

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO DO ÓLEO DE NOZ-PECÃ PARA O MANEJO DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM GOIABEIRA

GABRIELA XAVIER GIACOMINI¹; GLAUCIA DE FIGUEIREDO NACHTIGAL²;
CARLOS ROBERTO MARTINS³; RICARDO ALEXANDRE VALGAS⁴; ADRIANE
ROEDEL HIRDES⁵; ALINE JOANA ROLINA WOHLMUTH ALVES DOS SANTOS⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - gabrielaxgiacomini@gmail.com

²Embrapa - Clima Temperado - glaucia.nachtigal@embrapa.br

³Embrapa - Clima Temperado - carlos.r.martins@embrapa.br

⁴Embrapa - Clima Temperado - ricardo.valgas@embrapa.br

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - adrianerhirdes@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - alinejoana@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A noz-pecã destaca-se pelos efeitos benéficos à saúde, graças à presença de gorduras insaturadas, proteínas, fibras, vitaminas (ácido fólico, niacina e vitamina E) e minerais (magnésio, potássio e cálcio) (KORNSTEINER et al., 2006). O processamento industrial da noz-pecã resulta no óleo, obtido pela prensagem das nozes. Já a casca, subproduto resultante deste processo, é comercializada para o preparo de chás. O óleo comestível possui compostos de alto valor agregado e sua proporção varia de 69-79% do peso total do fruto, a depender da variedade e das condições de cultivo (ORO et al., 2008).

O emprego do óleo de noz-pecã é ainda pouco conhecido no manejo de fitopatógenos, o que gera uma oportunidade para a inovação. Norteada pelo emprego de estratégias menos agressivas à saúde humana e ao ambiente, a busca por produtos que explorem a bioatividade antimicrobiana e/ou a capacidade elicitora de defesa das plantas tem sido bastante desejada para o manejo de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose em goiabeiras na região sul do Brasil. A antracnose é considerada uma das mais graves doenças de frutos de goiabeira, sendo que o fungo infecta as plantas e frutos em diferentes estádios de seu desenvolvimento (NACHTIGAL et al., 2017).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar por meio de cromatografia gasosa, uma amostra de óleo de noz-pecã obtido comercialmente, bem como seu potencial antifúngico *in vitro* para o manejo de *C. gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose em goiabeiras.

2. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Sólidos Inorgânicos (LASIR) da Universidade Federal de Pelotas - Campus Universitário Capão do Leão, em parceria com a Embrapa Clima Temperado, Pelotas.

O óleo de noz-pecã foi adquirido comercialmente da empresa Pecanita Alimentos, Cachoeira do Sul, RS, Brasil (lote 161PT25K12). A linhagem de *Colletotrichum gloeosporioides* foi obtida da Coleção de microrganismos de interesse ao controle biológico de pragas, vinculada à Embrapa, com código de acesso CPACT651, oriundo de frutos de goiabeira infectados com antracnose.

Primeiramente foi realizada a caracterização do óleo de noz-pecã por cromatografia gasosa e no segundo momento, foi determinada sua atividade antifúngica, expresso pela interferência no crescimento micelial e esporulação do patógeno. A composição química do óleo de noz-pecã foi obtida por CG/MS (70

eV), em um equipamento por impacto de elétrons da marca Shimadzu – modelo QP2010. O intervalo de aquecimento foi de 50 - 290° C com razão de aquecimento de 10° C, permanecendo 5 minutos na temperatura máxima. Em seguida foram injetados na coluna cromatográfica 1 µL da solução de óleo de noz-pecã diluído em hexane na razão de 1:50 no modo splitless, utilizando hélio como gás de arraste. Os componentes, notoriamente o perfil de ácidos graxos, foram identificados com base na comparação dos tempos de retenção relativos e padrões de fragmentação do espectro de massa àqueles relatados na literatura e aos dados da biblioteca Nist 08 do sistema.

O óleo de noz-pecã foi diluído em água esterelizada, obtendo-se a concentração de 1,53% (v:v), considerada a solução padrão para todas avaliações. Tween 80 foi adicionado 0,046% (v:v) para melhor emulsificação.

O potencial antifúngico do óleo de noz-pecã foi determinado com base em bioensaios destinados a avaliar o crescimento fúngico *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Para isso, procedeu-se à deposição de alíquotas de 100 µL do óleo e espalhamento com auxílio de alça de Drigalsk na superfície de meio de cultura solidificado BDA, contido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro (SEIXAS et al., 2011). Água destilada e esterilizada foi utilizada como controle negativo. Após secagem da superfície, um disco de micélio de 5 mm de diâmetro, obtido de colônia de *C. gloeosporioides* em desenvolvimento, foi depositado na porção central de cada placa de Petri e as mesmas foram vedadas e mantidas, à 25° C, sob fotoperíodo diário de 12 horas. As avaliações do crescimento fúngico foram realizadas por meio de medições diárias do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais (média das duas medidas diametralmente opostas), iniciadas após 24 horas de incubação. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de cinco repetições, sendo cada parcela representada por uma placa de Petri.

No 18° dia de incubação procedeu-se à avaliação da produção de esporos por *C. gloeosporioides* em cada uma das placas e suas repetições. Da região periférica da colônia fúngica foram retirados três discos de micélio de cada placa, de 5 mm de diâmetro cada um e foram transferidos para tubos contendo 9 mL de água estéril e penicilina. Após vigorosa agitação em vortex, a concentração de esporos da solução foi estimada em câmara de Neubauer. Na sequência, os resultados, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, nos casos onde o valor de F foi significativo, utilizou-se o teste de Tukey à 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise cromatográfica do óleo de noz-pecã (Figura 1) possibilitou a identificação e quantificação de 24 constituintes químicos diferentes, sendo que dois se apresentam como majoritários. Os ácidos graxos compõe uma classe de moléculas envolvidas em vários processos a exemplo de sua influência sobre os fosfolípidos da membrana celular, podendo interferir na estabilidade dos microrganismos fúngicos e bacterianos (AVIS, 2007; LIU et al., 2008). Na mostra deste trabalho os compostos majoritários são precursores de ácidos graxos, sendo ácido linoleico (21%) e ácido oleico (10,43%).

Salvador et al. (2016) relataram, ácido linoleico e ácido oleico, como os ácidos graxos mais abundantes presentes em noz-pecã. Além disso, os autores relataram o envolvimento de derivados do ácido linoleico e oleico na regulação do desenvolvimento fúngico, embora ainda haja pouco conhecimento sobre seu modo de ação.

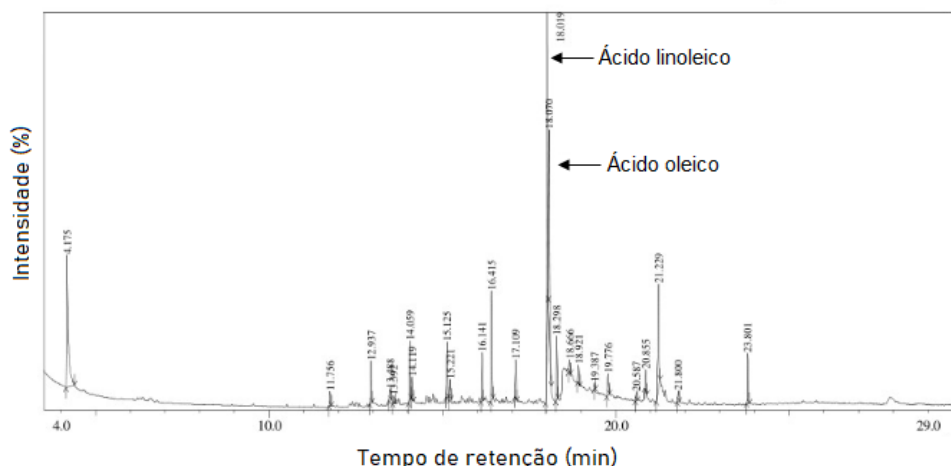


Figura 1. Cromatograma para o óleo de noz-pecã. Intensidade (%) versus tempo de retenção (min).

A avaliação do potencial antifúngico do óleo de noz-pecã, na concentração estudada, não evidenciou atividade antifúngica sob o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em comparação ao controle negativo (Tabela 1). O que está parcialmente de acordo com resultados relatados na literatura, onde a atividade antifúngica de diferentes ácidos graxos foi avaliada por Liu et al. (2008), incluindo o ácido oleico e linoleico, sendo que ausência de efeito inibitório significativo no crescimento micelial foi observado para o ácido oleico, enquanto que para o ácido linoleico foram observadas reduções entre 14-19 % no crescimento de diferentes espécies de fungos, *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Ácidos graxos, como ácido oleico e linoleico, se inserem na bicamada lipídica das membranas fúngicas, causando um aumento na permeabilidade da membrana, o que resulta em extravasamento do conteúdo intracelular e, por consequência, morte celular (AVIS et al., 2001).

Já a avaliação do potencial antifúngico do óleo, na concentração estudada, evidenciou redução de esporulação da ordem de 39% para *C. gloeosporioides*, em comparação ao controle negativo (Tabela 2). A redução na esporulação é algo positivo, uma vez que, este fungo tem por característica a produção de uma grande quantidade de esporos que pode ser disseminado e sobreviver na superfície dos tecidos infectados da planta (NACHTIGAL et al., 2017).

Tabela 1: Efeito sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

Compostos	Crescimento micelial médio (cm)
Controle negativo	1.42± 0.034 a ¹
Óleo noz-pecã (1,53%)	1.48± 0.045 a

¹Letras iguais não diferem entre si significativamente pelo teste Tukey.

Tabela 2: Efeito sobre a esporulação de *C. gloeosporioides*.

Compostos	Esporulação (esporos/mL)	Inibição da esporulação (%)
Controle negativo	159.60 ± 23.409 a ¹	-
Óleo noz-pecã (1,53%)	97.400 ± 12.738 b	39

¹Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste Tukey.

A ausência de efetividade do óleo de noz-pecã na concentração de 1,53% (v:v), em atuação direta sobre o fungo (Tabela 1) e sua moderada efetividade sobre as estruturas reprodutivas (Tabela 2), sugere que outras concentrações do óleo devam ser prospectadas, além de outras composições, a fim de potencializar sua ação antifúngica.

4. CONCLUSÕES

O óleo de noz-pecã reduz a esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro* na ordem de 39%, o que é algo interessante quando se busca o desenvolvimento de um composto natural e com eficácia. Como perspectiva futura, numa intenção de potencializar a ação contra o agente etiológico da antracnose em goiabeiras, planeja-se a síntese de materiais contendo óleo de noz-pecã imobilizados em quitosana, seguido de avaliações antifúngicas *in vitro* e caracterizações químicas e estruturais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVIS, T.J. Antifungal compounds that target fungal membranes: applications in plant disease control. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Canadá, v.29, n.4, p. 323–329, 2007. <https://doi.org/10.1080/07060660709507478>.

KORNSTEINER, M.; WAGNER, K.; ELMADFA, I. Tocopherols and total phenolics in 10 different nut types. **Food chemistry**, Áustria, v.98, n.2, p.381–387, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.033>.

LIU, S.; RUAN, W.; LI, J.; XU, H.; WANG, J.; GAO, Y.; WANG, J. Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids. **Mycopathologia**, China, v.166, n.2, p.93–102, 2008. <http://dx.doi.org/10.1007 / s11046–008–9124–1>.

NACHTIGAL, G.F.; MARTINS, C.R.; NACHTIGAL, J.C.; GIACOMINI, G.X. Preventive measures for relief with the main fungal diseases of guava in Rio Grande do Sul. **Embrapa Comunicado Técnico**, Brasil, v.349, p.1–9, 2017. Disponível em: ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/170521/1/Comunicado-349.pdf

ORO, T.; OGLIARI, P.J.; AMBONI, R.D.D.M.C.; BARRERA-ARELLANO, D.; BLOCK, J.M. Quality evaluation of Pecan nuts [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] during storage in different packaging. **Grasas y Aceites**, Brasil, v.59, n.2, p. 132–138, 2008. <https://doi.org/10.3989/gya.2008.v59.i2.501>.

SALVADOR, A.A.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J.M.; FERREIRA, S.R.S. Increasing the value of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] cake by means of oil extraction and antioxidant activity evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, Brasil, v.116, p.215–222, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.05.046>.

SEIXAS, P.T.L.; CASTRO, H.C.; SANTOS, G.R. Fungitoxic activity of essential oil of citronella grass (*Cymbopogon nardus* L.) and compound citronellal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Brasil, v.13, p.523–526, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516–05722011000500003>.