

Crescimento e produção de fenóis totais em carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares, na presença e na ausência de adubação mineral¹

Freitas, M.S.M.¹; Martins, M.A.²; Carvalho, A.J.C.¹; Carneiro, R.F.V.²

¹Laboratório de Fitotecnia – UENF/CCTA e ²Laboratório de Solos – UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes, RJ
CEP:28.013-600, E-mail: msimone@uenf.br

RESUMO: Conduziu-se um experimento em casa de vegetação com objetivo de avaliar os efeitos da inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) sobre o crescimento e produção de fenóis totais em carqueja cultivada na ausência e na presença de adubação mineral. Foram utilizados vasos de plástico de 5 kg contendo como substrato Latossolo Amarelo distrófico esterilizado. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com arranjo fatorial 5 x 2, sendo 5 tratamentos microbiológicos (*Glomus clarum* Nicolson & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Acaulospora scrobiculata* Trappe e controle) e dois níveis de adubação com e sem a utilização de adubação mineral, com 4 repetições e 3 plantas por vaso. Após 168 dias, as plantas foram coletadas. A inoculação das plantas de carqueja com a espécie *Glomus clarum*, independente da utilização de adubação química, proporcionou maior produção da matéria seca da parte aérea e altura das plantas. Os FMAs influenciaram a produção de fenóis totais nas plantas de carqueja. As maiores produções de fenóis totais foram obtidas em plantas inoculadas com a espécie *Glomus clarum*, independentemente da utilização de adubação.

Palavras-chave: Asteracea, micorriza, plantas medicinais

ABSTRACT: Growth and production of total phenols in carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) A.D.] in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi, in the presence and in the absence of mineral manuring. An experiment was carried out under greenhouse conditions to evaluate the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth and production of total phenols in carqueja. Plastic pots of 5 kg capacity were filled with an esteril dystrophic Yellow Latossol. The experimental design was in randomized blocks with a factorial arrangement 5 x 2: five microbiological treatments (*Glomus clarum* Nicolson & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Acaulospora scrobiculata* Trappe and control) and with and without mineral manuring, with 4 repetitions and three plants for pot. After 168 days, plants were harvested. The inoculation of the carqueja plants with the species *Glomus clarum*, independent of the use of chemical manuring, it provided larger production of dry weight of the aerial part and height of plants. The AMF influenced the production of total phenols significantly in the carqueja plants. The largest productions of total phenols were obtained, independently of the manuring use, in plants inoculated with the species *Glomus clarum*.

Key words: Asteracea, mycorrhiza, Medicinal plants.

INTRODUÇÃO

A carência de informações científicas sobre plantas medicinais ou com potencial medicinal tem levado cientistas a direcionarem suas pesquisas não somente ao nível farmacológico e químico mas, também, em relação a aspectos fitotécnicos, pois a maior parte das espécies vegetais nativas, ou que já são aclimatadas no Brasil, são colhidas por processos de extrativismo.

A carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] é uma planta medicinal, dióica, silvestre que apresenta grande potencial para exploração comercial, uma vez que possui propriedades como anti-inflamatório e analgésico (Gene *et al.*, 1996). Entretanto, quase a totalidade da carqueja utilizada tem origem no extrativismo. Mediante as necessidades de produção de fitoterápicos no país, torna-se urgente que o cultivo de plantas medicinais se estabeleça como fonte de matéria prima de qualidade e origem determinada, pois somente com o cultivo sistematizado de plantas medicinais é que poderemos diminuir a intensidade

do extrativismo de espécies medicinais da flora brasileira.

A biossíntese de metabólitos secundários (princípios ativos) em plantas medicinais, depende de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais. Dentre os fatores ambientais, acreditamos que a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) possa influenciar na produção de metabólitos secundários, seja por efeito de melhor estado nutricional e/ou como resposta de defesa do hospedeiro à presença do fungo.

Os efeitos benéficos dos FMAs têm sido demonstrados nas mais variadas condições e espécies vegetais, na maioria dos casos estimulando o crescimento vegetal, como uma consequência de seu efeito sobre a nutrição mineral da planta, principalmente no aumento da absorção de fósforo (Smith & Read, 1997). Alguns trabalhos com plantas medicinais avaliando a ocorrência e os efeitos dos FMAs sobre o crescimento vegetal tem sido conduzidos (Faria *et al.*, 2000, Albuquerque *et al.*, 2000). Entretanto, pouco se conhece sobre a influência desses fungos na produção de metabólitos secundários, principalmente sobre os compostos fenólicos, tais como flavonóides e taninos que possuem propriedades como anti-inflamatórios e cicatrizantes, sendo utilizado para elaboração de medicamentos.

Neste contexto o presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência dos fungos micorrízicos arbusculares, na presença e na ausência de adubação mineral, no crescimento e na produção de fenóis totais em carqueja.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Campus da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, localizada no município de Campos dos Goytacazes-RJ (Latitude = 21° 19' 23"; Longitude = 41° 10' 40" W; Altitude = 14 m), no período de 31/03/2002 a 15/09/2002. No período de condução do experimento, dentro da casa de vegetação, as temperaturas diárias máximas variaram de 40,8 a 24,4°C, com média de 32°C, e as temperaturas diárias mínimas entre 22,6 e 15°C, com média de 19°C. A umidade relativa máxima teve média de 90%, com variações entre 77,6 e 98,6% e a umidade relativa mínima com média de 33%, variou entre 76,4 e 10%.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados em arranjo fatorial 5 x 2, constituído de 5 tratamentos (*Glomus clarum* Nicolson & Schenck, *Glomus etunicatum* Becker & Gerdemann, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Acaulospora scrobiculata* Trappe e controle) e dois manejos (com ou sem adubação adubação mineral), com quatro repetições. A unidade experimental foi

composta por um vaso de plástico com capacidade para 5 kg, contendo 3 plantas/vaso.

O substrato utilizado foi um Latossolo Amarelo distrófico, coletado na Escola Estadual Agrícola Antônio Sarlo, localizado em Campos dos Goytacazes, RJ. Este material foi peneirado e esterilizado em autoclave por duas vezes, a uma temperatura de 121°C por 1 hora. As características físico-químicas do solo, na camada de 0-20 cm, foram as seguintes: pH em H₂O (1:2,5) = 5,2; P = 6 mg kg⁻¹; Ca = 16 mmol_c kg⁻¹; Mg = 10 mmol_c kg⁻¹; K = 1,6 mmol_c kg⁻¹; Na = 0,6 mmol_c kg⁻¹; Al = 0 mmol_c kg⁻¹; H + Al = 33 mmol_c kg⁻¹; Carbono = 10 g kg⁻¹; Areia = 560 g kg⁻¹; Silte = 60 g kg⁻¹; Argila = 380 g kg⁻¹. No tratamento sem adubação mineral foi utilizado o solo nas condições naturais de fertilidade e no tratamento com adubação, foram adicionados 50 mg kg⁻¹ de P, utilizando como fonte KH₂PO₄, 127 mg kg⁻¹ de K, utilizando como fonte KH₂PO₄ e 40 mmol_c kg⁻¹ de Ca, utilizando como fonte o carbonato de cálcio.

O substrato utilizado para o preparo do inóculo foi uma mistura de solo e areia na proporção de 1:2 (v/v), que foi esterilizada em autoclave por duas vezes, a uma temperatura de 121°C por 1 hora. O substrato foi colocado em vasos com capacidade de 3 L e adicionados a este 50 g de inóculo (mistura de solo contendo esporos, hifas e raízes colonizadas) com o fungo de cada espécie a ser estudada: *Glomus clarum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita* e *Acaulospora scrobiculata*. Os fungos foram obtidos da coleção do Setor de Microbiologia do Solo da UENF. Após esta etapa, 15 sementes de *Brachiaria bryzantha* foram semeadas em cada vaso, sendo que antes do plantio, as sementes foram desinfestadas com solução de 0,5% de hipoclorito de sódio, durante 10 minutos e depois lavadas com água desionizada. Quatro meses após o plantio, a parte aérea foi cortada e trinta dias após o corte, a mistura de solo contendo esporos, hifas e raízes finas cortadas foi utilizada como inóculo.

A carqueja foi propagada por estaquia. As estacas foram coletadas no dia 23/02/2002 no Horto Municipal de Plantas Medicinais de Vargem Alta, Estado do Espírito Santo, com tamanhos entre 15-20 cm de comprimento coletadas da região apical (Biasi & De Bona, 2000). O material genético da carqueja, obtido em Vargem Alta-ES, era originário do CENARGEN e classificado pelo Dr. Roberto Fontes Vieira. As estacas foram colocadas em bandejas de poliestireno com 72 células, utilizando-se areia autoclavada como substrato. As bandejas foram colocadas em estufas até o enraizamento das mesmas. Após 20 dias foram transplantadas três estacas por vaso, nos quais foi adicionado 50 g do inóculo das espécies de FMAs, que continha 1400±50 esporos para cada espécie de fungo. Para a quantificação dos esporos no solo, amostras de 50

g de solo foram submetidas aos métodos de decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963), seguida de centrifugação em água e sacarose (45%). No material obtido foram feitas a contagem de esporos, com auxílio de microscópio.

As plantas foram colhidas 168 dias após o plantio no vaso, período em que estavam iniciando a fase de floração. Foram quantificados os pesos da matéria seca da parte aérea, determinado após secagem do material por 48 horas a uma temperatura de 65°C, em estufa de circulação de ar. As raízes foram removidas dos vasos, lavadas com água corrente e cortadas em aproximadamente 2 cm de comprimento e armazenadas em álcool etílico 50% para posterior avaliação da porcentagem de colonização micorrízica. No preparo da amostra para a avaliação da porcentagem de colonização micorrízica foi realizada clarificação da com KOH a 10%, coloração com azul de metila (Koske & Gemma, 1989) e contagem pelo método de interseção em placa quadriculada (Giovannetti & Mosse, 1980) com auxílio de microscópio estereoscópio com aumento de 40X. Os fenôis totais foram quantificados pelo método de Folin-Denns (Swain & Hillis, 1959).

Foram realizadas análises de variância para as variáveis quantificadas no experimento e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Para produção de matéria seca da parte aérea houve interação entre as espécies de fungo micorrízicos e adubação (Tabela 1). O tratamento com *Glomus clarum* e sem adubação proporcionou incrementos de 467% em relação ao tratamento controle, se igualando ao tratamento com adubo inoculado com a mesma espécie de fungo, mostrando a eficiência desta espécie de fungo em plantas de

carqueja. Soares (2000), trabalhando com mudas de maracujazeiro inoculadas com a mesma espécie de fungo citada acima, observou que na dose de 10 mg kg⁻¹ de P, a produção de matéria seca da parte aérea sofreu incrementos de 397% em relação ao tratamento controle. Resultados semelhantes foram obtidos por Martins *et al.* (2000), trabalhando com a cultura do mamoeiro (*Carica papaya* L.), e por Sato *et al.* (1999), trabalhando com gerbera (*Gerbera* sp.).

Para as demais espécies de fungo, a produção de matéria seca foi superior ao controle quando foi adicionado o adubo (Tabela 1), mostrando que nos tratamentos sem adubação, onde a dose de P era de 6 mg kg⁻¹, as espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata* não beneficiaram o crescimento das plantas. Observa-se que com a adição de adubo ao substrato, os efeitos benéficos da inoculação com FMAs diminuíram, tais respostas podem variar em função do genótipo vegetal, tipo do solo e espécies de fungos.

Houve interação entre as espécies de fungo e adubação para a variável altura, o tratamento com a espécie *Glomus clarum* foi superior ao tratamento controle no tratamento sem adubação (Tabela 1). Na presença da adubação química, os tratamentos microbiológicos apresentaram a mesma altura de plantas (Tabela 1).

A maior porcentagem de colonização foi observada em plantas de carqueja inoculadas com as espécies *Glomus clarum* (69,5%) e *Gigaspora margarita* (61,7%) no tratamento sem adubação (Tabela 1); essas mesmas espécies foram eficientes em promover aumentos na produção de matéria seca da parte aérea e altura (Tabela 1). Neste mesmo tratamento as espécies *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata* não diferiram significativamente das espécies *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*, mas promoveram menores produções de matéria seca e altura de plantas.

TABELA 1 - Produção de matéria seca da parte aérea, altura das plantas e porcentagem de colonização micorrízica em raízes de carqueja em função de tratamentos microbiológicos e de adubação

Fungo	Matéria seca da parte aérea (g vaso ⁻¹)		Altura da planta (cm)		Colonização micorrízica (%)	
	Sem adubo	Com adubo	Sem adubo	Com adubo	Sem adubo	Com adubo
<i>Gigaspora margarita</i>	26,0 bB	58,6 a A	98,6 abA	116,2 aA	61,7 aA	52,7 cB
<i>Glomus clarum</i>	54,4 aA	56,1 abA	125,3 aA	106,5 aA	69,5 aA	65,2 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	10,8 cB	47,7 abA	74,7 bB	118,7 aA	45,7 bB	63,2 abA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	9,8 cB	49,9 abA	77,5 bB	110,5 aA	52,0 bA	56,0 bcA
Controle	9,6 cB	44,7 bA	68,6 bA	84,0 aA	0,0 cA	0,0 dA
Média	22,1	51,4	88,9	107,1	45,8	47,4
CV (%)	24,6		17,9		9,29	

Para a mesma variável, médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha (com e sem adubo) e minúscula na coluna (espécie de fungo), não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2 - Teor e conteúdo de fenóis totais em plantas de carqueja em função de tratamentos microbiológicos e de adubação

Fungo	Teor de fenóis totais (g kg ⁻¹ de matéria seca)			Conteúdo de fenóis totais (mg vaso ⁻¹)	
	Sem adubo	Com adubo	Média	Sem adubo	Com adubo
<i>Gigaspora margarita</i>	20,2	21,8	20,9 b	423 bB	1047 aA
<i>Glomus clarum</i>	20,5	21,6	21,0 ab	972 aA	1092 aA
<i>Glomus etunicatum</i>	27,2	25,2	26,2 a	157 bB	583 bA
<i>Acaulospora scrobiculata</i>	24,8	25,5	25,1 ab	145 bB	823 abA
Controle	26,7	25,1	25,9 ab	154 bB	595 bA
Média	23,8 A	23,8 A	23,8	360	828
CV (%)	14,87			25,6	

Para uma mesma variável, médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha (com e sem adubo) e minúscula na coluna (espécies de fungo), não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Com a adubação química do substrato a maior porcentagem de colonização foi observada em plantas inoculadas com a espécie *Gigaspora margarita* (65,2%) e *Glomus etunicatum* (63,2%) (Tabela 1), entretanto não houve diferença para produção de matéria seca e altura entre os tratamentos inoculados. Apesar de não haver especificidade na formação dessas associações fungo-planta, pode existir uma certa "habilidade discriminatória", onde, segundo Marschner & Dell (1994), certas espécies de fungos podem possuir grande capacidade para colonizar o hospedeiro, mas a proporção de hifas externas, que são estruturas que permitem a maior absorção de nutrientes, varia muito entre as espécies de FMAs.

Para os teores de fenóis totais, não houve interação significativa entre os fatores tratamentos microbiológicos e adubação (Tabela 2). Verificou-se que para tratamentos microbiológicos a inoculação com a espécie *Glomus etunicatum* proporcionou maiores teores de fenóis totais, sendo diferente em relação ao tratamento com a espécie *Gigaspora margarita* (Tabela 2). Siqueira *et al.* (2002), relatam que os FMAs podem aumentar as concentrações de certos metabólitos secundários. Verificou-se, ainda, que não houve diferença, para teores de fenóis totais, entre os tratamentos com e sem adubação (Tabela 2). De forma semelhante Borella *et al.* (2001) não observaram influência de adubação mineral no rendimento de flavonóides em carqueja. Santos & Blatt (1998) não observaram diferença no teor de fenóis totais de folhas de *Pyrostegia venusta* Miers coletada na mata e no cerrado, onde os solos possuem níveis diferentes de fertilidade.

Com relação ao conteúdo de fenóis totais, observou-se que plantas de carqueja inoculadas com a espécie *Glomus clarum*, na ausência de adubação, proporcionaram aumento de 500% em relação ao tratamento controle (Tabela 2). Na presença de

adubação, as plantas inoculadas com as espécies *Glomus clarum* e *Gigaspora margarita* proporcionaram incrementos de 84% e 75%, respectivamente, no conteúdo de fenóis totais em relação ao tratamento controle (Tabela 2). As plantas inoculadas com a espécie *Glomus etunicatum* e *Acaulospora scrobiculata* foram as que tiveram menores porcentagens de colonização micorrízica (Tabela 1) e produção de matéria seca e altura (Tabela 1) o que proporcionou menores conteúdos de fenóis totais (Tabela 2).

Os resultados do presente trabalho mostram a influência de espécies de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de plantas de carqueja, inclusive no teor e conteúdo de fenóis totais. Existe a necessidade de novos trabalhos para se compreender o mecanismo pelo qual os fungos micorrízicos arbusculares atuam na produção de fenóis totais.

CONCLUSÃO

A inoculação das plantas de carqueja com a espécie *Glomus clarum*, independente da utilização de adubação mineral, proporcionou maior produção da matéria seca da parte aérea e maior altura das plantas;

Os fungos micorrízicos arbusculares influenciaram, independente da utilização de adubação, o teor de fenóis nas plantas de carqueja;

As maiores produções de fenóis totais foram obtidas em plantas inoculadas com a espécie *Glomus clarum*.

AGRADECIMENTO

A Rozeli Coelho Silva, da Assessoria Técnica em Projetos de Fitoterapia, Secretária Municipal de Saúde e Horta de Plantas Medicinais de Vargem Alta-

ES, pelo exemplo de dedicação no estudo das plantas medicinais e por ceder as mudas de carqueja.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALBUQUERQUE, P.P., COSTA, S.M.G. Fungos micorrízicos arbusculares em *Ageratum conyzoides* L. e *Plantago major* L. In: **BIODINÂMICA DO SOLO - FERT BIO, 2000**, Santa Maria. Anais... Santa Maria, 200. p.3.
- BORELLA, J.C., FONTOURA, A. MENEZES JR. A. *et al.* Influência da adubação mineral (N-P-K) e sazonalidade no rendimento e teor de flavonóides em indivíduos masculino de *Baccharis trimera* Less. (Asteraceae) – Carqueja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.1, p.99-102, 2001.
- BIASI, L.A., DE BONA, C.M. Propagação de Carqueja (*Baccharis trimera* (Less.) A.P. de Candolle) por meio de estaquia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.2, n.2, p.37-43, 2000.
- FARIA, A.Y.K., MATSUOKA, M., OLIVEIRA, E.A.S. *et al.* Fungos micorrízicos arbusculares em sucupira-preta: efeito de substratos sobre a colonização. **Horticultura Brasileira**, v.18, p.913-4, 2000.
- GENE, R.M. CARTANA, C. ADZET, T. *et al.* Anti-inflammatory and analgesic activity of *Baccharis trimera*: identification of active constituents. **Planta Medica**, v. 62, p.232-5, 1996.
- GERDEMANN, J.W., NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 46, n.1, p.235-46, 1963.
- GIOVANNETTI, M., MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring VA mycorrhizal infection in roots. **The New Phytologist**, v.84, p.489-500, 1980.
- KOSKE, R.T., GEMMA, J.N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. **Mycological Research**, v.92, p.488-505, 1989.
- MARSCHNER, H., DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant and Soil**, v.159, p.89-102, 1994.
- MARTINS, M.A., GONÇALVES, G.F., SOARES, A.C.F. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares associados a compostos fenólicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.7, p.1465-71, 2000.
- SANTOS, M.D., BLATT, C.T.T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. da mata e do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.21, n.2, p.2-9, 1998.
- SMITH, S.E., READ, D.J. **Mycorrhizal Symbiosis**. California: Academic Press, 1997. 605p.
- SATO, A.Y., NANNETTI, D. DE C., PINTO, J.E.B.P. *et al.* Fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento de mudas de helicônia e gérbera micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, v.17, n.1, p.25-8, 1999.
- SIQUEIRA, J.O., LAMBAIS, M.R., STÜRMER, S.L. Fungos micorrízicos arbusculares: características, simbiose e aplicação na agricultura. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.25, p.12-21, 2002.
- SOARES, A.C.F., MARTINS, M.A. Influência de fungos micorrízicos arbusculares, associada à adição de compostos fenólicos, no crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.24, p.731-40, 2000.
- SWAIN, T., HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal Science Food Agriculture**, v.10, p.63-8, 1959.