

Ação da Inoculação dos Óleos Essenciais de Orégano, Canela e Cravo sobre *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. em Grãos de Milho

45

*Bruna Moraes de Oliveira*¹, *Luiz Henrique Neves dos Santos*¹, *Giorgia Fabiani Lucini*¹, *Adriana Sbardelotto Di Domenico*²

RESUMO

Como o Brasil possui somente duas safras de milho durante o ano, para atender a demanda anual é necessário o armazenamento dos grãos. Contudo, durante esta etapa estes sofrem degradações devido à ação de fungos, que acarretam na perda de qualidade, tanto física quanto sanitária. Com base nesta problemática, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, cravo e canela na inoculação de grãos de milho. As análises foram realizadas no laboratório de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos. Através do método *blotter test* em substrato de papel, foram avaliados os efeitos destes OE sobre a inibição dos fungos *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp., através de nove tratamentos, com 4 repetições de 50 grãos por tratamento. A acetona foi utilizada para promover a dispersão dos óleos. Diante dos resultados obtidos, pode-se inferir que os OE de cravo e de canela tiveram efeito antimicrobiano para *Aspergillus* sp. semelhante a um fungicida comercial. E embora os efeitos dos OE não tenham sido tão bons para *Fusarium* sp., ainda assim, os grãos inoculados com OE de orégano e de canela tiveram incidência significativamente menor que os grãos puros.

Palavras-chaves: armazenagem, antifúngicos naturais, contaminação fúngica.

INTRODUÇÃO

A produção de milho brasileira na safra de 2017/18 é de aproximadamente de 88 milhões de toneladas (CONAB; 2018). Este cereal tem grande importância tanto para o consumo humano quanto para o consumo animal, pois além de ser rico em nutrientes fornece alto valor energético.

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Acadêmicos do curso de Agronomia – Caixa Postal 157 – CEP 86660-000 Dois Vizinhos – Paraná – E-mail: brunamorais93@gmail.com

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos – Doutora em Engenharia Agrícola, Professora da Coordenação de Zootecnia. E-mail: domenico@utfpr.edu.br.

Para suprir a demanda de milho no mercado ao longo de todo ano este grão precisa ficar armazenado. E é imprescindível que se tenha uma preocupação com essa etapa da pós-colheita tão importante, onde os grãos ficam suscetíveis a deterioração e expostos a fungos patogênicos como *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp., pois estes podem afetar a qualidade sanitária do grão, aumentando a degradação destes, causando perda de nutrientes e apodrecimento e ainda, estes fungos tem o potencial de produzir micotoxinas. que são as aflotoxinas e fumonizinas, muito prejudiciais tanto para a saúde animal quanto a saúde humana (DOMENE et al. e GASPERINI, 2014; MAIA, DONATO e FRAGA, 2015).

Para o controle dos fungos nos grãos durante a armazenagem, existe uma diversidade de produtos químicos no mercado, utilizados em grande escala na tentativa de prevenir os danos causados por estes (DOMENE et al., 2014; LEITE et al., 2016). Dada a importância do milho na alimentação humana e animal, tem-se uma grande preocupação na utilização de produtos antifúngicos que não deixem residuais tóxicos aos consumidores, a partir disso, a utilização de óleos essenciais vem ganhando ênfase (ZACARONI et al., 2009; DOMENE et al., 2014).

Os óleos essenciais (OE) são obtidos através de produtos secundários gerados de plantas, muitos destes apresentam capacidade antimicrobiana, reduzindo e até inibindo a contaminação por alguns patógenos (VIEGAS et al., 2005; MAIA, DONATO e FRAGA, 2015). O OE de Cravo possui ampla atividade biológica como antimicrobiana e antioxidante, pois possui em sua composição de 70 a 85% de eugenol, sendo um composto fenólico muito ativo, pois é altamente lipossolúvel acetato de eugenol, B- cariofileno dentre outros (PEREIRA et al., 2013). Já o OE de Canela consumido pela população em larga escala na indústria alimentícia, também apresenta relatos de eficiência antimicrobiana (BERALDO et al., 2013) O OE de orégano muito utilizado na culinária, também conhecido por sua eficiência como antimicrobiano (SANTIN et al., 2014).

Visando contribuir com esta problemática, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana dos OE *Origanum vulgare* (Orégano), *Cinnamomum cassia* (Canela Cássia) e *Eugenia caryophyllus* (Cravo folha) na inoculação de grãos de milho.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sementes da Universidade Tecnológica Federal do Paraná no Campus de Dois Vizinhos. Os grãos de milho utilizados são da safra 2017/18, previamente armazenados em sacarias convencionais, em uma sala de alvenaria sob condições ambientais. Os OE utilizados foram: *Origanum vulgare* (Orégano), *Cinnamomum cassia* (Canela Cássia) e *Eugenia caryophyllus* (Cravo folha). Estes foram adquiridos da empresa Ferquima Indústria e Comercio Ltda. Os óleos foram armazenados a uma temperatura de 7°C até o momento da realização das análises.

A avaliação da qualidade sanitária foi realizada pelo método *blotter test* em substrato de papel, utilizando-se 200 grãos por tratamento, sendo 4 repetições de 50 grãos, estas foram distribuídas alinhadas em caixas gerbox, com 25 grãos cada, contendo duas folhas de papel mata borrão esterilizado e umedecido com água destilada com Agar Bacteriológico 0,2%. Para umedecer os papéis, todos foram pesados e multiplicou-se o valor do peso por 2,5 para saber o volume de água a ser utilizado. Todo o material utilizado para as análises foi autoclavado a 121 °C durante 20 minutos e as caixas gerbox passaram por assepsia com álcool 70.

A metodologia utilizada na construção dos tratamentos foi adaptada de Domene et al. (2016). Os tratamentos utilizados foram: T1: grãos tratadas com 260 µl de óleo essencial de orégano e 40 mL acetona; T2: grãos tratadas com 520 µl de óleo essencial de orégano e 40 mL acetona; T3: grãos tratadas com 260 µl de óleo essencial de cravo e 40 mL acetona; T4: grãos tratadas com 520 µl de óleo essencial de cravo e 40 mL acetona; T5: grãos tratadas com 260 µl de óleo essencial de canela e 40 mL acetona; T6: grãos tratadas com 520 µl de óleo essencial de canela e 40 mL acetona; T7: grãos e 40 mL de acetona; T8: grãos puros; T9: grãos e 130 µl de Maxin XL diluído em água;

Após a montagem das caixas gerbox estas foram colocadas em B.O.D a temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias. Posteriormente a esse período, a avaliação dos patógenos foi feita considerando as regras para a análise de sementes (BRASIL, 2009), pela porcentagem de incidência dos fungos *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. nas grãos, com o auxílio de um microscópio estereoscópio e ótico. Os resultados foram expressos em porcentagem.

A análise estatística foi feita pelo delineamento experimental inteiramente casualizado com 9 tratamentos e 4 repetições de 25 grãos cada. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade, e quando necessário foram transformados, em seguida submetidos a análise de variância, e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de skott-knott ao nível de probabilidade de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir dos resultados obtidos (Tabela 1) foi possível verificar para o fungo *Aspergillus* sp., que os tratamentos T3 (260µL de cravo) e T6 (520µL canela) apresentaram os melhores resultados na inibição do desenvolvimento deste fungo, apresentando respectivamente incidência em 11% e 26% das amostras, e que estes foram tão eficientes quanto o T9 (12,75%) que é um fungicida comercial. E que os tratamentos T2 (520µL de orégano), T4 (520µL de cravo) e T5 (260µL de canela) também tiveram efeito positivo na inibição deste fungo, embora com menor efeito, apresentado incidência de *Aspergillus* sp. em 41%,

35,5% e 44% dos grãos respectivamente, sendo melhores que o tratamento T8 (62,5%) que compreendia o controle composto apenas pelos grãos. Verifica-se também que a acetona (T7) utilizada para a dispersão dos óleos não apresentou interferência sobre a porcentagem de incidência de fungos, pois teve resultado estatisticamente igual ao controle composto por grãos puros (T8). O T1 (260µL de orégano) foi o único tratamento que não diferiu do controle T8.

Nos estudos realizados por Venturoso (2011) não houve crescimento micelial de *Aspergillus* sp. no meio de cultura incorporado com OE de cravo da Índia. Segundo Veigas (2005) o OE de canela apresentou um certo grau de inibição no desenvolvimento de *Aspergillus flavus*, enquanto para Gasperini (2014) o OE de orégano foi muito eficiente.

Já para o *Fusarium* sp. (Tabela 1), nenhum dos tratamentos com OE foi tão bom quanto o T9, que é composto pelo fungicida comercial Maxin XL, na redução da incidência deste fungo. Embora se verifique que os tratamentos T1 (260µL de orégano), T2 (520µL de orégano) e T5 (520µL de canela) tenham apresentado efeito significativamente melhor na inibição deste fungo que o tratamento T8 (11,5%), que compreendia o controle composto apenas pelos grãos de milho, com a porcentagem de incidência de 4,5%, 5% e 7,5% respectivamente. Os demais tratamentos com OE (T3-260µL de cravo, T4-520µL de cravo e T6-520µL de canela) foram iguais ou piores ao controle (T8), sendo que o T3(260µL de cravo) foi o tratamento que apresentou pior efeito de todos os tratamentos, na redução da incidência de *Fusarium* sp. Também se verifica para este fungo, que a acetona (T7) não diferiu do controle (T8).

Efeitos semelhantes do óleo essencial de orégano para inibição do desenvolvimento de espécies de *Fusarium* foram obtidos por Kocic-Tanackov et al. (2012), nos quais quanto maior a concentração do óleo maior era o efeito inibitório. Enquanto que, Venturoso et al. (2011) encontraram resultados divergentes destes em seu trabalho com *Fusarium* sp. e com o óleo essencial de cravo, para ele este óleo essencial foi um dos que mais inibiu o crescimento micelial deste fungo, enquanto que no mesmo estudo, o óleo essencial de canela foi considerado ruim, pois obteve grande crescimento micelial.

Uma observação importante a ser destacada na Tabela 1, é que a menor concentração (260µL) do óleo essencial de cravo (T3) obteve melhor resultado, em relação a porcentagem de incidência do fungo *Aspergillus* sp., que o tratamento T4 com a maior concentração (520µL). E da mesma forma, a menor concentração de do óleo essencial de canela (260µL) teve resultado significativamente melhor que a maior para o *Fusarium* sp. Isso remete a ideia de que nem sempre a maior concentração representa o melhor resultado.

TABELA 1. Incidência (%) dos fungos *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. em cada tratamento

Tratamentos	Incidência de fungos (%)	
	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
T1	72,5c	4,5b
T2	41,0 b	5,0b
T3	11,0a	26,0d
T4	35,5 b	18,5c
T5	44,0 b	7,5b
T6	26,0a	12,5c
T7	63,0c	9,0c
T8	62,5c	11,5c
T9	12,75 ^a	0,25 ^a

*Médias obtidas na vertical diferem entre si estatisticamente pelo teste de Skott-Knott.

T1: Grãos+260µl orégano + 40 mL acetona; T2: Grãos+520 µl orégano + 40 mL acetona; T3: Grãos+260µl Cravo + 40 mL acetona; T4: Grãos+520 µl Cravo + 40 mL acetona; T5: Grãos+260µl Canela + 40 mL acetona; T6: Grãos+520 µl Canela + 40 mL acetona; T7: Grãos + 40 mL acetona; T8: Grãos; T9: Grãos + Maxim XL;

Diante dos resultados obtidos pode se inferir que os OE de cravo e de Canela, respectivamente nas proporções de 260µL e 520 µL, tiveram efeito antimicrobiano para *Aspergillus* sp. semelhante a um fungicida comercial bastante utilizado no mercado. E embora os efeitos dos OE não tenham sido tão bons para *Fusarium* sp. quanto o fungicida comercial, ainda assim, os grãos inoculados com OE de orégano, em ambas as concentrações, e OE de Canela na proporção de 260µL, tiveram incidência significativamente menor que os grãos puros. Logo sugere-se que sejam realizadas mais análises com estes OE, pois com esta pesquisa tem-se indícios de que estes podem ser utilizados como antimicrobianos naturais, atendendo a demanda de muitos consumidores por produtos que não deixem resíduos tóxicos aos alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para a análise de sementes/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – Brasília: Mapa/ACS, 2009 399p.

BERALDO, C.; DANELUZZI, N. S.; SCANAVACCA, J.; DOYAMA, J. T.; JÚNIOR, A.F.; MORITZ, C. M. F.; Efeito dos óleos essenciais de Canela e Cravo-da-Índia, como Sanitizantes na indústria de alimentos. Rev. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 43, n. 4, 436-440, out./dez. 2013.

Companhia Nacional de Abastecimento.; Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Sétimo levantamento v. 5 - safra 2017/18, n.7 -, abril 2018.

DOMENE, M. P.; GLORIA, E. M.; BIAGI, J. D.; BENEDETTI, B. C.; MARTINS, L.; Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, ed. 00722014, 2016.

GASPERINI, A. M.; Efeito de óleos essenciais sobre o crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* / Alessandra Marcon Gasperini. – Dissertação (mestrado) -Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP : [s.n.], 2014.

SANTIN, R.; GIORDANI, C.; MADRID, I. M.; MATOS, C. B.; FREITAG, R. A.; MEIRELES, M. C. A.; CLEFF, M. B.; MELO, J. R. B.; Atividade Antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.66, n.2, p.367-373, 2014.

LEITE, L. M.; NAPOLEÃO, R. F.; SEBASTIÃO, T. B.; SOUZA, L. C. D.; MELO, A. L. S.; POLUIÇÃO AGRÍCOLA: Degradação do solo pelo uso excessivo de agrotóxicos. *Conexão Eletrônica*, Três Lagoas MS, v. 13, n 1, 2016.

VENTUROSOS, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM B. M. A.; BERGAMIN, A. C.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, v.37, n.1, p.18-23, 2011.

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.

KOCIĆ-TANACKOV, S. D.; Dimić, G, R.; 1, Tanackov , I. J.; Pejcin D. J.; Mojović L. V.;

Pejin, J. D.; Antifungal activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) extract on the growth of *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. *Hemijaska industrija*, v. 66, n. 1, p. 33-41, 2012.