

Área: Sustentabilidade | Tema: Temas Emergentes em Sustentabilidade

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper mikianium* (Kunth) Steudel NO CONTROLE DE FUNGO
APODRECEDOR DA MADEIRA**

ESSENTIAL OIL OF *Piper mikianium* (Kunth) Steudel IN THE WOOD ROT FUNGI CONTROL

Nadia Helena Bianchini, Bibiana Fontana Batista, Alana Silveira Pavlack, Guilherme Elias Andrade e Berta

Maria Heinzmann

RESUMO

A madeira é um material orgânico, heterogêneo e biodegradável, amplamente utilizado para diversos fins, sendo susceptível ao ataque de organismos xilófagos. Atualmente existem diversos produtos sintéticos eficazes para proteger a madeira do ataque desses organismos, mas são altamente tóxicos para o meio ambiente e os animais. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antifúngico do óleo essencial (OE) de folhas de *Piper mikianium* frente a *Neolentinus lepideus*. O OE foi obtido por hidrodestilação de folhas frescas fracionadas e a atividade antifúngica foi avaliada pelo método de diluição em meio BDA (batata-dextrose-ágar). O OE foi previamente diluído em etanol (1,0 µL.mL⁻¹) e homogeneizado ao meio de cultura, que foi vertido para placas de Petri esterilizadas. Após a solidificação do meio, discos miceliais foram transferidos para centro de cada placa de Petri, que foram incubadas em câmara BOD até o tratamento testemunha completar o crescimento nas placas. O OE foi avaliado nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 µL mL⁻¹. Avaliou-se também um tratamento testemunha (apenas BDA) e um controle negativo (1,0 µL.mL⁻¹ de etanol). Os tratamentos foram analisados por medições diametralmente opostas do micélio, realizadas a cada dois dias. As equações utilizadas foram: % inibição = [(CT - Ct*100) / CT], onde CT e Ct correspondem ao crescimento micelial na testemunha e no tratamento, respectivamente; e índice de crescimento micelial (ICM) = [(C1/N1) + (C2/N2) + ... + (Cn/Nn)], sendo C1, C2, Cn = crescimento micelial do fungo na 1ª, 2ª e última avaliação; N1, N2, Nn = número de dias após a inoculação. O OE a 0,5 µL.mL⁻¹ inibiu parcialmente o crescimento do *N. lepideus* (28,20 ± 2,678%), apresentando um ICM de 37,01 ± 1,380, diferindo estatisticamente do controle negativo. Futuramente deverá ser determinada a composição química do extrativo avaliado e outros testes antifúngicos deverão ser realizados, com concentrações mais elevadas deste OE e frente a outras espécies fúngicas.

Palavras-Chave: extrativo vegetal; atividade antifúngica; biopreservante

ABSTRACT

Wood is an organic, heterogeneous and biodegradable material widely used for various purposes and is susceptible to attack by xylophagous organisms. Currently, there are several synthetic compounds effective in protecting wood from attack by these organisms, but they are highly toxic to the environment and animals. The objective of this study was to evaluate the antifungal potential of the essential oil (EO) of *Piper mikianium* leaves against *Neolentinus lepideus*. The EO was obtained by hydrodistillation of fractionated fresh leaves and the antifungal activity was evaluated by dilution method in BDA (potato dextrose agar) medium. The EO was previously diluted in ethanol (1.0 µL.mL⁻¹) and homogenized to the culture medium, which was poured into sterile petri dishes. After solidification, mycelial discs were transferred to the center of each Petri dish and they were incubated in a BOD chamber until the control treatment completed the growth on the plates. The EO was evaluated at concentrations of 0.25, 0.5 and 1.0 µL mL⁻¹. A control treatment (PDA only) and a negative control (1.0 µL.mL⁻¹ ethanol) were also evaluated. Treatments were analyzed by diametrically opposite measurements of the mycelium, performed every two days. The equations used were: % inhibition = [(CT-Ct*100)/CT], where CT and Ct = mycelial growth at control and treatment, respectively, and mycelial growth index (MGI) = [(C1/N1) + (C2/N2)+...+(Cn/Nn)], where C1, C2, Cn = fungal mycelial growth at the 1st, 2nd and last evaluation, N1, N2, Nn = number of days after inoculation. The EO at 0.5 µL.mL⁻¹ partially inhibited the growth of *N. lepideus* (28.20 ± 2.678%), presenting an ICM of 37.01 ± 1.380, differing statistically from the negative control. In the future, the chemical composition of the evaluated extractive must be determined and other antifungal tests will be performed, with higher concentrations of this EO and against other fungal species.

Keywords: plant extract; antifungal activity; biopreservative

ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel NO CONTROLE DE FUNGO APODRECEDOR DA MADEIRA

1 INTRODUÇÃO

A madeira é um material natural amplamente utilizado para diversos fins, como na fabricação de celulose, construção civil, em indústrias de móveis e esquadrias, na elaboração de paletes, energia, etc. Entretanto, por ser um material orgânico, heterogêneo e biodegradável, possui grande susceptibilidade ao ataque de organismos xilófagos, como fungos apodrecedores da madeira e cupins, que causam perdas econômicas consideráveis na indústria de madeira serrada (BENTO et al., 2014; CAI et al., 2018; STANGERLIN et al., 2013).

Atualmente, existem diversos produtos sintéticos disponíveis no mercado que são eficazes para proteger a madeira do ataque de organismos xilófagos. Entretanto, grande parte desses produtos contém em sua composição metais pesados como cobre, chumbo e arsênio. Esses compostos são altamente tóxicos tanto para o meio ambiente quanto para os animais, o que levou à proibição do uso dessa classe de preservantes da madeira em diversos países (CHITTENDEN; SINGH, 2011; PÁNEK; REINPRECHT; HULLA, 2014; XIE et al., 2017).

Neste contexto, surge a necessidade da busca por substâncias que sejam capazes de controlar esses organismos, mas que sejam menos tóxicas aos animais e ao meio ambiente. Com base no exposto, os extrativos vegetais destacam-se como uma alternativa potencialmente eficaz e ambientalmente segura para atuar no controle desses agentes xilófagos. Existem diversos estudos na literatura que relatam a atividade antifúngica de alguns extrativos vegetais, como os óleos essenciais (OEs) frente a microrganismos deterioradores da madeira (NAZZARO et al., 2017; PÁNEK; REINPRECHT; HULLA, 2014; SILVA et al., 2016; TCHINDA et al., 2018; XIE et al., 2017).

Os OEs são líquidos oleosos e aromáticos, obtidos a partir de partes de plantas como flores, brotos, sementes, folhas, galhos, casca, ervas, madeira, frutos e raízes. Os OEs são conhecidos como misturas complexas de vários componentes voláteis, incluindo sesquiterpenoides, monoterpênicos, aldeídos, álcoois, ésteres e cetonas, entre outros. Essa classe de extrativos vegetais está envolvida na resistência de plantas contra pragas, herbívoros, fungos e bactérias. Existem diversos estudos que relatam várias atividades biológicas de compostos obtidos a partir de espécies do gênero *Piper*, pertencentes à família Piperaceae. Grande parte desses estudos são relacionados a ação de OEs frente a herbívoros e patógenos (FERRAZ et al., 2010; HARKAT-MADOURI et al., 2015; TOHIDI; RAHIMMALEK; TRINDADE, 2019).

Para o OE obtido de folhas e raízes da espécie *Piper gaudichaudianum* Kunth, foi descrita a atividade antifúngica *in vitro* frente a fungos apodrecedores da madeira (SCHINDLER, 2015; TRES, 2017). Adicionalmente, para o OE de *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel, já foi relatada a atividade acaricida (FERRAZ et al., 2010), além de estudos sobre toxicidade e efeitos neurocomportamentais (LOPES et al., 2012). Entretanto, ainda não existem relatos sobre a atividade antifúngica do OE de *P. mikanianum* frente a fungos que degradam a madeira. Com base no exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar o rendimento de extração do OE de folhas de *P. mikanianum* e avaliar a atividade antifúngica deste extrativo frente ao fungo apodrecedor da madeira *Lentinus lepideus*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado neste estudo foi coletado no município de Canudos do Vale, RS, localizado a 147 km de Porto Alegre. Uma exsicata foi depositada no Herbário do Departamento de Ciências Florestais, HDCF (UFSM), sob o número de registro HDCF 7541.

Figura 1 – Exemplar da espécie *Piper mikanianum* (Kunth) Steudel



Fonte: Daniel Grasel

2.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a obtenção do OE, 216 g de folhas frescas foram fracionadas e submetidas a hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado por 3 h. Após a obtenção do extrativo, determinou-se o rendimento de extração e a sua densidade. O OE foi transferido para um frasco âmbar vedado e armazenado a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a realização do ensaio antifúngico.

2.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A cepa fúngica utilizada para a elaboração deste trabalho (*L. lepidus*) foi fornecida pelo Laboratório de Produtos Florestais, da Universidade Federal de Brasília. O teste de inibição do crescimento micelial do fungo apodrecedor da madeira foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, do Departamento de Defesa Fitossanitária (CCR/UFSM). Em câmara de fluxo laminar, alíquotas do OE de *P. mikanianum* foram incorporadas ao meio de cultura, composto por batata-dextrose-ágar (BDA). As concentrações de OE avaliadas foram 0,25, 0,5 e 1,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

O extrativo foi diluído previamente em etanol ($1\ \mu\text{L.mL}^{-1}$), visando melhorar sua homogeneização ao meio de cultura. Posteriormente, o meio suplementado foi vertido em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) esterilizadas. Para o controle negativo, utilizou-se apenas placas contendo BDA e etanol, enquanto que a testemunha foi composta por placas contendo apenas meio de cultura. Após a solidificação do meio, discos de 12 mm contendo micélio do fungo isolado foram transferidos para o centro das placas. Estas foram incubadas em câmara BOD com temperatura controlada de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo programado em claro / escuro (12 h / 12 h). Todos os experimentos foram realizados com três repetições, de duas unidades experimentais cada.

A avaliação do experimento iniciou-se após 24 h, por meio de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) realizadas a cada dois dias, até as colônias fúngicas dos tratamentos controle atingirem todo o diâmetro da placa (aproximadamente sete dias). O índice de crescimento micelial (ICM) foi calculado pela

fórmula adaptada por Oliveira (1991), onde $ICM = [(C_1/N_1) + (C_2/N_2) + \dots + (C_n/N_n)]$, 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: $Inibição (\%) = [(C_T - C_t * 100) / C_T]$, onde C_T e C_t correspondem ao crescimento micelial na testemunha e no tratamento, respectivamente (BADAWY; ABDELGALEIL, 2014). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e homogeneidade de variâncias. Como não atingiram os pressupostos, utilizou-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn. As análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism.

3 RESULTADOS

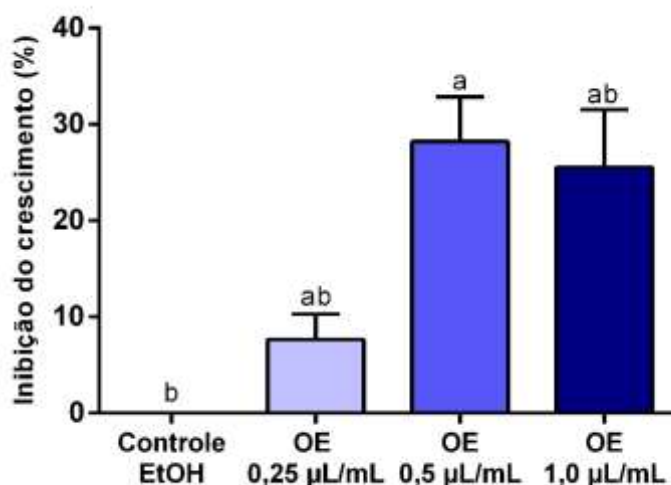
3.1 RENDIMENTO E DENSIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL

As folhas extraídas forneceram 2,9 mL de OE, cuja densidade foi de 0,9276 g.mL⁻¹. Desta maneira, o rendimento de extração foi de 1,25%.

3.2 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

O bioensaio de atividade antifúngica indicou que o extrativo avaliado foi capaz de inibir o crescimento do fungo *L. lepideus*. Na concentração de 0,25 µL.mL⁻¹, o OE inibiu 7,641 ± 1,519% do crescimento do patógeno, enquanto que a concentração de 0,5 µL.mL⁻¹ possibilitou uma inibição de 28,20 ± 2,678%, diferindo significativamente do controle negativo (FIGURA 2). Já a maior concentração avaliada (1,0 µL.mL⁻¹) inibiu 25,56 ± 3,430% do crescimento fúngico, não diferindo dos demais tratamentos.

Figura 2 – Inibição do crescimento micelial (%) do óleo essencial de *Piper mikanianum* frente ao fungo causador de podridão-parda na madeira *Lentinus lepideus*

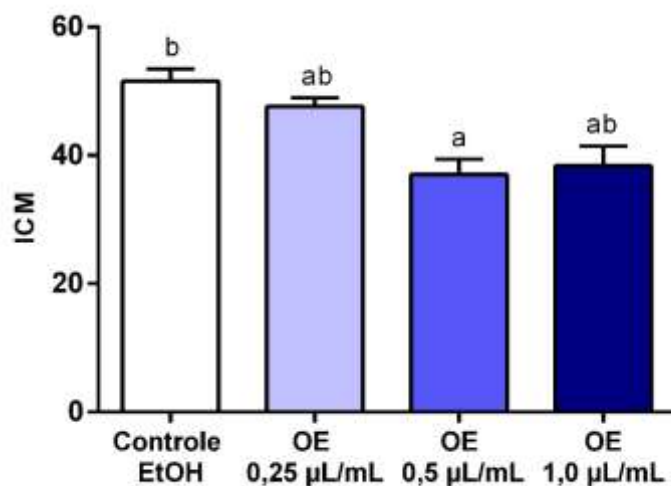


Fonte: autores

Para os valores de ICM, o OE a 0,25 µL.mL⁻¹ possibilitou um índice de 47,62 ± 0,7831, enquanto que para a concentração intermediária (0,5 µL.mL⁻¹) esse valor foi de 37,01 ± 1,380, diferindo significativamente do controle negativo (51,55 ± 1,122), conforme ilustrado na Figura 3. Entretanto, o teste com a maior concentração avaliada (1,0 µL.mL⁻¹) indicou um índice de

38,38 ± 1,768, não diferindo dos demais tratamentos. Portanto, os resultados indicam que o OE na concentração intermediária interferiu na velocidade de crescimento do fungo *L. lepideus*.

Figura 3 – Índice de crescimento micelial do fungo apodrecedor da madeira *Lentinus lepideus* sob o efeito do óleo essencial de *Piper mikanianum*



Fonte: autores

Com base no exposto, destaca-se que o OE de *P. mikanianum* inibiu o crescimento do fungo causador de podridão-parda na madeira *L. lepideus*. Sugere-se que novos testes sejam realizados, com concentrações mais elevadas do extrativo, afim de verificar se haverá a inibição completa do crescimento do fitopatógeno. Sugere-se também que sejam realizados testes com o extrativo frente a fungos causadores de podridão-branca na madeira.

4 CONCLUSÕES

A obtenção do OE a partir de folhas frescas de *P. mikanianum* apresentou um bom rendimento de extração. Sugere-se que seja realizada a análise da composição química do extrativo.

Com relação à atividade antifúngica, apesar de terem sido avaliadas baixas concentrações do OE, houve uma inibição do crescimento fúngico. Destaca-se ainda a importância de estudos que avaliam a atividade biológica de produtos naturais, afim de futuramente diminuir ou suprimir o uso de produtos sintéticos de elevada toxicidade.

REFERÊNCIAS

- BADAWY, M. E. I.; ABDELGALEIL, S. A. M. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 776–782, 1 jan. 2014.
- BENTO, T. S. et al. Growth inhibition and antioxidative response of wood decay fungi exposed to plant extracts of *Casearia* species. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 79–86, 2014.
- CAI, L. et al. β -Cyclodextrins as sustained-release carriers for natural wood preservatives. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 42–48, 26 dez. 2018.

- CHITTENDEN, C.; SINGH, T. Antifungal activity of essential oils against wood degrading fungi and their applications as wood preservatives. **International Wood Products Journal**, v. 2, n. 1, p. 44–48, 2011.
- FERRAZ, A. DE B. F. et al. Acaricidal activity and chemical composition of the essential oil from three Piper species. **Parasitology Research**, v. 107, n. 1, p. 243–248, jun. 2010.
- HARKAT-MADOURI, L. et al. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria. **Industrial Crops and Products**, v. 78, p. 148–153, 30 dez. 2015.
- LOPES, J. J. et al. Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of Piper genus. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 1–2, p. 9–14, jan. 2012.
- NAZZARO, F. et al. Essential Oils and Antifungal Activity. **Pharmaceuticals**, v. 10, n. 4, p. 86, 2017.
- OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plantulas de pepino (Cucumis sativus L.) e pimentao (Capsicum annum L.)**. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade)—Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1991.
- PÁNEK, M.; REINPRECHT, L.; HULLA, M. Ten Essential Oils for Beech Wood Protection - Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. **BioResources**, v. 9, n. 3, p. 5588–5603, 2014.
- SCHINDLER, B. **Óleo essencial de Piper gaudichaudianum Kunth: rendimento, composição química e atividade fungitóxica in vitro**. Dissertação—Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2015.
- SILVA, D. T. et al. Chemical composition and inhibitory effects of Nectandra grandiflora leaves essential oil against wood decay fungi. **Drewno : prace naukowe, doniesienia, komunikaty**, v. 59, nr 197, 2016.
- STANGERLIN, D. M. et al. Resistência natural da madeira de três espécies amazônicas submetidas ao ataque de fungos apodrecedores. **Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)**, v. 4, n. 1, p. 15–32, 2013.
- TCHINDA, J.-B. S. et al. Inhibition of fungi with wood extractives and natural durability of five Cameroonian wood species. **Industrial Crops and Products**, v. 123, p. 183–191, 2018.
- TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; TRINDADE, H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of Thymus species in Iran. **Industrial Crops and Products**, v. 134, p. 89–99, 1 ago. 2019.
- TRES, J. **Rendimento e composição química do óleo essencial de raízes de Piper gaudichaudianum Kunth e atividade fungitóxica in vitro**. Dissertação—Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2017.
- XIE, Y. et al. Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 278–285, 2017.