



Óleos essenciais de *Blepharocalyx*, *Nectandra* e *Piper*: atividade sobre fungos apodrecedores de madeira

Nadia Helena BIANCHINI^{1*}, Fernando Nunes GOUVEIA², Marcelo Fontana da SILVEIRA², Carlos Garrido PINHEIRO¹, Berta Maria HEINZMANN^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

²Serviço Florestal Brasileiro, Brasília, DF, Brasil.

³Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

E-mail: nhbianchini@gmail.com

ORCID: (0000-0002-7035-6075; 0000-0003-2807-205X; 0000-0003-3620-7508; 0000-0002-1634-8015; 0000-0002-6509-949X)

Submetido em 11/04/2022; Aceito em 07/09/2022; Publicado em 21/09/2022.

RESUMO: A busca por produtos naturais que possam substituir preservantes da madeira sintéticos é crescente. Dentre estes produtos, estão os óleos essenciais (OEs). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica dos OEs de *Blepharocalyx salicifolius*, *Nectandra grandiflora*, *Nectandra megapotamica* e *Piper gaudichaudianum*, sobre os fungos apodrecedores de madeira *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*. Os OEs foram extraídos por hidrodestilação e foram caracterizados quimicamente. A atividade antifúngica dos OEs foi avaliada pelo teste de difusão em placas de Petri. A verificação da inibição foi calculada com auxílio do *software ImageJ*®. Os componentes majoritários dos OEs de *B. salicifolius* e *P. gaudichaudianum* foram eucaliptol e dilapiol, respectivamente. Bicyclgermacreno foi o constituinte majoritário do óleo essencial (OE) de folhas de *N. megapotamica*, enquanto que a deidrofuquinona foi majoritária nos OEs de folhas e frutos de *N. grandiflora*. A maior inibição do crescimento de *T. versicolor* foi causada pelo OE de *N. megapotamica*, com 31,4%. Os maiores percentuais de inibição observados sobre o crescimento de *G. trabeum* foram proporcionados pelos extrativos de *P. gaudichaudianum* e *B. salicifolius*, com 13,9 e 7,5%, respectivamente. Contudo, o resultado deste último não diferiu dos demais OEs avaliados. Os resultados indicaram que o extrativo de espécie de *Nectandra* que apresentou maior efeito sobre *T. versicolor* foi *N. megapotamica*. Entretanto, este gênero não foi tão eficiente contra *G. trabeum*.

Palavras-chave: bicyclgermacreno; deidrofuquinona; dilapiol; eucaliptol; *Gloeophyllum trabeum*; *Trametes versicolor*.

Blepharocalyx, *Nectandra* and *Piper* essential oils: activity on wood-decay fungi

ABSTRACT: The search for natural products that can replace synthetic wood preservatives is growing. Among these products are essential oils (EOs). Therefore, the aim of this study was to evaluate the antifungal activity of EOs from *Blepharocalyx salicifolius*, *Nectandra grandiflora*, *Nectandra megapotamica* and *Piper gaudichaudianum* on the wood-rotting fungi *Trametes versicolor* and *Gloeophyllum trabeum*. The EOs were extracted by hydrodistillation and chemically characterized. The antifungal activity of the EOs was evaluated by the Petri dish diffusion test. The inhibition verification was calculated using *ImageJ*® software. The major components of the EOs of *B. salicifolius* and *P. gaudichaudianum* were eucalyptol and dillapiol, respectively. Bicyclgermacrene was the major constituent of *N. megapotamica* leaves essential oil (EO), while dehydrofuquinone was the major constituent of the EOs from *N. grandiflora* leaves and fruits. The highest growth inhibition of *T. versicolor* was caused by *N. megapotamica* EO, with 31.4%. The highest inhibition percentages of *G. trabeum* growth were provided by *P. gaudichaudianum* and *B. salicifolius* extractives, with 13.9 and 7.5%, respectively. However, the result of the latter did not differ from the other EOs evaluated. The results indicated that, from the extractives of *Nectandra* species, the greatest effect on *T. versicolor* was detected to *N. megapotamica* EO. However, this genus was not so efficient against *G. trabeum*.

Keywords: bicyclgermacrene; dehydrofuquinone; dillapiole; eucalyptol; *Gloeophyllum trabeum*; *Trametes versicolor*.

1. INTRODUÇÃO

A madeira é um produto amplamente utilizado para os mais diferentes propósitos, principalmente em razão de suas propriedades físicas e mecânicas, além de ser classificada como um produto renovável. Por este motivo, a madeira é utilizada na construção civil, indústria moveleira, fabricação de esquadrias, dentre outras. Todavia, por ser um material orgânico e biodegradável, apresenta grande suscetibilidade ao

ataque de organismos xilófagos, como os fungos apodrecedores, causadores de podridão-branca e podridão-parda (STANGERLIN et al., 2013; CAI et al., 2018).

O mercado apresenta diversos preservantes sintéticos eficazes no controle desses microrganismos. Entretanto, estes produtos possuem metais pesados em suas composições, tais como cobre, chumbo e arsênio, que podem ser tóxicos ao meio ambiente e aos seres vivos. Isso

impulsionou a proibição do uso dessa classe de preservantes em diversos países (REINPRECHT; HULLA, 2015; XIE et al., 2017).

Com base no exposto, surge a necessidade da busca por produtos naturais que sejam eficazes contra os fungos apodrecedores da madeira, e menos tóxicos em relação aos produtos sintéticos (VICIOLLE et al., 2012). Os óleos essenciais (OEs) destacam-se como uma alternativa ambientalmente segura e biologicamente ativa (MOHAREB et al., 2013). Estes são líquidos à temperatura ambiente e odoríferos, obtidos de partes de plantas como folhas, flores, brotos, sementes, galhos, cascas, madeira, frutos e raízes (TOHIDI; RAHIMMALEK; TRINDADE, 2019). Por definição, os OEs são misturas complexas de constituintes voláteis, como sesquiterpenoides, monoterpénoides e fenilpropanoides, podendo conter vários grupamentos funcionais como aldeídos, fenóis, álcoois, éteres, ésteres e cetonas (HARKAT-MADOURI et al., 2015).

Os OEs podem apresentar atividades biológicas como a antifúngica frente a fungos apodrecedores da madeira (SOIDROU et al., 2013; MEDEIROS et al., 2016; SILVA et al., 2016; PINHEIRO et al., 2021). Dentre as famílias botânicas que possuem representantes com atividades antifúngicas já descritas para OEs estão Lauraceae, Myrtaceae e Piperaceae (SOIDROU et al., 2013; SIDDIQUE et al., 2015; DANIELLI et al., 2019). É possível encontrar relatos de efeitos causados por extrativos obtidos destas famílias sobre fungos apodrecedores da madeira (VARSHNEY et al., 2012; SOIDROU et al., 2013; SILVA et al., 2016; BIANCHINI, 2017; TRES, 2017).

Existem diferentes formas de avaliação da atividade antifúngica de um extrativo sobre fungos apodrecedores da madeira (BENTO et al., 2014; MEDEIROS et al., 2016; SILVA et al., 2016; PINHEIRO et al., 2021). Uma das formas de verificação do crescimento micelial dos fungos é a utilização do processamento digital de imagens. Este procedimento permite o cálculo exato do nível de inibição proporcionado por um óleo essencial (OE), uma vez que o crescimento dos fungos nem sempre é homogêneo e circular, tornando as ferramentas digitais mais precisas em relação às físicas (MEDEIROS et al., 2016).

O histórico das atividades biológicas apresentadas pelos extrativos de Lauraceae, Myrtaceae e Piperaceae, bem como a necessidade da descoberta de métodos alternativos para controle de fungos apodrecedores da madeira, estimularam a realização do presente estudo. Para isto, foram escolhidos cinco OEs, obtidos de folhas de *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth.) O. Berg. (Myrtaceae), *Nectandra grandiflora* Nees. (Lauraceae), *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. (Lauraceae) e *Piper gaudichaudianum* Kunth. (Piperaceae), e o OE de frutos de *N. grandiflora*.

Não foram encontrados relatos na literatura sobre o uso de processamento digital de imagens como ferramenta para avaliação da atividade antifúngica dos OEs das quatro espécies mencionadas sobre fungos apodrecedores da madeira. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica dos OEs de *B. salicifolius* (murta), *N. grandiflora* (canela-amarela), *N. megapotamica* (canela-preta) e *P. gaudichaudianum* (pariparoba) sobre o desenvolvimento de dois fungos apodrecedores de madeira, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, causador de podridão-branca, e *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill, causador de podridão-parda, com auxílio do processamento digital de imagens.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta do material vegetal e obtenção dos óleos essenciais

As folhas e os frutos de *N. grandiflora* foram coletados no município de Jaguari, RS, enquanto que as folhas de *P. gaudichaudianum*, de *B. salicifolius* e de *N. megapotamica* foram coletadas no município de Santa Maria, RS. Todas as coletas foram realizadas durante o verão. O material vegetal fresco foi submetido ao processo de hidrodestilação, em aparelho Clevenger modificado, em triplicata, por 3 h (AMARAL et al., 2015). Para a obtenção do OE das folhas de *P. gaudichaudianum*, foi necessário realizar a extração do OE a partir do hidrolato, com auxílio de funis de separação e do solvente hexano, que foi removido em rotaevaporador (SCHINDLER; HEINZMANN, 2017). Após a obtenção dos OEs, foram calculados os rendimentos (m/m) e as densidades (m/v) dos extrativos.

2.2. Análise da composição química dos óleos essenciais

As composições químicas dos OEs foram determinadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), em um sistema hifenado Agilent 7890A, equipado com um detector seletivo de massas série 5975C. Utilizou-se uma coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (Hewlett Packard, 5% de fenil, 95% de metilsiloxano, 30 m x 0,25 mm, espessura de filme: 0,25 mm). Parâmetros de análise: energia de ionização de 70 eV; divisão de fluxo 1:100; programa de temperatura: 40°C por 4 min; 40-320 °C a 4 °C min⁻¹. Gás carreador: He, a 1 mL min⁻¹. Temperatura do injetor e detector: 250 °C. A identificação dos compostos foi feita por comparação dos seus índices de retenção, determinados por uma curva de calibração de n-alcenos, injetados sob as mesmas condições cromatográficas das amostras, e dos padrões de fragmentação de massas (NIST, 2009) com os mencionados na literatura (ADAMS, 2009).

A quantificação dos compostos foi feita por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (CG-DIC). Os parâmetros das análises foram os mesmos supracitados, excetuando-se os seguintes: injeção com divisão de fluxo de 1:50; temperatura do injetor e detector: 300 °C. A determinação da percentagem dos componentes químicos ocorreu com base na normalização de área dos picos.

2.3. Avaliação da atividade dos óleos essenciais

A avaliação da atividade dos OEs foi feita por meio do teste de difusão em placas proposto por Medeiros et al. (2016), que determina a ação de um produto sobre o crescimento de dois fungos apodrecedores de madeira, *T. versicolor* (Mad 697), de podridão-branca, e *G. trabeum* (Mad 617), de podridão-parda. As cepas foram provenientes da Coleção de Fungos Xilófagos do Laboratório de Produtos Florestais - LPF do Serviço Florestal Brasileiro - SFB.

Para a realização do experimento, foram utilizadas 30 placas de Petri (9 cm) para cada OE analisado, sendo 10 por fungo e 10 para o controle. Cada uma delas recebeu 15 mL de meio de cultura (30 g de extrato de malte, 18 g de ágar dissolvidos em 1 L de água deionizada) e dois discos miceliais (6 mm) dos fungos apodrecedores, que foram dispostos sobre o meio em duas bordas diametralmente opostas nas placas, após este ter sido esterilizado (30 minutos a 121 °C em autoclave), resfriado e solidificado. No centro de cada placa foi feito um orifício de 5 cm de diâmetro onde foram

colocados 20 µL de cada OE. Para cada espécie fúngica foi considerado um grupo controle contendo 10 placas sem a presença de OEs. As placas foram transferidas para uma incubadora com temperatura (25 ± 2 °C) e umidade relativa do ar ($75 \pm 2\%$) controladas, para o desenvolvimento dos fungos.

O experimento foi finalizado quando as placas do grupo controle foram completamente cobertas pelos micélios. Assim, o ensaio com *T. versicolor* durou 7 dias e o teste com *G. trabeum*, 14 dias. Os dados que se apresentavam como outliers, segundo metodologia proposta por Hoaglin et al. (1986), foram removidos das análises. Utilizou-se o Teste de Shapiro-Wilk e Teste de Levene para avaliação da normalidade e homogeneidade das variâncias dos dados, respectivamente. Com todos esses pré-requisitos cumpridos, realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$).

A atividade promovida pelos OEs foi calculada por meio de análise de imagens, utilizando o *software* de domínio público *ImageJ*®. Para tal, foram obtidas fotografias, sem flash e sem zoom, de todas as placas, com uma câmera digital com 8 megapixels, posicionada a 12 cm das amostras, de acordo com Medeiros et al. (2016). A iluminação do local era difusa, com lâmpadas fluorescentes de 20 W.

Cada imagem colorida foi limiarizada (Figura 1), ou seja, transformada em uma imagem em preto e branco, a fim de que a área ocupada pelo fungo (branca) fosse calculada. Assim, o percentual de inibição foi determinado pela seguinte equação, proposta por Cheng et al. (2011):

$$PI = \left(1 - \frac{Af_{OE}}{Af_C}\right) \times 100 \quad (01)$$

em que: *PI* = Potencial de Inibição (%); *Af_{OE}* = Área ocupada pelo fungo nas placas com óleo essencial; *Af_C* = Área ocupada pelo fungo nas placas controle.

Tabela 1. Rendimento (%), densidade (g mL⁻¹) e componentes majoritários (%) dos óleos essenciais de folhas de *Blepharocalyx salicifolius* (FoBS), *Piper gaudichaudianum* (FoPG), *Nectandra megapotamica* (FoNM), *Nectandra grandiflora* (FoNG) e dos frutos de *Nectandra grandiflora* (FrNG).

Table 1. Yield (%), density (g mL⁻¹) and major components (%) of essential oils from the leaves of *Blepharocalyx salicifolius* (FoBS), *Piper gaudichaudianum* (FoPG), *Nectandra megapotamica* (FoNM), *Nectandra grandiflora* (FoNG) and *Nectandra grandiflora* fruits (FrNG).

Componentes	FoBS	FoPG	FoNM	FoNG	FrNG
α-pineno	-	-	15,93	-	-
β-pineno	-	-	13,58	-	-
α-terpineol	2,22	-	-	-	-
Eucaliptol	63,4	-	-	-	-
β-cariofileno	13,687	-	-	-	-
α-cariofileno	-	4,84	-	-	-
Germacreno D	-	4,16	-	-	-
Biclogermacreno	-	-	16,14	9,1	-
Dilapiol	-	82,62	-	-	-
Epóxido de deidrofuquinona	-	-	-	-	12,26
Deidrofuquinona	-	-	-	31,6	50,95
Eremofilan-11-en-10-ol	-	-	-	-	10,13
Kaureno	-	-	-	6,87	-
Rendimento (%)	2,29	1,79	0,17	0,43	0,68
Densidade (g mL ⁻¹)	0,89	0,99	0,85	0,91	0,89

Os rendimentos oscilaram entre 0,17 e 2,29%, enquanto que as densidades variaram entre 0,85 e 0,99 g mL⁻¹. O OE obtido dos frutos de *N. grandiflora* (FrNG) apresentou deidrofuquinona, epóxido de deidrofuquinona e eremofilan-11-en-10-ol como constituintes majoritários. No extrativo



Figura 1. Análise da atividade antifúngica dos óleos essenciais por análise de imagem. Imagem original (A) e após limiarização (B).

Figure 1. Analysis of antifungal activity of the essential oils by image analysis. Original image (A) and after thresholding (B).

3. RESULTADOS

3.1. Rendimento e caracterização dos óleos essenciais

O rendimento, a densidade e os componentes majoritários dos OEs avaliados neste estudo estão descritos na Tabela 1.

obtido de folhas de *N. grandiflora* (FoNG), destacaram-se deidrofuquinona, biclogermacreno e kaureno. O OE de *P. gaudichaudianum* (FoPG) apresentou dilapiol, α-cariofileno e germacreno D como compostos mais representativos. Eucaliptol, β-cariofileno e α-terpineol foram os constituintes

majoritários do extrativo de *B. salicifolius* (FoBS). No OE obtido das folhas de *N. megapotamica* (FoNM) foram identificados biciclogermacreno, α -pineno e β -pineno como principais compostos.

3.2. Atividade dos óleos essenciais

O maior percentual de inibição de *T. versicolor* foi proporcionado pelo OE FoNM, superior a 30%, uma atividade no mínimo 14 vezes maior que os demais extrativos (Tabela 2). Apenas a atividade de FoBS proporcionou uma inibição do fungo inferior a 1%.

Em relação à atividade dos extrativos frente a *G. trabeum*, os maiores percentuais de inibição observados foram causados pelos OEs FoPG e FoBS, com 13,9 e 7,5%, respectivamente. Entretanto, o resultado deste último OE não diferiu dos percentuais apresentados pelos outros três extrativos avaliados contra *G. trabeum*, os quais oscilaram entre 0,6 e 0,9%. FoPG apresentou uma atividade aproximadamente 15,4 vezes maior que FoNM, 19,9 vezes maior que FoNG, e 23,17 vezes maior que FrNG.

Tabela 2. Percentual de inibição dos óleos essenciais de folhas de *Blepharocalyx salicifolius* (FoBS), *Nectandra grandiflora* (FoNG), *Nectandra megapotamica* (FoNM) e *Piper gaudichaudianum* (FoPG), e de frutos de *Nectandra grandiflora* (FrNG) sobre o crescimento dos fungos *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum* em teste de difusão em placa.

Table 2. Inhibition percentage of essential oils from the leaves of *Blepharocalyx salicifolius* (FoBS), *Nectandra grandiflora* (FoNG), *Nectandra megapotamica* (FoNM) e *Piper gaudichaudianum* (FoPG) and fruits of *Nectandra grandiflora* (FrNG) on the growth of the fungi *Trametes versicolor* and *Gloeophyllum trabeum* in plate diffusion test.

Óleo essencial	<i>Trametes versicolor</i> (%)	<i>Gloeophyllum trabeum</i> (%)
FoNM	31,35 a	0,9 b
FoPG	2,23 b	13,91 a
FoBS	0,05 b	7,53 ab
FoNG	1,89 b	0,71 b
FrNG	1,62 b	0,64 b

Dados apresentados como médias (n= 10). Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível analisar as características dos OEs de espécies dos gêneros *Blepharocalyx*, *Piper* e *Nectandra*, bem como avaliar suas atividades antifúngicas sobre fungos apodrecedores da madeira. Os OEs FoBS e FoPG destacaram-se pelos elevados rendimentos e por afetaram o crescimento de *G. trabeum*. Já FoNM apresentou uma atividade antifúngica marcante sobre *T. versicolor*, apesar do baixo rendimento.

A partir da caracterização química dos OEs FoNM e FoBS, foi possível identificar a presença de monoterpenoides. A literatura apresenta relatos de atividade antifúngica de monoterpenoides como α -pineno, β -pineno e α -terpineol sobre fungos apodrecedores da madeira (ZHANG et al., 2016). O eucaliptol já teve atividade antifúngica descrita contra patógenos micotoxigênicos de plantas (MORCIA et al., 2012).

A análise dos OEs FoNM, FoPG e FoBS possibilitou a identificação de sesquiterpenoides. Representantes desta classe de constituintes como α -cariofileno e β -cariofileno apresentaram atividade antifúngica contra *Alternaria alternata* (JING et al., 2018). Derivados de sesquiterpenoides já

tiveram atividade antifúngica relatada contra fungos apodrecedores da madeira (WU et al., 2005).

As presenças dos monoterpenoides α -pineno e β -pineno, bem como do sesquiterpenoide biciclogermacreno, podem explicar a atividade antifúngica de FoNM sobre *T. versicolor*. FoBS e FoPG afetaram o crescimento de *G. trabeum*, efeito que pode estar relacionado às composições químicas dos extrativos, visto que o constituinte majoritário de FoBS é um monoterpenoide, e FoPG contém sesquiterpenoides.

No OE FoPG foi possível identificar a presença do fenilpropanoide dilapiol como constituinte majoritário, o que pode explicar a atividade antifúngica frente ao fungo de podridão-parda. Esta classe de constituintes já tem relatos de atividade antifúngica descritos na literatura, como o efeito do eugenol sobre *A. alternata* (JING et al., 2018). O OE de *Piper aduncum* L., cujo constituinte majoritário é o dilapiol, bem como uma fração enriquecida com esta substância, apresentaram atividade antifúngica sobre fungos filamentosos (FERREIRA et al., 2016). Destaca-se que o gênero *Piper* é conhecido por relatos de atividade antifúngica dos OEs produzidos por seus representantes (MORANDIM et al., 2010; SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2016).

O OE de folhas de *N. grandiflora* já teve sua atividade antifúngica avaliada contra fungos apodrecedores da madeira (SILVA et al., 2016; BIANCHINI, 2017). Em nosso estudo, o extrativo obtido de folhas da espécie foi testado sobre fungos de podridão-branca e parda utilizando-se o método descrito por Medeiros et al. (2016), diferente do utilizado pelos autores anteriormente citados. Enquanto os trabalhos anteriores avaliaram curvas de concentrações de OE diluído em solvente, em que o disco micelial do fungo é depositado no centro da placa de Petri, diretamente sobre o meio contendo o extrativo (SILVA et al., 2016; BIANCHINI, 2017), neste trabalho o OE foi aplicado puro, no centro do meio de cultura, sem depositar o disco micelial do fungo diretamente sobre o meio contendo OE. Os discos são depositados em duas extremidades da placa de Petri, e o efeito do extrativo é avaliado a partir do crescimento dos micélios em direção ao centro do meio contendo OE. Com o auxílio do processamento digital de imagens como ferramenta, foi possível avaliar a atividade dos extrativos sobre os fungos.

A partir dos resultados encontrados, pode-se observar que o fungo de podridão-branca foi mais suscetível ao OE FoNM. Existem relatos na literatura sobre a dificuldade de controlar o crescimento *in vitro* de *T. versicolor*, uma vez que este fungo produz enzimas ligninolíticas que são capazes de degradar tanto a lignina quanto compostos antifúngicos presentes nos OEs (BAYRAMOGLU; ARICA, 2009; PÁNEK et al., 2014).

O resultado encontrado em nosso estudo ressalta o potencial antifúngico do OE de folhas de *N. megapotamica*. O extrativo obtido de folhas desta espécie já teve atividade antifúngica descrita contra fungos filamentosos dos gêneros *Trichophyton* e *Microsporium* (DANIELLI et al., 2019). Entretanto, até o momento, não foram encontrados relatos de atividade do OE da espécie sobre fungos apodrecedores da madeira. No estudo de Danielli et al. (2019), os constituintes majoritários dos OEs analisados foram biciclogermacreno e germacreno D. Biciclogermacreno foi um dos principais compostos identificados no OE FoNM em nosso estudo, o que sugere que este sesquiterpenoide foi um dos causadores da atividade encontrada.

A atividade antifúngica do OE extraído de folhas de *B. salicifolius* já foi verificada contra *Paracoccidioides brasiliensis* (FURTADO et al., 2018). Entretanto, até o momento, não foram encontrados estudos sobre a atividade do OE da espécie sobre fungos apodrecedores da madeira.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo, evidencia-se o potencial dos OEs obtidos de folhas de *N. megapotamica*, *P. gaudichaudianum* e *B. salicifolius* para o controle de fungos apodrecedores da madeira. Somando-se à atividade antifúngica detectada, os extrativos de *P. gaudichaudianum* e *B. salicifolius* também apresentaram elevados rendimentos. Estes resultados indicam o potencial destas duas espécies para o futuro desenvolvimento de produtos antifúngicos com base nesses OEs. Para isto, são recomendados novos estudos, como a verificação do comportamento dos extrativos quando em contato com corpos de prova de madeira.

5. CONCLUSÕES

No presente estudo, destacaram-se os efeitos dos OEs de folhas de *N. megapotamica*, *B. salicifolius*, *P. gaudichaudianum* sobre os fungos apodrecedores da madeira. Estas duas últimas espécies vegetais apresentaram elevados rendimentos de OEs. A partir da caracterização química dos OEs, foi possível detectar a presença monoterpénoides nos dois primeiros extrativos. Nos três OEs foram identificados sesquiterpenoides, e um fenilpropanoide foi verificado no extrativo de *P. gaudichaudianum*. A partir da utilização do processamento digital de imagens como ferramenta, foi possível detectar que *N. megapotamica* destacou-se entre as espécies do gênero, por apresentar o OE com maior atividade sobre *T. versicolor*. Entretanto, contra o representante de podridão-parça, *G. trabeum*, os extrativos de *Nectandra* apresentaram efeitos menores que o demonstrado pelo OE de *P. gaudichaudianum*. Os resultados encontrados no presente estudo indicam diferentes efeitos dos extrativos de espécies de *Blepharocalyx*, *Nectandra* e *Piper* sobre fungos apodrecedores da madeira.

6. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

7. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrometry**. 4 ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2009. 804p.
- AMARAL, L. P.; SCHINDLER, B.; BIANCHINI, N. H.; LONGHI, S. J.; ALMEIDA, C. A. A. de; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Variabilidad de la composición química del aceite esencial de *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez (Lauraceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 3, p. 190-205, 2015.
- BAYRAMOGLU, M.; ARICA, M. Y. Immobilization of laccase onto poly (glycidyl methacrylate) brush grafted poly (hydroxyethyl methacrylate) films: enzymatic oxidation of phenolic compounds. **Materials Science and Engineering**, v. 6, n. 1, p. 1990-1997, 2009.
- BENTO, T. S.; TORRES, L. M. B.; FIALHO, M. B.; BONONI, V. L. R. Growth inhibition and antioxidative response of wood decay fungi exposed to plant extracts of *Casearia* species. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 79-86, 2014. <https://doi.org/10.1111/lam.12159>.
- BIANCHINI, N. H. **Óleo essencial de *Nectandra grandiflora* Nees & Mart. ex Nees: efeito antifúngico e bioestimulante em cultivos in vitro**. 2017. 99p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.
- CAI, L.; JEREMIC, D.; LIM, H.; KIMET, Y. β -Cyclodextrins as sustained-release carriers for natural wood preservatives. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 42-48, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.061>.
- CHENG, S.-S.; LIN, C.-Y.; GU, H.-J.; CHANG, S.-T. Antifungal activities and chemical composition of wood and leaf essential oils from *cunninghamia konishii*. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, v. 31, n. 3, p. 204-217, 2011. <https://doi.org/10.1080/02773813.2010.515049>.
- DANIELLI, L. J.; SOUZA, T. J.; MACIEL, A. J.; FERRÃO, M. F.; FUENTEFRIA, A.M.; APEL, M.A. Influence of monoterpenes in biological activities of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez essential oils. **Biomolecules**, v. 9, n. 3, p. 112, 2019. <https://doi.org/10.3390/biom9030112>.
- FERREIRA, R. G. MONTEIRO, M. C.; SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S. Antifungal action of the dillapiole-rich oil of *Piper aduncum* against dermatomycoses caused by filamentous fungi. **Journal of Advances in Medicine and Medical Research**, v. 15, n. 12, p. 1-10, 2016. 10.9734/BJMMR/2016/26340.
- FURTADO, F. B.; BORGES, B. C.; TEIXEIRA, T. L.; GARCES, H. G.; ALMEIDA JUNIOR, L. D. D.; ALVES, F. C. B.; SILVA, C. V.; FERNANDES JUNIOR, A. Chemical composition and bioactivity of essential oil from *Blepharocalyx salicifolius*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 33, 2018. <https://doi.org/10.3390/ijms19010033>.
- HARKAT-MADOURI, L.; ASMA, B.; SAID, Z. B. S.; RIGOU, P.; GRENIER, D.; ALLALOU, H.; REMINI, H.; ADJAUD, A.; BOULEKBACHE-MAKHLLOUF, L. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. **Industrial Crops and Products**, v. 78, p. 148-153, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.10.015.
- HOAGLIN, D. C.; IGLEWICZ, B.; TUKEY, J. W. Performance of some resistant rules for outlier labeling. **Journal of American Statistical Association**, v. 81, p. 991-999, 1986. <https://doi.org/10.2307/2289073>.
- JING, C.; ZHAO, J.; HAN, X.; HUANG, R.; CAI, D.; ZHANG, C. Essential oil of *Syringa oblata* Lindl. as a potential biocontrol agent against tobacco brown spot caused by *Alternaria alternata*. **Crop Protection**, v. 104, p. 41-46, 2018. DOI: 10.1016/j.cropro.2017.10.002.
- MEDEIROS, F. C. M.; GOUVEIA, F. N.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F.; DEL MENEZZI, C. H. S. Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 114, p. 87-93, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.06.003>.
- MOHAREB, A. S. O.; BADAWY, M. E. I.; ABDELGALEIL, S. A. M. Antifungal activity of essential oils isolated from Egyptian plants against wood decay fungi. **Journal of Wood Science**, v. 59, p. 499-505, 2013. DOI: 10.1007/s10086-013-1361-3.

- MORANDIM, A. D. A.; PIN, A. R.; PIETRO, N. A.; ALECIO, A. C.; KATO, M. J.; YOUNG, C. M.; OLIVEIRA, J. E.; FURLAN, M. Composition and screening of antifungal activity against *Cladosporium sphaerospermum* and *Cladosporium cladosporioides* of essential oils of leaves and fruits of *Piper* species. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 37, p. 6135-6139, 2010. DOI: 10.5897/AJB09.1956.
- MORCIA, C.; MALNATI, M.; TERZI, V. *In vitro* antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 29, n. 3, p. 415-422, 2012. DOI: 10.1080/19440049.2011.643458.
- NIST/EPA/NIH mass spectral library and search/ analysis programs. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons, 2010.
- PÁNEK, M.; REINPRECHT, L.; HULLA, M. Ten Essential Oils for Beech Wood Protection - Efficacy Against Wood-destroying Fungi and Moulds, and Effect on Wood Discoloration. **BioResources**, v. 9, n. 3, p. 5588-5603, 2014.
- PINHEIRO, C. G.; BIANCHINI, N. H.; BATISTA, B. F.; PAVLACK, A. S.; MUNIZ, M. F. B., PAVANATO, M. A.; GOUVEIA, F. N.; REINIGER, L. R. S.; HEINZMANN, B. M. *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling essential oil: antifungal activity and effect on ergosterol content of wood-decay fungi. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 3, p. 265-275, 2021. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1840450>.
- RASBAND, W. S. **ImageJ**, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- REINPRECHT, L.; HULLA, M. Colour changes in beech wood modified with essential oils due to fungal and ageing-fungal attacks with *Coniophora puteana*. **Drewno**, v. 58, n. 194, p. 37-48, 2015. DOI: 10.12841/wood.1644-3985.114.03.
- SCHINDLER, B.; HEINZMANN, B. M. *Piper gaudichaudianum* Kunth: seasonal characterization of the essential oil chemical composition of leaves and reproductive organs. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 60, e17160441 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160441>.
- SIDDIQUE, S.; PERVEEN, Z.; NAWAZ, S.; SHAHZAD, K.; ALI, Z. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of six species from family Myrtaceae. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 4, p. 950-956, 2015. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935020>.
- SILVA, D. T.; BIANCHINI, H. H.; MUNIZ, M. F. B.; HEINZMANN, B. M.; JABIDI, J. Chemical composition and inhibitory effects of *Nectandra grandiflora* leaves essential oil against wood decay fungi. **Drewno**, v. 59, n. 197, 2016. <http://dx.doi.org/10.12841/wood.1644-3985.C29.10>.
- SILVA, J. K. R.; ANDRADE, E. H. A.; GUIMARAES, E. F.; MAIA, J. G. S. R. Essential oil composition, antioxidant capacity and antifungal activity of *Piper divaricatum*. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 3, p. 477-480, 2010. <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500327>.
- SILVA, J. K. R.; SILVA, N. N.; SANTANA, J. F. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S.; SETZER, W. N. Phenylpropanoid-rich essential oils of *Piper* species from the Amazon and their antifungal and anti-cholinesterase activities. **Natural Product Communications**, v. 11, n. 12, p. 1907-1911, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X1601101233>.
- SOIDROU, S. H.; FARAH, A.; SATRANI, B.; GHANMI, M.; JENNAN, S.; HASSANE, S. O. S.; LACHKAR, M.; EL ABED, S.; IBNSOUDA KORAICHI, S.; BOUSTA, D. Fungicidal activity of four essential oils from *Piper capense*, *Piper borbonense* and *Vetiveria zizanioides* growing in Comoros against fungi decay wood. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, n. 3, p. 216-223, 2013. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.767758>.
- STANGERLIN, D. M.; COSTA, A. F. da.; GONÇALEZ, J. C.; PASTORE, T. C. M.; GARLET, A. Resistência natural da madeira de três espécies amazônicas submetidas ao ataque de fungos apodrecedores. **Revista Ciência da Madeira**, v. 4, n. 1, p. 15-32, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672013000400004>.
- TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; TRINDADE, H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. **Industrial Crops and Products**, v. 134, p. 89-99, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.038>.
- TRES, J. **Rendimento e composição química do óleo essencial de raízes de *Piper gaudichaudianum* Kunth e atividade fungitóxica *in vitro***. 2017. 85p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.
- VARSNEY, V. K.; PANDEY, A.; ONIAL, P. K.; DAYAL, R. Antifungal activity of phytochemicals from *Eucalyptus hybrid* leaves against some plant pathogenic and wood decay fungi. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 45, n. 19, p. 2347-2354, 2012. <https://doi.org/10.1080/03235408.2012.727073>.
- VICIOLE, E.; CASTILHO, P.; ROSADO, C. In vitro and in vivo assessment of the effect of *Laurus novocanariensis* oil and essential oil in human skin. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 34, n. 6, p. 546-550, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2012.00745.x>.
- WU, C. L.; CHIEN, S. C.; WANG, S. Y.; KUO, Y. H.; CHANG, S. T. Structure-activity relationships of cadinane-type sesquiterpene derivatives against wood-decay fungi. **Holzforchung**, v. 59, n. 6, p. 620-627, 2005. <https://doi.org/10.1515/HF.2005.100>.
- XIE, Y.; WANG, Z.; HUANG, Q.; ZHANG, D. Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 278-285, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.041>.
- ZHANG, Z.; YANG, T.; MI, N.; WANG, Y.; LI, G.; WANG, L.; XIE, Y. Antifungal activity of monoterpenes against wood white-rot fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 106, p. 157-160, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.10.018>.