



Fungo micorrízico arbuscular (FMA) maximiza a produção de taninos totais na casca do caule de pau-ferro, em condições de campo.⁽¹⁾

Emanuela Lima dos Santos⁽²⁾, Francineyde Alves da Silva⁽³⁾; Fábio Sérgio Barbosa da Silva⁽⁴⁾

(1) Trabalho executado com recursos da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)

(2) Mestranda em Biologia Celular e Molecular Aplicada; Bolsista CAPES; Universidade de Pernambuco; Recife; Pernambuco; email: emanuela_lima07@hotmail.com.

(3) Professora Adjunto; Universidade de Pernambuco; email: francineydes71@gmail.com.

(4) Professor Adjunto; Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada – Universidade de Pernambuco; email: fabio.barbosa@pesquisador.cnpq.br

RESUMO: *Libidibia ferrea* é uma planta medicinal que apresenta propriedades terapêuticas, devido a presença de compostos bioativos. O uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) pode aumentar a produção dessas biomoléculas em plantas medicinais. Porém, não há relatos sobre a associação de FMA com plantas de pau-ferro visando produção de metabólitos na casca do caule de *L. ferrea*. O objetivo do trabalho foi selecionar FMA eficientes em maximizar a produção de taninos na casca do caule de plantas adultas de pau-ferro. A coleta do material vegetal, em plantas inoculadas ou não com FMA, para análise da concentração de taninos totais, foi realizada após 20 meses da inoculação. A inoculação com *Acaulospora longula* foi eficiente em aumentar a concentração de taninos em plantas de pau-ferro em relação ao controle. A utilização de FMA em plantas de pau-ferro pode ser uma alternativa sustentável para produção de taninos na casa do caule.

Termos de indexação: inoculação, caatinga, biomoléculas.

INTRODUÇÃO

Libidibia ferrea é uma leguminosa arbórea medicinal nativa da caatinga, conhecida popularmente como pau-ferro ou jucá (Rodrigues, 2011). É utilizada pela população para fins medicinais, devido às propriedades terapêuticas, como anti-inflamatória (Freitas et al., 2012), analgésica (Carvalho et al., 1996), antimicrobiana (Sampaio et al., 2009). A ação medicinal do pau-ferro está relacionada à presença de compostos secundários na fitomassa, como saponinas, flavonoides, cumarinas, antraderivados, fenóis, especialmente os taninos (Gonzalez, 2005).

Os taninos são compostos fenólicos que podem ser formados a partir do ácido gálico ou dos flavonoides (Taiz & Zeiger, 2013; Vermerris & Nilcholson, 2006). Tais biomoléculas possuem a capacidade de se complexar com proteínas e capturar radicais livres (Santos & Mello, 2004).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) formam simbiose mutualística com as plantas e incrementam a produção de biomoléculas nos vegetais (Moreira & Siqueira, 2002). Tal benefício é decorrente da melhoria do estado nutricional do hospedeiro (Kapoor et al., 2002a), sobretudo o fósforo (Freitas et al., 2004b; Moreira & Siqueira, 2002), alterações nos níveis hormonais vegetais (Zubeck et al., 2012), ativação de rotas metabólicas (Lohse et al., 2005), entre outros.

Uma forma de otimizar a produção de compostos secundários é o uso da biotecnologia micorrízica (Oliveira et al., 2015; Kapoor et al., 2007; Silva et al., 2014a). Mas, tal benefício não está definido para a casca do caule de pau-ferro, principal parte vegetal utilizada pela população como medicinal (Cunha & Silva, 2012).

Considerando que não há relatos do benefício da simbiose na produção de taninos na casca do caule de pau-ferro em condições de campo, o objetivo do estudo foi selecionar fungos micorrízicos arbusculares eficientes em maximizar a produção de taninos na casca do caule de plantas adultas de pau-ferro.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se experimento que foi montado em fevereiro de 2013 e está sendo mantido no Campo Experimental do LEFAM (Laboratório de Enzimologia e Fitoquímica Aplicada a Micologia), UPE Campus Petrolina. A avaliação de taninos totais foi realizada 20 meses após a montagem do experimento.

Área experimental:

Antes da montagem do experimento, a área foi arada, gradada e coveada (40 x 40 x 40 cm). A adubação foi realizada utilizando, em cada cova, 5 litros de vermicomposto e 150 g de superfosfato simples. O espaçamento utilizado foi de 5 m entre plantas x 5 m na fileira (densidade de 96 plantas), com irrigação por gotejamento semi-automático (8,4 L H₂O planta⁻¹ h⁻¹) em dias alternados. A parcela experimental foi constituída por 4 plantas.



Produção da mudas de pau-ferro:

As mudas de pau-ferro foram produzidas em solo contendo 1,2 Kg de solo + 5 % de vermicomposto e inoculadas ou não com FMA. Após 225 dias, as mudas de pau-ferro foram transplantadas ao campo, que possuía área total de 2.900 m².

FMA

Testaram-se três isolados de FMA: *Gigaspora albida* N.C. Schenck & G.S. Sm. (UFPE 01), *Acaulospora longula* Spain & N.C. Schenck (UFPE 21) e *Claroideoglossum etunicatum* (W. N. Becker & Gerdemann) C. Walker & A. Schussler) (UFPE 06); os FMA foram multiplicados em solo com 10 % de vermicomposto, tendo *Panicum miliaceum* L. como hospedeiro. Tais isolados foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Micorrizas do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Delineamento experimental

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 6 repetições.

Preparo do extrato vegetal:

Após 20 meses da montagem do experimento, cascas do caule foram coletadas e secas (45 °C por 3 dias). 500 mg de cascas do caule foram utilizadas para preparação de extrato metanólico (70 %) caulinar por maceração (10 dias a 20 °C) (Brito et al., 2008). O extrato foi filtrado em gaze e refiltrado em papel filtro qualitativo e armazenado em freezer.

Quantificação de Taninos totais

A quantificação foi realizada pelo método de precipitação da caseína. Foram utilizados 3 mL de extrato e 05 g de caseína, que foram depositados em frasco âmbar e colocados sob agitação (160 rpm por 10800 segundos a 25 °C). As amostras foram filtradas em papel de filtro qualitativo e o volume completado para 25 mL em balão volumétrico. A quantificação foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu (Monteiro et al., 2006).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey (5 %), utilizando-se o programa Assistat (7.7).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas inoculadas com *A. longula* tiveram incremento de 46,66 % na concentração de taninos totais na casca do caule de pau-ferro, quando comparadas às plantas do tratamento controle

(Tabela 1). Tal eficiência micorrízica também foi registrada em folhas de mudas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.)Brenan) (Pedone-Bonfim et al., 2013) e de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J.B. Gillett (Lima, 2014).

Tabela 1. Concentração de taninos totais na casca do caule de plantas de pau-ferro, inoculadas ou não com FMA, 20 meses após a inoculação, em Petrolina, PE

Tratamentos de inoculação	Taninos totais (mg g planta ⁻¹)
Controle	1,35b
<i>Acaulospora longula</i>	1,98a
<i>Claroideoglossum etunicatum</i>	1,12b
<i>Gigaspora albida</i>	0,46c

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

Em condições de campo, plantas de pau-ferro micorrizadas concentraram mais ácido gálico foliar (Silva et al., 2014b), um precursor para formação de taninos. Por outro lado, esse benefício não foi observado em mudas de pau-ferro inoculadas com FMA, em casa de vegetação (Silva et al., 2014a). Segundo Pedone-Bonfim et al. (2015), a produção de compostos do metabolismo secundário pode ser influenciada pela idade dos vegetais e, no presente estudo, verificou-se que a reposta pode variar com o órgão vegetal considerado.

Os FMA podem modular a concentração de compostos por meio de alguns mecanismos (Toussaint, 2007; Mandal et al., 2013), como alterações de rotas que envolvem a formação de precursores (Lohse et al., 2005), aumento na absorção de nutrientes importantes para o metabolismo vegetal (Karagiannidis et al., 2012), entre outros e tais mecanismos poder estar envolvidos na maior produção de compostos tânicos na casca do caule de pau-ferro.

Considerando que os taninos são compostos com diversas propriedades terapêuticas (Marreiro et al., 2014; Santos & Mello, 2004), a utilização de *A. longula* pode ser alternativa para incrementar a biossíntese de tais biomoléculas, favorecendo a produção de fitomassa com melhor qualidade para indústria farmacêutica.

CONCLUSÃO

- A tecnologia micorrízica é alternativa biotecnológica para incrementar a produção de taninos totais caulinares em pau-ferro estabelecido em campo.

AGRADECIMENTOS

À FACEPE e à CAPES.



REFERÊNCIAS

- 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.
- CUNHA E SILVA, S.L.; GUALBERTO, S.A.; MACEDO, G.E.L.; SILVEIRA, T.C.; DÉBORA CARDOSO DA SILVA, D.C. Plantas medicinais usadas pela comunidade do povoado de Laços (Tanhaçu/Bahia) e encontradas na Floresta Nacional Contendas do Sincorá. Revista Caatinga, 25: 130-136, 2012.
- FREITAS, M.S.M.; MARTINS, M.A.M.; VIEIRA, I.J.C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 39: 887 - 894, 2004b.
- FREITAS, A.C.C.; XIMENES, N.C.A.; AGUIAR, J.S.; NASCIMENTO, S.C.; LINS, T.U.L.; MAGALHÃES, L.R.; COELHO, C.B.B.; CARNEIRO-DA-CUNHA, GONÇALVES-SILVA, T.G.; CORREIA, M.T.S. Biological activities of *Libidibia (Caesalpinia) ferrea* var. *parvifolia* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz pod preparations. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-7 2012.
- GONZALEZ, F.G. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Caesalpinia ferrea* Martius. Tese [Doutorado em Fármacos e medicamentos]- Universidade de São Paulo, 2005.
- KAPPOR, R.; GIRI, B.; MUKERJI, K.G. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture, 82: 339-342, 2002a.
- KAPOOR, R.; CHAUDHARY, V.; BHATNAGAR, A.K. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza, 17: 581-587, 2007.
- KARAGIANNIDIS, N.; THOMIDIS, T.; PANOU-FILOTHEOU, E. Effects of *Glomus lamellosum* on growth, essential oil production and nutrients uptake in selected medicinal plants. Journal of Agricultural Science, 4: 137-144, 2012.
- LIMA, C. S. Tecnologia micorrízica para maximização da produção de biomoléculas foliares em mudas de umburana-de-cambão e de ingazeira. Dissertação [Mestrado em biologia celular e molecular]- Universidade de Pernambuco, 2014.
- LOHSE, S.; SCHLIEMANN, W.; AMMER, C.; KOPKA, J.; STRACK, D.; FESTER, T. Organization and metabolism of plastids and mitochondria in arbuscular mycorrhizal roots of *Medicago truncatula*. Plant Physiology, 139: 329-34, 2005.
- MANDAL, S.; EVELIN, H.; GIRI, B.; PAL, V.; KAPOOR, R. Arbuscular mycorrhiza enhances the production of stevioside and rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* via nutritional and non-nutritional mechanisms. Applied Soil Ecology, 72:187-94, 2013.
- Marreiro, R.O.; Bandeira, M.F.C.L.; Souza, T.P.; Almeida, M.C.; Bendaham, K.; Venâncio, G.N.; Rodrigues, I.C.; Coelho, C.N.; Milério, P.S.L.L.; Oliveira, G.P.; Conde, N.C.O. Evaluation of the stability and antimicrobial activity of an ethanolic extract of *Libidibia ferrea*. Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry, 6: 9-13, 2014.
- MOREIRA, F.M.S. & SIQUEIRA, G.O. Micorrizas- Microbiologia e bioquímica do solo. Lavras, 2002.
- MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; LINS NETO, E.M.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE, M.M.; AMORIM, E.L.C. The effects os seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urudeuva* (Engl.) Fr. All, and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 16: 338-344, 2006
- OLIVEIRA, M.S.; CAMPOS, M.A.S.; ALBUQUERQUE, U.P.; SILVA, F.B.S. Arbuscular mycorrhizal fungi and vermicomposto to maximize the production of foliar biomolecules in *Passiflora alata* Curtis seedlings. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95:522-528, 2015.
- PEDONE-BONFIM, M.V.L.; LINS, M.A.; COELHO, I.R.; SANTANA, A.; SILVA, F.S.B.; 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.
- PEDONE-BONFIM, M.V.L.; SILVA, F.S.B.; MAIA, L. Production of secondary metabolites by mycorrhizal plants with medicinal or nutritional potential. Acta Physiologiae Plantarum, 37:27, 2015.
- RODRIGUES, M.S. Caesalpinieae (leguminosae-caesalpinioideae) do campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, município de Moju, estado do Pará, Brasil. Dissertação [Mestrado em Botânica]-Universidade Federal Rural da Amazônia, 2011.
- 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, 2009.
- SANTOS, S.C. & MELLO, J.C.P. Taninos. In: SIMOES, C.M.O; SCHENKEL, E.P; GOSMAN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETRONICK, P.R. org. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5.ed. Florianópolis: UFSC, 2004. p.629-631.
- 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, 2014a.

SILVA, F.A.; FERREIRA, M.R.A.; SOARES, L.A.L.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SILVA, F.S.B.; MAIA, L.C. Arbuscular mycorrhizal fungi increase gallic acid production in leaves of Field grown *Libidibia ferrea* (Mart. Ex Tul.) L.P. Queiroz. Journal of Medicinal Plant Research, 8: 1110-1115, 2014b.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013. 954p.

TOUSSAINT, J.P.; SMITH, F.A.; SMITH, S.E. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhiza, 17:291–297, 2007.

VERMERRIS, W. & NICHOLSON, R. Phenolic compound biochemistry, Springer, 2006. p. 267

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.