

TOXICIDADE DO EXTRATO METANÓLICO DA CANELA (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) CONTRA FUNGOS FITOPATÓGENOS

Lucas Pinheiro DIAS (1); Mariana Séfora Bezerra SOUSA (2); Hudson Fernando Nunes MOURA (3); Jucilene Rodrigues CARDOSO (4); Vera Lúcia Viana do NASCIMENTO (5)

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - Praça da Liberdade, 1597, 64000-040, Centro, Teresina (PI), e-mail: lpinheirodias@gmail.com

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: marianasefora@bol.com.br

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: nandonunez@yahoo.com.br

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: jucilenerc@gmail.com

(5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: veravnascimento@gmail.com

RESUMO

O uso indiscriminado de agrotóxicos tem ocasionado diversos problemas ambientais como contaminação do solo, da água e dos ecossistemas. Na busca por alternativas para o controle de doenças no campo, muitos pesquisadores têm se dedicado a estudar extratos e óleos vegetais, os quais apresentam substâncias bioativas conhecidas como metabólitos secundários, capazes de inibir o crescimento de fungos e bactérias. As especiarias e as ervas aromáticas aparecem como os principais objetos de estudo na busca por praguicidas naturais. Um exemplo de condimento bastante estudado é a canela-da-Índia (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). Nesse contexto, a presente pesquisa experimental foi desenvolvida com o objetivo de avaliar a atividade fungitóxica *in vitro* do extrato metanólico de *C. zeylanicum* Blume sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatógenos *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum* através da técnica de diluição do extrato em meio de cultura específico (BDA). O extrato foi avaliado nas concentrações de 10, 30 e 50 mg/mL, sendo que a taxa de inibição foi obtida pela comparação das placas teste com o controle. O extrato da canela mostrou-se eficiente no controle dos fitopatógenos, inibindo totalmente o crescimento dos mesmos na concentração de 50 mg/mL, sendo o patógeno *C. cladosporioides* mais susceptível a ação do extrato. Esses resultados são animadores, pois mostram que a canela pode ser empregada como um fungicida natural, necessitando apenas de estudos sobre sua ação *in vivo*.

Palavras-chave: Fungitoxidade, extratos vegetais, *Cinnamomum zeylanicum* Blume.

1 INTRODUÇÃO

Doenças em plantas têm levado a uma diminuição na produção de alimentos, reduzindo seu fornecimento à população. Os fungos são responsáveis por 70% das doenças que causam danos em várias culturas, diminuindo a sua produtividade (POZZA et al. 2006).

No combate a essas doenças, os agricultores têm utilizado diversos compostos químicos tóxicos, os agrotóxicos, a exemplo dos fungicidas. Sendo que no período compreendido entre 1964 e 1991 a utilização de agrotóxicos teve um aumento de 276,2%. Como conseqüências desse aumento, temos a contaminação do solo, da água, dos alimentos e dos ecossistemas (CAMPANHOLA, 2003).

Uma alternativa para o manejo ecológico de pragas é a substituição dos agrotóxicos por compostos naturais obtidos das plantas. A ação de vários extratos brutos, óleos essenciais e compostos isolados de extratos de plantas já foi avaliada sobre o desenvolvimento de diversos microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (STANGARLIN et al. 1999).

Dentro deste contexto, a presente pesquisa experimental foi desenvolvida com objetivo de avaliar a ação *in vitro* do extrato metanólico da canela-da-Índia (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) sobre o crescimento micelial de dois importantes fungos fitopatógenos: *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os fungos são organismos eucariontes, uni ou multicelulares, heterótrofos por absorção e apresentam parede celular constituída por quitina. São organismos fundamentais ao equilíbrio da natureza. As espécies saprofágicas, juntamente com as bactérias heterotróficas constituem os principais decompositores da biosfera. Muitos fungos vivem em simbiose com outros organismos, por exemplo, os líquens, associações simbióticas mutualísticas entre fungos e algas verdes ou cianobactérias, e as micorrizas, associação simbiótica entre fungos e raízes de grande parte das plantas superiores. Os fungos também possuem valor econômico e aplicações na produção de alimentos e medicamentos (STEVENSON, 1974).

No entanto, na maior parte das vezes, os fungos são lembrados somente pelos danos que algumas espécies causam, seja ocasionando problemas de saúde como alergias e micoses em animais ou parasitando plantas. Os fungos são os principais agentes causadores de doenças em plantas. Existem mais de 5.000 espécies de fungos que atacam culturas de alto valor econômico, bem como plantas ornamentais e outras não cultivadas (RAVEN et al. 1992).

Dentro desse grupo se encontra o *Cladosporium cladosporioides*, um ascomiceto da ordem Eurotiales, agente etiológico da verrugose do maracujazeiro (ALEXOPOULOS, 1996). O fitopatógeno ataca os tecidos novos de folhas, os ramos, as gavinhas, as flores e os frutos do maracujazeiro. A doença ocasiona o surgimento de pequenas manchas translúcidas e circulares nas folhas e posterior necrose e queda das mesmas (GOES, 1998).

Outro importante fungo patógeno de plantas é o *Colletotrichum lindemuthianum*, que afeta um grande número de plantas leguminosas, como *Phaseolus acutifolius*, *P. coccineus*, *P. lunatus*, *Vicia faba* e *Vigna unguiculata*. A infecção severa é observada em plantas da espécie *Phaseolus vulgaris* L., principalmente (KIMATI, 1980).

Na tentativa de eliminar esses e outros patógenos de suas lavouras, os agricultores têm feito uso constante de fungicidas, compostos químicos tóxicos pertencentes ao grupo dos agrotóxicos. Segundo Ribas e Matsumura (2009) os agrotóxicos podem ser definidos como substâncias químicas naturais ou sintéticas, utilizadas para matar, controlar ou combater de algum modo as pragas, doenças e ervas invasoras das lavouras, constituindo um importante meio de controle do homem sobre os agroecossistemas.

A aplicação indiscriminada de tais compostos tem trazido uma série de transtornos e modificações para o ambiente, tanto pela contaminação das comunidades de seres vivos que o compõe, quanto pela sua acumulação nos segmentos bióticos e abióticos do ecossistema (BONALDO et al. 2007)

Com o objetivo de reduzir os efeitos negativos do uso de agrotóxicos e aumentar a produção de alimentos de melhor qualidade, propiciando assim o desenvolvimento de uma agricultura "mais limpa", têm-se buscado

novas medidas de proteção das plantas contra as doenças. Desta forma, vários estudos estão sendo realizados na busca de pesticidas naturais, sendo que os extratos vegetais aparecem como fontes potenciais para o desenvolvimento desses novos produtos. A utilização de produtos naturais no controle de doenças de plantas representa um meio eficiente para a redução do uso de defensivos agrícolas (KIMATI et al. 1997).

Dentre as espécies estudadas, temos a *Cinnamomum zeylanicum* Blume, conhecida popularmente como canela-da-Índia, espécie usada mundialmente na perfumaria e na culinária, como corretivo de odores e sabores, sendo seu óleo essencial usado na preparação de alguns medicamentos. Partes da planta (casca, frutos e folhas) apresentam propriedades estimulante, tônica, carminativa e antiespasmódica (ALMEIDA, 1993).

Na canela, a constituição química varia significativamente em relação às distintas partes da planta, a casca é rica em aldeído cinâmico e a folha é fonte de eugenol (KOKETSU et al. 1997). O eugenol foi citado em diversos trabalhos como inibidor do crescimento microbiano (FARIA et al. 2006; LEMOS et al. 2005; PEREIRA et al., 2004), apresentando interesse como matéria-prima em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e produtos farmacêuticos. Segundo Santurio e colaboradores (2007) o óleo essencial extraído da canela apresenta um potencial antimicrobiano significativo frente a bactérias e fungos.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção do material vegetal e preparo do extrato

As cascas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume foram adquiridas em uma rede de supermercados de Teresina-PI. A preparação do extrato metanólico foi realizada no Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI. Pesou-se 50,0 g do pó obtido pela moagem das cascas da canela e adicionou-se 150,0 mL de metanol. A mistura foi mantida em repouso e ao abrigo de luz por um período de 15 dias. Após o período de extração, foi feita a separação do material vegetal e do extrato, por meio de uma filtração. A eliminação do solvente foi feita em evaporador rotatório até obtenção do extrato metanólico seco.

3.2 Teste de fungitoxidade

A atividade antifúngica foi avaliada por meio da inibição *in vitro* do crescimento micelial dos fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. lindemuthianum* de acordo com a metodologia proposta por Franzener et al. (2007). As linhagens de fungos utilizadas no bioensaio foram cedidas pelo Laboratório de Fungos Zoóspóricos da Universidade Federal do Piauí e o experimento foi realizado no Laboratório de Biologia do IFPI.

O extrato foi incorporado ao meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) ainda fundente de modo a obter-se três diferentes concentrações: 10, 30 e 50 mg de extrato por mL de meio de cultura. Após a solidificação do meio, um disco de micélio de 6 mm de diâmetro foi transferido de uma cultura pura de sete dias para o centro da placa. A avaliação foi realizada através de duas medições diametralmente opostas das colônias quando o controle (BDA sem adição do extrato) atingiu o máximo de crescimento. O experimento foi conduzido em triplicata de forma inteiramente casualizada. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. O programa utilizado para os referidos cálculos foi o ASSISTAT versão 7.5 beta (SILVA, 2010).

4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os resultados dos testes de susceptibilidade dos fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. lindemuthianum* ao extrato metanólico da canela estão dispostos nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

O patógeno *C. cladosporioides* mostrou-se mais susceptível a ação do extrato metanólico da canela. A concentração de 30 mg/mL foi suficiente para promover uma inibição total de seu crescimento sendo, o mesmo efeito observado para a concentração de 50 mg/mL. A concentração de 10 mg/mL não mostrou efeito significativo sobre o crescimento do patógeno.

Enquanto a concentração de 30 mg/mL inibiu totalmente o desenvolvimento de *C. cladosporioides*, para o *C. lindemuthianum* foi necessária uma concentração de 50 mg/mL para atingir a mesma resposta. As concentrações de 10 e 30 mg/mL ocasionaram uma redução de 42,00 e 51,60%, respectivamente, no crescimento do fungo, sendo que ambas não apresentaram diferença estatística significativa entre si.

Tabela 1: Taxa de inibição do crescimento micelial de *C. cladosporioides* sobre ação do extrato metanólico de *C. zeylanicum* Blume em diferentes concentrações.

Fitopatógeno	Concentração do extrato (mg/mL)	Crescimento micelial médio (cm)	Taxa de inibição (%)
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,0	6,2 a	-
	10,0	5,8 a	6,45
	30,0	0,0 b	100,00
	50,0	0,0 b	100,00

*As médias acompanhadas com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey a 5% de probabilidade)

Tabela 2: Taxa de inibição do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* sobre ação do extrato metanólico de *C. zeylanicum* Blume em diferentes concentrações.

Fitopatógeno	Concentração do extrato (mg/mL)	Crescimento micelial médio (cm)	Taxa de inibição (%)
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	0,0	6,2 a	-
	10,0	3,6 b	42,00
	30,0	3,0 b	51,60
	50,0	0,0 c	100,00

*As médias acompanhadas com a mesma letra não diferem entre si (Teste de Tukey a 5% de probabilidade)

Cruz e colaboradores (2009) avaliaram a ação dos extratos aquosos de plantas medicinais e aromáticas no controle de patógenos associados a grãos de milho, sendo a canela uma das espécies estudadas. O extrato aquoso da canela foi testado na concentração de 20%, mostrando-se efetivo no controle dos patógenos *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus* presentes nos grãos.

Viegas e colaboradores (2005) avaliaram a ação *in vitro* dos óleos essenciais do alho e da canela sobre o desenvolvimento de *Aspergillus flavus*, espécie que apresenta potencial para a síntese de aflatoxina. Os autores constataram maior toxicidade do óleo essencial da canela que do de bulbilhos de alho.

López et al. (2005) estudaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais do cravo (*E. caryophyllata*) e canela (*C. zeylanicum*) sobre diversos microrganismos contaminantes de alimentos e observaram que ambos os óleos apresentaram uma excelente ação antibacteriana e antifúngica. Esses autores também observaram que os óleos tiveram uma potência maior para os fungos, seguido das bactérias Gram positivas, sendo *P. aeruginosa* a bactéria que apresentou maior resistência ao óleo essencial.

Gerhardt (1973) avaliou a composição química da canela e comprovou a presença das seguintes substâncias: aldeído cinâmico (75-90%), aldeído benzóico, ácido benzóico, éster do ácido cinâmico-cumarina, metil-orto-cumaraldeído, éster metílico do ácido salicílico a ácido cinâmico.

Jham et al. (2005) realizaram um estudo com o objetivo de identificar o principal composto fungitóxico da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Os dois fungos de armazenamento, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus ruber* foram usados como fungos-teste. Os dados revelam que o cinamaldeído é o composto principal com atividade antifúngica tanto no óleo extraído com hexano quanto no óleo destilado da casca de canela. Os outros componentes parecem ter efeito aditivo ou sinérgico na atividade fungitóxica total.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato metanólico de *Cinnamomum zeylanicum* Blume mostrou-se eficiente no controle *in vitro* do crescimento dos fitopatógenos *C. sphaerospermum* e *C. lindemuthianum*, inibindo totalmente o crescimento dos mesmos na concentração de 50 mg/mL. Esses resultados são animadores, pois mostram que a canela pode ser empregada como um fungicida natural, necessitando apenas de estudos sobre sua ação *in vivo*. A aplicação de extratos vegetais em substituição aos agrotóxicos é de fundamental importância para a prática de uma agricultura sustentável.

REFERÊNCIAS

- ALEXOPOULOS, C. J., et al. **Introductory mycology**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, 1996. 632p.
- ALMEIDA, E. R. **Plantas Mediciniais Brasileiras**. Hemus: São Paulo, 1993. 341pp.
- BONALDO, S. M., et al. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathol.**, v.33, n.4, p.383-387. 2007.
- CAMPANHOLA, C. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, 2003. 279p.
- FARIA, T. J., et al. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Curitiba, v.49, n.6, p. 867-871, 2006.
- FRANZENER, G. et al. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, n.1, p.29-38, 2007.
- GERHARDT, U., 1973. **Especies y Condimentos**. Zaragoza: Acribia.
- GOES, A. Doenças fúngicas da parte aérea da cultura de maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 5., 1998, Jaboticabal. **Anais...**Jaboticabal: Funep, 1998, p. 208-216.
- JHAM, G.N., DHINGRA, O.D., JARDIM, C.M. & VALENTE, V.M. Identification of the major fungitoxic component of cinnamon bark oil. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.4, p.404-408. 2005.
- KIMATI, H. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: GALLI, F. (Coord.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, cap.19, p.297-318. 1980.
- KIMATI, H., et al. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. v.2, São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1997.
- KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L.; GODOY, R. L. O. The bark and leaf essential oils of cinnamom (*Cinnamomum verum* Presl) grown at Paraná, Brazil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.17, n.3, p. 281-285, 1997.
- LEMOS, J. A., et al. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. toward *Cryptococcus neoformans*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, Rio de Janeiro, 100(1): p. 55-58, 2005.
- LÓPEZ, P. et al. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.17, p.6939-6946, 2005.
- PEREIRA, R. S., et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Rev. Saúde Pública**, v.38, n.2, p. 326-328, 2004.

POZZA, E. A., et al. Extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish) na inibição *in vitro* de *Cylindrocladium scoparium* e de quatro espécies de ferrugens. **Cerne**, v.12, n. 2, p.189-193. 2006.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 5 ed. 728p. 1992.

RIBAS, P. P., MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v.10, n.14, p.149-158. 2009.

SANTURIO, J. M., et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella entérica* de origem avícola. **Ciência Rural**. v. 37, n. 3, 2007.

SILVA, F. A. S. **ASSISTAT**. Versão 7.5 beta, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-PB. 2010.

STANGARLIN, J. R., et al. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.11, p.16-21. 1999.

STEVENSON, G. B. **Biologia dos fungos, bactérias e vírus**. São Paulo: Polígono/Edusp, 1974. 267p.

VIEGAS, E.C.; SOARES, A.; CARMO, M.G.F.; ROSSETTO, C.A.V. Toxicidade de óleos essenciais de alho e casca de canela contra fungos do grupo *Aspergillus flavus*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.915-919, out-dez 2005.