

## Efeito do bálsamo de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) sobre a germinação de esporos de *Fusarium*

Diniz, S. P. S. S.<sup>1</sup>, Bonzanini F.<sup>1</sup>, Bueno, M.A.S.<sup>2</sup>, Rodrigues, J. D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais, Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo nº 5790 – CEP: 87020-900 – Maringá – PR. E-mail: dnz1210@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Botânica da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Rubião Junior – CEP: 18618-000 – Botucatu – SP.

**RESUMO:** Foi pesquisada a capacidade germinativa dos esporos de *Fusarium* na presença de bálsamo de copaíba (5 a 100%). O cultivo foi realizado em frascos erlenmeyers contendo 50 ml de meio ICI e 1 ml do pré-inóculo. Nos casos específicos 1 ml de bálsamo de copaíba era adicionado ao meio. Foi evidenciada uma drástica inibição do desenvolvimento dos esporos. A sensibilidade ao bálsamo de copaíba variou com as cepas de *Fusarium* pesquisadas.

**Palavras-chave:** plantas medicinais, germinação, controle biológico de vetores

**ABSTRACT:** Effect of Copaíba balsam (*Copaifera reticulata* Ducke) on Germination of *Fusarium* Spores. The germinative capacity of spores of *Fusarium* was studied in the presence of copahiba balsam (5 to 100%). The culture was carried out in Erlenmeyer flasks with 50ml of ICI medium and 1 ml of the pre-inoculated fungus. In some specific cases, 1 ml of copahiba balsam was added to the medium. The development of spores was significantly reduced in the presence of copahiba balsam. Sensibility to copahiba balsam varied with the different strains of *Fusarium*.

**Key words:** Medicinal plants, germination, pest biological control.

### INTRODUÇÃO

Muitas culturas economicamente importantes como milho, arroz, trigo, sorgo e cevada são afetadas por *Fusarium* (Yasue, 1949; Reis *et al.*, 1995; Pinto, 1996; Goulart & Fialho, 1998). A incidência destes fungos na semente ocorre, normalmente, pela infecção natural da espiga no campo, favorecida pelo clima úmido e quente na fase de polinização, mal empalhamento e danos causados por insetos nas espigas (Shurtleff, 1992; Reid *et al.*, 1996).

A pesquisa fitopatológica visando o controle da população de fungos, principalmente aqueles que provocam danos à agricultura, através do emprego de óleos e bálsamos naturais tem tido um implemento nos últimos anos (Chalfoun e Carvalho, 1987; Bastos, 1997; Donovan *et al.*, 1993; Magalhães *et al.*, 1996).

No Brasil, os bálsamos de copaíba são amplamente usados na medicina popular, através da aplicação tópica do óleo "in natura" ou em pomadas, ou ainda, administrados oralmente em "spray" ou gotas. Tem sido utilizado como antisséptico, antiinflamatório, bactericida, expectorante e diurético. Industrialmente, o bálsamo de copaíba é usado em perfumaria, como cosmético e em produtos de limpeza (Leung, 1980; Fernandes *et al.*, 1992; Veiga Jr. *et al.*, 1997)

O bálsamo de copaíba, extraído principalmente do tronco de árvores de *Copaíba reticulata* Ducke, árvore da família das

Leguminosae, sub-família Caesalpinioideae que cresce abundantemente na floresta Pan-amazônica, contém uma série de óleos essenciais (Fernandes *et al.*, 1992).

O bálsamo de copaíba é composto de duas frações distintas, solúveis entre si, sendo um fração volátil com ponto de ebulição entre 238 e 245°C, correspondendo a cerca de 90 % do peso do bálsamo; e uma fração não volátil resinosa de cor caramelo, que começa a ser decomposta à temperatura próximas de 300°C, correspondendo a 10 % do teor do bálsamo. O bálsamo de copaíba integral tem como principais componentes, isômeros entre si, o copaeno (21%), o cariofileno (31%), o alfa-cariofileno (5%) e demais isômeros (38%), todos de natureza sesquiterpênica (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>) (Wenninger *et al.*, 1967; Stanshenko *et al.*, 1995; Veiga Jr *et al.*, 1997). A fração não volátil contém o ácido copaivico e ácido oxicopaivico, componentes ainda não bem determinados.

Tendo por base os diferentes efeitos reportados sobre o bálsamo de copaíba, principalmente sua atividade bactericida, relatamos aqui os resultados obtidos com o uso deste bálsamo no controle da germinação de esporos de *Fusarium*.

### MATERIAL E MÉTODO

#### 1. Organismo

Os organismos utilizados foram fungos do gênero *Fusarium*, compreendendo duas cepas de

Recebido para publicação em 03/10/01 e aceito para publicação em 28/08/02.

coleção, ICI, e IMI 12018 e o isolado UEM (depositado na Coleção de Culturas sob o nº 98610-1 na Fundação Tropical de pesquisas e tecnologia André Tosello, Campinas, SP).

## 2. Meio de cultivo para o microrganismo:

O meio ICI 10%N possuía a seguinte composição em gramas/litro: 80g de glicose; 0,28g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; 5,0g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1,0g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 2 ml de uma solução contendo elementos-traço: 0,1g  $\text{FeSO}_4$ ; 0,015g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 0,16g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01g  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 0,01g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  em 100 ml de água destilada. Quando necessário ágar foi adicionado ao meio (Geissman *et al.*, 1966).

## 3. Germinação dos fungos na presença do bálsamo de copaíba:

As cepas de *Fusarium moniliforme*, ICI, IMI e o isolado UEM foram cultivadas em placas de Petri individualmente, contendo meio ICI sólido, a 28°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) por 14 dias. Foi então realizado um raspado das placas sendo o mesmo transferido para água destilada estéril, e distribuído em 3 Erlenmeyers respectivamente. Estes conteúdos representaram o controle do experimento. A seguir foram transferidas porções destes conteúdos aos frascos com as seguintes concentrações de bálsamo de copaíba: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100%. Após 96 horas de incubação a 28°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) foi realizada a contagem dos esporos que germinaram, em câmara apropriada, utilizando-se um microscópio binocular, marca Lambda-97.

## RESULTADO

Os dados mostrados na Figura 1 demonstram a boa eficiência do bálsamo de copaíba no controle da germinação de esporos de *Fusarium*. Ficando ressaltada as diferentes sensibilidades das cepas de *Fusarium* submetidas à ação do bálsamo. A cepa ICI mostrou-se mais sensível, enquanto que o isolado UEM foi o mais resistente. O controle que o bálsamo de copaíba exerceu sobre a germinação de esporos de *Fusarium*, foi também estendido ao desenvolvimento do fungo em meio de cultivo sólido. Uma vez que, a presença do bálsamo no meio sólido acarreta uma descoloração da cultura do microrganismo que passa da coloração vermelho-vinho para a coloração bege. Sugerindo assim, alterações no metabolismo secundário deste fungo.

Estes resultados indicam que o bálsamo de copaíba funciona como inibidor da germinação normal do *Fusarium*. Comportamento similar ao relatado com extratos de alho sobre o desenvolvimento dos fungos *Gibberella zeae*,

*Alternaria zinniae*, e *Macrophomina phaseolina* (Chalfoun & Carvalho, 1987). Bastos (1997), relata a inibição de diversos fungos patogênicos por meio de óleo de pimenta longa (*Piper aduncum*).

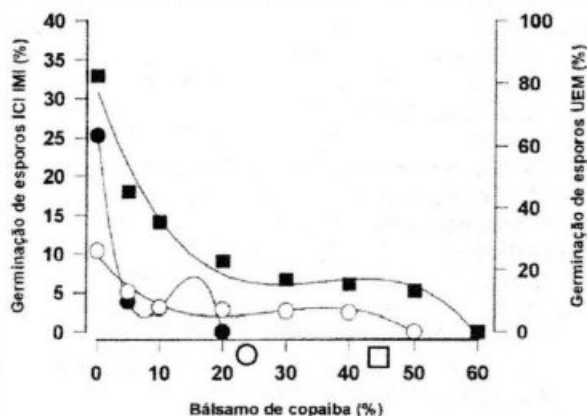


FIGURA 1. Curvas da germinação de esporos e fungos ( cepas ICI, IMI e UEM ) na presença de bálsamo de copaíba, contagem realizada após 96 horas de incubação a 28°C.

## CONCLUSÃO

O bálsamo de copaíba mostrou-se como um agente inibidor da germinação e portanto, comprometendo o desenvolvimento de *Fusarium*. A susceptibilidade do fungo ao bálsamo variou de organismo para organismo testado. A cepa ICI mostrou-se mais sensível à ação inibitória do bálsamo, enquanto a cepa UEM foi a mais resistente. Portanto, da mesma forma que o bálsamo de copaíba possui ação bactericida (Fernandes *et al.*, 1992), ele também possui ação antimicótica com relação ao *Fusarium*. Estes resultados apontam para a necessidade da realização de outros testes, tanto "in vitro" quanto "in vivo" buscando avaliar o potencial que o bálsamo de copaíba possa ter como uma alternativa ao uso de fungicidas químicos.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

- BASILE, A. C., SERTIÉ, J. A. A., FREITAS, P. C. D. *et al.* Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian Copaifera. *Journal Ethnopharmacology*, v.22, p.101-9, 1988.
- BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. *Fitopatologia Brasileira*, v.22, n.3, p. 441-3, 1997.
- CASAMADA, R. S. *Farmacognosia con Farmacodinamica*. Barcelona: Científica-Médica, 1968. 492p.
- CHALFOUN, S. M., CARVALHO, V. D. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. *Fitopatologia Brasileira*, v.12, p.234-5, 1987.

- DONOVAN, A., ISAAC, S., COLLIN, H. A. Inhibitory effects of essential oil components extracts from celery (*Apium graveolens*) on the growth of *Septoria apiicola*, causal agent of leaf spot disease. **Plant Pathology**, v.46, p.691-700, 1993.
- FERNANDES, R. M., PEREIRA, N. A., PAULO, L. G. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera cearensis*, Huber). **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.73, n.3, p.53-6, 1992.
- GEISSMAN, T. A., VERBISCAR, J., PHINNEY, B. O. Studies on the biosynthesis of gibberellins form (-)-kaurenoic acid in cultures of *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v.5, p.933-47, 1966.
- GHENTHERM E. The essential oils. New York, Van Nostrand Company, 1952. v.5, p. 203-11.
- GOULART, A. C. P., FIALHO, W. F. B. Ocorrência de fungos em sementes de milho "Br 201" produzidas na região de Dourados, MS. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, p.79, 1998.
- LEUNG, A. Y. **Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, drugs and cosmetics**. New York: John Wiley & Sons, 1980. v.1, p.47-8.
- MAGALHÃES, F. H. L., ARAÚJO, E., COUTINHO, W. M. Efeito dos óleos de pequi (*Caryocar brasiliensis*) e de dendê (*Elaeis guianensis*) e dos fungicidas químicos benomyl e captan sobre a microflora de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Fitopatologia Brasileira**, v.21, supl., p.369-70, 1996.
- PINTO, N. F. J. A. Tratamento fungicida de semente de milho. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES**, 4., 1996, Gramado. Gramado: Fundação Cargill, 1996. p. 52-7.
- REID, L. M., HAMILTON, R. I., MATHER, D. E. Screening maize for resistance to *Gibberella* ear rot. Research Branch, Agriculture and Agri-Food Canada. **Technical Bulletin** 1996 - 5E, 40p. 1996.
- SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. St. Paul: American Phytopathology Society, 1992. 105p.
- STASHENKO, E., WIAME, H., DASSY, S. *et al.* Catalytic transformation of Copaiba (*Copaifera officinalis*) oil over zeolite ZSM-5. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.18, p.54-8, 1995.
- VEIGA JR., V. F., PATITUCCI, M. L., PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaiba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v.20, n.6, p.612-5, 1997.
- WENNINGER, J. A., YATES, R. L., DOLINSKY, M. Sesquiterpene hydrocarbons of commercial copahiba balsam and american cedarwood oils. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v.50, n.6, p.1304-13, 1967.
- YASUE, Y. Studies on the antibacterial action of fusaric acid, a metabolic product of the causative mould of the "Bakanae" disease of rice plants. **Journal of Antibiotics**, v.2, p.261-2, 1949.
- YOUNGKEN, H. W. **Tratado de farmacologia**. México: Editorial Atlante, 1951. p.556-9.