

## Produção de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira (*Inga vera Willd*) associadas a fungos micorrízicos arbusculares (FMA).

**Cleilton Santos Lima<sup>(2)</sup>; Hicaro Ribeiro Soares Santos<sup>(3)</sup>; Maryluce Albuquerque da Silva Campos<sup>(4)</sup>; Fábio Sérgio Barbosa da Silva<sup>(5)</sup>**

<sup>(1)</sup> Trabalho executado com recursos do CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

<sup>(2)</sup> Bolsista FACEPE e Mestrando em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas ICB/UPE, Universidade de Pernambuco, Avenida Agamenon Magalhães, S/N, Bairro de Santo Amaro, Recife – PE, CEP: 50100-010; cleiltonsantoslima@hotmail.com; <sup>(3)</sup> Bolsista de Iniciação Científica (PIBIC-CNPq/UPE), Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia (LEFAM), Universidade de Pernambuco (UPE) *Campus* Petrolina, Petrolina, PE, CEP: 56.328-900; <sup>(4)</sup> Prof. Adjunto, Universidade de Pernambuco *Campus* Petrolina, Petrolina, PE, CEP: 56.328-900; <sup>(5)</sup> Prof. Adjunto, Prof. do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada – Instituto de Ciências Biológicas ICB/UPE, Universidade de Pernambuco *Campus* Petrolina, Petrolina, PE, CEP: 56.328-900; fabio.barbosa@pesquisador.cnpq.br.

**RESUMO:** A ingazeira é uma planta nativa da caatinga com propriedades medicinais, que estão relacionadas à produção de compostos fenólicos, sobretudo flavonóides, que podem ser potencializados pelo uso da tecnologia micorrízica arbuscular; porém, tal papel ainda não está esclarecido. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos FMA em aumentar a produção de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira. A inoculação foi realizada com aplicação de solo-inóculo na região das raízes em plântulas, que foram transplantadas para sacos contendo 1,2 kg de solo nativo. O inóculo usado consistiu de 200 glomerosporos por pote dos FMA: *Gigaspora albida* N.C. Schenck & G.S. Sm. (UFPE 01), *Acaulospora longula* Spain & N.C. Schenck (UFPE 21) ou *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos de inoculação: 1 - Controle não Inoculado, 2 - inoculado com *G. albida*, 3 - Inoculado com *G. etunicatum* e 4 - Inoculado com *A. longula*, em cinco repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Após 140 dias em telado experimental, realizou-se o doseamento dos flavonóides totais. A concentração de flavonóides totais foliares não foi otimizada pela inoculação. Conclui-se que a tecnologia micorrízica não beneficia a concentração de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira.

**Termos de indexação:** Fabaceae, compostos bioativos, glomeromycota.

### INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são fontes de fitoquímicos ou compostos bioativos, produtos industrialmente importantes na economia mundial para a produção de fármacos (Herrera & Rodríguez, 2005). A

ingazeira, pertencente à família Fabaceae, é uma planta medicinal brasileira, nativa do bioma *Caatinga*, encontrada com frequência nas margens do Rio São Francisco (Siqueira-Filho et al., 2009). Tal espécie é usada frequentemente pela população nordestina devido a sua importância econômica e medicinal.

A ingazeira possui valor alimentício, apícola, como combustível e ornamental (Rondon-Neto et al., 2010; Ubessi-Macarini et al., 2011) e terapeuticamente são utilizados cataplasmas ou compressas da casca do caule como adstringente (Rodrigues & Carvalho, 2001); tal propriedade medicinal está relacionada à produção de compostos fenólicos, sobretudo flavonóides (Bertucci et al., 2008; Vivot et al., 2001).

Os flavonóides são compostos do metabolismo secundário vegetal (Peterson & Dwyer, 1998). Terapeuticamente possuem atividade anti-inflamatória, antifúngica, antioxidante, antiviral e antialérgica (Middleton et al., 2000; Santos & Melo, 2004; Zuanazzi & Montanha, 2004). Desta forma, há a necessidade do uso de biotecnologias que possam aumentar a produção foliar deste fitoconstituente, tornando a fitomassa mais atrativa para a indústria farmacêutica.

A simbiose micorrízica arbuscular tem se tornado uma biotecnologia bastante utilizada para o incremento de compostos de importância terapêutica em mudas de espécies vegetais (Ratti et al., 2010; Zubek et al., 2012), inclusive em plantas do bioma *Caatinga* (Pedone-Bonfim et al., 2013), porém não há relatos de tais benefícios em mudas de ingazeira.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da inoculação com FMA na produção de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Montagem do experimento e inoculação

O experimento foi conduzido em telado experimental, na Universidade de Pernambuco (UPE) *Campus* Petrolina, utilizando-se solo nativo, que apresenta as características químicas: pH 4,9 (H<sub>2</sub>O – 1:2,5); M.O. 2,48 g/kg; C.E. 3,16 dS/m; P, 3 mg/dm<sup>3</sup>; Al, 0,05 cmol/dm<sup>3</sup>; Na, 0,47 cmol/dm<sup>3</sup>; Ca, 2,5 cmol/dm<sup>3</sup>; Mg, 3,5 cmol/dm<sup>3</sup>; K, 0,18 cmol/dm<sup>3</sup>.

Sementes de *I. vera*, obtidas em área da *Caatinga* nativa, foram desinfestadas com hipoclorito de sódio NaClO-20 % (2% cloro ativo), lavadas e colocadas para germinar em bandejas contendo solo previamente esterilizado em autoclave a 121°C por três dias consecutivos, estando prontas para transplântio quando apresentavam um par de folhas definitivas.

A inoculação foi realizada com solo-inóculo, aplicado nas raízes de plântulas de ingazeira que foram transplantadas para sacos com capacidade para 1,2 kg de solo nativo. O inóculo usado consistiu de 200 glomerosporos por pote dos FMA: *Gigaspora albida* N.C. Schenck & G.S. Sm. (UFPE 01), *Acaulospora longula* Spain & N.C. Schenck (UFPE 21) ou *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann (UFPE 06).

#### Tratamentos e amostragem

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 tratamentos de inoculação, em 5 repetições. Os tratamentos foram: 1 - Controle não Inoculado, 2 - inoculado com *G. albida*, 3 - Inoculado com *G. etunicatum* e 4 - Inoculado com *A. longula* totalizando 20 unidades experimentais. As mudas foram mantidas em telado, sob condições ambientais de luminosidade, temperatura e umidade.

#### Análise de flavonóides totais

Após 140 dias, o material vegetal foi seco em estufa a 45 °C e 0,5 g de folhas secas foram picotadas e transferidas para frasco âmbar (100 mL) e adicionados 20 mL de etanol (95 %). Após maceração de 12 dias a 25 °C, o extrato foi filtrado em gaze e re-filtrado em papel de filtro qualitativo, sendo armazenado em frasco âmbar (20 mL) a - 4 °C (Brito et al., 2008).

Flavonóides totais foram quantificados a partir de amostra de 1 mL do extrato vegetal preparado, utilizando-se a metodologia de Araújo et al. (2008). As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm, utilizando-se a rotina para a curva padrão.

#### Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo

teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa Assistat 7.6 (Assistat, 2009).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito dos tratamentos utilizados sobre a variável estudada ( $p < 0,05$ ). A concentração de flavonóides totais foliares não foi otimizada pela inoculação (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos por Khaosaad et al. (2008), os quais também não obtiveram diferenças na concentração de isoflavonas totais em mudas de *Trifolium pratense* L. inoculadas com *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe. Por outro lado, Pedone-Bonfim et al. (2013) obtiveram incremento na produção de flavonóides totais foliares em mudas de angico-preto (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan) inoculadas com FMA.

Trabalhos recentes indicam que flavonóides totais são maximizados quando plantas estão associadas a FMA e cultivadas em solo adubado com P (Larose et al., 2002; Pedone-Bonfim et al., 2013). Desta maneira, experimento similar incluindo doses de P deve ser conduzido, visando esclarecer o efeito do P na produção de flavonóides foliares em mudas de ingazeira.

Mudas de *I. vera* inoculadas produziram em média 32,09 mg flavonóides totais/ g planta, valor superior ao encontrado em *A. colubrina* (0,814 mg/ g planta), *Plectranthus amboinicus* (Lour.) (0,003 mg/ g planta) e *Aloe vera* L. (3,95 mg/ g planta) inoculadas (Mota-Fernandes et al., 2011; Pedone-Bonfim et al., 2013; Rajeshkumar et al., 2008). Isso traduz que mesmo sem benefício da micorrização, as folhas da ingazeira concentram quantidades razoáveis de flavonóides, podendo servir como fonte de matéria-prima para a indústria de fitoterápicos.

**Tabela 1** – Concentração de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira, inoculadas ou não a fungos micorrízicos arbusculares, em solo nativo, após 140 em casa de vegetação

Tratamentos	Concentração (mg/ g planta)
Controle	30,902 a
<i>Gigaspora albida</i>	29,622 a
<i>Glomus etunicatum</i>	33,672 a
<i>Acaulospora longula</i>	32,988 a

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

### CONCLUSÃO



A tecnologia micorrízica não beneficia a concentração de flavonóides totais foliares em mudas de ingazeira.

### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão de bolsa de mestrado ao primeiro autor.

### REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, T. A. S.; ALENCAR, N. L.; AMORIM, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U.P. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from de local knowledge. *Journal Ethnopharmacology*, 120: 72-80, 2008.
- 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 Farmacognosia*, 89: 180–184, 2008.
- HERRERA, M. M. C. & RODRÍGUEZ, R. D. L. Panorámica mundial del mercado de los medicamentos homeopáticos a partir de las plantas medicinales. *Revista Cubana de Farmacia*, 39: 1-12, 2005.
- 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.
- LAROSE, G.; CHÈNEVERT, R.; MOUTOGLIS, P.; GAGNÉ, S.; PICHÉ, Y.; VIERHEILIG, H. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology*, 159: 1329-1339, 2009.
- MIDDLETON, J. R. E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52: 673–751, 2000.
- MOTA-FERNÁNDEZ, S.; ÁLVAREZ-SOLIS, J. D.; ABUD-ARCHILA, M.; DENDOOVEN, L. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus concentration on plant growth and phenols in micropropagated *Aloe vera* L. plantlets. *Journal of Medicinal Plant Research* 5: 6260-6266, 2011.
- PEDONE-BOMFIM, M. V. L.; LINS, M. A.; COELHO, I. R.; SANTANA, A. S.; SILVA, F. S. B.; MAIA, L. C. Mycorrhizal technology and phosphorus in the production of primary and secondary metabolites in cebil (*Anadenanthera colubrine* (Vell.) Brenan) seedlings. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 1479-1484, 2013.
- PETERSON, J. & DWYER J. Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18:1995 - 2018,1998.
- RAJESHKUMAR, S.; NISHA, M. C.; SELVARAJ, T. Variability in growth, nutrition and phytochemical constituents of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng. as influenced by indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. *The International Journal of Science and Technology*, 2: 431-439, 2008.
- RATTI, N.; VERMA, H. N.; GAUTAM, S. P. Effect of *Glomus* species on physiology and biochemistry of *Catharantus roseus*. *Indian Journal of Microbiology*, 50: 355-360, 2010.
- RODRIGUES, V. E. G. & CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio cerrado na região do alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, 25: 2-123, 2001.
- RONDO-NETO, R. B.; SANTOS, J. S.; SILVA, M. A.; KOPPE, V. C. Potencialidades de uso de espécies arbustivas e arbóreas em diferentes fisionomias de cerrado, em Lucas do Rio Verde/MT. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 10: 113-126, 2010.
- SANTOS, S. C. M. & MELLO, J. C. P. Taninos. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Pallazzo, D.; Mello, J.C.; Mentz, L.A.; Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS; 2004. p.615-656.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A.; SANTOS, A. P. B.; NASCIMENTO, M. F. S.; ESPÍRITO SANTO, F. S. Guia de Campo de Árvores da Caatinga. Petrolina: Editora e gráfica Franciscana Ltda; 2009.
- SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.
- UBESSI-MACARINI, C.; NEGRELLE, R. R. B.; SOUZA, M. C. Produtos florestais não-madeiráveis e respectivo potencial de exploração sustentável, associados à remanescente florestal ripário do alto rio Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 33: 451-462, 2011.
- VIVOT, E.; MUÑOZ, J. D.; CRUAÑES, M. C.; CRUAÑES, M. J.; ALEJANDRO TAPIA, A.; HIRSCHMANN, G. S.; MARTÍNEZ, E.; SAPIO, O. D.; GATTUSO, M.; ZACCHINO, S. Inhibitory activity of xanthine-oxidase and superoxide scavenger properties of *Inga vera* subsp. *affinis*. Its morphological and micrographic characteristics. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 65–71, 2001.



# XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC

4

ZUANAZI, J. A. S. & MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Pallazzo, D.; Mello, J.C.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3. ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS; 2004. cap. 23.

ZUBEK, S.; MIELCAREK, S.; TURNAU, K. Hypericin and pseudohypericin concentrations of a valuable medicinal plant *Hypericum perforatum* L. are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 22: 149-156, 2012.



# XXXIV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO

28 de julho a 2 de agosto de 2013 | Costão do Santinho Resort | Florianópolis | SC