



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MANEJO FLORESTAL E SILVICULTURA**

**IDENTIFICAÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA DO ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* spp.)
NO MUNICÍPIO DE MOJÚ, PA E AVALIAÇÃO NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO
MICELIAL *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS**

ELAINE CRISTINA PACHECO DE OLIVEIRA
Mestranda

Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Ciências Florestais para obtenção do Título de Mestre

Orientador: Dr. Osmar Alves Lameira
Co-Orientador: Dr. Paulo Luiz Contente de Barros

Belém
2004



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

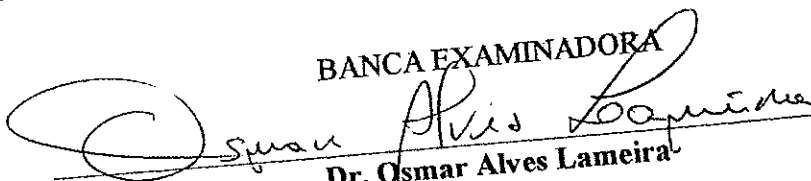
**IDENTIFICAÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA DO ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera* spp.)
NO MUNICÍPIO DE MOJÚ, PA E AVALIAÇÃO NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO
MICELIAL *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS**

ELAINE CRISTINA PACHECO DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada a Universidade Federal
Rural da Amazônia, como parte das exigências
do Curso de Mestrado em Ciências Florestais,
para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em Dezembro de 2004.

BANCA EXAMINADORA



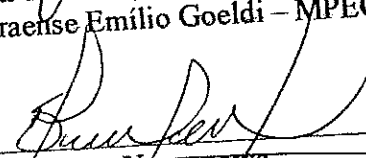
Dr. Osmar Alves Lameira
Orientador
Embrapa Amazônia Oriental



Dra. Kelly de Oliveira Cohen
Embrapa Amazônia Oriental



Dra. Maria das Graças Bichara Zoghbi
Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG



Dr. Sueo Numazawa
Universidade Federal Rural da Amazônia

A DEUS

Ofereço

Aos meus pais, **SILVIO** e **IDALINA**, pelo eterno apoio.

Aos meus irmãos, **LISSANDRA** e **SILVIO ROBERTO**, pelo carinho.

Aos meus avós, **SEBASTIÃO** e **MARIA**, **ANTÔNIO** e **FLÁVIA** (*in memoriam*).

Que compreenderam todos os momentos de ausência e pelo amor incondicional.

DEDICO

"Tudo tem seu tempo e até certas manifestações mais vigorosas e originais entram em voga ou saem de moda. Mas a sabedoria tem uma vantagem: é eterna."

Baltasar Gracián

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e por guiar todos os meus passos me livrando de todo mal.

Aos meus pais, Silvio e Idalina pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos, Lissandra e Silvio Roberto pelo carinho e amizade.

Ao Sr. Abdon Alberto dos Santos, por seu incansável incentivo, companheirismo e apoio na construção da minha vida profissional.

Aos meus familiares, que de alguma forma colaboraram por mais este passo em minha vida.

Ao pesquisador, Dr. Osmar Alves Lameira pela amizade, compreensão, apoio e pela incansável orientação transmitida.

Ao Prof. Dr. Paulo Luís Contente de Barros, pelos ensinamentos e sugestões.

À Universidade Federal Rural da Amazônia, por proporcionar a formação de novos profissionais.

Ao Cnpq e Capes, pelo apoio a pesquisa.

Aos meus colegas de mestrado da turma de 2003, em especial minha companheira de todas as horas Daniella Mônica por sua amizade verdadeira.

Aos professores do corpo docente da Universidade Federal Rural da Amazônia, pela transmissão de conhecimentos.

À Embrapa Amazônia Oriental, por ter me acolhido e em especial a todos os colegas do Laboratório de Biotecnologia.

À amiga Iracema Cordeiro, por sua amizade, presteza e seu incentivo em todos os momentos.

Ao Sr. Gerson da Embrapa Amazônia Oriental, por ter ajudado nas coletas de campo.

À Dra. Graça Zoghbi do Museu Paraense Emílio Goeldi, por ter colaborado com as análises químicas, pela transmissão de seus conhecimentos e presteza.

Ao Dr. Alberdan dos Santos, pela contribuição e incentivo.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Pará, Ingrid, Diana e Zé Luiz, por toda a presteza e apoio.

Ao Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, em especial ao Dr. Luiz Poltroniere, Sra. Carmem e Zé Maria.

A Prof. Dra. Izildinha Miranda, por ter representado com tanta garra e determinação a Coordenação do Curso de Mestrado em Ciências Florestais da Universidade Federal Rural da Amazônia.

As secretárias da Pós-Graduação, Shirley e Renata, por toda a paciência e respeito no período deste curso.

A todos que colaboraram de alguma forma na concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	DEDICATÓRIA.....	i
	EPÍGRAFE.....	ii
	AGRADECIMENTOS.....	iii
	SUMÁRIO.....	v
	LISTA DE TABELAS.....	vii
	LISTA DE FIGURAS.....	viii
	CAPITULO I - INTRODUÇÃO GERAL.....	9
1.1	RESUMO GERAL.....	9
1.2	APRESENTAÇÃO.....	12
1.2.1	Aspectos gerais do gênero <i>Copaifera</i>	12
1.2.2	Espécies fúngicas.....	17
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
	CAPÍTULO II - IDENTIFICAÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA DO ÓLEO DE COPAÍBA (<i>Copaifera</i> spp.) NO MUNICÍPIO DE MOJU-PA.....	22
2.1	RESUMO.....	22
2.2	INTRODUÇÃO.....	24
2.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.3.1	Caracterização da área.....	25
2.3.2	Caracterização das espécies.....	27
2.3.3	Coleta do óleo.....	28
2.3.4	Análise das amostras.....	28
2.3.4.1	Análise dos componentes voláteis por CG.....	29
2.4	Resultados e Discussão.....	29
2.5	Conclusões.....	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

**CAPÍTULO III - AVALIAÇÃO DO ÓLEO DE COPAIBA (*Copaifera* spp.)
NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL *IN VITRO* DE
FITOPATÓGENOS**

		42
3.1	RESUMO.....	42
3.2	INTRODUÇÃO.....	44
3.3	Material e Métodos.....	45
3.4	Resultados e Discussão.....	46
3.5	Conclusões.....	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Principais componentes voláteis dos óleo-resinas de <i>Copaifera</i>	34
Tabela 2.	Resumo da análise de variância da avaliação do óleo-resina de <i>Copaifera</i> na inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de fitopatógenos.....	47
Tabela 3.	Efeito do óleo-resina de espécies de <i>Copaifera</i> e do Dithane M 45 na avaliação da inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> de fitopatógenos.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aspecto da árvore de <i>Copaifera martii</i> Hayne (A); Inflorescência de <i>Copaifera reticulata</i> Ducke.....	13
Figura 2	Aspecto da madeira de <i>Copaifera</i> sp.....	15
Figura 3	Campo Experimental do Mojú da Embrapa Amazônia Oriental.....	26
Figura 4	Mapa da Microrregião de Tomé-Açu onde se localiza o Município de Mojú.....	26
Figura 5	Processo utilizado na extração do óleo-resina de copaíba. Trado tradicional (A); Orifícios (B) e Cano PVC (C).....	28
Figura 6	Precipitação pluviométrica do período setembro de 2003 a agosto de 2004 e média dos últimos 24 anos do município de Mojú, PA.....	30
Figura 7	Média de produção (ml) de óleo de espécies de copaíba do período setembro de 2003 a agosto de 2004. Mojú, PA.....	32
Figura 8	Óleo-resina de espécies de <i>Copaifera</i> . <i>C. reticulata</i> (A), <i>C. duckei</i> (B) e <i>C. martii</i> (C).....	33
Figura 9	Cromatograma do óleo-resina da espécie <i>C. duckei</i>	35
Figura 10	Cromatograma do óleo-resina da espécie <i>C. reticulata</i>	36
Figura 11	Cromatograma do óleo-resina da espécie <i>C. martii</i>	37
Figura 12	Inibição do crescimento micelial do fungo <i>Rhizoctonia solani</i> por óleo-resina de <i>Copaifera</i> . A - <i>C. duckei</i> e Dithane M 45; B - <i>C. reticulata</i> e Dithane M 45.....	48
Figura 13	Inibição do crescimento micelial do fungo <i>Sclerotium rolfsii</i> por óleo-resina de <i>Copaifera</i> . A - <i>C. duckei</i> e Dithane M 45; B - <i>C. duckei</i> e <i>C. reticulata</i> ; C - <i>C. reticulata</i> e Dithane M 45.....	48
Figura 14	Inibição do crescimento micelial do fungo <i>Macrophomina phaseolina</i> por óleo-resina de <i>Copaifera</i> . A - <i>C. duckei</i> e Dithane M 45; B - <i>C. reticulata</i> e Dithane M 45.....	49

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL

1.1-RESUMO GERAL

A exploração de recursos medicinais no Brasil está relacionada, em grande parte, à coleta extensiva e extrativa de material silvestre. Apesar da exportação de várias espécies medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos, poucas espécies chegaram ao nível de serem cultivadas, mesmo em pequena escala. O fato mais marcante é quando se consideram as espécies nativas, onde as pesquisas básicas ainda são incipientes. Dentre os inúmeros vegetais nativos com ação medicinal e que apresentam substâncias químicas biologicamente ativas, está o gênero *Copaifera*, compreendendo diversas espécies produtoras de um óleo-resina extraído do tronco das árvores. Atualmente seu uso está mais direcionado para o óleo, na área medicinal, com ação específica contra numerosas enfermidades, tais como cicatrizantes de feridas e úlceras, antitético, especialmente sobre o umbigo de recém-nascidos, além de atuar contra catarro pulmonar e bronquites. No processo de extração do óleo de copaíba não é considerada a época mais apropriada do ano, normalmente, o coletor extrai em qualquer período não levando em consideração fatores climáticos como a precipitação pluviométrica, que na região amazônica está diretamente relacionada com a produção de várias culturas. A presença de substâncias químicas em uma determinada espécie pode estar ligada a fatores climáticos. No que se refere às pesquisas realizadas para avaliar o efeito medicinal da copaíba, além da ação antiinflamatória considerada como a mais estudada, a ação antimicrobiana e antifúngica podem ser consideradas alternativas para controle de fungos patogênicos e fitopatogênicos. Considerando a carência de informações técnico-científicas sobre a época propícia para a coleta do óleo de copaíba e da atividade antifúngica do óleo-resina o trabalho teve como objetivo identificar a época mais adequada para coleta desse óleo através da quantificação e qualificação mensal para o município de Mojú, PA, bem como, avaliar as atividades antifúngicas de duas espécies de *Copaifera* no crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. Amostras de óleo-resina de *Copaifera duckei*, *Copaifera martii* e *Copaifera reticulata* e foram coletadas no Campo Experimental do Mojú da Embrapa Amazônia Oriental, localizado no município de Mojú, PA. O período de coleta foi de setembro de 2003 a agosto de 2004. Nos meses de setembro e outubro ocorreram as maiores produções de óleo para a espécie *C. reticulata* e de setembro a novembro para a espécie *C. duckei*, coincidindo com o período de menor precipitação pluviométrica. A menor produção de óleo ocorreu no período de janeiro a maio de 2004, principalmente para as espécies *C. reticulata* e *C. duckei*, coincidindo com o período mais chuvoso. As espécies *C. duckei* e *C. reticulata*, produziram respectivamente, um óleo-resina de aspecto líquido e de coloração vermelho intenso e amarelo claro. Enquanto, a *C. martii* produziu um óleo-resina denso de coloração marrom. O teor do sesquiterpeno, β -bisaboleno na *C. duckei* foi superior a do β -cariofileno em todos os meses do ano, ocorrendo variações nos percentuais das substâncias independentes do período de chuvas. Na *C. reticulata* o teor do sesquiterpeno β -cariofileno foi superior a do β -bisaboleno independente do período de precipitação pluviométrica. A *C. martii*, apresentou a concentração do sesquiterpeno α -copaeno superior ao Δ -amorfino, ocorrendo variações nos percentuais independentes do período de chuvas. Avaliou-se a atividade antifúngica do óleo-resina das espécies *C. duckei* e *C. reticulata* por meio de ensaios biológicos, contra os fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*, todos em meio BDA. Para o fungo da espécie *Rhizoctonia solani* entre os

tratamentos testados o óleo-resina das duas espécies de *Copaifera* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial. O óleo-resina de *C. duckei* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfsii*. Na inibição do crescimento micelial do fungo da espécie *Macrophomina phaseolina* o óleo-resina de *C. duckei* foi o que apresentou maior eficiência.

Palavras-chave: *Copaifera*, óleo-resina, precipitação pluviométrica, sesquiterpenos, atividade antifúngica.

ABSTRACT

The exploration of medicinal resources in Brazil is related, to a large extent, to the extensive and extractive collection of wild material. Despite the exportation of some medicinal species in the rude form or of its by-products, few species had arrived at the level to be cultivated, same in small scale. The fact important is when if they consider the native species, where the basic research still is incipient. Amongst innumerable native vegetables with medicinal action and that they present active chemical substances biologically, it is the *Copaifera* sort, understanding diverse producing species of an extracted oil-resin of the trunk of the trees. Currently its use more is directed for the oil, in the medicinal area, with specific action against numerous diseases, such as cicatrizants of wounds and ulcers, antitetanus, especially on navel of just-been born, besides acting against catarrh pulmonary and bronchitis. In the process of extration of the oil of copaiba the time most appropriate of the year is not considered, normally, the collector extracts in any period not leading in consideration climatic factors as the pluviometric precipitation, that in the Amazon region directly is related with the production of some cultures. The chemical substance presence in one determined species can be on the climatic factors. As for the carried through research to evaluate the medicinal effect of copaiba, beyond the considered anti-inflammatory action as the most studied, to the antimicrobial and antifungal action the pathogen and fitotopathogen can be considered alternative for control of pathogenic fungus. Considering the lack of technician-scientific information on the propitious time for the collection of the oil of copaiba, and the antifungal activity of the oil-resin the work had as objective to identify to the time most adequate for collection of this oil through the quantification and monthly qualification for the city of Mojú, Pará, as well as, to evaluate the antifungal activities of exactly. Oil-resin samples of *Copaifera duckei*, *Copaifera martii* and *Copaifera reticulata* had been collected in the Experimental Field of the Mojú of the Embrapa Eastern Amazon, located in the city of Mojú, Pará. The period of collection was of September of 2003 the August of 2004. In the months of September and October the biggest productions of oil for the specie *Copaifera reticulata* and of September had occurred the November for the specie *C. duckei*, coinciding with the period of lesser pluviometric precipitation. The lesser oil production occurred in the period of January the May of 2004, mainly for species *C. reticulata* and *C. duckei*, coinciding with the period rainiest. Species *C. duckei* and *C. reticulata*, had produced respectively, a oil-resin of liquid aspect and intense and yellow red coloration clearly. While the *C. martii* produced an oil-resin dense of brown coloration. The concentration of the sesquiterpene β -bisabollene in the *C. duckei* was greather of the β -cariophyllene in every month of the year, occurring variations in the percentages of independent substances of the period of rains. In the *C.*

reticulata, the concentration of the sesquiterpene β -caryophyllene it was superior of the independent β -bisabolene of the period of pluviometric precipitation. The sesquiterpene, β -bisabolene in the *C. martii*, presented similar concentrations during the year, independent of the period of rains. It was evaluated antifungal activity with of the oil-resin of species *C. duckei* and *C. reticulata* by means of biological assays, control fitopathogens *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*, all in BDA. For fungus of the specie *Rhizoctonia solani* enters the tested treatments the oil-resin of the two species of *Copaifera* was most efficient in the inhibition of the mycelial growth. The oil-resin of *C. duckei* was most efficient in the inhibition of the mycelial growth of fungus *Sclerotium rolfsii*. In the inhibition of the mycelial growth of fungus of *Macrophomina phaseolina* the species the oil-resin of *C. duckei* was what it presents greater efficiency.

Key words: *Copaifera*, oil-resin, pluviometric precipitation, sesquiterpene, antifungal activity.

1.2- APRESENTAÇÃO

1.2.1 Aspectos gerais do gênero *Copaifera*

A Amazônia brasileira, com extensão de 4.872.000 km², ocupa 65% do território amazônico continental, cerca de 57% do país e 28% do Continente Americano do Sul. Essa grande região caracteriza-se pela presença da floresta pluvial ou Hiléia, ocorrendo, no entanto, os campos de várzeas, além das florestas não hileianas (FALESI, 1992).

Em levantamentos sobre a flora útil da Amazônia cerca de 29% das plantas são exclusivamente medicinais e 38% como medicinal mais outro uso (VAN DEN BERG, 1982; DENEVAN et al., 1984; BENETT, 1992). Levando-se em consideração a vastidão da Amazônia com seus 4 milhões de km² e sua incrível variabilidade de espécies estimadas entre 50 e 60 mil somente para as superiores (CLEMENT et al., 1982) e o estado atual das pesquisas de botânica econômica na região, pode-se concluir que esta lista ainda poderá ser consideravelmente aumentada.

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana. Antigas civilizações, em diversos países, como na China e Índia, utilizavam e ainda hoje usufruem terapeuticamente dos vegetais. As plantas medicinais sempre foram objeto de estudo na tentativa de descobrir novas fontes de obtenção de princípios ativos. Através de dados fornecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), constata-se que o uso de plantas medicinais pela população mundial tem sido significativo nos últimos anos (MATOS, 1987).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de algumas espécies permanecerem sem o conhecimento dos seus princípios ativos. Dessa forma, os usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, a botânica, a farmacologia e a fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre essa excelente fonte medicinal natural, a flora mundial.

A exploração de recursos medicinais no Brasil, no entanto, está relacionada, em grande parte, à coleta extensiva e extrativa de material silvestre. Apesar da exportação de várias espécies medicinais na forma bruta ou de seus subprodutos, poucas espécies chegaram ao nível de serem cultivadas, mesmo em pequena escala. O fato mais marcante é quando se consideram as espécies nativas, onde as pesquisas básicas ainda são incipientes (BENETT, 1992).

Atualmente, como grande parte da população mundial é carente de elementos básicos para sobrevivência, tais como medicamentos, torna-se de extrema importância para os países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, adotarem políticas voltadas para os menos favorecidos. Dentre essas, pode-se citar o incentivo para a pesquisa e o comércio dos fitoterápicos, visto apresentarem custos inferiores, fácil aceitação e acesso.

Entre os inúmeros vegetais nativos com ação medicinal e que apresentam substâncias químicas biologicamente ativas, está o gênero *Copaifera*, compreendendo diversas espécies produtoras de um óleo-resina extraído do tronco das árvores de grande porte podendo alcançar até 40 metros de altura (Figura 1).

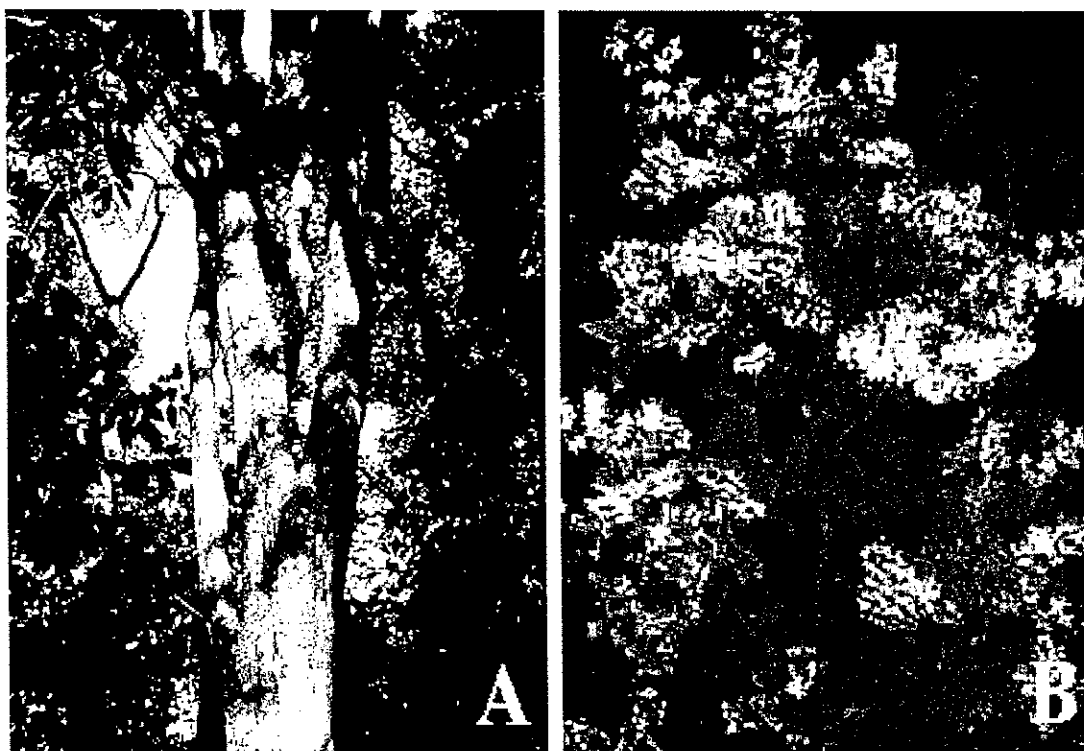


Figura 1. Aspecto da árvore de *Copaifera martii* Hayne (A); Inflorescência de *Copaifera reticulata* Ducke (B). Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2004.

Dentre as várias espécies que compõem o gênero *Copaifera*, destaca-se a *Copaifera duckei* Dwyer, encontrada em toda a Amazônia, ocorrendo principalmente na Amazônia Oriental, na Amazônia Ocidental e na Amazônia Central, a *Copaifera martii* Hayne, ocorrendo na Amazônia, na região sudeste, no Mato Grosso do Sul, no Paraná e em Santa Catarina e a *Copaifera reticulata* Ducke, encontrada principalmente na Amazônia e na região nordeste do Brasil. O óleo-resina é extraído do tronco das árvores de diversas espécies do gênero, sendo conhecido popularmente como óleo de copaíba ou bálsamo de copaíba podendo ser encontrado à venda em quase todas as feiras livres, mercados populares, ervanários e farmácias de produtos naturais de todo o país (VEIGA Jr. e PINTO, 2002).

Segundo Lawrence (1980), uma das espécies botânicas mais frequentemente usadas na produção de óleo de copaíba é a *C. reticulata* com 70% de utilização sobre as outras espécies. O gênero *Copaifera* pertence à família Leguminosae-Caesalpinoideae, sendo caracterizada principalmente por árvores compostas de folhas alternas com 2 a 6 pares de folíolos, com inflorescência branca, às vezes ligeiramente rosadas e sem pétalas. Seus frutos são legumes deiscentes com 3,5 á 4,0 cm, ovóides, com uma única semente, negra, oval e coberta com um arilo amarelo (ALMEIDA et al., 1998).

O gênero *Copaifera* possui grande plasticidade ecológica (capacidade de adaptação a diferentes ambientes), sendo encontrada nas seguintes regiões fitoecológicas do Brasil, cerrado, caatinga, mata seca, campos gerais, campos rupestres, floresta ombrófila densa, floresta ombrófila mista, floresta semidecidual, entre outras (CARVALHO, 1994).

Barata (1997), caracteriza o óleo-resina de *Copaifera* como proveniente da decomposição das paredes das células no interior do tronco da árvore. Este óleo se acumula internamente em cavidades, formando bolsas no interior do tronco da árvore. O óleo-resina de copaíba é um líquido transparente, consistente, de diferentes cores conforme a espécie, variando de amarelo claro ao marrom, sabor amargo, odor aromático, insolúvel em água e parcialmente solúvel em álcool. É constituído por uma parte resinosa (55 a 60%) e por uma parte volátil (40 a 50%) que é formada por óleos essenciais.

Dentre as várias utilidades da árvore de copaíba destacam-se seu uso madeireiro, medicinal, cosmético e industrial (NELSON, 1987; CARVALHO, 1994). Sua utilização madeireira ocorre em função de características como superfície lisa e lustrosa (Figura 2), textura média e uniforme, durável e de alta resistência a ataque de fungos xilófagos, e

apresenta baixa permeabilidade, sendo por isso, largamente utilizado na construção civil e naval (CARVALHO, 1994).

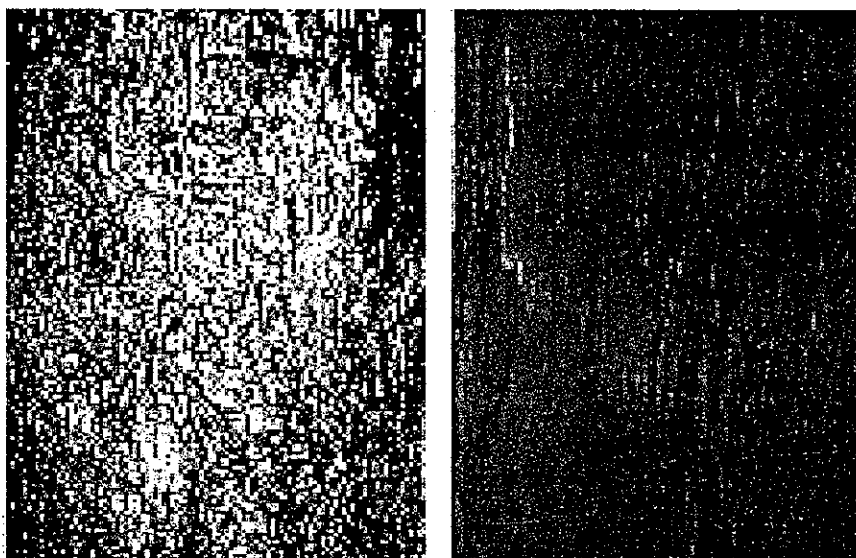


Figura 2. Aspecto da madeira de *Copaifera* sp.

Fonte: SOUZA, 1997.

Atualmente seu uso está também muito direcionado para o óleo, na área medicinal, com ação específica contra numerosas enfermidades, tais como cicatrizantes de feridas e úlceras, antitético, especialmente sobre o umbigo de recém-nascidos, além de atuar contra catarro pulmonar, bronquites rebeldes, dermatoses como a psoríase, e de apresentar ação antisséptica das vias urinárias (CORRÊA, 1984; MACIEL et al., 2002; RAO et al., 2002).

O óleo de copaíba tem sido utilizado na medicina popular e na indústria de cosméticos como se fosse uma única droga vegetal, apesar da existência de mais de 20 espécies de *Copaifera* no Brasil e das significativas diferenças de composição química que ocorrem entre elas. Atividades bactericida, antiinflamatória, anti-helmíntica, analgésica, gastroprotetora, antitumoral e tripanossomicida foram relatadas, muitas substâncias foram identificadas, mas ainda não está bem estabelecida a relação estrutura-atividade dos componentes do óleo de copaíba (CASCON et al., 2000).

Na medicina popular da região norte, o óleo de copaíba é utilizado de maneira intensa administrado topicamente sob a forma de pomadas, cremes ou *in natura*. (GODINHO

e VASCONCELOS, 2002). O óleo de copaíba é freqüentemente encontrado nos mercados municipais das cidades amazônicas e comercializado para os mercados nacional e internacional. Toda a produção é obtida manualmente na floresta por trabalhadores florestais. Não há informações sobre uma produção contínua desse produto. Sabe-se que, a extração do óleo é feita em árvores isoladas na floresta e que esporadicamente o extrator retorna à mesma árvore para outra coleta (ALENCAR, 1982).

A coleta do óleo de copaíba ainda é feita de maneira bastante rudimentar sem considerar nenhum critério. São vários os métodos relatados para a retirada do óleo. Antigamente, obtinha-se o óleo através de cortes a machado no tronco, o que inutilizava a árvore. A incisão em V, colocando-se abaixo vasos apropriados para receber o óleo, à semelhança da extração de borracha, e o chamado método do arrocho, que consiste em selar o tronco, abaixo das incisões, com embiras e cipós e coletar o óleo da árvore até o seu esgotamento, provocando sua morte, são métodos há muito tempo abandonados. A retirada por meio de bomba de sucção também é descrita, porém pouco difundida (VEIGA Jr e PINTO, 2002; VEIGA Jr., et al., 2003).

A única prática de coleta não agressiva é aquela realizada através de uma incisão com trado a cerca de 1 metro de altura do tronco. Terminada a coleta, o orifício é vedado com argila para impedir a infestação da árvore por fungos ou cupins. A argila pode ser facilmente retirada, permitindo que se façam outras coletas no mesmo tronco, obtendo-se quantidade de óleo igual ou mesmo superior a da primeira retirada. Nesta primeira extração a quantidade de óleo obtida varia bastante. Alguns cronistas descreveram que uma única árvore pode gerar até 40 ou 50 litros de óleo por ano, apesar de nem todas as espécies serem capazes de produzir esta quantidade (PIO, 1931).

No processo de extração não é considerada a época mais apropriada do ano. Normalmente, o coletor extrai em qualquer época não levando em consideração fatores climáticos como a precipitação pluviométrica, que na região amazônica está diretamente relacionada com a produção das espécies.

De acordo com o SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO A MICRO E PEQUENA EMPRESA (SEBRAE, 1998), em testes de produção, foi verificada a máxima produção de 3,5 litros de óleo por planta, porém este volume varia conforme a espécie, o tipo de solo, a disponibilidade de água, a época do ano e a herança genética.

1.2.2 Espécies fúngicas

De acordo com Cimanga et al. (2001), diversas plantas medicinais têm revelado algumas atividades biológicas importantes como, por exemplo, antibacterianas, antifúngicas e inseticidas, com diversos metabólitos secundários já isolados.

A moderna agricultura baseou-se no uso indiscriminado de agentes químicos, colocando em risco o meio ambiente. Os resultados destas práticas, por vezes desastrosas, conseguiram despertar os pesquisadores para a busca de tecnologias que não favoreçam o desequilíbrio ecológico. Assim, o controle biológico de doenças em plantas apresenta-se como alternativa importante e realista.

O gênero *Rhizoctonia* (De Candolle) inclui fungos agonomícetos provenientes do solo e que produzem escleródios indiferenciados (não constituídos internamente por camadas de células especializadas). Muitas espécies de *Rhizoctonia* constituem fitopatógenos, algumas das quais apresentam ampla gama de espécies hospedeiras (SNEH et al., 1991). Nesse sentido, destaca-se a espécie *Rhizoctonia solani* Kuhn [*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk.], a qual, é uma das principais causadoras de podridões radiculares e no tombamento em geral. Destacando-se a queima-da-bainha e a mancha-da-bainha do arroz, componente essencial do complexo de doenças fúngicas do colmo e da bainha em arroz irrigado, em diferentes países, tanto em climas temperados como tropicais (WEBSTER e GUNELL, 1992).

Outro fitopatógeno que merece destaque é o *Sclerotium rolfsii* Sacc, uma espécie responsável pela chamada “podridão branca”, cujos sintomas são, murcha das plantas, principalmente nas horas mais quentes do dia, além de podridão nas raízes. Além disso, causa escurecimento da região do colo da planta e a formação de um micélio branco de aspecto cottonoso nas regiões atacadas e na superfície do solo (DANTAS et al., 1999). O patógeno pode causar tombamento em mudas e podridão do coleto e de raízes em plantas mais velhas, resultando em murcha, o que, na maioria das vezes, culmina com a morte da mesma. *S. rolfsii* é amplamente distribuído pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo favorecido por condições de temperaturas médias em torno de 27°C e alta umidade relativa do ar. Na ausência de hospedeiros, o fungo sobrevive no solo por meio de escleródios e pelo crescimento micelial saprofítico e sua disseminação é feita, principalmente, pelo transporte de solo infestado. Áreas altamente infestadas por *S. rolfsii* podem ficar comprometidas para o cultivo de muitas culturas (PUNJA e GROGAN, 1981).

O fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Gold, é uma espécie de fungo relatado em mais de 500 espécies de plantas. É um agente causal da podridão preta das raízes da soja e causa prejuízos a culturas em condições de clima seco. A transmissão por semente parece não ser importante, uma vez que o inóculo existe na maioria dos solos, porém sementes infectadas podem ter a germinação reduzida. A infecção das plantas se inicia pelas raízes. Embora essa infecção possa ocorrer nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta, os sintomas são visíveis nos entrenós inferiores, após a polinização. A podridão por *Macrophomina* é favorecida por altas temperaturas (37°C) e baixa umidade no solo. A sobrevivência de *M. phaseolina* no solo bem como sua disseminação ocorre na forma de esclerócios. Esse fungo apresenta um grande número de hospedeiros, inclusive o sorgo e a soja o que torna a rotação de cultura uma medida de controle pouco eficiente (VIVAS e BARROS, 1992).

A presença de espécies fúngicas patógenas a vegetais de grande interesse econômico resulta em indesejável redução na qualidade da produção vegetal. Para o combate desses agentes nocivos, utilizam-se substâncias químicas eficazes, se usadas de maneira racional, porém, quando exageradas, podem ser prejudiciais ao homem. Na tentativa de minimizar a ação tóxica dessas substâncias faz-se necessário encontrar maneiras alternativas para minimizar a ação desses patógenos por meio de um controle biológico, utilizando compostos químicos extraídos de plantas.

No que se refere às pesquisas realizadas para avaliar o efeito medicinal do óleo-resina de copaíba, a ação antiinflamatória é considerada por Veiga Jr. e Pinto (2002), como a mais estudada, citando também seu uso como analgésico, antimicrobiano, anti-séptico, antifúngico, entre outros, podendo ser uma das alternativas para controle de fungos fitopatógenos.

Considerando a carência de informações técnico-científicas sobre a época propícia para a coleta do óleo de copaíba e da atividade antifúngica do óleo-resina, o trabalho teve como objetivo identificar a época mais adequada para coleta desse óleo através da quantificação e qualificação mensal para o município de Mojú, PA, bem como, avaliar suas atividades antifúngicas no crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, J. C. da. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne – Leguminosae, na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v. 11, n. 1, p.3-11, 1982.

ALMEIDA, J. C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne-Leguminosa, na Amazônia Central. 1 – Germinação. **Acta Amazonica**, v.11, n.1, p.3-11, 1998.

BARATA, L. E. S. 1997. **Copaíba: propriedades farmacológicas, etnofarmacologia, usos**. Rio de Janeiro: GEF/Instituto Pró-Natura, (Relatório, 1), 1985.

BENNETT, B. C. Plants and people of the Amazonian rainforests. **Bioscience**, Washington, v.42, n.8, p.599-607. 1992.

CARVALHO, P. E. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa-SPI, 1994. 640p.

CASCON, V.; GILBERT, B.; ARAUJO, G.L.; ROCHA, L.M.; TEIXEIRA, L.A.; CARVALHO, E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo resina de *Copifera* spp. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16. Recife, 2000, **Resumos...UFPE: Recife, 2000**, p. 223.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T. De; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Correlation between chemical composition and activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v.79, n.2, p. 213-220, feb. 2001.

CLEMENT, C. R.; MULLER, C. H.; FLORES, W. C. Recursos genéticos de espécies frutíferas nativas da Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v.12, n.4, p. 677-695. 1982.

CORRÊA, P. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Ministério da Agricultura. Rio de Janeiro, 1984. v. 6, p. 612-615.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; COELHO Netto, R. A.; SILVA, R. L. X. Caracterização de isolados de *Sclerotium rolfsii* através de compatibilidade vegetativa e análise isoenzimática. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, p.279. 1999.

DENEVAN, W. M.; TREACY, J. M.; ALCORN, J. B.; PADOCH, C.; DENSLOW, J. e PAITAN, S.F. Indigenous agroforestry in the Peruvian Amazon: Bora Indian Management of Swidden Fallows. **Interciencia**, v. 9, n.6, p. 346-357. 1984.

FALESI, I.C. Efeitos da queima da biomassa florestal nas características do solo da **Amazônia**. In: COSTA, J. M. M. da, ed., *Amazônia: Desenvolvimento ou retrocesso*. Belém: CEJUP, 1992. p.140-162.

GODINHO, O. E. S.; VASCONCELOS, A. F. F. de. Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaíba. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1057-1060, nov./dez. 2002.

LAWRENCE, B. M. **Progress in essential oil. Natural Flavor and Fragrance Materials**. FAO, United Nations, 1980, v. 5, p. 32.

MACIEL, M. A. M., PINTO, A. C., VEIGA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, maio/jun. 2002.

MATOS, F. J. de A. **O Formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC – Universidade Federal do Ceará, 1987. 113p.

NELSON, B. W. O gênero *Copaifera*, fonte de óleo-resina. In: PRANCHE, G. T. **Botânica econômica de algumas espécies amazônicas; abiu, açaí, araçá-boi, buriti, camu-camu; cubiu, copaíba, piaçava, pataúá, pupunha, sorva e tucumã**. Manaus: [s.n], 1987. 898p. Relatório de Pós-graduação em Botânica.

PIO, C. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, 1931, 370p.

PUNJA, Z. K.; GROGAN, R. G. Eruptive Germination of Sclerotia of *S. rolfsii*. **Phytopathology**, St. Paul, v.71, 1981, p.1092-1099.

RAO, V. S. N.; COSTA-LOTUFO, L. V.; CUNHA, G. M. A.; FARIAS, P. A. M.; VIANA, G. S. B.; CUNHA, K. M. A.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V. The citotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* óleo-resin. **Toxicon**, Oxford, v. 40, n. 8, p. 1231-1234, Aug. 2002.

SEBRAE-AC. **Copaíba: produtos potenciais da Amazônia**, Brasília. MMA/SUFRAMA/SEBRAE/GTA, 1998. 28p.

SNEH, B., BURPEE, L.; OGOSHI, A. Identification of *Rhizoctonia* species. Saint Paul, Minnesota, USA. APS Press. 1991. 46p.

VAN Den Berg, M. E.; **Plantas medicinais da Amazônia**. Contribuição ao seu conhecimento sistemático; CNPq-MPEG: Brasília, 1982, p. 145.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25. n. 2. p.273-286, 2002.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PATITTUCI, M. L.; PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. Disponível em: <http://www.quimicanova.com.br>. Acesso em 18 out. de 2003.

VIVAS, M. J. C.; BARROS, M. L. de. Contribuição para a pesquisa da resistência a *Macrophomina phaseolina* em cultivares de girassol. Lisboa, 1992, v. 9, 35p.

WEBSTER, R. K.; GUNELL, P. S. **Compendium of rice diseases**. St. Paul: APS, 1992. 62 p.

CAPÍTULO II – IDENTIFICAÇÃO DA ÉPOCA DE COLETA DO ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA (*Copaifera* spp.) NO MUNICÍPIO DE MOJÚ, PA.

2.1 RESUMO

No processo de extração do óleo-resina de copaíba não é considerada a época mais apropriada do ano, normalmente o coletor extrai em qualquer época não levando em consideração fatores climáticos como a precipitação pluviométrica, que na região amazônica está diretamente relacionada com a produção de várias culturas. A presença de substâncias químicas em uma determinada espécie pode estar ligada a fatores climáticos. Considerando a presença desses compostos químicos nas espécies de copaíba e a falta de informações na literatura consultada sobre a época mais indicada para extração do óleo, o presente trabalho teve como objetivo identificar a época mais adequada para coleta do óleo para o município de Mojú, PA, através da quantificação e qualificação do óleo correlacionados com a precipitação pluviométrica. Amostras de óleo-resina de *Copaifera duckei*, *Copaifera martii* e *Copaifera reticulata* foram coletadas no Campo Experimental do Mojú da Embrapa Amazônia Oriental, localizado no município de Mojú, PA. O período de coleta foi de setembro de 2003 a agosto de 2004. Nos meses de setembro e outubro ocorreram as maiores produções de óleo para a espécie *C. reticulata* e de setembro a novembro para a espécie *C. duckei*, coincidindo com o período de menor precipitação pluviométrica. A menor produção de óleo ocorreu no período de janeiro a maio de 2004, principalmente para as espécies *C. reticulata* e *C. duckei*, coincidindo com o período mais chuvoso. As espécies *C. duckei* e *C. reticulata*, produziram respectivamente, um óleo-resina de aspecto líquido e de coloração vermelho intenso e amarelo claro. Enquanto, a *C. martii* produziu um óleo-resina denso de coloração marrom. A concentração do sesquiterpeno, β -bisaboleno na *C. duckei* foi superior a do β -cariofileno em todos os meses do ano, ocorrendo variações nos percentuais das substâncias independentes do período de chuvas. Na *C. reticulata*, a concentração do sesquiterpeno, β -cariofileno foi superior a do β -bisaboleno independente do período de precipitação pluviométrica. A concentração do sesquiterpeno α -copaeno na *C. martii*, foi superior ao Δ -amorfenos e apresentou variações nos percentuais das substâncias, independentes do período de chuvas.

Palavras-chave: *Copaifera*, precipitação pluviométrica, produção de óleo, sesquiterpenos.

ABSTRACT

In the process of extraction of the oil-resin of copaiba is not considered the time most appropriate of the year, normally, the collector extracts at any time not leading in consideration climatic factors as the pluviometric precipitation, that in the Amazon region directly is related with the production of some cultures. The chemical substance presence in one determined species can be on the climatic factors. Considering the presence of these chemical composites in the species of copaiba and the lack of information in the literature consulted on the indicated time more for extraction of the oil, the present work had as objective to identify the time most adequate for collection of the oil for the city of Mojú, Pará, through the quantification and correlated qualification of the oil with the pluviometric precipitation. Oil-resin of *Copaifera duckei*, *Copaifera martii* and *Copaifera reticulata* had been collected in the Experimental Field of the Mojú of the Embrapa Eastern Amazon, located in the city of Mojú, Pará. The period of collection was of September of 2003 the August of 2004. In the months of September and October the biggest productions of oil for the species *C. reticulata* and of September had occurred the November for the species *C. duckei*, coinciding with the period of lesser pluviometric precipitation. The lesser oil production occurred in the period of January the May of 2004, mainly for species *C. reticulata* and *C. duckei*, coinciding with the period rainiest. Species *C. duckei* and *C. reticulata*, had produced respectively, an oil resin of liquid aspect and intense and yellow red coloration clearly. While the *C. martii* produced an oil-resin dense of brown coloration. The concentration of the sesquiterpene, β -bisabolene in the *C. duckei* was more of the β -caryophyllene in every month of the year, occurring variations in the percentages of independent substances of the period of rains. In the *C. reticulata*, the concentration of the sesquiterpene, β -caryophyllene it was more of the independent β -bisabolene of the period of pluviometric precipitation. The sesquiterpene α -caryophyllene in the *C. martii* was more of the Δ -amorphene, occurring variations in the percentages of independent substances of the period of rains.

Key words: *Copaifera*, pluviometric precipitation, oil production, sesquiterpenes.

2.2 INTRODUÇÃO

As árvores “copaíba”, assim denominadas vulgarmente, são plantas pertencentes ao gênero *Copaifera*, apresentando no interior do tronco um óleo-resina ou bálsamo (MESQUITA 1989, MACIEL et al., 2002; PINTO et al., 2002). Em todas as espécies, os canais secretores acham-se na região cortical dos caules, porém dispostos de modo que se prolonguem até o lenho, onde existem em notável abundância, formando bolsas. Os canais de uma zona não têm comunicação com outras e, por isso, os extrativistas retiram o óleo de diversos pontos, até o centro do caule, destruindo a árvore ou tornando-a incapaz de produzir o óleo durante muitos anos (CORRÊA, 1984).

No processo de extração do óleo de copaíba não é considerado o período mais apropriado do ano, normalmente, o coletor extrai em qualquer época não levando em consideração fatores climáticos como a precipitação pluviométrica, que na região amazônica está diretamente relacionada com a produção de várias culturas. Em algumas espécies cultivadas na região como na cultura do dendê a produção de óleo está diretamente relacionada com o período de chuvas, ocorrendo maior produção na época mais chuvosa (MORAES e BASTOS, 1972).

O óleo natural de copaíba apresenta uma certa variedade nos seus componentes, parecendo essa ser mais sensível a fatores abióticos (como insetos e fungos) do que à luminosidade e nutrientes. Como produto florestal primário, a exploração do óleo de copaíba apresenta algumas características originárias de seu manejo que vão definir, em última instância, as possibilidades de suas aplicações industriais e, portanto, estabelecer o seu padrão de qualidade para o mercado. A principal delas refere-se à eventual mistura dos óleos de espécies botânicas variadas, ou ainda de espécimes de idades e locais distintos. Este fato é sobremaneira agravado, pela dificuldade de se proceder à diferenciação morfológica entre as espécies, e mesmo pela dificuldade prática em se obter órgãos florais das espécies, dados o curto período em que ocorrem e a elevada altura das árvores (TAPPIN et al., 2004).

No que se refere à composição química dos óleos-resinas das espécies de *Copaifera*, observa-se a predominância de sesquiterpenos, como o α -humuleno, α e β -selineno, β -bisaboleno e β -cariofileno (LANGENHEIM e FEIBERT, 1988; PINTO, 2000). O β -bisaboleno possui propriedades antiinflamatória e analgésica e o β -cariofileno é descrito na

literatura como anti-edêmico, antiinflamatório, bactericida e insetífugo (VEIGA Jr. e PINTO, 2002).

A composição química dos óleos de copaíba encontra-se citada em vários artigos científicos, onde foram utilizadas técnicas mais antigas, bem como, metodologias modernas de isolamento e de identificação, tais como cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa com colunas cromatográficas de fase estacionária quiral (β -ciclodextrina permetilada). Além dos sesquiterpenos foram detectados também diterpenos (LANGENHEIM e FEIBERT, 1988; VEIGA Jr. e PINTO, 2002).

A presença de substâncias químicas em uma determinada espécie pode estar atrelada a sua sazonalidade, variando conforme o ambiente, principalmente, aqueles ligados a fatores climáticos (MORAES e BASTOS, 1972). Nas espécies de *Copaifera* essa relação deve existir, podendo a concentração das substâncias variar ou não em função da temperatura, radiação solar e precipitação pluviométrica, dentre outros. Não foi encontrada na literatura, nenhuma referência sobre o assunto.

Considerando a presença desses compostos químicos de maneira geral nas espécies de copaíba e a falta de informações na literatura consultada sobre a época mais apropriada para extração de óleo, o trabalho teve como objetivo identificar a época mais adequada para coleta do óleo para o município de Mojú, PA, através da quantificação e qualificação do óleo correlacionados com a precipitação pluviométrica.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1- Caracterização da área

As amostras de óleo-resina de *C. duckei*, *C. martii* e *C. reticulata* foram coletadas no Campo Experimental do Mojú da Embrapa Amazônia Oriental, localizado no município de Mojú, PA (Figura 3), no Km 30 da rodovia PA-150, entre as coordenadas geográficas de 2° 08' 14" à 2° 12' 26" de latitude sul e 48° 47' 34" à 48° 14" de longitude a oeste de Greenwich e altitude de 16 m, possuindo uma área total aproximada de 1.059 ha (COSTA et al., 1998). O município de Mojú está localizado na Microrregião de Tomé-Açu, PA (Figura 4).

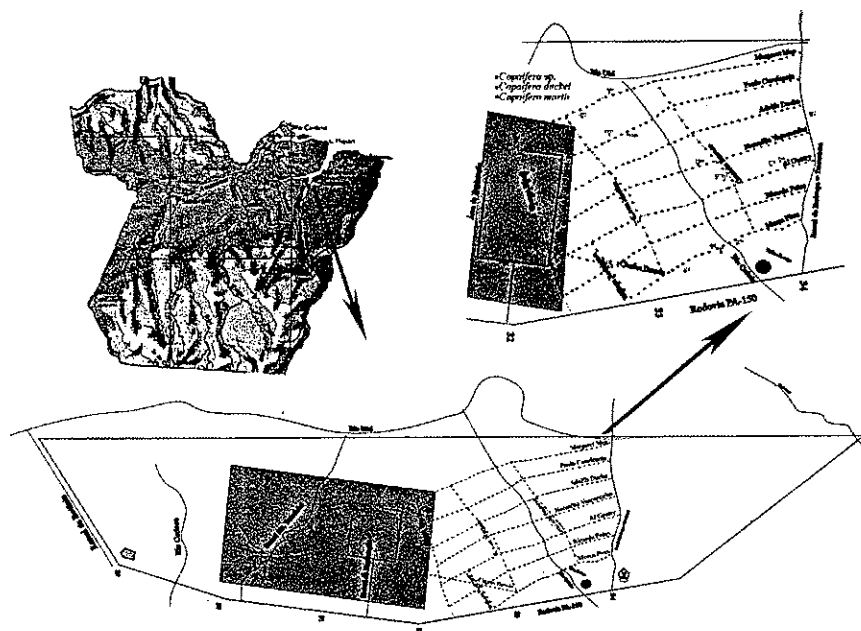


Figura 3. Campo Experimental do Mojú da Embrapa Amazônia Oriental.

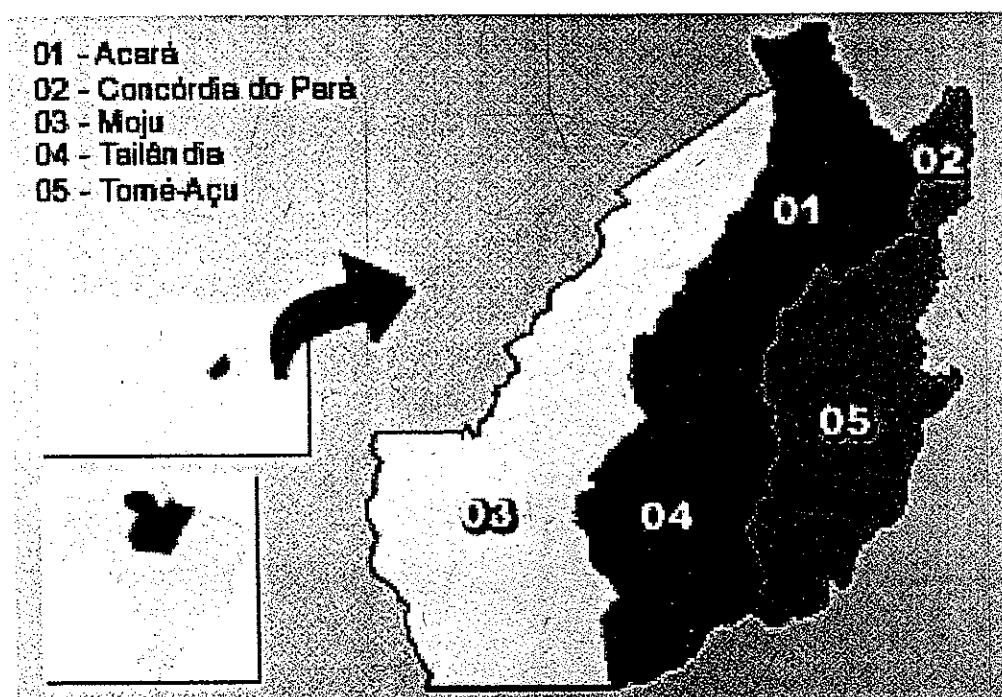


Figura 4. Mapa da Microrregião de Tomé-Açu onde se localiza o Município de Mojú (Fonte: citybrazil.com.br/pa/regioes/tomeacu/index.htm).

O clima local é do tipo Am_i (quente úmido), de acordo com a classificação de Koppen (NASCIMENTO e HOMMA, 1984). A temperatura média anual é elevada, variando entre 25° C e 27° C. A precipitação pluviométrica anual oscila de 2.000 mm a 3.000 mm, com distribuição irregular, sendo de janeiro a junho sua maior concentração (cerca de 80%), porém possui um pequeno período de estiagem que ocorre geralmente de setembro a novembro. A insolação mensal varia entre 148,0 e 275,8 horas, apresentando estreita relação com a precipitação e a umidade relativa do ar gira em torno de 85% (COSTA et al., 1998).

Os dados de precipitação do município de Mojú foram obtidos dos últimos 24 anos e do período de setembro de 2003 a setembro de 2004, fornecidos pela Fazenda Sococo, localizada no município em estudo.

O local apresenta um relevo plano, com pequenos declives variando de 0 a 3%. O solo predominante é o Latossolo Amarelo com diferentes texturas, ocorrendo também solos Podzólicos Vermelhos-Amarelos, Glei Pouco Húmico e Plintossolos (COSTA et al., 1998).

A cobertura vegetal é formada por árvores com grande porte variando de 25 a 35 m de altura. As copas são grandes e de forma irregular. O sub-bosque é denso com presença de algumas palmeiras, predominando as famílias Lecythidaceae, Violaceae, Sapotaceae, Burseraceae, Moraceae e Leguminosae.

2.3.2- Caracterização das espécies

A espécie *C. reticulata*, produz um óleo de aspecto líquido, fino, odor fraco e de coloração amarelo claro. A espécie *C. duckei*, produz um óleo de aspecto líquido, viscoso, de odor forte e de coloração vermelho intenso. Esses tipos de óleo são geralmente empregados, na medicina caseira, indústria farmacêutica e cosmética. O óleo-resina da *C. martii*, é denso, de odor forte e coloração marrom, utilizada principalmente na fabricação de vernizes. Na coleta de material botânico as exsicatas foram depositadas no Herbário (IAN) da Embrapa Amazônia Oriental. *C. reticulata* (1) sem registro, *C. reticulata* (2) sem registro, *C. duckei* registro nº 178851 e *C. martii* nº 175918.

2.3.3- Coleta de óleo

Para a coleta do óleo foram utilizadas plantas adultas nativas dispersas de espécies de *Copaifera* com mais de trinta anos de idade, segundo informações do Herbário IAN da Embrapa Amazônia Oriental. As árvores foram perfuradas aleatoriamente com um trado tradicional de 2 cm de diâmetro e 45 cm de comprimento (Figura 5A), fazendo-se dois orifícios na altura de 1m e 1,50m, respectivamente (Figura 5B). As amostras de óleo foram armazenadas em recipientes de plástico (1000ml) e protegidas da ação da luz com papel aluminizado. Posteriormente, foram transferidos em frascos de vidros (10ml) para posterior análise. O período de coleta foi de setembro de 2003 a agosto de 2004, realizado sempre nos 10 primeiros dias de cada mês. O orifício da árvore, após o completo escoamento do óleo, foi vedado com cano do tipo PVC com $\frac{3}{4}$ de diâmetro e 10cm de comprimento contendo uma tampa de plástico visando facilitar as outras coletas e evitar resíduos de madeira (Figura 5C).

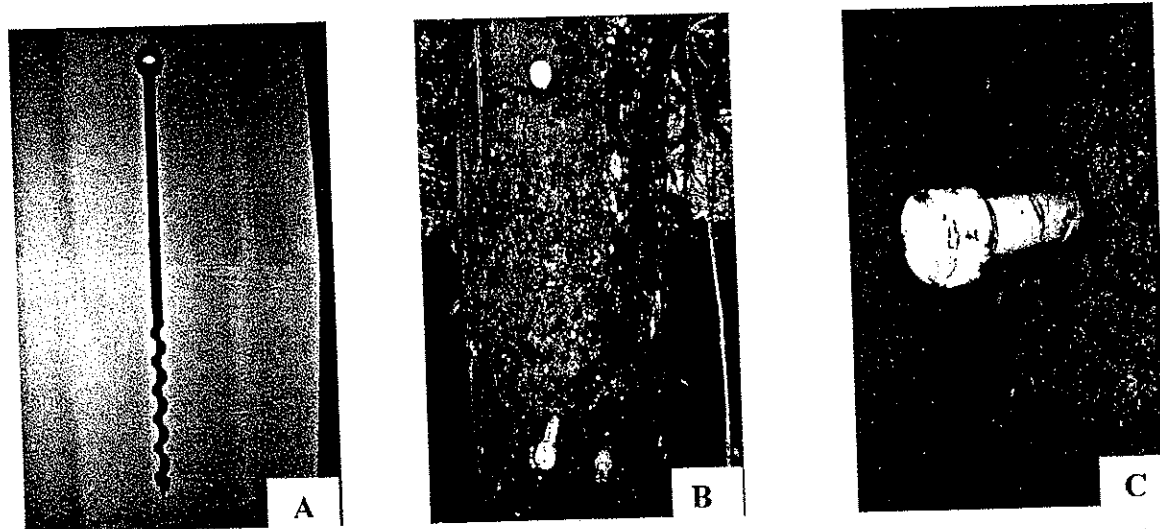


Figura 5. Processo utilizado na extração do óleo de copaíba. Trado tradicional (A); Orifícios (B) e Cano PVC (C). Embrapa Amazônia Oriental, 2003.

2.3.4- Análise das amostras

Uma alíquota de todas as amostras de óleo-resina coletadas foi encaminhada ao Museu Paraense Emílio Goeldi para análise da composição química através de cromatografia

de gás (CG) e cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massa, para verificar a variação ocorrida na porcentagem dos componentes químicos. Quando a amostra de óleo-resina estava muito viscosa, a mesma era submetida à hidrodestilação para a obtenção do óleo essencial, em sistema tipo Clevenger durante 3h, acoplado a um sistema de refrigeração para manutenção da água de condensação entre 10-12°C. O óleo essencial foi centrifugado, desidratado com Na₂SO₄ anidro, centrifugado e imediatamente analisado através de cromatografia de gás.

2.3.4.1- Análise dos componentes voláteis por CG

Os componentes foram identificados através de cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), em sistema Finnigan Mat INCOS XL, equipado com coluna capilar de sílica DB-5MS (30m x 0,25mm; 0,25µm de espessura de filme) nas seguintes condições operacionais: gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 32 cm/s (medida a 100°C); “split flow”: numa razão de 20:1; “septum sweep”: 10ml/min; tipo de injeção: “splitless”, (2µl de óleo em 1 ml uma solução 2:1000 de hexano; temperatura do injetor e do detetor: 250° C; programa de temperatura: 60°C-240°C (3°C/min); EM: impacto eletrônico, 70V; temperatura da fonte de íons e partes de conexão: 180°C. Os componentes foram identificados através da comparação dos seus espectros de massas e índices de retenção (IR) com os de substâncias padrão existentes nas bibliotecas do sistema e, com dados da literatura (ADAMS, 1995). Os IR foram obtidos utilizando a série homologada dos *n*-alcanos. A quantificação dos componentes foi obtida através de cromatografia de gás (CG), utilizando cromatógrafo HP5890-II, equipado com detetor de ionização de chama (DIC), e à um integrador HP 3396-II, nas mesmas condições operacionais, exceto o gás de arraste que foi o hidrogênio.

2.4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 6, são apresentados os dados de precipitação pluviométrica do período setembro de 2003 a agosto de 2004 e a média dos últimos 24 anos do município de Mojú, PA.

Os meses de maior precipitação pluviométrica do período estudado ocorreu de janeiro a maio. Enquanto que, na média dos últimos 24 anos de janeiro a junho. Os menores índices pluviométricos para ambos os períodos foram registrados de agosto a novembro.

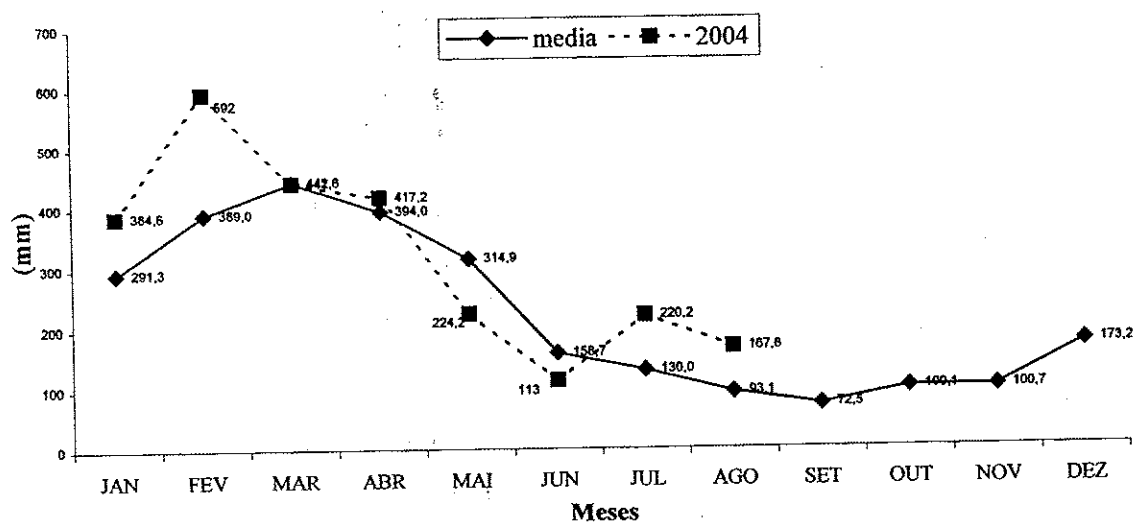


Figura 6. Precipitação pluviométrica do período setembro de 2003 a agosto de 2004 e média dos últimos 24 anos do município de Mojú, PA. (Fazenda Sococo S. A. 2004).

Os dados de produção de óleo de todas as espécies são apresentados na Figura 7. Os resultados indicaram que nos meses de setembro e outubro ocorreram as maiores produções de óleo para a espécie *Copaifera reticulata*, respectivamente, 2.800 e 3.000 ml, e de setembro a novembro para a espécie *Copaifera duckei*, sendo que o maior valor foi obtido no mês de outubro com 500 ml, coincidindo com o período de menor precipitação pluviométrica. Embora a espécie *Copaifera martii*, tenha obtido 100 ml de produção de óleo no mês de janeiro e tendo sido a maior obtida pela mesma, essa produção pode ser considerada irrelevante diante das produções das outras duas espécies. As duas primeiras produziram um óleo de aspecto líquido que favoreceu a coleta, conseqüentemente, o volume final. Enquanto que, a espécie *C. martii* produziu um óleo-resina denso que dificultou a coleta e conseqüentemente, a produção (Figura 8). A menor produção foi observada no período de janeiro a maio de 2004, principalmente para as espécies *C. reticulata* e *C. duckei*, coincidindo com o período mais chuvoso. Nos meses de julho não houve produção de óleo para a espécie *C.*

reticulata 1. Para a espécie *C. reticulata* 2, não houve produção nos meses de outubro a fevereiro, assim como no mês de agosto. A espécie *C. martii*, não produziu óleo nos meses de novembro e dezembro.

Os dados indicaram que para a área em estudo a precipitação pluviométrica provavelmente, está diretamente relacionada com a produção de óleo. Alencar (1982; 1988) relata que a maior produção de óleo-resina de *C. multijuga* ocorreu na época chuvosa, porém nem todas as árvores selecionadas produziram óleo, ocorrendo ainda um decréscimo no volume de produção entre a primeira e a última extração. Nesta avaliação, a árvore com máxima produção apresentou 3.500 ml de óleo.

Trabalhos conduzidos por Ferreira e Braz (1999) na floresta do Antimari no Estado do Acre entre os anos de 1997 e 1998 relataram que na coleta de óleo-resina de copaíba realizada em dois períodos, chuvoso (outubro a novembro) e seco (julho a agosto) a maior produção média (2.100 ml), foi obtida no período seco.

Moraes e Bastos (1972), Olivin (1986), Müller e Alves (1997) trabalhando com a cultura de dendê na região amazônica, mostraram que as maiores produções de óleo foram obtidas no período mais chuvoso. Enquanto Pinheiro et al. (2001) observaram que na cultura da seringueira, espécie nativa da Amazônia e produtora de látex, foram observados em cultivos no município de São Francisco do Pará que a maior produção de látex ocorreu tanto nos meses de menor precipitação pluviométrica (agosto a outubro), quanto no período chuvoso (março a maio).

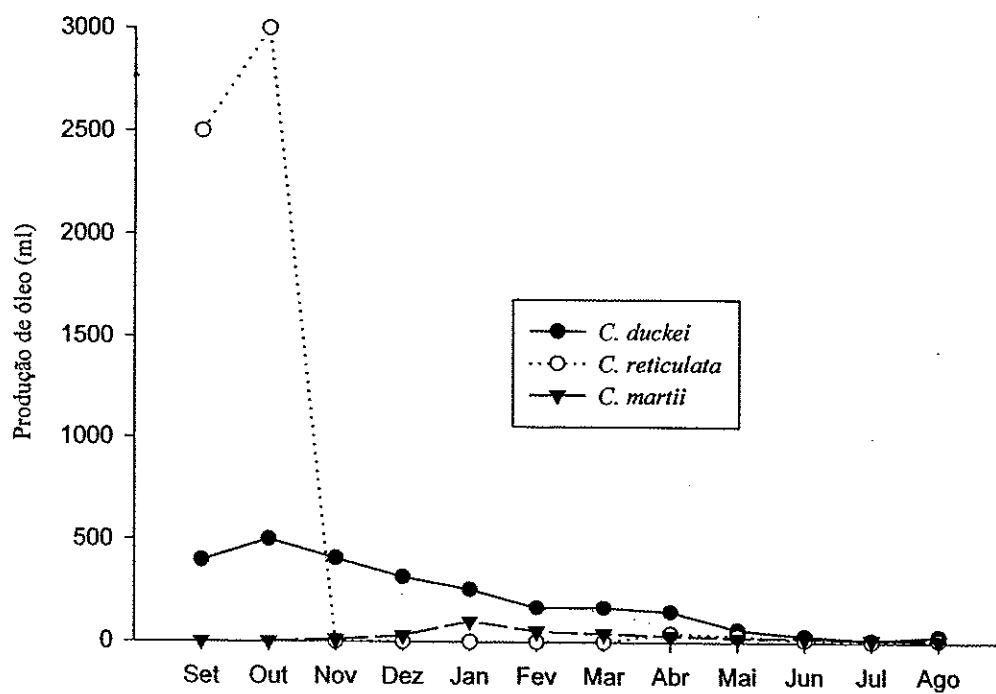


Figura 7. Média de produção (ml) de óleo de espécies de copaíba do período setembro de 2003 a agosto de 2004. Mojú, PA.

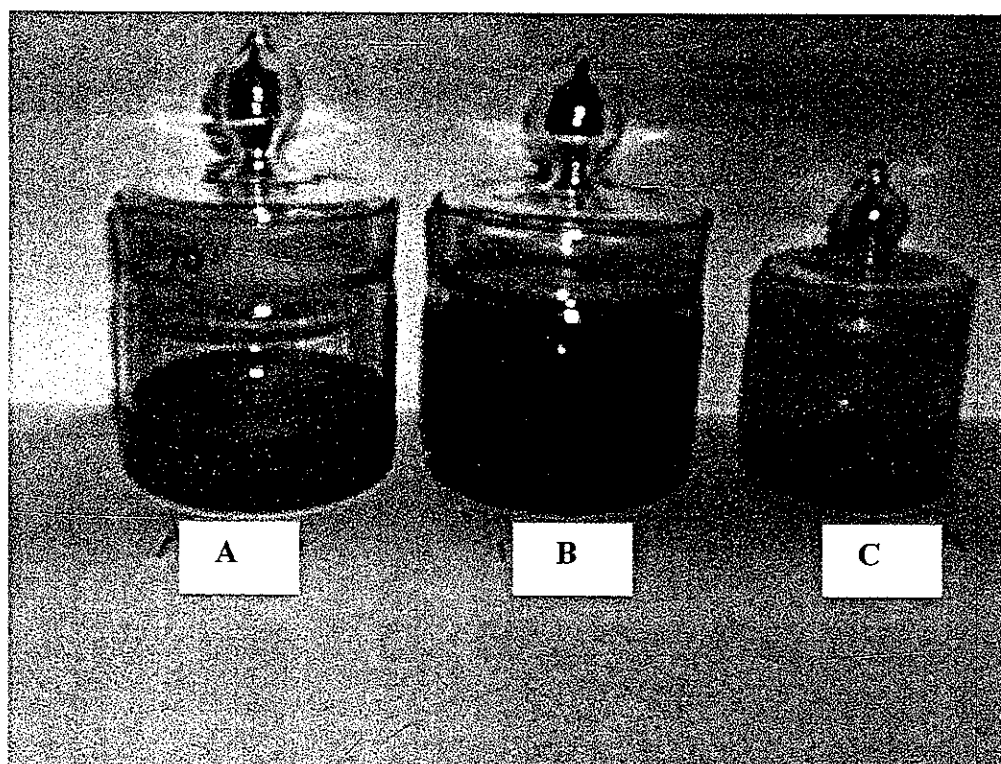


Figura 8. Óleo resina de espécies de *Copaifera*. *C. reticulata* (A), *C. duckei* (B) e *C. martii* (C).

O teor do sesquiterpeno β -bisabolenos na *C. duckei*, variou de 14,0 a 17,6% e foi superior a do β -cariofileno em todos os meses do ano (Tabela 1) e os maiores valores foram observados no final do período de menor precipitação pluviométrica. O percentual de β -cariofileno variou de 11,3 a 15,5% e o maior valor foi observado em março, mês do período de maior precipitação pluviométrica. O menor percentual dos dois constituintes ocorreu no período de janeiro a fevereiro, coincidindo com o início do período chuvoso. Os dados demonstraram que ocorre variação na concentração das substâncias independente do período de chuvas, porém, a diferença entre os valores pode ser considerada irrelevante. O cromatograma da espécie é apresentado na Figura 9.

Tabela 1. Principais componentes voláteis dos óleo-resinas das espécies de *Copaifera*.

Componentes Químicos (%)	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago
<i>C. reticulata</i> 01												
β -cariofileno	57,4	41,3	53,0	51,1	39,0	58,7	61,8	50,1	52,8	50,1	0	52,1
β -bisaboleno	17,4	9,9	14,3	15,6	12,5	17,0	14,8	15,5	16,4	15,5	0	17,4
<i>C. reticulata</i> 02												
β -cariofileno	25,1	25,1	0	0	0	0	50,2	41,6	31,5	37,3	39,7	0
β -bisaboleno	12,0	12,0	0	0	0	0	9,8	8,1	6,4	4,5	6,0	0
<i>C. duckei</i>												
β -cariofileno	14,8	13,2	13,3	13,0	11,3	11,8	15,5	13,1	13,2	14,1	14,5	14,0
β -bisaboleno	16,7	16,1	16,3	16,4	14,0	14,5	15,7	16,7	17,0	17,6	17,3	17,4
<i>C. martii</i>												
α -copaeno	39,5	51,2	0	0	43,2	44,0	44,8	37,2	36,4	39,4	47,6	39,7
Δ -amorfeno	16,4	13,9	0	0	17,2	15,8	15,7	16,6	16,3	16,0	13,7	16,3

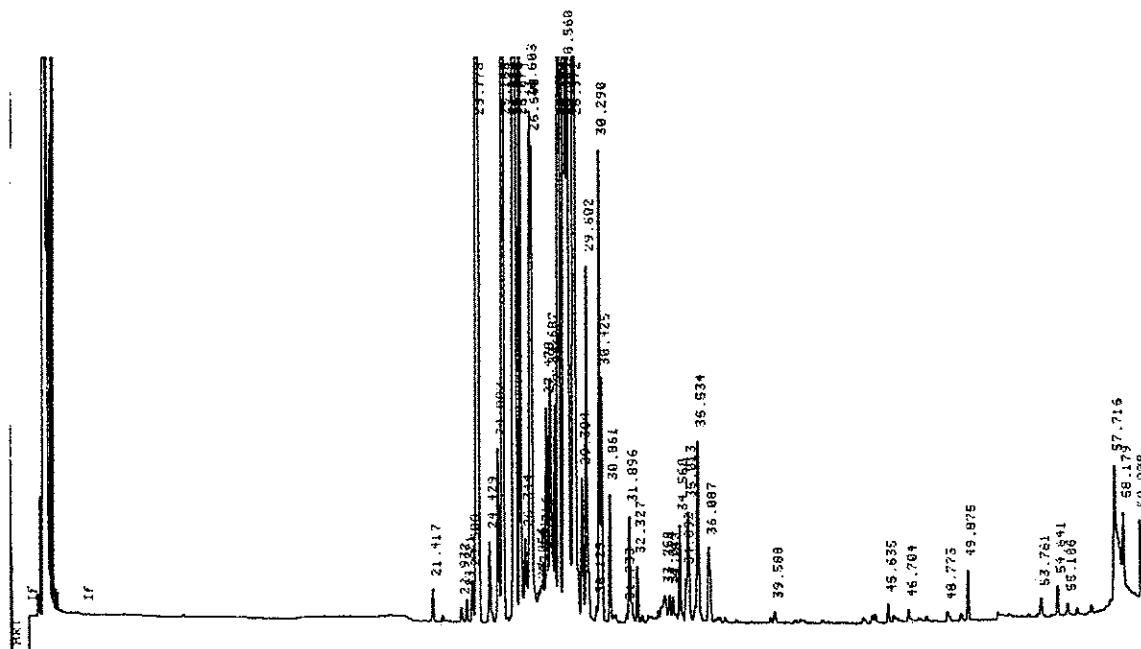


Figura 9. Cromatograma da espécie *Copaifera duckei*.

Na *C. reticulata* 1, o teor do sesquiterpeno β -cariofileno variou de 39% a 61,8% e foi superior a do β -bisaboleno em todos os meses do ano em que houve. (Tabela 1). Os maiores valores foram observados nos meses de fevereiro a março, período de maior precipitação pluviométrica. O percentual de β -bisaboleno manteve-se com valores similares durante todo o ano (9,9% a 17,4%), independente do período de chuvas. O cromatograma da espécie é apresentado na Figura 10.

Na *C. reticulata* 2, o teor do sesquiterpeno β -cariofileno variou de 25,1% a 50,2% e foi superior a do β -bisaboleno que variou de 4,5% a 12%. É importante ressaltar que o indivíduo 2 da *C. reticulata* não produziu óleo nos meses de novembro a fevereiro, bem como no mês de agosto, inviabilizando assim a análise dos seus constituintes químicos. Os maiores valores do β -cariofileno foram observados nos meses de março a abril, período de maior precipitação pluviométrica. Houve variação no teor de β -bisaboleno durante o ano de (4,5% a 12%), independente do período de chuvas.

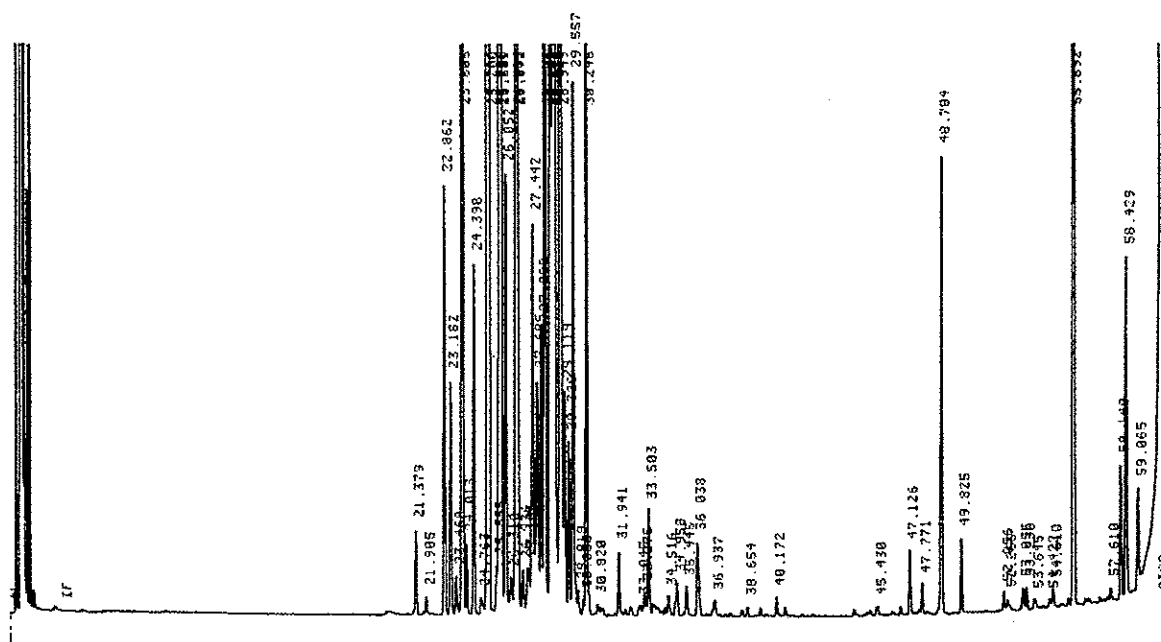
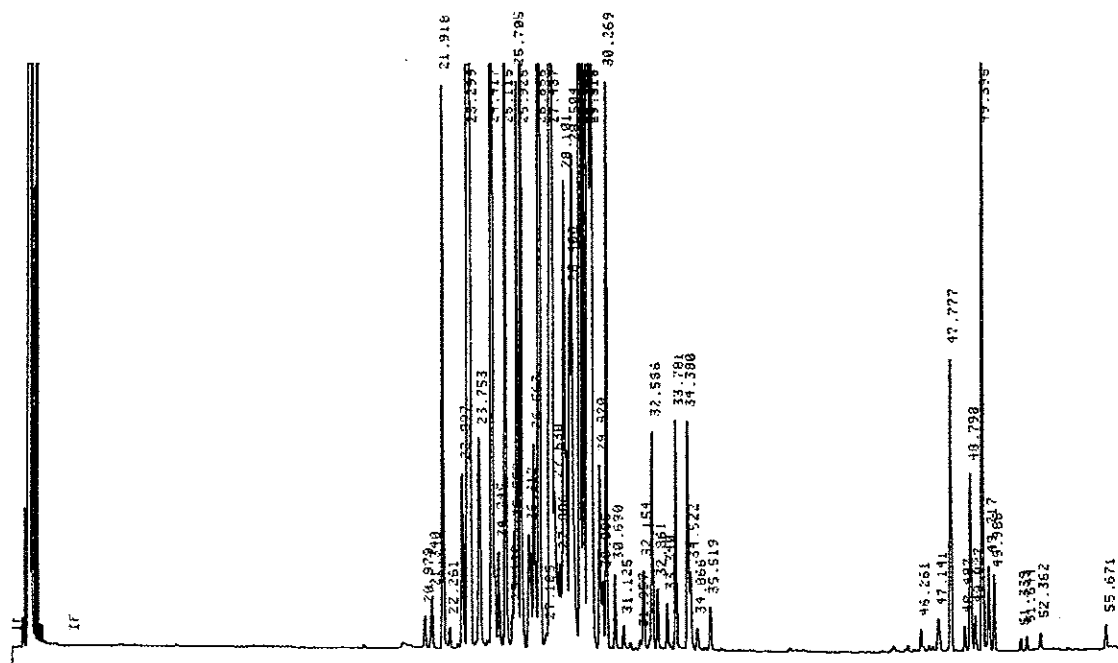


Figura 10. Cromatograma da espécie *Copaifera reticulata*.

A espécie *C. martii* apresentou na sua constituição química os sesquiterpenos α -copaeno e Δ -amorfenos, sendo diferente das demais espécies. A percentagem de α -copaeno variou de 36,4% a 51,2%, sendo superior a do Δ -amorfenos, o qual variou de 13,7% a 17,2% durante o ano, exceto nos meses de novembro e dezembro quando não houve produção de óleo. Os valores percentuais mantiveram-se similares independentes do período de chuvas (Tabela 1). O cromatograma da espécie é apresentado na Figura 11.



2.5 - CONCLUSÕES

- Nos meses de setembro e outubro ocorrem as maiores produções de óleo para a espécie *C. reticulata* e de setembro a novembro para a espécie *C. duckei*, coincidindo com o período de menor precipitação pluviométrica.
- A menor produção de óleo ocorre no período de janeiro a maio de 2004, principalmente para as espécies *C. reticulata* e *C. duckei*, coincidindo com o período mais chuvoso.
- As espécies *C. duckei* e *C. reticulata*, produzem, respectivamente, um óleo de aspecto líquido de coloração vermelho intenso e amarelo claro. Enquanto, a *C. martii* produz um óleo-resina denso de coloração marrom.
- A concentração do sesquiterpeno, β -bisaboleno na *C. duckei* é superior a do β -cariofileno em todos os meses do ano, ocorrendo variações nos percentuais das substâncias independentes do período de chuvas.
- Na *C. reticulata*, a concentração do sesquiterpeno, β -cariofileno é superior a do β -bisaboleno independente do período de precipitação pluviométrica.
- O sesquiterpeno α -copaeno na *C. martii*, apresenta concentrações superiores ao Δ -amorfeno, ocorrendo variações nos percentuais independentes do período de chuvas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream: Allured Publ Corp., 1995. 456p.

ALENCAR, J. da C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne – Leguminosae, na Amazônia central. 2 – produção de óleo resina. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 12, n.1, p.15-29, 1982.

ALENCAR, J. da C. Estudos silviculturais de uma população natural de *Copaifera multijuga* Hayne – Leguminosae, na Amazônia central. 4 – interpretação de dados fenológicos em relação a elementos climáticos. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 18, n.3/4, p.199-209, 1988.

CORRÊA, P. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Ministério da Agricultura. Rio de Janeiro, 1984. v. 6, p. 612-615.

COSTA, D. H. M.; FERREIRA, C. A. P.; SILVA, J. N. M.; LOPES, J. do C. A.; CARVALHO, J. O. P. de. **Potencial madeireiro de floresta densa no município de Mojú, Estado do Pará**. Belém: Embrapa-CPATU, 1998. 33p. (Embrapa – CPATU. Documentos, 121).

FERREIRA, L.A.; BRAZ, E.M. Avaliação do potencial de extração e comercialização do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.). FUNTAC/AC. Disponível em: <http://www.nybg.org/bsci/acre/evaluation.html>. Acesso em 29 out. de 2004.

LANGENHEIM, J.H.; FEIBERT, E.B. Leaf resin variation in *Copaifera langsdorfii*: relation to irradiance and herbivory. **Phytochemistry**, Oxford, v.27, n.8, p. 2527-2532, Aug. 1988.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, maio/jun. 2002.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B. das; ANDRADE, E. H. A. de. **Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2000. p. 72-74.

MESQUITA, J. B. **Estudos dos processos de obtenção e qualidade do óleo essencial de óleo copaíba (*Copaifera langsdorffi* Bent.)**. Lavras: UFLA, Monografia. 1989. 93p. (Monografia – Engenharia Florestal).

MORAES, V. H. F.; BASTOS, T.X. **Viabilidade e limitações climáticas para as culturas permenentes, semi permanentes e anuais, com possibilidade de expansão na Amazônia**. In: Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuário do Norte (Belém, PA). Zoneamento agrícola da Amazônia: 1ª aproximação. Belém, 1972. p. 123-153. (IPEAN. Boletim Técnico, 54).

MÜLLER, A. A.; ALVES, R. M. **A dendeicultura na Amazônia brasileira**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1997. 44p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 91).

NASCIMENTO, C.; HOMMA, A. **Amazônia: Meio ambiente e tecnologia agrícola**. Belém: Embrapa-CPATU. 1984, 282p. (Embrapa – CPATU. Documentos, 027).

OLIVIN, J. Etude pour la localization d'une plantation industrielle de palmiers à huile. **Oleagineux**, v. 41, n. 3, p. 113-118, 1986.

PINHEIRO, E.; VIÉGAS, I. de J.M.; SILVA, H.M.; VALENTE, M.A. **Avaliação agrotécnica dos seringais Marathon, São Francisco e Santana, situados no município de São Francisco do Pará**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2001. 28p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 85).

PINTO, A.C. ; BRAGA, W. F.; REZENDE, C. M.; GARRIDO, F. M. S.; VEIGA Jr., V. F.; BERGTER, L.; PATITTUCCI, M. L.; ANTUNES, O. A. C. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke by flash cromatography using potassium hidroxide impregnated sílica gel. **Journal Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 355-360, July/Auf. 2000.

TAPPIN, M. R. R.; PEREIRA, J. F. G.; LIMA, L. A.; SIANI, A. C. Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, 2004.

VEIGA JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25. n. 2. p.273-286, 2002.

CAPÍTULO III – AVALIAÇÃO DO ÓLEO DE COPAIBA (*Copaifera* spp.) NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL *IN VITRO* DE FITOPATÓGENOS.

3.1. RESUMO

Na composição química das plantas medicinais, as substâncias denominadas metabólitos secundários, podem atuar nas interações entre a espécie vegetal e o fitopatógeno, como ativador do sistema defensor da planta hospedeira ou diretamente contra os patógenos fúngicos. No que se refere à constituição química do óleo-resina das espécies de *Copaifera*, observou-se em todas a presença de diterpenos como o ácido copálico e de sesquiterpenos, como o α -humuleno, α - e β -selineno, β -bisaboleno e β -cariofileno, sendo o óxido desse último efetivo contra fungos. Alguns fungos prejudiciais à agricultura causam danos consideráveis aos vegetais, necessitando assim, de um controle biológico extremamente eficaz e que seja inofensivo ao meio ambiente. O objetivo do trabalho foi de avaliar as atividades antifúngicas do óleo-resina de duas espécies de *Copaifera* no crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos. Para crescimento micelial, os patógenos foram cultivados em meio de cultura BDA. As amostras utilizadas para a verificação da inibição fúngica foram óleos puros, sem nenhuma diluição prévia. Os óleos utilizados nos testes pertenciam às espécies *Copaifera reticulata* e *Copaifera duckei*. Para os testes antifúngicos foram utilizadas as espécies *Rizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. Para o fungo da espécie *Rhizoctonia solani* entre os tratamentos testados o óleo-resina das duas espécies de *Copaifera* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial. O óleo-resina de *C. duckei* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial dos fungos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*.

Palavras-chave: *Copaifera*, *Rizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, óleo-resina, fitopatogênico.

ABSTRACT

In the chemical composition of the medicinal plants, the called substances secondary metabolites, can directly act in the interactions between the vegetable species and the fitopathogen, as activator of the defending system of the plant hostess or against the fungal pathogen. In that if it relates to the chemical constitution of oil-resin the species of *Copaifera*, the presence of diterpenes as the acid copálico and sesquiterpenes is observed in all, as the α -humuleno, and β -selinene, β -bisabollene and the β -cariophyllene one, being the oxide of this last cash against fungus. Some fungus harmful to agriculture cause considerable damages to vegetables, thus needing, of extremely efficient a biological control and that he is harmless to the environment. The work had as objective to evaluate the antifungal activities of the oil-resin of two species of *Copaifera* in the mycelial growth in vitro of fitopathogens. For mycelial growth, the pathogens had been cultivated in way of culture BDA. The samples used for the verification of the fungal inhibition had been pure oils, without any previous dilution. The oils used in the tests belonged to the species *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera duckei* Dwyer. For the antifungal tests the species *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. For fungus of the species *Rhizoctonia solani* enters the tested treatments the oil-resin of the two species of *Copaifera* was most efficient in the inhibition of the mycelial growth. The oil-resin of *C. duckei* was most efficient in the inhibition of the mycelial growth of fungus *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*.

Key words: *Copaifera*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, oil-resin, fitopathogens.

3.2 - INTRODUÇÃO

Apesar da imensa diversidade biológica amazônica, as espécies animais e vegetais que a compõem e suas relações filogenéticas, seus microorganismos e suas interações com outros seres ainda são pouco conhecidos (SOUZA et al., 2004).

Na composição química das plantas medicinais, as substâncias denominadas metabólitos secundários, podem atuar nas interações entre a espécie vegetal e o fitopatógeno, como ativador do sistema defensor da planta hospedeira ou diretamente contra os patógenos fúngicos. Os metabólitos secundários presentes nas plantas medicinais com bioatividade contra fungos geralmente apresentam caráter atóxico para humanos e animais, maior ação fungitóxica e menor fitotoxicidade quando comparados com os fungicidas sintéticos (SANTOS, 1996). Por outro lado, plantas medicinais têm sido vistas como fonte de substâncias fungitóxicas (BONALDO et al., 1998), as quais, quando comparadas com fungicidas sintéticos, mostram-se praticamente inofensivas para o meio ambiente, podendo, em alguns casos, até superá-los em sua ação fungicida.

Silva et al. (1995) citam que algumas destas substâncias, que compõem os óleos essenciais, sintetizadas pelas plantas medicinais, são utilizadas em seres humanos por possuírem propriedades antimicrobianas. Estes mesmos compostos secundários podem representar para a planta diversas funções importantes como nas interações planta – planta (alelopatia), planta – animal (antiherbivoria) e planta – microorganismos patogênicos. Sob este último aspecto, tais compostos poderiam participar das respostas de defesa da planta em um patossistema natural, ou seja, na planta que os produz ou em outros patossistemas, atuando como substâncias fungitóxicas à semelhança dos fungicidas sintéticos e por atuarem desta forma em seres humanos.

Alguns trabalhos descrevem os sesquiterpenos, principalmente os lactônicos, extraídos de óleos essenciais, como metabólitos secundários que apresentam atividade fungitóxica reconhecida. Neste contexto cita-se a pesquisa de Harborne (1994), que confirmou a ação fungitóxica dessas moléculas, demonstrando que 62% dos metabólitos testados apresentaram atividade inibitória parcial e que metade apresentou elevada atividade inibitória contra fungos patogênicos.

No que se refere à constituição química das espécies de *Copaifera*, observa-se em todas a presença de diterpenos como o ácido copálico e de sesquiterpenos, como o α -

humuleno, α e β -selineno, β -bisaboleno e β -cariofileno, sendo o óxido desse último efetivo contra fungos (LANGENHEIM e FEIBERT, 1988; PINTO et al., 2000; TAPPIN et al., 2004).

Outros fungos prejudiciais à agricultura, como por exemplo, as espécies *Rizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*, causam danos consideráveis aos vegetais (WEBSTER e GUNELL, 1992), necessitando assim, de um controle biológico extremamente eficaz e que seja inofensivo ao meio ambiente.

Na literatura consultada alguns trabalhos (CASCON et al., 2000; MIRANDA et al., 2000) demonstraram atividades antimicrobiana e antibacteriana do óleo resina de copaíba. Veiga Jr. e Pinto (2002) em seus estudos demonstraram maiores atividades bactericida e bacteriostática do óleo de *C. multijuga*, frente a *Streptococcus mutans*, enquanto o óleo essencial apresentou melhor ação bactericida e a resina apresentou-se apenas bacteriostática. Nesse sentido, estudo direcionado para determinação da atividade antifúngica do óleo de copaíba é de suma importância, visando minimizar a ação de fitopatógenos. O objetivo do trabalho foi de avaliar as atividades antifúngicas do óleo-resina de duas espécies de *Copaifera* no crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

3.3 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental. As amostras de óleo de copaíba utilizadas nos testes foram procedentes do campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, localizado no município de Moju-PA. As espécies fúngicas utilizadas foram obtidas da micoteca do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

Para crescimento micelial, os patógenos foram cultivados em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar). A seleção do meio de cultura BDA foi motivada pela melhor produção de esporos para os fitopatógenos que o mesmo promove.

Os patógenos foram cultivados em meio de cultura previamente fundidos. Após o meio de cultura ser retirado do autoclave e um pouco antes de ser fundido nas placas, o óleo-resina de copaíba e o controle (Dithane M 45) foram adicionados e homogeneizados ao meio de cultura. Em seguida, foram distribuídos em placas de Petri com dimensões de 9 cm de diâmetro e 1,8 cm de profundidade, o processo foi realizado em câmara de fluxo laminar.

Os óleos utilizados nos testes foram extraídos das espécies *C. reticulata* 1 e *C. duckei* procedentes da coleta do mês de outubro de 2003.

Para os testes antifúngicos foram utilizadas três espécies fitopatógenas, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*. As amostras utilizadas para verificação da inibição fitopatogênica foram os óleos puros, sem nenhuma diluição prévia e como controle foi utilizado o produto sintético Dithane M 45.

Na montagem dos experimentos, foram adicionados 250 µl do óleo de copaíba para cada 100 ml de meio de cultura e no preparo do Dithane M 45 foi utilizada uma diluição de 10 ppm para cada 100 ml do meio. Cada placa continha 15 ml de meio. Para cada espécie de fungo foram utilizadas três placas de Petri contendo óleo de *C. duckei*, três placas contendo óleo de *C. reticulata*, quatro placas contendo Dithane M 45 e duas placas como testemunha. As placas de Petri foram colocadas em bancada sob temperatura ambiente.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial contendo doze tratamentos e três repetições. Na avaliação do crescimento micelial, foi utilizada uma régua milimetrada após sete dias de cultivo. A análise estatística foi feita através da análise de variação, comparando as médias pelo teste de Student – Newman – Keuls.

3.4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância da atividade antifúngica do óleo-resina de *Copaifera* para os fitopatógenos, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* são apresentados na Tabela 2. Houve diferença significativa apenas na interação tratamentos e espécies fúngicas. Na Tabela 3, são apresentados os resultados do efeito do óleo-resina da *Copaifera* e do Dithane M 45 no comprimento micelial das espécies fúngicas.

Tabela 2. Resumo da análise de variância da avaliação do óleo-resina de *Copaifera* na inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	3	50.681111	16.293704	24.719 ^{ns}
Fungos	2	7.980000	3.990000	20.009 ^{ns}
Trat. X Fungos	6	4.320556	0.720093	3.611 [*]
Erro	24	4.785833	0.199410	
Total	35	67.767500		
C.V (%)	5.88			
Erro padrão	0,2657			

ns – não significativo * significativo ao nível de 5%

Tabela 3. Efeito do óleo-resina de espécies de *Copaifera* e do Dithane M 45 na avaliação da inibição do crescimento micelial *in vitro* de fitopatógenos.

Tratamentos	Comprimento micelial (cm)		
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>
<i>C. dukei</i>	5,50 a	6,66 a	5,83 a
<i>C. reticulata</i>	5,83 a	8,26 b	6,66 b
Dithane M 45	8,62 b	9,00 b	9,00 c
Testemunha	8,00 b	8,75 b	8,50 c

Médias seguidas da mesma letra dentro das colunas não diferem entre si pelo teste de Student – Newman - Keuls ao nível de 5% de probabilidade.

Para o fungo da espécie *Rhizoctonia solani* entre os tratamentos testados os óleo-resinas das duas espécies de *Copaifera* foram o mais eficientes, induzindo uma maior inibição no crescimento micelial do fungo (Figura 12). Entretanto, não houve diferença significativa entre as espécies testadas.

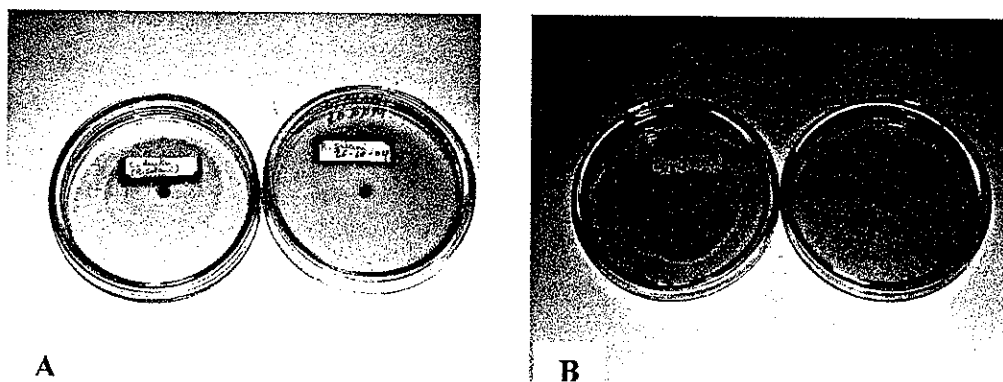


Figura 12. Inibição do crescimento micelial do fungo *Rhizoctonia solani* por óleo-resina de *Copaifera*. A - *C. duckei* e Dithane M 45; B - *C. reticulata* e Dithane M 45.

O óleo-resina de *C. duckei* foi o mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfii* (Figura 13). Embora o óleo-resina de *C. reticulata* tenha apresentado maior inibição no crescimento micelial do fungo, não diferiu significativamente dos demais tratamentos.

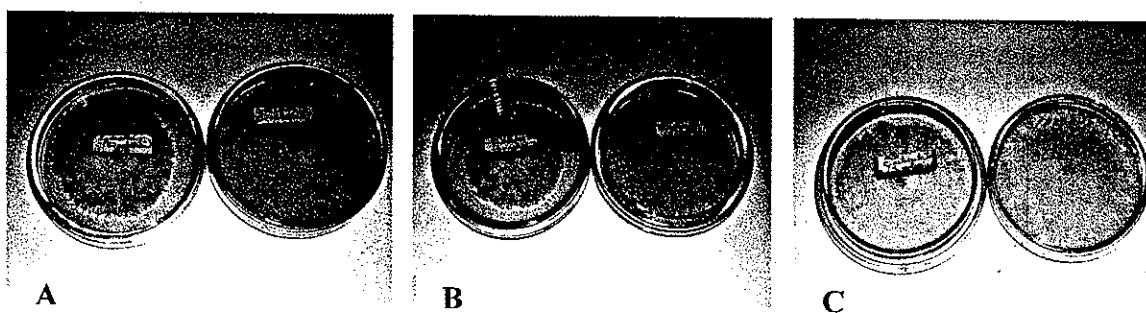


Figura 13. Inibição do crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfii* por óleo-resina de *Copaifera*. A - *C. duckei* e Dithane M 45; B - *C. duckei* e *C. reticulata*; C - *C. reticulata* e Dithane M 45.

Na inibição do crescimento micelial do fungo da espécie *Macrophomina phaseolina* o óleo-resina de *C. duckei* foi o que apresentou maior eficiência (Figura 14A). O óleo-resina de *C. reticulata* foi mais eficiente na inibição do crescimento micelial do fungo que o Dithane M 45 na dosagem de 10 ppm e a testemunha (Figura 14B).

Comparando-se o Dithane M 45 com a testemunha, esta induziu maior inibição no crescimento micelial para todas as espécies de fungos, não havendo, entretanto, diferença significativa entre os mesmos.

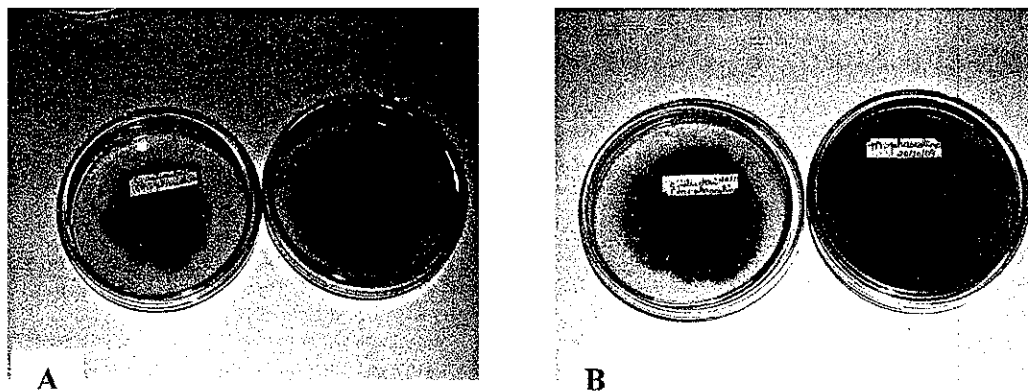


Figura 14. Inibição do crescimento micelial do fungo *Macrophomina phaseolina* por óleo-resina de *Copaifera*. A - *C. duckei* e Dithane M 45; B - *C. reticulata* e Dithane M 45.

Diniz (1996) avaliou a ação fungitóxica do bálsamo de copaíba contra os patógenos *Fusarium moniliforme* e *Alternaria* sp., confirmando uma alta redução no desenvolvimento dos esporos desses fitopatógenos. Por sua vez Moraes et al. (2000) confirmaram atividade positiva do óleo-resina de *Copaifera* spp. sobre o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Trabalhos conduzidos por Amorim (2003) demonstraram que os extratos hexânico e metanólico de folhas de *Copaifera langsdorffii*, promoveram a inibição do crescimento micelial das espécies fitopatógenas, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Bipolaris sorokiniana*.

Trabalhos conduzidos por Miranda et al. (2000) demonstraram que dentre várias amostras de *Copaifera* spp. armazenadas por mais de dois anos e de diferentes procedências testadas em fungos e bactérias, ocorreu atividade apenas antibacteriana diferenciada indicando que a procedência e o tempo de armazenamento, influenciaram a atividade antibacteriana.

Cascon et al. (2000) utilizando amostras de *Copaifera* spp. e *C. duckei* procedentes dos Estados do Amapá, Amazonas e Pará demonstraram através do Bioautograma que houve atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus* para todas as amostras testadas.

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram que algumas espécies de *Copaifera* podem apresentar atividade antifúngica. Por outro lado, essa atividade poderá ocorrer, dependendo da espécie fúngica utilizada bem como a concentração do óleo.

3.5 - CONCLUSÕES

- Para o fungo da espécie *Rhizoctonia solani* entre os tratamentos testados o óleo-resina das duas espécies de *Copaifera* é o mais eficiente na inibição do crescimento micelial.
- O óleo-resina de *Copaifera duckei* é o mais eficiente na inibição do crescimento micelial dos fungos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina*.
- O óleo-resina de *C. duckei* e *C. reticulata* tem efeito antifúngico eficiente para o fungo *Rhizoctonia solani*.
- O óleo-resina de *C. duckei* é mais eficiente como antifúngico para os fungos *Sclerotium rolfsii* e *Macrophomina phaseolina* do que o óleo-resina de *C. reticulata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, A. C. L. **Caracterização química da *Copaifera langsdorffii* Desfon e avaliação de sua atividade fungitóxica.** Lavras: UFLA, 2003. 94p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica/Agrobioquímica).
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R. **Efeito do extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* no crescimento micelial de fungos patogênicos e na indução de fitoalexinas.** In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7, Maringá, 1998. **Resumos...** Maringá: EDUEM, 1998. p.548.
- CASCON, V.; GILBERT, B.; ARAUJO, G. L.; ROCHA, L.M.; TEIXEIRA, L.A.; CARVALHO, E. S. **Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo resina de *Copifera* spp.** In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16. Recife, 2000, **Resumos...**UFPE: Recife, 2000, p. 223.
- DINIZ, S. P. S. S.; LOZANO, V.; REZENDE, D.; TONA, N.; SOUZA, L. S. **Ação do bálsamo de copaíba no controle do desenvolvimento de *Fusarium moliniforme* e *Alternaria* sp.** **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, ago, 1996. Suplemento.
- HARBORNE, J. B. **Plant phenolics** In: MANN, J.; DAVISON, R. S.; HOBBS, J. B.; BANTHORPE, D. V.; HARBONE, J. B. (ed). **Natural products: their chemistry and biological significance.** Essex: Longman, 1994. 212p.
- LANGENHEIM, J. H.; FEIBERT, E.B. **Leaf resin variation in *Copaifera langsdorffii*: relation to irradiance and herbivory.** **Phytochemistry**, Oxford, v.27, n.8, p. 2527-2532, Aug. 1988.
- MIRANDA, R. C. M.; WANDERLEY, T. K. V.; MOURA, W.; ARAÚJO, J. **Atividade antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) de diferentes procedências.** In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16. Recife, 2000, **Resumos...**UFPE: Recife, 2000, p. 223.

MORAIS, L. A. S. de.; CARMO, M. G. F. do; VIEGAS, E. C. de.; TEIXEIRA, D. F.; CASCON, V.; GILBERT, B. Atividade antifúngica do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) e de frutos de sucupira (*Pterodon ermagenatus*) sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16. Recife, 2000, **Resumos...**UFPE: Recife, 2000, p. 124.

PINTO, A. C. ; BRAGA, W. F.; REZENDE, C. M.; GARRIDO, F. M. S.; VEIGA Jr., V. F.; BERGTER, L.; PATITUCCI, M. L.; ANTUNES, O. A. C. Separation of acid diterpenes of *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke by flash chromatography using potassium hydroxide impregnated silica gel. **Journal Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 355-360, July/Aug. 2000.

SANTOS, M. M. F. B.dos. **Efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.), isolado de *Citrus* sp.** Piracicaba: ESALQ, 1996. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências).

SILVA, I.; MIRANDA NETO, M. H.; FRANCO, S. L.; CARDOSO, M. L. C.; MOLINARI, S. L.; SANT'ANA, D. M. G.; CONEGERO, C. I.; IWANKO, N. S. **Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais.** Cascavel, Assoeste, 1995, 203p.

SOUZA, A. Q. L.de.; SOUZA, A. D. L.de.; FILHO, S. A.; PINHEIRO, M. L. B.; SARQUIS, M. I. M.de.; PEREIRA, J. O. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos cogens* Benth. **Acta Amazonica**, v. 34, n.2, p.185, 2004.

TAPPIN, M. R. R.; PEREIRA, J. F. G.; LIMA, L. A.; SIANI, A. C. Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, 2004.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v. 25. n. 2. p.273-286, 2002.

WEBSTER, R. K.; GUNELL, P. S. **Compendium of rice diseases**. St. Paul: APS, 1992. 62 p.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a grande quantidade de aplicações do óleo-resina de copaíba, vários estudos se detiveram na avaliação do potencial de produção das espécies, porém sem levar em consideração alguns fatores, como os climáticos. Nesse trabalho foi possível observar que a influência da precipitação pluviométrica foi bastante expressiva, tendo em vista que no período menos chuvoso a produção de óleo foi maior para todas as espécies estudadas.

Os resultados obtidos não permitem ainda identificar que o melhor período de coleta do óleo-resina de copaíba, realizado no município estudado possa ser indicado para outras áreas de diferentes ambientes. Por outro lado, a produção de óleo-resina de copaíba, bem como a sua coloração, podem variar com a espécie.

No trabalho foi possível observar que as principais substâncias presentes no óleo-resina de copaíba como os sesquiterpenos identificados, mantiveram-se em níveis similares durante todos os meses do período estudado.

Quanto ao uso do óleo-resina de copaíba como antifúngico os resultados obtidos nesse trabalho, demonstraram que as duas espécies estudadas, assim como as concentrações utilizadas promoveram atividade antifúngica, porém, nem todas as espécies de *Copaifera*, bem como, outras concentrações, conferem tal atividade.