



## Concentração de fenóis totais na perideme do caule de *Libidibia ferrea* micorrizada e estabelecida em campo<sup>(1)</sup>.

**Francineyde Alves da Silva<sup>(2)</sup> Wesley Henrique Figueiredo Bezerra<sup>(3)</sup>; Fábio Sérgio Barbosa da Silva<sup>(4)</sup>.**

<sup>(1)</sup>Trabalho executado com recursos de projeto financiado pela FACEPE e PFA *stricto sensu*.

<sup>(2)</sup>Professora Adjunto; Universidade de Pernambuco *Campus* Petrolina; Petrolina, Pernambuco; [francineydes71@gmail.com](mailto:francineydes71@gmail.com);

<sup>(3)</sup>Estudante de graduação em Ciências Biológicas; Universidade de Pernambuco-*Campus* Petrolina; [weslley\\_canha@hotmail.com](mailto:weslley_canha@hotmail.com);

<sup>(4)</sup>Professor Adjunto; Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada, Universidade de Pernambuco; [fabio.barbosa@pesquisador.cnpq.br](mailto:fabio.barbosa@pesquisador.cnpq.br).

**RESUMO:** Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) formam associação simbiótica com as raízes da *Libidibia ferrea*, espécie arbórea medicinal encontrada na Caatinga e que produz compostos fenólicos. Objetivou-se verificar se a inoculação com FMA maximiza a concentração de fenóis na periderme do caule do pau-ferro. A periderme foi coletada de plantas estabelecidas em campo, inoculadas ou não com FMA. Para quantificação do fenóis totais, foi preparado extrato metanólico (70 %) por maceração da periderme. Não foram registrados benefícios da inoculação para o acúmulo de compostos fenólicos. A inoculação com FMA não altera o *pool* de fenólicos na periderme de plantas de pau-ferro estabelecidas em campo.

**Termos de indexação:** Glomeromycota, pau-ferro, compostos fenólicos.

### INTRODUÇÃO

Os fenóis totais constituem um grande grupo de interesse para a indústria farmacêutica, por possuírem várias propriedades terapêuticas como: hepatoprotetor, anti-inflamatório, hepatoestimulante, antibacteriana, antiviral, antioxidante, hipocolesterolêmica e analgésico (Carvalho et al. 2003).

Os FMA proporcionam diversos benefícios para fisiologia da maioria das espécies vegetais, por meio de associação simbiótica. Além disso, os FMA são eficientes em modular a produção de compostos fenólicos, terpênicos e nitrogenados em plantas medicinais (Kapoor et al., 2002; Toussaint et al., 2007; Andrade et al., 2013; Coppeta et al., 2006; Zhang et al., 2013; Dave & Tarafdar, 2011). Os mecanismos que atuam no aumento da produção de fitoquímicos em plantas micorrizadas podem ser nutricionais e não nutricionais, de acordo com Mandal et al. (2013). O pau-ferro (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz var. *ferrea*) é uma árvore da família das leguminosas (Maia, 2003) e

forma simbiose micorrízica (Gattai et al. 2010). A população faz uso dessa planta para a cura de diversas doenças, ação terapêutica relacionada à presença de fitoquímicos, como os compostos fenólicos (Gonzalez, 2005). As propriedades terapêuticas do pau-ferro, no combate ao câncer, microorganismos, diabetes, inflamações e dor são farmacologicamente comprovadas (Carvalho et al., 1996; Sampaio et al., 2009; Nakamura et al., 2002; Ueda et al., 2001). No entanto, a forma de obtenção de partes vegetais é extrativista, ação que pode se constituir em ameaça de extinção (Albuquerque et al., 2007). Nesse contexto, o uso de uma tecnologia para o cultivo de pau-ferro, como a biotecnologia micorrízica, pode evitar o risco de extinção e prover a indústria farmacêutica de matéria-prima com maior concentração de compostos bioativos. Nesse sentido, não há registro de tal benefício para os compostos fenólicos da periderme. O objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência da inoculação com FMA em maximizar o acúmulo de fenóis totais na periderme do pau-ferro. Testou-se a hipótese de que a inoculação micorrízica é eficaz em otimizar a produção de compostos fenólicos na periderme caulinar do pau-ferro.

### MATERIAL E MÉTODOS

A coleta da periderme do pau-ferro foi feita em plantas estabelecidas em um Campo Experimental. Tais plantas, inoculadas ou não com FMA, foram transplantadas em fevereiro de 2013.

Antes do transplante, a produção das mudas foi feita em sacos de polietileno com capacidade para 1,2 Kg, contendo solo + 5% de vermicomposto e inoculadas ou não com solo inóculo contendo 200 esporos de cada FMA (*Claroideoglomus etunicatum* (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler (UFPE 06), *Gigaspora albida* N. C. Schenck & G. S. Sm. (UFPE 01) ou *Acaulospora longula* Spain & N. C. Schenck (UFPE 21).

Em uma área com 2.900 m<sup>2</sup>, que foi gradada e



coveada (40 x 40 x 40 cm), o experimento de campo com pau-ferro foi estabelecido. Em cada cova foram depositados 5 litros de vermicomposto e 150 g de superfosfato simples. O espaçamento foi de 5 m entre as fileiras x 5 m entre plantas. As mudas foram transplantadas ao campo, após 225 dias em telado experimental, e cada parcela foi constituída por quatro plantas. As plantas foram irrigadas por gotejamento semi-automático (8,4 L H<sub>2</sub>O planta<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) em dias alternados.

O material vegetal foi coletado após 20 meses do experimento em campo. O extrato metanólico foi preparado por maceração pelo método de Brito et al. (2008), a partir de 100 mg de periderme do caule em metanol (70 %), durante 12 dias a 20 °C. Os fenóis totais foram quantificados pelo método de Monteiro et al. (2006): em um balão volumétrico foram adicionados 2 mL do extrato metanólico, 5 mL do Reagente de Folin-Ciocalteu (10 %, v/v) e 10 mL de carbonato de sódio (7,5 %, p/v) e o volume completado com água destilada. As leituras de absorvância (760 nm) foram realizadas após 30 minutos em repouso. O ácido tânico foi utilizado para a curva-padrão.

#### Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro tratamentos de inoculação (plantas pré-inoculadas com *C. etunicatum*, plantas pré-inoculadas com *G. albida*, plantas pré-inoculadas com *A. longula* e plantas não inoculadas – controle), em 4 repetições. Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 %), utilizando-se o programa Assistat (2013).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de fenóis totais, na periderme do caule de pau-ferro, não diferiu entre os tratamentos de inoculação (Tabela 1). Em relação a concentração de fenóis totais, Silva et al. (2014) observaram que nas folhas de mudas de pau-ferro, também não houve diferença entre os tratamentos de inoculação com FMA. No entanto, em outras plantas da caatinga, como a *Anadenanthera colubrina*, as plantas inoculadas com FMA acumularam 225,4 % mais fenóis totais em suas folhas em relação às plantas controle (Pedone-Bonfim et al., 2013). O aumento da produção de fenóis totais também foi observado nas raízes da espécie *Salvia officinalis* micorrizada (Nell et al.

2009) e nas flores de *Cynara cardunculus* inoculadas com *Glomus intraradices* (Ceccarelli et al., 2010), em relação ao controle. Isso reforça a hipótese de que a produção de compostos fenólicos depende da espécie de FMA, da planta e também da fenologia.

**Tabela 1** – concentrações de fenóis totais na periderme do caule de plantas de pau-ferro, inoculadas ou não com *Claroideoglomus etunicatum*, *Acaulospora longula* e *Gigaspora albida*, 20 meses após transplantio ao campo, em Petrolina, PE.

Tratamento inoculação	Fenóis totais*
Controle	7,56 a
<i>C. etunicatum</i>	7,96 a
<i>A. longula</i>	7,24 a
<i>G. albida</i>	8,01 a

Médias (n= 5) seguidas da mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Tukey (5 %).

\* mg/g de periderme

#### CONCLUSÃO

A inoculação de FMA não influencia a concentração de fenóis totais na periderme de pau-ferro estabelecido em campo

#### REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U.P.; MONTEIRO, J.M.; RAMOS, M.A.; AMORIM, E.L.C. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *Journal of Ethno pharmacology*, 110:76-91, 2007.
- ANDRADE, S.A.L.; MALIK, S.; SAWAYA, A.C.H.F.; BOTTCHER, A.; MAZZAFERA, P. Association with arbuscular mycorrhizal fungi influences alkaloid synthesis and accumulation in *Catharanthus roseus* and *Nicotiana tabacum* plants. *Acta Physiologia Plantarum*, 35:867–880, 2013.
- 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 of Ethnopharmacology*, v.120, 72-80, 2008.
- ASSISTAT [programa de computador]. Versão 7.6 beta: Assistência Estatística, 2013.
- 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.
- CARVALHO, J.C.T.; TEIXEIRA, J. R.M.; SOUZA, P. J.C.;



- BASTOS, J. K.; SANTOS FILHO, D.; SARTI, S.J. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 53:175-178, 1996.
- CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: Simões, C.M.O., Sebenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. rev. Ampl. – Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRG/Editora da UFSC, pp. 519-535. 2003.
- 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.
- COPPETA, A.; LINGUA, G.; BERTA, G. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *genovese*. *Mycorrhiza*, 16: 485-494.
- DAVE, S. & TARAFDAR J.C. Stimulatory synthesis of saponina by mycorrhizal fungi in safed musli (*Chlorophytum borivillianum*) tubers. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 1:137-141, 2011.
- GATTAI, G.S.; PEREIRA, S.V.; COSTA, C.M.C.; LIMA, C.E.P.; MAIA, L.C. Microbial activity, arbuscular mycorrhizal fungi and inoculation of woody plants in lead contaminated soil *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 859-867, 2011.
- GENEVA, M.P.; STANCHEVA, I.V.; BOYCHINOVA, M.M.; MINCHEVA, N.H.; YONOVA, P. A. Effects of foliar fertilization and arbuscular mycorrhizal colonization on *Salvia officinalis* L. growth, antioxidant capacity, and essential oil composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:696-702, 2010.
- GONZALEZ, F.G. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Caesalpinia ferrea* Martius. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. 2005. 137 p.
- KAPOOR, R.; GIRI, B.; MUKERJI, K.G. *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and Carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague). *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 18: 459-463, 2002.
- MAIA, G.N. Jucá. In: *Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades*. 1ª ed. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 2004. 413 p.
- MANDAL, S.; EVELIN, H.; GIRI, B.; SINGH, V.P. Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* via nutritional and non-nutritional mechanisms. *Applied Soil Ecology*, 72: 187-194, 2013.
- MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS NETO, E.M.F.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, M.M.; AMORIM, E.L.C. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16: 338-344, 2006.
- NAKAMURA, E.S.; KUROSAKI, F.; ARISAWA, M.; MUKAINAKA, T.; TAKAYASU, J.; OKUDA, M.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. Cancer chemopreventive effects of a Brazilian folk medicine, Juca, on in vivo two-stage skin carcinogenesis. *Journal of Ethnopharmacology*, 81:135-137, 2002.
- NELL, M.; VÖTSCH, M.; VIERHEILIG, H.; STEINKELLNER S.; ZITTERL-EGLESEER, K.; FRANZ, C.; NOVAKA, J. Effect of phosphorus uptake on growth and secondary metabolites of garden sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1090–1096, 2009.
- PEDONE-BONFIM, M.V.L., LINS, M. A., COELHO, I. R., SANTANA, A. S., SILVA, F.S.B., MAIA, L. C. 2013. 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.
- SAMPAIO, F.C.; PEREIRA, M.S.V.; DIAS, C. S.; COSTA, V. C.O.; CONDED, N. C.O.; BUZALAFE, M.A.R. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, 124: 289-294, 2 009.
- SILVA, F. A.; SILVA, F.S.B. MAIA, L.C. Biotechnical application of arbuscular mycorrhizal fungi used in the production of foliar biomolecules in ironwood seedlings [*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz var. *ferrea*]. *Journal of Medicinal Plant Research*, 8:814-819, 2014.
- TOUSSAINT, J. P.; SMITH, F.A.; SMITH, S.E. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza*, 17: 291-297, 2007.
- UEDA, H.; TACHIBANA, Y.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.M.; ALVES, S.M. Aldose reductase inhibitors from the fruits of *Caesalpinia ferrea* mart. *Phytomedicine* 8: 377-381, 2001.
- ZHANG, Q-R.; ZHU, H-H.; ZHAO, H-Q.; YAO, Q. Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolics synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways *Jornal of Plant Physiology*, 170:74-79, 2013.
- ZIMARE, S.B.; BORDE, M.Y.; JITE, P.K.; MALPATHAK, N.P. Effect of AM Fungi (Gf, Gm) on biomass and gymnemic acid content of *Gimnema silvestre* (Retz.)



R. Br. ex Sm. Proceedings of the National Academy of Science, 83: 439-445, 2013.

ZUANNAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: Simões, C.M.O., Sebenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P.; Mentz, L.A., Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. rev. Ampl. PortoAlegre/Florianópolis: Editora da UFRG/Editora da UFSC, 2003.p.577-614