

## EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Zingiber officinale* (GENGIBRE) NA PRODUÇÃO DE DESOXINIVALENOL EM *Fusarium graminearum*

Cristeli Marques Ribeiro (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jéssica Cristina Zoratto Romoli, Giseli Cristina Pante, Luana Satie Okumura, Simone Aparecida Galerani Mossini, Miguel Machinski Junior (Orientador), email: mmjunior@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde /  
Departamento de Ciências Básicas da Saúde

### Farmácia (4.03.00.00-5) e Análise Toxicológica (4.03.03.00-4)

**Palavras-chave:** Óleo essencial de gengibre, fitopatógeno, ação antimicotoxigênica.

#### Resumo:

O presente trabalho propôs avaliar o efeito inibitório do óleo essencial de gengibre (OEG) sobre a produção da micotoxina desoxinivalenol (DON), produzida pelo fitopatógeno *Fusarium graminearum*. O OEG foi obtido através de hidrodestilação, sendo os compostos majoritários encontrados: geranial (15,6%), neral (10,9%) e  $\alpha$ -zingibereno (10,3%). Para o isolado 8D a CIM e CFM foram de 364  $\mu\text{g/mL}$  de OEG. As concentrações testadas foram 11,40; 22,75; 45,50; 91; 182; 364; 636 e 1364  $\mu\text{g/mL}$  em meio de cultura YES. A micotoxina foi extraída com acetato de etila-diclorometano-metanol (3:2:1, v/v/v) e 1% de ácido fórmico. A determinação de DON foi realizada por CLAE/UV. O potencial de ação inibitório do OEG frente à produção de DON foi significativo ( $p < 0,05$ ), pois com o aumento das concentrações do óleo essencial houve aumento da inibição da produção da micotoxina. Portanto, o óleo essencial de *Zingiber officinale* inibiu a produção de desoxinivalenol em *Fusarium graminearum* a partir da concentração de 91  $\mu\text{g/mL}$ , caracterizando um efeito antimicotoxigênico.

#### Introdução

O gênero *Fusarium* se distribui amplamente na natureza, dentre suas espécies encontra-se o complexo *Fusarium graminearum*, capaz de colonizar culturas de trigo, milho, cevada e outros cereais, sendo produtores de tricotecenos, metabólitos secundários, que formam um grupo de micotoxinas com vários graus de citotoxicidade. Dentre os tricotecenos encontra-se o desoxinivalenol (DON) pertencente à família de sesquiterpenóides, a exposição a níveis elevados de contaminação pode desencadear anorexia, êmese, diarreia, hemorragia na mucosa estomacal e intestinal. Os efeitos crônicos se manifestam principalmente através de atrofia ou hiperplasia do sistema hematopoético, tumores de tireóide, dutos

biliares e hipotálamo, hiperqueratose inflamatória do estômago, bem como papilomas e efeitos imunossupressores contra uma variedade de células animais e humanas, uma vez que é um potente inibidor da biossíntese protéica através da ligação ao ribossomo (PIACENTINI et al., 2017; YUAN et al., 2017). O uso indiscriminado de praguicidas sintéticos para o controle desses fungos tem provocado resistência, levando a ocorrência de doenças emergentes e ao aparecimento de pragas secundárias. Os óleos essenciais têm sido estudados como uma alternativa a sustentabilidade, por possuírem baixa toxicidade e apresentarem atividades antifúngicas e antimicotoxigênicas. O presente estudo visou investigar o efeito do óleo essencial de *Z. officinale* na produção de DON em *F. graminearum*.

## Materiais e métodos

O OEG foi obtido do rizoma de *Z. officinale* pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger. A avaliação dos componentes do OEG foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). O isolado 8D do fungo *F. graminearum* foi obtido do banco de isolados do Laboratório de Toxicologia da UEM. A concentração inibitória mínima (CIM) do OEG foi realizada pelo método de macrodiluição em caldo conforme preconizado pelo CLSI M38-A2 (2009), com modificações. A concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada em placa com meio Sabouraud incubada a 25°C, com luz negra por 24 h. O fungo foi cultivado na presença e ausência do OEG. Os meios-testes continham as concentrações de 11,40 a 1364 µg/mL de OEG em meio de cultura YES e inóculo do *F. graminearum* foram adicionados a esses meios, em quadruplicata, com incubação em BOD a 25°C, em luz negra por 15 dias. O controle fúngico foi realizado em placa contendo somente o meio de cultura YES e o inóculo do fungo, já o controle positivo continha o meio de cultura e nistatina (1000 µg/mL) e o inóculo. Para a extração de DON, 8 plugs de 8 mm de diâmetro cada, contendo o fungo e o meio de cultivo, foram retirados de cada placa e transferidos para frascos contendo 2 mL de acetato de etila-diclorometano-metanol (3:2:1, v/v/v) e 1 % de ácido fórmico. Os frascos foram levados ao ultrassom por 45 minutos. Após, 1 mL do extrato de cada frasco foram transferidos para outros frascos devidamente identificados, os quais permaneceram em banho de água a 40 °C até completa evaporação. As amostras foram armazenadas a -20 °C até o momento da análise, sendo ressuspensas, posteriormente, com 1 mL de acetonitrila (SORENSEN et al., 2014, com modificações). A determinação de DON foi realizada por CLAE. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão e analisados utilizando a análise de variância (ANOVA), e para múltiplas comparações o teste de Tukey com o auxílio do programa GraphPad Prism 5.

## Resultados e Discussão

Os principais componentes do OEG analisado foram: geranial (15,65%), neral (10,88%) e  $\alpha$ -zingibereno (10,35%), sendo que a eficácia das propriedades antimicrobianas de óleos essenciais foi devido ao grande número de compostos químicos presentes. A CIM e a CFM obtidas foram de 364  $\mu\text{g/ml}$  de OEG para o isolado 8D do *F. graminearum*. O potencial de ação inibitório do OEG frente a produção da micotoxina DON está demonstrado na Tabela 1, na qual foi observada uma crescente porcentagem de inibição na produção de DON pelo fungo, na medida em que se aumentaram as concentrações do OEG.

**Tabela 1.** Efeito inibitório do óleo essencial de gengibre na produção de desoxinivalenol pelo *Fusarium graminearum*, "in vitro".

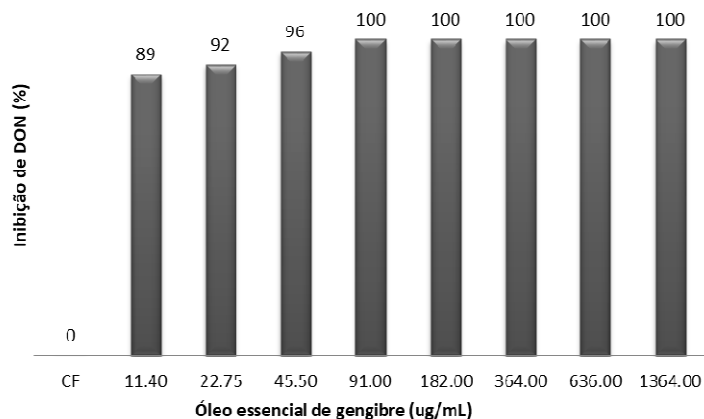
Óleo essencial ( $\mu\text{g/mL}$ )	Desoxinivalenol	
	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ ) <sup>b</sup>	Inibição (%)
CF <sup>c</sup>	28.320 $\pm$ 4.841	0
11,40	3.120 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	89
22,75	2.350 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	92
45,50	1.020 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	96
91,00	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	100
182,00	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	100
364,00	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	100
636,00	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	100
1364,00	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	100

<sup>a</sup>Diferença estatística significativa ( $p < 0.05$ ) quando comparado ao Controle Fúngico.

<sup>b</sup>Valores obtidos por análise em HPLC expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

<sup>c</sup>Controle Fúngico (inóculo livre da adição do óleo essencial).

Assim, como demonstrado na Figura 1, pode-se verificar que houve um efeito antimicotoxigênico dose-dependente, uma vez que foi possível verificar diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as concentrações de 11,40; 22,75 e 45,50  $\mu\text{g/mL}$  de OEG, sendo capaz de inibir a produção de DON em 89, 92 e 96% respectivamente. A partir da concentração de 91  $\mu\text{g/mL}$  o óleo essencial de gengibre foi capaz de inibir totalmente a produção de DON. Portanto no presente estudo, pode-se observar que o OEG mostrou uma eficácia significativa quanto à produção de desoxinivalenol produzida pelo fungo *F. graminearum*, demonstrando um efeito antimicotoxigênico e antifúngico.



**Figura 1 -** Efeito inibitório (% de inibição) do óleo essencial de gengibre na produção de deoxinivalenol pelo *Fusarium graminearum* nas concentrações de 11,4 a 1364 µg/mL.

## Conclusões

Com base nos resultados desse estudo, pode-se concluir que o OEG possui efeito antimicotoxigênico sobre a produção de DON em *F. graminearum* a partir da concentração de 91 µg/mL. Todavia estes resultados foram obtidos *in vitro*, sendo necessárias pesquisas futuras realizadas *in vivo* para que a utilização do OEG se torne uma alternativa viável, sustentável e segura no controle de fungos micotoxigênicos.

## Agradecimentos

PIBIC/CNPq-FA-UEM.

## Referências

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi. **NCCLS document M38-A2**. Wayne, PA, USA, 2009.

SORENSEN, J.L.; SONDERGAARD, T.E. The effects of different yeast extracts on secondary metabolite production in *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 170, p. 55–60, 2014.

PIACENTINI, K.C.; ROCHA, L.O.; FONTES, L.C.; CARNIELLI, L.; REIS, T.A.; CORRÊA, B. Mycotoxin analysis of industrial beers from Brazil: The influence of fumonisin B<sub>1</sub> and deoxynivalenol in beer quality. **Food Chemistry**, v. 218, p. 64-69, 2017.

YUAN, J.; SUN, C.; GUO, X.; YANG, T.; WANG, H.; FU, L.; LI, C.; YANG, H. A rapid Raman detection of deoxynivalenol in agricultural products. **Food Chemistry**, v. 221, p. 797-802, 2017.