

A QUE CHEIRAM OS PINHEIROS-BRAVOS?

PAISANA, Joana¹; GOMES, Patrícia¹; PAISANA, Pedro¹; FONSECA, Sofia¹; PAISANA, Vasco¹; NEVES, A. Sofia¹; RIBEIRO, Mónica¹; FIGUEIREDO, A. Cristina²

¹ 12^a (2020/2021), Escola Básica e Secundária Alfredo da Silva, Praça de Bento Jesus Caraça, 2830-322 Barreiro, Portugal

² CESAM Lisboa, CBV, DBV, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

Introdução

O pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*) é a terceira espécie arbórea mais abundante em Portugal, ocupando 713 mil hectares de área florestal em 2015, e é caracterizada por uma grande importância ecológica e versatilidade, tendo várias aplicações, nomeadamente, no fabrico da pasta de papel, na resinagem, e grande relevância nas indústrias madeireira, de painéis, cosmética e farmacêutica, pelos seus óleos essenciais. Representam 17% do valor económico total da floresta portuguesa e influenciando diretamente cerca de 2% do PIB nacional [1, 2].

Nos últimos anos, tem-se verificado uma diminuição dos povoamentos de pinheiro-bravo, devido aos incêndios florestais, exploração intensiva sem reposição e incidência de pragas e doenças, tais como a Doença da Murchidão do Pinheiro, causada pelo nemátode *Bursaphelenchus xylophilus* e cujo inseto-vetor é o longicórnio do pinheiro (*Monochamus galloprovincialis*). Estes agentes bióticos provocam alterações nos óleos essenciais produzidos pelo pinheiro-bravo [3, 4]. As características destas substâncias emitidas pelos pinheiros estão assim relacionadas com a atividade de certos insetos, fungos, bactérias e nemátodes, que estabelecem entre si outras relações interespecíficas [3].

Propõem-se, com este estudo, analisar a forma como a debilidade do pinheiro-bravo tem efeito na quantidade e composição das substâncias voláteis emitidas, e que constituem os óleos essenciais presentes nas suas agulhas, recorrendo a diferentes técnicas de extração e análise.

Materiais e Métodos

As amostras de agulhas foram recolhidas a partir de indivíduos saudáveis e em declínio de uma população de pinheiro-bravo próxima da Piscina Municipal de Alhos Vedros (Figs. 1A, 1B, 1C), guardadas em sacos de papel e transportadas até ao local de análise (laboratórios da FCUL).

RECOLHA

EXTRAÇÃO

ANÁLISE



Fig. 1 - A. Pinheiro-bravo saudável; B. Recolha de agulhas; C. Pinheiro-bravo em declínio.

Os voláteis e os óleos essenciais foram retirados e sujeitos a análise através de cromatografia e espectrometria, numa primeira vez no cromatógrafo de gás (GC) (Fig. 3A), e repetindo-se o processo, no espectrómetro de massa (GC-MS) (Fig. 3B).



Fig. 3 - A. Cromatógrafo de gás (GC); B. Espectrómetro de massa (GC-MS) com a agulha de SPME inserida.

Discussão

Os óleos essenciais foram obtidos com um maior rendimento com as agulhas do pinheiro saudável (0,12%) relativamente às do pinheiro em declínio (0,04%), e a sua análise aliada à dos voláteis obtidos por SPME determinou a presença de α -pineno, β -pineno, β -cariofileno, germacreno D e abietadieno como compostos principais (Fig. 4).

Verifica-se uma reduzida quantidade de compostos voláteis obtidos por SPME e a sua emissão revela-se menor nas agulhas do pinheiro-bravo em declínio do que no saudável, o que é visível comparando os picos dos cromatogramas das figuras 4A e 4B.

Os cromatogramas das figuras 4C e 4D mostram uma diminuição bastante expressiva dos compostos que surgem mais tarde na cromatografia do óleo essencial do pinheiro em declínio, entre os quais se identifica o abietadieno, comparado com o óleo essencial do pinheiro saudável. Esta situação é contrária à que se sucede com o β -pineno, que apresenta maior valor no óleo essencial do pinheiro em declínio.

Conclusão

Revela-se, então, essencial o conhecimento da idade do pinheiro e dos ramos onde foram recolhidas as agulhas, a identificação e o entendimento da atividade do agente biótico causador da doença e das relações interespecíficas estabelecidas, além do aumento do número de amostras provenientes de indivíduos da mesma população e a sua recolha em diferentes dias para garantir a homogeneidade da amostragem, de modo proceder à comparação dos dados obtidos com os referentes a outras populações de pinheiro-bravo.

A concretização destes aspetos permitirá o estabelecimento de conclusões com maior valor científico relativamente à avaliação da debilidade do pinheiro com base nos seus óleos essenciais e na emissão de voláteis, e não só contribuirá para uma ação mais eficaz no controlo das doenças associadas a esta espécie como também para a sua valorização a nível económico, ambiental e social, salientando-se a importância da sua conservação para o património nacional.

Bibliografia

- [1] Correia, A.V.; Oliveira, A.; Fábão, A.; Mendes, A.; Fialho, A.; Aguiar, C.; Catry, F.; Goes, F.; Sequeira, E.; Soares, J.; Pereira, J.; Capelo, J.; Costa, J.; Leal, L.; Radich, M.; Lousã, M.; Canaveira, P. et Silva, J. (2007) - *Árvores e Florestas de Portugal- Pinhais e Eucaliptais: a floresta cultivada*. Pública/ Fundação Luso-Americana para o Desenvolvimento/ LPN Eds.: 283 pp.
- [2] ICNF (2015) - *Inventário Florestal 6*. ICNF ed. Lisboa.
- [3] Gonçalves, E.; Figueiredo, A.C.; Barroso, J.G.; Henriques, J.; Sousa, E. et Bonifácio, L. (2020) - Effect of *Monochamus galloprovincialis* feeding on *Pinus pinaster* and *Pinus pinea*, oleoresin and insect volatiles. *Phytochemistry*. 169, 112159.
- [4] Sousa, E.; Vale, F. et Abrantes, I. (2013) - *Doença da Murchidão do Pinheiro na Europa- Interações Biológicas e Gestão Integrada*. 1.^a edição, FNAPF, Lisboa
- [5] Rodrigues, A.M.; Mendes, M.D.; Lima, A.S.; Barbosa, P.M.; Ascensão, L.; Barroso, J.G.; Pedro, L.G.; Mota, M.M. et Figueiredo, A.C. (2017) - *Pinus halepensis*, *Pinus pinaster*, *Pinus pinea* and *Pinus sylvestris* essential oils chemotypes and monoterpene hydrocarbon enantiomers, before and after inoculation with the Pinewood Nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. *Chem. Biodiversity*. 14, e1600153.

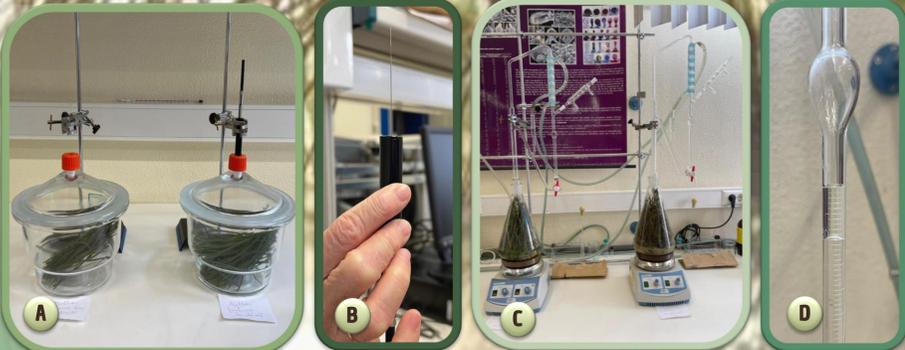


Fig. 2 - A. Exsicadores com agulhas de pinheiro (à direita agulhas do pinheiro saudável com fibra de SPME inserida no exsicador; à esquerda agulhas do pinheiro em declínio); B. Fibra de SPME com fibra exposta; C. Hidrodestilação em aparelhos de Clevenger (à direita, agulhas do pinheiro saudável; à esquerda, agulhas do pinheiro em declínio); D. Pormenor da ampola de recolha do óleo essencial do aparelho de Clevenger (na parte superior o óleo essencial e na inferior o hidrolato).

Parte das agulhas recolhidas foi colocada em dois exsicadores (um para as agulhas do pinheiro em declínio, outro para as do pinheiro saudável), de modo a permitir a adsorção pelas fibras de SPME (microextração na fase sólida) dos voláteis naturalmente libertados, durante 1h (Figs. 2A, 2B). Paralelamente e durante 3h, extraíram-se os óleos essenciais recorrendo a hidrodestilação da outra parte das agulhas, utilizando um destilador de Clevenger para cada tipo de agulhas (Figs. 2C, 2D). No final da destilação mediou-se em cada um o volume de óleo essencial obtido e separou-se do hidrolato por congelação.

Resultados

Com a análise dos resultados é possível concluir que técnica mais eficaz na obtenção dos compostos voláteis é a hidrodestilação com o Clevenger. Para aumentar a eficiência da técnica de SPME seria necessário colocar as agulhas de imediato nos exsicadores, e estando o ambiente do exsicador saturado, sujeitá-las a análise o mais breve possível.

A constatação de um maior valor de α -pineno em relação a β -pineno e ausência de δ -3-careno permite inferir que ambos os pinheiros são do quimiotipo C3 (α -pineno/ β -pineno) [3].

No que diz respeito à presença de abietadieno (diterpeno comum em coníferas) esta é involuntariamente grande no pinheiro saudável [3] [5]. No entanto, é preciso ter em conta que a análise das agulhas efetuou-se em laboratório quatro dias após a colheita, o que pode influenciar as quantidades de voláteis obtidos, já que, com a redução da presença dos compostos mais voláteis, os compostos menos voláteis se afiguram mais representativos na amostra.

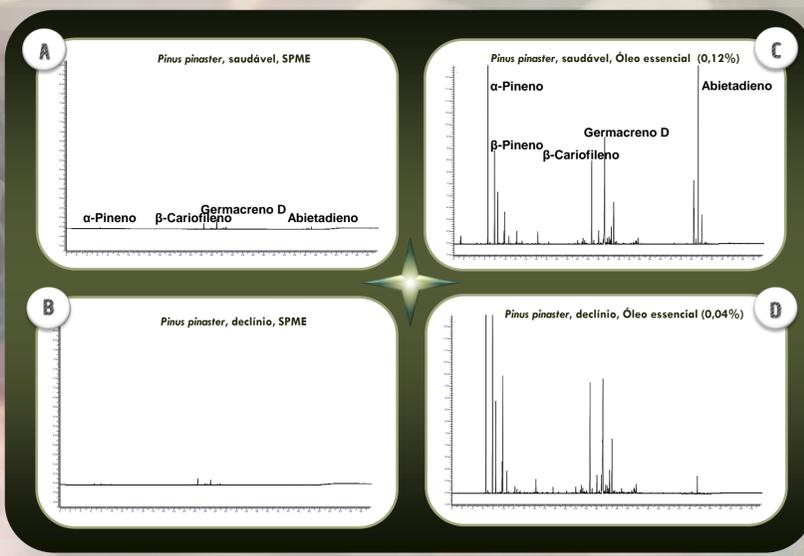


Fig. 4 - (A-D) Gráficos resultantes da combinação dos dados obtidos através da cromatografia gasosa e espectrometria de massa das substâncias recolhidas por SPME e dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação.

Agradecimento:

Ao Doutor Luís Bonifácio do INIAV pela ajuda no trabalho de campo.



Com o apoio de:



A Equipa

