

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FUNGITÓXICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium aromaticum* (L.) MERR & PERRY (CRAVO-DA-ÍNDIA)

Luís Gustavo Martinez dos Santos¹, Maria das Graças Cardoso^{1,2*}, Rafaela Karin de Lima², Paulo Estevão Souza³, Luiz Gustavo de Lima Guimarães², Milene Aparecida Andrade²

¹ Departamento de Química - Universidade Vale do Rio Verde (UNINCOR)-Três Corações/MG

² Departamento de Química – Universidade Federal de Lavras- Lavras/MG

³ Departamento de Fitopatologia - Universidade Federal de Lavras- Lavras/MG

*E-mail: mcardoso@ufla.br

RESUMO

As plantas produzem uma variedade de compostos orgânicos. Muitos destes são conhecidos como metabólitos secundários, e estão relacionados com a interação da planta e o meio ambiente, como por exemplo, a defesa da planta contra insetos, bactérias e fungos. Os óleos essenciais constituem um tipo de metabólito secundário de grande importância econômica, pois muitos podem ser utilizados como medicamentos, inseticidas e antimicrobianos. O objetivo do presente trabalho foi verificar o potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* sobre fungos fitopatogênicos. O óleo essencial foi extraído dos botões florais secos, empregando a técnica de arraste a vapor de água, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. A fungitoxicidade do óleo foi avaliada sobre *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*. Os testes foram realizados “in vitro”, observando-se o crescimento destes fitopatógenos, na presença de diferentes concentrações de óleo 100, 200, 500, 1000 e 2000mg/Kg, usando o meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Os fungos foram incubados em câmara de germinação com controle de temperatura e luz, realizando-se 3 repetições. Observou-se que o óleo essencial de *Syzygium aromaticum* reduziu o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*. A inibição do crescimento micelial (ICM) ocorreu em todas as concentrações citadas acima, sendo que a partir de 500mg/Kg ocorreu a inibição total dos fungos.

Palavras-chave: Myrtaceae. Eugenol. Fungos fitopatógenos.

1 Introdução

Atualmente a utilização de produtos naturais se estende por várias áreas, como por exemplo, a área da saúde. Isto é justificado pois os medicamentos sintéticos atingem valores consideráveis e muitas vezes com efeitos colaterais sérios. Os produtos naturais também assumem um ponto de destaque na agricultura. Isto ocorre devido a consciência ecológica cada vez maior da população. Portanto, a necessidade de uma maior preservação ambiental, faz com que ocorra uma busca por produtos que atinjam as necessidades do agricultor e ao mesmo tempo, diminuam os danos ao meio ambiente. Os produtos naturais, principalmente vindo das plantas, na verdade, podem ser a solução na agricultura para eliminação de ervas daninhas e de diversos tipos de pragas e doenças. Portanto, os vegetais podem ser a fonte para a produção de bioherbicidas, biofungicidas, entre outros produtos, sendo um importante passo para uma agricultura ecologicamente correta.

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma árvore de até 15m, da família Myrtaceae, nativa das ilhas Mollucas do Norte (Indonésia) e aclimatada na África e no Brasil, é uma

planta usada desde a antiguidade na culinária, e tem sido utilizado também como medicinal há mais de 2000 anos pelos chineses. A parte mais usada do cravo, na verdade é o botão floral seco.

Os óleos essenciais são misturas complexas formadas na maioria das vezes de compostos fenólicos e isoprenóides [1]. Os óleos essenciais podem desempenhar papéis importantes contra o ataque de patógenos, herbivoria, competição entre plantas, atração de organismos benéficos, entre outras funções [2].

O óleo essencial de Cravo-da-Índia apresenta como seu principal componente o eugenol e possui em proporções menores o acetato de eugenol, β -cariofileno, entre outros compostos com proporções pouco significativas. O eugenol é um composto fenólico, largamente usado na odontologia como componentes de seladores, na higiene bucal e como anestésico para o alívio de dores de dente [3]. O eugenol vem sendo estudado por vários autores e pesquisas o indicam como um composto com um certo potencial nematicida [4], bactericida [5] e fungicida [6]. A ação fungitóxica dos óleos essenciais pode estar relacionada; a diminuição do diâmetro da hifa e da parede da hifa, a desorganização da estrutura mitocondrial [7] e a desorganização

da estrutura da parede celular e da membrana determinando a liberação do conteúdo celular [8].

Pesquisas relacionadas ao potencial fungitóxico de substâncias naturais, são de extrema importância, pois podem contribuir no controle das doenças das plantas. Dentro deste contexto objetivou-se com o presente trabalho avaliar o potencial fungitóxico do óleo essencial do cravo-da-índia sobre *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani*.

2 Parte Experimental

2.1 Extração de óleo essencial

As partes utilizadas do cravo-da-índia foram os botões florais, a extração foi realizada no laboratório de Química Orgânica da UFLA. A técnica empregada foi de arraste a vapor [9], utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado. Para extração foram utilizados 200 gramas de botões florais em 500 ml de água destilada em um balão volumétrico, realizando-se 3 repetições. A partir da ebulição, a extração se estendeu por 2 horas. No término deste período, obteve-se o hidrolato. Este, foi coletado com um elenmeyer e submetido à centrifugação para retirada da água e a obtenção do óleo puro. Na primeira centrifugação, foi retirado o excesso de água. Na segunda centrifugação foi adicionado ao óleo, sulfato de magnésio anidro para completar a secagem do material.

2.2 Análise da atividade biológica

As espécies fúngicas foram obtidas da micoteca do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

O óleo essencial foi adicionado em meio de cultura previamente preparados (BDA), obtendo-se as concentrações de 100, 200, 500, 1000 e 2000 mg Kg⁻¹. Em seguida os fungos foram inoculados (disco micelial de 0,8 cm de diâmetro) e incubado durante 7 dias à temperatura de 20 a 22°C, sob fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas escuro [10].

Iniciaram-se as avaliações do experimento após 24 horas da inoculação, por meio de medições diárias do crescimento micelial, e cada medição correspondeu à média de duas medidas diametralmente postas da colônia fúngica, mediante o uso de régua graduada.

O experimento foi analisado estatisticamente por regressão

3 Resultados e discussões

Os resultados médios obtidos no índice de crescimento micelial (ICM) das colônias de *Rhizoctonia solani* nas diversas concentrações do óleo essencial de *S.aromaticum* mostram que este óleo tem a capacidade de inibir o crescimento micelial deste fungo. A taxa de inibição do crescimento micelial foi proporcional a concentração do óleo. Na concentração de 100mg Kg⁻¹ o crescimento micelial foi 0,52, portanto foi significativamente menor em relação a testemunha (0mg Kg⁻¹),

que apresentou um crescimento de 3,81. Podemos, então constatar uma inibição de 86,44% na concentração de 100mgKg⁻¹. Na concentração de 500ppm o crescimento micelial foi nulo, ou seja, a inibição do crescimento micelial em relação a testemunha foi de 100%.

A inibição completa também foi verificada nas concentrações de 1000mgKg⁻¹ e 2000mgKg⁻¹.

A inibição de crescimento micelial de *R. solani* foi testada por pesquisadores [11] que observaram uma inibição total em grãos de arroz infestados quando utilizará o óleo essencial de *Piper nigrum*. Os resultados médios obtidos no índice de crescimento micelial (ICM) das colônias de *F.oxysporum* (Figura 1) nas diversas concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia também mostram a capacidade deste óleo em inibir o crescimento micelial. Na concentração de 100ppm a inibição foi de 66,57% e na concentração de 500ppm foi de 100%. A taxa de inibição (Figura 2), da mesma forma que para *R. solani*, depende da concentração de óleo.

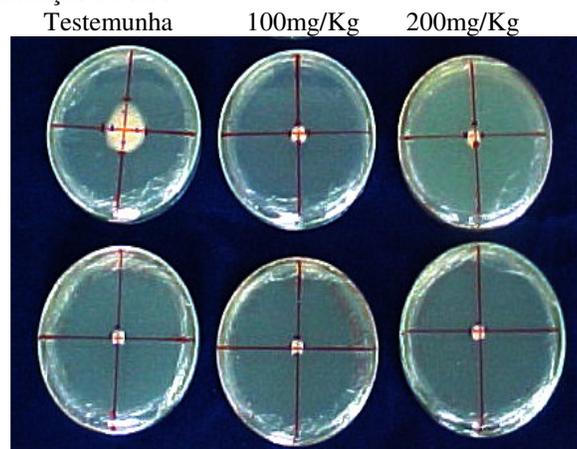


FIGURA 1 – Crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* nas diferentes concentrações de óleo de *Syzygium aromaticum* após 48 horas da inoculação.

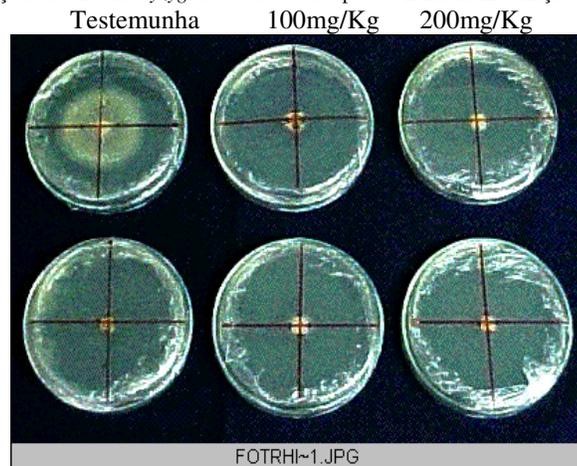


FIGURA 2 – Crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* nas diferentes concentrações de óleo de *Syzygium aromaticum* após 48 horas da inoculação.

A capacidade de alguns óleos essenciais inibir o crescimento micelial de *F.oxysporum* “in vitro” já foi citada na literatura. Trabalhos demonstraram a redução do crescimento micelial de *F.oxysporum* sob a ação dos óleos essenciais de *E.citriodora*, *E.urophylla* e *E.camaldulensis*. Porém, na concentração de 500ppm ainda se observava crescimento micelial, diferentemente do óleo essencial de *S. aromaticum* testado no presente trabalho, que inibiu 100% o crescimento micelial de *F.oxysporum* na mesma concentração [12].

Outros trabalhos mostram o efeito inibitório do óleo essencial de cravo “in vitro” sobre *Candida albicans*, *Cândida stellatoidea*, *Cândida tropicales* [13]. A capacidade do óleo essencial de cravo de inibir o crescimento “in vitro” de *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium corylophilum*, *Eurotium amstelodami* também foi observada [14].

O componente majoritário do óleo essencial de *S.aromaticum* é o eugenol [15-16]. Este composto provavelmente é o responsável pela ação fungitóxica do óleo essencial de *S.aromaticum*. Outros pesquisadores comprovaram que o eugenol apresenta uma ação tóxica sobre *Saccharomyces cerevisiae*. Este autor indica por meio de microscopia que o eugenol causou alterações na membrana e na parede celular do fungo determinando liberação do conteúdo celular [8].

Os óleos essenciais, portanto, estão se mostrando promissores no controle de fitopatógenos [11-13]. A utilização de óleos essenciais, associada a um manejo adequado das culturas agrícolas pode ser a solução para o controle de rizoctonioses e fusarioses no futuro. Porém, são necessários estudos mais avançados.

A capacidade do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* inibir o crescimento micelial de *R. solani* e *F.oxysporum* “in vitro” foi um passo importante. A continuidade da investigação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *S. aromaticum*, será fundamental, pois serão necessários testes “in vivo”, ou seja, em casa de vegetação.

4 Conclusões

O óleo essencial de *Syzygium aromaticum*, na concentração de 100mgKg⁻¹, promoveu a inibição de 86,44 % do ICM (índice de crescimento micelial) para o fungo *Rhizoctonia solani* e de 66,57% para *Fusarium oxysporum*.

O óleo essencial de *Syzygium aromaticum*, na concentração de 500mgKg⁻¹, promoveu a inibição de 100% do ICM (índice de crescimento micelial) para o fungo *Rhizoctonia solani* e para *Fusarium oxysporum*.

Agradecimentos

A UNINCOR (Universidade Vale do Rio Verde), a UFLA (Universidade Federal de Lavras) pela realização deste

trabalho, a Fapemig e ao CNPq pelas bolsas e auxílios concedidos.

FUNGITOXIC POTENCIAL OF THE ESSENTIAL OIL OF *SYZYGIIUM AROMATICUM* (L.) MERR & PERRY (CLOVE)

ABSTRACT: The plants produce a variety of organic compounds. An important group of these compounds are called secondary metabolites. These ones are related to the interaction of the plant with the environment, as for example, the defense of the plant against insects, bacteria and fungi. The essential oils consist of a kind of secondary metabolite of great economical importance, since many of them can be used as medicine, insecticide, fungicide, among other usefulness. The aim of the present work was to verify the fungitoxic potential of the essential oil of *Syzygium aromaticum* concerning phytopathogenic fungi. The essential oil was extracted from the dried floral buds through the water vapor drag, making use of the modified Clevenger appliance. The fungicidal effect of the oil was evaluated under *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. The tests were done “in vitro” observing the growing of these phytopathogenies in the presence of different oil concentrations (100/200/500/1000/2000mg/Kg) using the culture environment PDA (Potato-Dextrose-Ágar). The fungi were incubated in germination chambers with the control of temperature and light, through 3 repetitions. It could be observed that the essential oil of the *Syzygium aromaticum* reduced the mycelial growing of the *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. The inhibition of the mycelial growing has occurred during all the concentrations mentioned above and from 500mg/Kg the complete inhibition of the fungi has occurred.

Keywords: *Syzygium aromaticum*. Essential oil. Fungitoxic activity.

Referências

- [1] Cardoso, M. G.; Shan, A.Y.K.V.; Pinto, G.E.B.P., Delu Filho, N.V. & Bertolucci, S.K.V. Metabólitos Secundários Vegetais: Visão Geral Química e Medicinal. Lavras UFLA, 2001. 81p.
- [2] Peres, L. E. P. Metabolismo Secundário. Piracicaba. ESALQ/USP. 2004. 26p.
- [3] Chong, B.S., Ford, T.R.P. & Kariyawasam, S.P. International Endodontic Journal. 30, .240, 1997.
- [4] Tsao, R. & Yu, Q. Journal of Essential Oil Research. 12, .350, 2000.
- [5] Dorman, H.J.D. & Deans, S.G. Journal of Applied Microbiology. 88, .308, 2000.

- [6] Delepaul, Q., Billerbeck, V.G., Roques, C.G., Michel, G., Marquier-Vinuales, C. & Bessiere, J.M.. Journal of Essential Oil Research. 12, .256, **2000**.
- [7] Billerbeck, V. G.; Roques, C. G.; Bessiere, J. M.; Fonvieille, J. L.; Dargent, R. Rev. Can. Microbiol., 47, 9, **2001**.
- [8] Bennis, S.; Chami, F.; Chami, N.; Bouchikhi, T.; Remmal, A. Letters in Applied Microbiology. 38, 454, **2004**.
- [9] Craveiro, A. A.; Fernandes, A. G.; Andrade, C. H. S.; Matos, F. J. A.; Alencar, J.W.; Machado, M. I. L. Óleos essenciais de plantas do nordeste. [S.l.]: UFC, **1981**. 210 p.
- [10] Vitti, A. M. S. Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora*. **1999**. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba, SP.
- [11] Tewari, S. N. and Nayak, M. Trop. Agric. v. 68, p.373-375. **1991**.
- [12] Salgado, A. P. S. P.; Cardoso, M. G.; Souza, P. E.; Souza, J. A.; Abreu, C. M. P.; Pinto, J. E. B. P. Ciênc. Agrotec. Lavras, MG. .27, .249, **2003**.
- [13] Abdel-Mallek, A.Y.; Bagy, M.; Hasan, H. A.H. Journal of IAS. 7, .10, **1994**.
- [14] Guynot, M. E.; Ramos, A. J.; Setó, L.; Purroy, P.; Sanchis, V.; Marín, S. Journal of Applied Microbiology. 94, .893, **2003**.
- [15] Brown, P.D. & Morra, M.J. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 43, 3070, **1995**.
- [16] Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Syamasundar, K.V. & Kumar, S. Flavour Fragrance Journal. 16, .334, **2001**.