

## Fungos Micorrízicos Arbusculares (FMA) e Vermicomposto na Produção de Flavonóides Totais Foliare em Mudas de Maracujazeiro-doce <sup>(1)</sup>.

**Melquisedec S. Oliveira<sup>(2)</sup>; Márlon A. Lins<sup>(3)</sup>; Maryluce A.S. Campos<sup>(4)</sup>; Fábio S.B. Silva <sup>(5)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e CNPq. <sup>(2)</sup> Aluno do Programa de Mestrado em Biologia Celular e Molecular Aplicada ICB/UPE, Recife-PE - Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia (LEFAM-UPE), *Campus* Petrolina-PE (oliveirams@outlook.com). <sup>(3)</sup> Bolsista de Iniciação Científica do Programa de Fortalecimento Acadêmico - PFA/UPE - Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia (LEFAM-UPE), *Campus* Petrolina-PE. <sup>(4)</sup> Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco, *Campus* Petrolina - Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia (LEFAM-UPE), *Campus* Petrolina-PE (marylucecampos@yahoo.com.br). <sup>(5)</sup> Professor do Programa de Mestrado em Biologia Celular e Molecular Aplicada ICB/UPE – Professor Adjunto da Universidade de Pernambuco *Campus* Petrolina-PE – Coordenador do Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia (LEFAM/UPE) (fs.barbosa@yahoo.com.br).

**RESUMO:** *Passiflora alata* é uma fruteira com propriedades calmantes relacionadas aos flavonóides foliares, utilizada como matéria prima de fitoterápicos. Tal espécie forma simbiose com FMA. Os FMA, entre outros benefícios, incrementam a produção de princípios ativos em plantas medicinais. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar a concentração de flavonóides totais foliares em mudas de *P. alata* associadas a FMA e cultivadas com ou sem adição de vermicomposto. Foi conduzido experimento em casa de vegetação por 44 dias, com delineamento experimental do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial com dois tratamentos de inoculação (1 - Controle não inoculado; 2 - Mudanças inoculadas com *G. albida*) e três doses de vermicomposto (1 - solo; 2 - solo + 5 % de vermicomposto; 3 - solo + 10 % de vermicomposto), em seis repetições. A partir de extrato etanólico das folhas determinou-se os flavonóides totais. A adubação favoreceu a produção de flavonóides totais, benefício não registrado para a micorrização. Mudanças cultivadas em solo + 5 % de adubo tiveram maior concentração de flavonóides em comparação ao solo sem adubo.

O uso de 5 % de vermicomposto no substrato de cultivo maximiza a produção de flavonóides foliares em mudas de maracujazeiro-doce.

**Termos de indexação:** Passifloraceae, Atividade neurofarmacológica, Glomeromycota

### INTRODUÇÃO

Os FMA são organismos do solo que formam simbiose mutualística com as raízes de plantas, aumentando a capacidade de absorção de nutrientes e água, otimizando o crescimento vegetal (Smith & Read, 2008). Dentre outros benefícios (Miransari, 2010), os FMA aumentam a concentração de metabólitos primários e

secundários nos tecidos vegetais (Khrishna et al. 2005), biomoléculas de grande relevância para indústria farmacêutica, devido as suas propriedades terapêuticas (Braz-Filho et al. 2010). Tal aspecto da tecnologia micorrízica torna tais microrganismos relevantes no cultivo de plantas medicinais, maximizando a concentração de princípios ativos e conseqüentemente, a qualidade do material vegetal (Zubek & Blasozwisky, 2009).

O maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) é uma planta medicinal brasileira empregada como chá calmante, propriedade relacionada aos flavonóides com atividade neurofarmacológica, presentes na fitomassa (Paris et al. 2002). Por esse motivo, *P. alata* é empregada como matéria prima na produção de fitoterápicos ansiolíticos como Maracugina<sup>®</sup>, medicamento bastante comercializado no mercado brasileiro.

Estudos anteriores reportam maior crescimento de mudas de *P. alata* inoculadas com FMA (Silva et al. 2004). Outros estudos registraram que a incorporação de resíduos orgânicos ao substrato de cultivo dessa espécie maximizou os benefícios da inoculação com FMA (Silva, 2006) não existindo relatos sobre os efeitos da micorrização e adubação orgânica na produção de moléculas farmacologicamente importantes, sobretudo flavonóides. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar a concentração de flavonóides totais foliares em mudas de *P. alata* associadas a FMA e cultivadas com ou sem adição de adubo orgânico, testando-se a hipótese de que a inoculação com *G. albida* aumenta a produção de flavonóides totais, mas o benefício depende da proporção de adubo no substrato.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Material vegetal, FMA e Substratos

Sementes de maracujazeiro-doce foram retiradas

dos frutos e o arilo removido; posteriormente, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (2 %).

Foi utilizado o FMA *Gigaspora albida* N.C. Schenck & G.S. Sm (UFPE 01) multiplicado em solo/vermicomposto (9:1), tendo o painço como planta hospedeira (Silva, 2006).

Para produção das mudas foi empregado solo nativo de *Caatinga*, não esterilizado, adicionado ou não de 5 % ou 10 % de vermicomposto (v/v).

### Montagem e condução do experimento

Plântulas com três folhas definitivas, oriundas de germinação de sementes, foram transferidas para sacos contendo 1,2 L de substrato. Durante o transplantio foi realizada ou não a inoculação micorrízica utilizando solo-inóculo (200 glomerosporos) de *G. albida*. Tal isolado foi escolhido por ter sido eficiente em promover o crescimento de *P. alata* em outros estudos (Silva et al. 2004; Silva, 2006). Após a inoculação as mudas foram mantidas em casa de vegetação sob condições ambientais de luminosidade, temperatura e umidade.

O delineamento experimental foi do tipo inteiramente casualizado em arranjo fatorial com dois tratamentos de inoculação (1 - Controle não inoculado; 2 - Mudanças inoculadas com *G. albida*) e três proporções de adubo orgânico (1- solo; 2- solo + 5 % de vermicomposto; 3 - solo + 10 % de vermicomposto), em seis repetições totalizando 36 unidades experimentais.

### Concentração de flavonóides totais foliares

Ao final do experimento, folhas foram coletadas e secas em estufa (45 ° C) até peso constante. 500 mg de material vegetal foram submetidos à maceração em 20 mL de etanol 95 % (20° C/ 12 dias) (Brito et al. 2008). A partir do extrato obtido quantificaram-se os flavonóides totais pela reação com cloreto de alumínio e leitura espectrofotométrica ( $\lambda=420$  nm) (Araújo et al. 2008).

### Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 %) utilizando o programa Assisat 7.6 (2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independentemente do tratamento de inoculação, mudas cultivadas em solo + 5 % de vermicomposto produziram mais flavonóides totais em comparação aquelas produzidas em substrato sem adubo (**Tabela 1**). Por outro lado, a inoculação não alterou a produção desses compostos (**Tabela**

2).

**Tabela 1.** Concentração de flavonóides totais foliares em mudas de *P. alata* cultivadas em solo + 0, 5 % ou 10 % de vermicomposto por 44 dias em casa de vegetação independentemente da inoculação micorrízica

Tratamentos	Flavonóides totais (mg. g planta <sup>-1</sup> )
Solo	15,96 b
Solo + 5 % adubo	19,15 a
Solo + 10 % adubo	17,79 ab

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

**Tabela 2.** Concentração de flavonóides totais foliares em mudas de *P. alata*, associadas ou não a FMA, e cultivadas por 44 dias em casa de vegetação, independentemente da adição de vermicomposto

Tratamentos	Flavonóides totais (mg. g planta <sup>-1</sup> )
Controle	17,78 a
<i>G. albida</i>	17,49 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Estudos apontam efeito positivo dos FMA na maximização de metabólitos secundários (Ceccarelli et al. 2010), incluindo flavonóides (Pedone-Bonfim et al. 2013) porém, no presente trabalho tal efeito não foi observado. Resultados similares foram obtidos por Khaossad et al. (2008), os quais não registraram incremento na produção de flavonóides na parte aérea em mudas de *Trifolium pratense* L. micorrizadas. Embora *G. albida* tenha sido eficiente em aumentar o crescimento de *P. alata* (Silva, 2006), tal efeito não ocorreu na produção de flavonóides, indicando que um mesmo fungo pode gerar respostas fisiológicas diferentes no fitobionte.

Além disso, é possível que outros compostos, como metabólitos primários, tenham a concentração aumentada nos tratamentos inoculados com *G. albida* e por isso, outros ensaios estão sendo conduzidos visando comprovar tal hipótese.

Considerando que o solo empregado no cultivo das mudas não foi esterilizado, é provável que os FMA nativos tenham sido tão eficientes quanto *G. albida* em incrementar a produção de flavonóides, pois, outras pesquisas apontam que FMA nativos podem ser eficientes em promover benefícios em *Passifloraceae* (Cavalcante et al. 2002).

No presente estudo, somente a adubação incrementou a produção de flavonóides (**Tabela 1**). Adição de resíduos orgânicos compostados ao solo aumenta fertilidade e capacidade de troca de cátions, modificando as populações microbianas

benéficas, além de melhorar as condições físicas do solo (Troeh & Thompson, 2007). Tais efeitos favorecem o crescimento vegetal, que nesse caso também se refletiu no metabolismo secundário, considerando que a produção desses metabólitos é dependente da síntese adequada de carboidratos e de aminoácidos (Vogt, 2010). Wang et al. (2010) também registraram efeito positivo da adição de vermicomposto na produção de biomoléculas foliares em *Brassica campestris*.

Estudos complementares são necessários visando elucidar o papel dos FMA na produção de compostos bioativos em *P. alata* avaliando-se outras moléculas e combinações fungo-planta.

### CONCLUSÕES

O uso de 5 % de vermicomposto no substrato de cultivo maximiza a produção de flavonóides foliares em mudas de maracujazeiro-doce.

### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Programa de Fortalecimento Acadêmico (PFA/UPE) e do CNPq pela concessão das bolsas de mestrado e iniciação científica e financiamento da pesquisa, respectivamente.

### REFERÊNCIAS

ARAÚJO, T. A., ALENCAR, N. L., DE AMORIM, E. L. C., & DE ALBUQUERQUE, U. P. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 120: 72–80, 2008.

ASSISTAT 7.6 BETA. Registro INPI 0004051-2, 2011.

BRITO, H.O.; NORONHA, E.P.; FRANÇA, L.M.; BRITO, L.M.O.; PRADO, S.A. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *Annona squamosa* (ATA). *Revista Brasileira de Farmácia*, 89: 180-184, 2008.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova*, 33: 229-239, 2010.

CAVALCANTE, U. M., MAIA, L. C., & SANTOS, V. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares, da adubação fosfatada e da esterilização do solo no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26: 1099–1106, 2002.

CECCARELLI, N.; CURADI, M.; MARTELLONI, L.; SBRANA, C.; PICCIARELLI, P. & GIOVANNETTI, M. Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and

antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant and Soil*, 335: 311–323, 2010.

KHAOSAAD, T.; KRENN, L.; MEDJAKOVIC, S.; RANNER, A.; LÖSSL, A.; NELL, M.; JUNGBAUER, A.; VIERHEILIG, H. Effect of mycorrhization on the isoflavone content and the phytoestrogen activity of red clover. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1161–1167, 2008.

KRISHNA, H., SINGH, S. K., SHARMA, R. R., KHAWALE, R. N., GROVER, M., & PATEL, V. B. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization. *Scientia Horticulturae*, 106: 554–567, 2005.

MIRANSARI, M. Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology*, 12: 563-539, 2010.

PARIS, F.; PETRY, R. D.; REGINATTO, F. H. *et al.* Pharmacochemical Study of Aqueous Extracts of *Passiflora alata* Dryander and *Passiflora edulis* Sims. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 21: 5-8, 2002.

PEDONE-BONFIM, M.V.; LINS, M.A.; COELHO, I.R.; SANTANA, A.S.; SILVA, F.S. & MAIA, L.C. Mycorrhizal technology and phosphorus in the production of primary and secondary metabolites in cebil (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan) seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 1479–1484, 2013.

SILVA, M. A., CAVALCANTE, U. M., SILVA, F. S., SOARES, S. A., & MAIA, L. C. Crescimento de mudas de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (Glomeromycota). *Acta Botanica Brasílica*, 18: 981–985, 2004.

SILVA, F. Fase assimiótica, produção, infectividade e efetividade de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em substratos com adubos orgânicos Recife. Tese de doutorado: UFPE, 2006.

SMITH, S.E & READ, D. J. *Mycorrhizal Symbiosis* Third edition. Elsevier Ltd, 2008. 605p.

TROEH, FR. & THOMPSON, L.M. *Solo e Fertilidade do Solo* Sexta edição. Andrei editora, 2007, 718p.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular plant*, 3: 2-20, 2010.

WANG, D., SHI, Q., WANG, X., WEI, M., HU, J., LIU, J., & YANG, F. Influence of cow manure vermicompost on the growth, metabolite contents, and antioxidant activities of Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis*). *Biology and Fertility of Soils*, 46: 689–696, 2010.

ZUBEK, S. & BLASZKOWSKI. Medicinal plants as hosts of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes. *Phytochemistry Reviews*, 8: 571-580, 2009.