifolius* revelaram ter um alto rendimento em OE. Os resultados evidenciaram que o OE de *B. salicifolius* foi capaz de inibir totalmente o crescimento do fungo de podridão-parda *G. trabeum* na concentração de 5 µL mL⁻¹, revelando ser um extrativo promissor para controlar o crescimento deste tipo de fungo apodrecedor da madeira. Dessa forma, sugere-se que mais estudos sejam realizados com o OE de *B. salicifolius* frente a outros fungos de podridão da

madeira, bem como buscar elucidar o mecanismo de ação que explique a atividade deste extrativo.

5. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois; 2001.

ALVES, E. O. et al. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de Dourados-MS. Ciência e Agrotecnologia, v. 32, n. 2, p. 651-658, 2008.

BARNES, H. M. Wood: preservative treated. In: BUSCHOW, K. H. J.; CAHN, R. W.; FLEMINGS, M. C.; ILSCHNER, B.; KRAMER, E. J.; MAHAJAN, S. Encyclopedia of Materials: Science and Technology. Oxford: Elsevier Science, v.10, p. 9683-9688, 2008.

CASTELO, A. V. M.; DEL MENEZZI, C. H. S.; RESCK, I. S. Yield and spectroscopic analysis (¹H, ¹³C NMR; IR) of essential oils from four plants of the Brazilian Savannah. Cerne, v. 16, n. 4, p. 573-584, 2010.

CHANG, S. T. et al. Comparison of the antifungal activity of cadinane skeletal sesquiterpenoids from Taiwan (Taiwania cryptomerioides Hayata) heartwood. Holzforschung, v. 54, p. 241-245, 2000.

CHENG, S. S. et al. Antitermitic and antifungal activities of essential oil of *Calocedrus formosana* leaf and its composition. Journal of Chemical Ecology., v. 10, p. 1957-1967, 2004.

CERON, C. S., ZANOTTO, C. Z., SILVEIRA, R. S., KUNZ, V. T., WALKER, C. I. B.; MANFRON, M. P., 2007. Atividade antioxidante dos extratos de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. In: Proceedings of the I Congresso Sul Americano de Farmácia, 8-11 November 2010, Maringá, Brazil. Maringá: ARQ MUDI, pp. 1-2.

DAS, A. et al. Plant volatiles as method of communication. Plant Biotechnology Reports, v. 7, p. 9-26, 2013.

GODINHO, W. M.; FARNEZI, M. M.; PEREIRA, I. M.; GREGÓRIO, L. E.; GRAEL, C. F. F. Volatile constituents from leaves of *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg (*Myrtaceae*). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. v.13, n. 3, p. 249 – 253, 2014.

KARTAL, S. N. et al. Effect of essential oil compounds and plant extracts on decay and termite resistance of wood. Holz Roh Werkst, v. 64, p. 455-461, 2006.

LIMBERGER, R. P. et al. Chemical Composition of Essential Oils from Some Campomanesia Species (Myrtaceae). Journal Essential Oil Research, v. 13, n. 2, p. 113-115, 2001.

LUZ, J. M. Q; MORAIS, T. P. S.; BLANK, A. F; SODRÉ, A. C. B; OLIVEIRA, G. S. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjerição sob doses de cama de frango. Horticultura Brasileira. v. 27, n. 3, 2009.

MING, L. C.; Influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleo essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. Verbenaceae. 206f. 1992. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Curitiba: UFPR. p. 206, 1992.

MAOZ, M., WEITZ, I., BLUMENFEIL, M., FREITAG, C.; MORRELL, J. J. Antifungal activity of plant derived extracts against *G. trabeum*. International Research Group on Wood Protection. V.07, n.30, p.433, 2007.

MOORE, B. D. Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. New Phytologist, v. 201, p. 733-750, 2014.

NIST/ EPA/ NIH. Mass spectral library and search/ analysis programs. J. Wiley and Sons, Hoboken, NJ, 2002

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). Ciência e Prática. v. 16, n.1, p. 42-47, 1992.

SARTOR, R. B. Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste de vapor. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

SIQUEIRA, E. P.; OLIVEIRA, D. M.; JOHANN, S.; CISALPINO, P. S.; COTA, B. B.; RABELLO, A.; ALVES, T. N. A; ZANI, C. L. Bioactivity of the compounds isolated from *Blepharocalyx salicifolius*. Revista Brasileira de Farmacognosia, vol. 21, n. 4, p. 645-651, 2011.

VIVOT, E. P.; SÁNCHEZ, C.; CACIK, F. SEQUIN, C. Actividad antibacteriana em plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). Ciencia, Docencia y Tecnologia, v. 23, n. 45, p. 165-185, 2012

YOON, M.Y.; CHA B.; KIM J.C. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. The Plant Pathology Journal. v.29, n.1, p.1-9, 2013.

ZIGLIO, A. C. Uso da capsaicina como preservante de madeiras ao ataque de fungo apodrecedor. São Carlos. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade de São Paulo. 2010.