

ARTÍCULO ORIGINAL

EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* Blume "CANELA" SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn

ANTIFUNGAL EFFECT OF THE ESSENTIAL OIL OF *Cinnamomum zeylanicum* B. "cinnamon" ABOUT GROWTH *Rhizoctonia solani* J.G. Kuhn

Eimy Yahaira Juarez Asmad

Laboratorio de Biotecnología y Patología de Plantas. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo-Perú. eyajuarez@hotmail.com

RESUMEN

Los aceites esenciales se vienen aplicando como una gran estrategia para el control fúngico en cultivos agrícolas ya que no producen daños perjudiciales al hombre ni al ambiente. Con estos antecedentes se realizó una experiencia con el objetivo de evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) "canela" sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. Se preparó el medio de cultivo agar papa dextrosa y los medios envenenados, con aceite esencial, a 100, 200 y 400 ppm. Los resultados fueron analizados observando su velocidad de crecimiento, el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial y su actividad fungistática. Se obtuvo un porcentaje de inhibición de 4.6%, 14% y 66.74% para los tratamientos 100, 200 y 400 ppm respectivamente. Se concluye que el aceite esencial de la corteza de *C. zeylanicum* B. posee efecto antifúngico contra *R. solani*.

Palabras claves: Aceite esencial, efecto antifúngico, *Cinnamomum zeylanicum*, *Rhizoctonia solani*.

ABSTRACT

Essential oils are being applied as a great strategy for fungal control in agricultural crops, since they do not cause harmful damage to humans or the environment. With this background, an experience was carried out with the objective of evaluating the antifungal effect of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) "cinnamon" on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. The potato dextrose agar culture medium and the poisoned media were prepared with essential oil at 100, 200 and 400 ppm. The results were analyzed by observing their growth rate, the percentage of inhibition of mycelial growth and their phytotoxic activity. An inhibition percentage of 4.6%, 14% and 66.74% was obtained for treatments 100, 200 and 400 ppm respectively. It is concluded that the essential oil of the bark of *C. zeylanicum* has antifungal effect against *R. solani*.

Keywords: Essential oil, antifungal effect, *Cinnamomum zeylanicum*, *Rhizoctonia solani*.

Recibido: 25 Julio 2017.

Aceptado: 10 Setiembre 2017.

Publicado online: 30 Diciembre 2017.

INTRODUCCIÓN

Se ha demostrado que una gran variedad de plantas contiene compuestos naturales, los cuales presentan actividad antioxidante, anticancerígena, así como antimicrobiana, entre otras (Shan *et al.*, 2005; Wojdylo *et al.*, 2007). Debido a la problemática que presenta el uso indiscriminado de los fungicidas sintéticos, es necesario desarrollar alternativas naturales para el control de enfermedades. Una de estas estrategias es el uso de extractos vegetales o de aceites esenciales. Además, estos poseen origen biológico, son biodegradables y manifiestan un mínimo impacto (negativo) sobre la salud humana y el ambiente (Bravo *et al.*, 2000).

Cinnamomum zeylanicum Blume “canela” pertenece a la familia Lauraceae, es un pequeño árbol que alcanza entre 3 y 10 m. de altura; su tronco suele llegar a los 50cm de diámetro; están recubiertas por dos cortezas: una de color blanco amarillento y otra más esponjosa e intensamente aromática. (Arango, 2007). Esta planta es originaria de Ceilán y suroeste de la India. (Moura *et al.*, 2012).

Los principales componentes del aceite esencial (0,5-2%) de la corteza de canela son: aldehído cinámico (50-80%), eugenol (9- 10%), safrol (0-11%), linalol (10-15%), contiene otros fenilpropanoides (aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, alcohol cinámico y su acetato) y terpenos (limoneno y α -terpineol). (Kuklinski, 2003). Según sus variedades, aunque poseen los mismos aceites esenciales, presentan concentraciones diferentes. Ensayos realizados en cinco especies de “canela”, *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum tamal*, *Cinnamomun burmannii* y *Cinnamomm pauciflorum* para determinar el contenido de cinamaldehído y eugenol, se encontró que la *C. cassia* y *C. zeylanicum* tenían la mayor cantidad de cinamaldehído y *C. zeylanicum*, *C. burmannii* y *C. pauciflorum* eran ricas en eugenol (Wang y Yang, 2009).

Rhizoctonia solani es un hongo basidiomiceto reconocido como uno de los patógenos más importantes de plantas. Asexualmente forma sus primeras estructuras como un micelio vegetativo y/o esclerocios. Usualmente se le conoce como un organismo estéril, debido a que durante muchos años se pensó que era incapaz de producir algún tipo de espora, ya fuera sexual o asexual. Las condiciones óptimas para su desarrollo son suelos moderadamente húmedos y temperaturas de 15 a 18°C, aunque algunas razas incrementan su actividad a temperaturas mayores que 35°C (Agrios, 2004; García, 2008). Este fitopatógeno es atraído a la planta mediante estimulantes químicos que se liberan por la actividad de crecimiento de las células de la planta y/o por la descomposición de residuos de la misma; luego de la atracción química, las hifas del hongo se adhieren a la superficie externa de la planta, en dónde continúa creciendo hasta entrar en el tejido vegetal, logrando penetrar en las células para producir así una infección en la planta (García, 2008). Entre las enfermedades más comunes causadas por este fitopatógeno está el llamado “damping-off” o caída de las plántulas, como consecuencia del estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel del cuello en plántulas recién emergidas. (Cedeño *et al.*, 2001).

Para el control de este hongo en muchos países se aplican diversos fungicidas de acción protectora (como los del grupo de las carboxamidas) (Almandoz *et al.*, 2000; Murillo *et al.*, 2013). Debido al impacto negativo que provocan los fungicidas químicos tanto en la biodiversidad de los agroecosistemas y en la salud pública; se encamina a la búsqueda y desarrollo de sustancias naturales con actividad antibiótica, como alternativas ecológicas (Hernández *et al.*, 2010). Así tenemos a Bosquez *et al.* (2009), que determinaron el efecto inhibitorio de extractos acuosos de clavo y canela a concentraciones de 5% y 10%, sobre el 100% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, *R. solani* y *Verticillium dahliae*, hasta 72 horas de incubación.

Analizado lo expuesto, el trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento micelial de *R. solani*, además se evaluó la velocidad de crecimiento, el porcentaje de inhibición y efecto fungistático del aceite esencial a concentraciones de 100, 200 y 400 ppm.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal.

La corteza seca de *C. zeylanicum* fue adquirida en el mercado La Hermelinda del distrito de Trujillo, luego fue transportada en bolsa de plástico y rotulada para su posterior análisis.

Obtención y siembra de *Rhizoctonia solani*.

R. solani fue proporcionado en un monocultivo procedente del laboratorio de Fitopatología.

Luego se procedió a activar el hongo, inoculándolo en placas Petri que contenían el medio papa-dextrosa-agar (PDA). Finalmente las placas Petri se incubaron por siete días a 25 ° C hasta el desarrollo de las colonias. (Fig. 1)

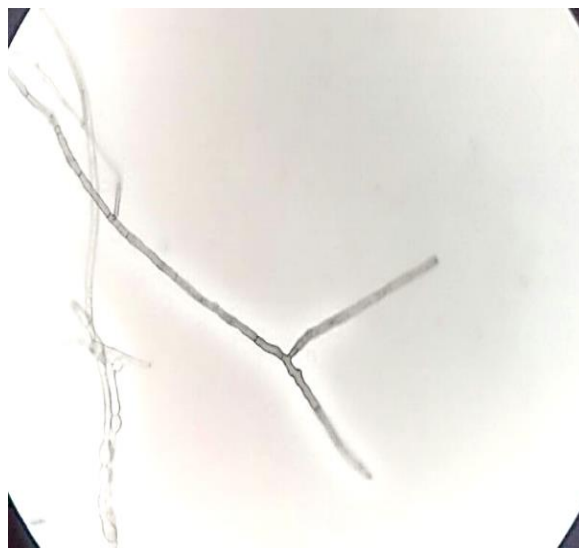


Fig. 1. *Rhizoctonia solani* obtenida de monocultivo vista en microscopio a 400x.

Extracción del aceite esencial de la corteza de canela.

El aceite esencial de canela se obtuvo por arrastre de vapor a partir de 1kg de la corteza de canela seca del cual se obtuvo 6 ml de aceite esencial. Se desarrolló la técnica propuesta por Peredo-Luna *et al.* (2009).

Preparación de los medios envenenados y siembra.

Para ello se preparó 100 ml de PDA en tres matraces, luego se esterilizó en autoclave a 30 min por 1 atm. Al PDA tibio y esterilizado se agregó el aceite esencial, esterilizado por filtración, en diferentes concentraciones, las cuales fueron 100, 200 y 400 ppm, luego se vertió en placas Petri. Se realizó la siembra del patógeno por puntura en cada placa, luego las placas se incubaron a 25 °C y se evaluó por cuatro días.

Evaluación del crecimiento micelial.

El crecimiento micelial (radio de la colonia) se midió utilizando una regla (cm). Se consideró tres repeticiones para cada tratamiento del aceite esencial. La placa Petri control solo tenía PDA y la evaluación terminó cuando el micelio del hongo alcanzó el borde de la misma.

Cálculo del porcentaje de inhibición y curva de crecimiento.

Se calculó el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial del hongo según cada tratamiento, con respecto al control utilizado, el cual se consideró como el 100% de crecimiento micelial (cm), mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición micelial (\%IM)} = \frac{(\text{CM control} - \text{CM tratamiento})}{\text{CM control}} \times 100$$

La curva de crecimiento se elaboró con los datos diarios al medir el radio de la colonia.

Análisis y tratamiento estadístico.

Se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorizado (D.E.C.A.) ajustado a un diseño experimental de estímulo creciente de tres concentraciones del aceite esencial de canela, considerando además un control (cuatro tratamientos). Los datos obtenidos fueron promediados, se halló la desviación estándar y fueron sometidos a ANOVA (Análisis de varianza) y Prueba de Comparación de medias de Tukey, para determinar si hubo diferencia significativa entre los tratamientos.

RESULTADOS

Se muestra el efecto antifúngico del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento micelial (cm) de *R. solani* en los diferentes tratamientos durante los 4 días de evaluación (Fig. 3)

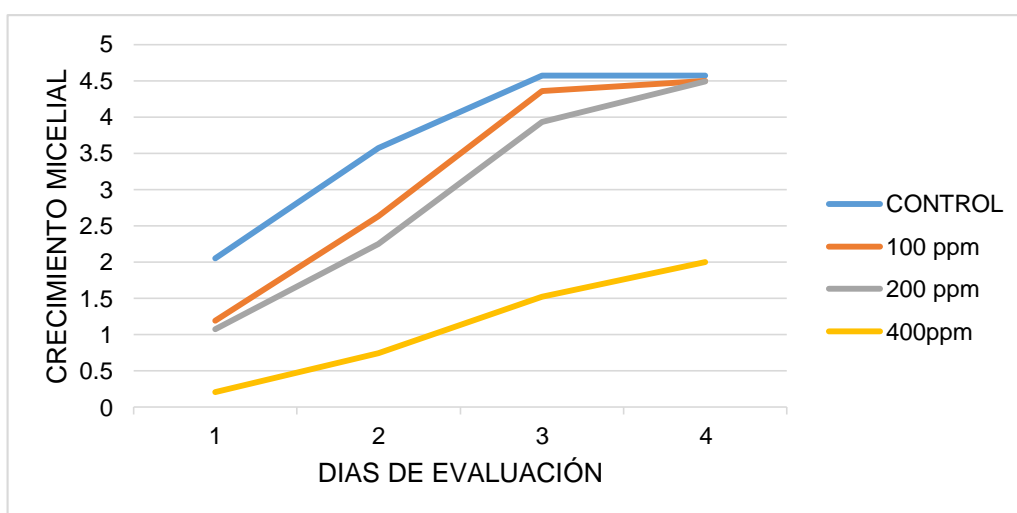


Fig. 3. Velocidad de crecimiento micelial (cm) de *R. solani* ante el efecto antifúngico del aceite esencial de *C. zeylanicum*.

En la Fig. 3 se muestra la velocidad del crecimiento micelial (cm) de *R. solani* de los diferentes tratamientos en los 4 días evaluados, en los que se observa una disminución, conforme aumenta la concentración (ppm) de los tratamientos. Con una disminución de 2.57 cm en el crecimiento micelial, el Tratamiento 4 con concentración de 400 ppm del aceite esencial de *C.*, es el que presenta mayor disminución del crecimiento micelial de *R. solani*.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *R. solani* en los diferentes tratamientos con aceite esencial de *C. zeylanicum* a los cuatro días de evaluación.

Tratamiento	Porcentaje de inhibición
100 ppm	4.6
200 ppm	14.00
400 ppm	66.74

En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *R. solani*, donde se observa que el Tratamiento con 100 ppm es el que obtuvo el menor porcentaje de inhibición con 4.6. En el Tratamiento de 200 ppm se observa un aumento del porcentaje de inhibición de 9.4 con respecto al Tratamiento de 100 ppm. El Tratamiento de 400 ppm en comparación con el Tratamiento de 100 ppm y de 200 ppm obtuvo un aumento de 62.14 y 52.74 respectivamente en el porcentaje de inhibición.

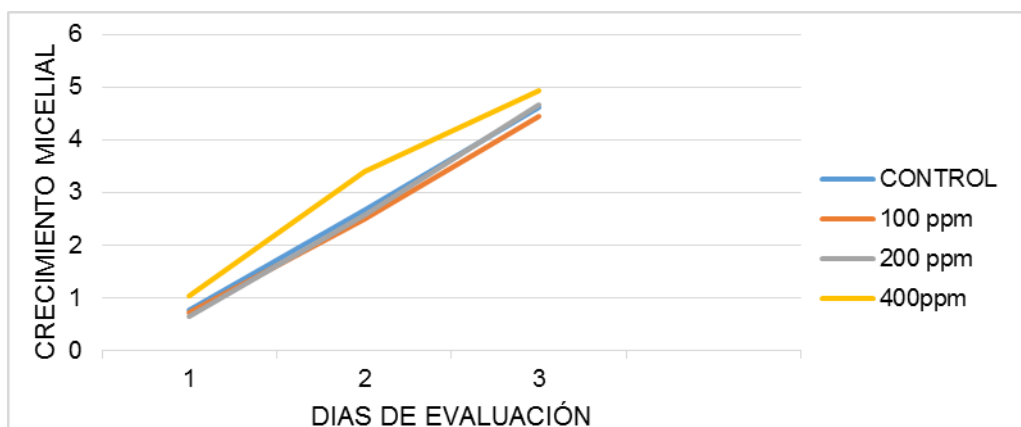


Fig. 4. Efecto fungistático del aceite esencial de *C. zeylanicum* sobre el crecimiento micelial (cm) de *R. solani* en los diferentes tratamientos durante los tres días de evaluación.

Inoculados los micelios de los cuatro tratamientos evaluados en PDA sin aceite esencial, se observa que la placa control, el Tratamiento 2 (100 ppm) y el Tratamiento 3 (200 ppm) evidencian un crecimiento micelial muy similar, a contrario del Tratamiento 4 (400 ppm), el cual muestra un crecimiento rápido en los tres días de evaluación. Esta cualidad demuestra que el aceite esencial de *C. zeylanicum* posee actividad fungistática, es decir, solo inhibe el crecimiento de *R. solani*

Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA) y Prueba de Comparación de medias de Tukey.

ANOVA	TUKEY	
Valor - P	Contraste	Si g.
0.0000	1 - 2	*
0.0000	1 - 3	*
0.0000	1 - 4	*
0.0000	2 - 3	*
0.0000	2 - 4	*
0.0000	3 - 4	*

* Indica una diferencia significativa.

En la Tabla 2 se muestra el análisis de varianza (ANOVA), donde el valor-P es menor que 0.05 afirmando que al menos un tratamiento tiene efecto antifúngico sobre *R. solani*, con un nivel del 95% de confianza. Para la prueba de comparación de medias de Tukey, se observa que todos los tratamientos tienen diferencia significativa una de otra con un nivel de confianza del 95%

DISCUSIÓN

La velocidad de crecimiento micelial (cm) de *R. solani* observada en la Fig. 3 muestra que el aceite esencial de canela ha logrado una disminución significativa en el crecimiento del micelio del *Sagasteguiana* 3(2): Julio – Diciembre

hongo. Esta propiedad del aceite esencial de canela fue reportada previamente por Tzortzakis (2009), que logró inhibir el crecimiento de la colonia de dos especies del género *Colletotrichum* y una del género *Rhizopus* que afectan frutos en postcosecha, así como la producción de esporas de una especie del género *Botrytis* y otra del género *Aspergillus*.

Así también se evidencia que el mayor porcentaje de inhibición (66.74 %) del aceite esencial de canela se obtuvo a 400 ppm, mostrando que no se requiere de altas concentraciones para su efecto antifúngico. Bosquez *et al.* (2009), reportaron este mismo resultado, donde se evidencia el efecto inhibitorio de extractos acuosos de clavo y canela a concentraciones de 5% y 10%, sobre el 100% del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum*, *R. solani* y *Verticillium dahliae*, hasta 72 horas de incubación.

Es probable que el efecto sea semejante cuando actúa frente a bacterias. Algunos autores destacan que el efecto antimicrobiano del aceite esencial de canela depende de su hidrofobicidad y la partición en la membrana plasmática microbiana. Los iones específicos al entrar en contacto con la membrana plasmática microbiana crean un gran efecto en la fuerza motriz de protones, contenido de ATP intracelular y la actividad microbiana general de células, incluyendo control de la presión de turgencia, el transporte de solutos y la regulación del metabolismo (Lanciotti *et al.*, 2004). Otros autores también reportaron la efectividad de las aplicaciones de extractos de canela por medio de inmersión o aspersión afirmando que los compuestos hidrofóbicos presentes en los extractos se unen a los compuestos hidrofóbicos celulares afectando la actividad de las membranas celulares (Avila *et al.*, 2012).

Entonces, el efecto antifúngico de los extractos de plantas está relacionada con su composición química. Los componentes principales del aceite esencial de la corteza de canela son el aldehído cinámico (50-80%), eugenol (9- 10%), safrol (0-11%) y linalol (10-15%) (Kuklinski, 2003). Se han identificado que los agentes activos contra *Rhizoctonia sp* son principalmente el aldehído cinámico y el eugenol (García *et al.*, 2006). El aldehído cinámico que es el compuesto en mayor concentración, contiene un grupo aldehído y el doble enlace conjugado fuera el anillo. Este compuesto es uno de los que tiene mucha fuerza con respecto a la actividad antifúngica (Wang *et al.*, 2009) y puede ser un compuesto líder para el desarrollo de medicamentos antifúngicos. (Bang *et al.*, 2000).

También se ha determinado que algunos aceites esenciales sólo retrasan inicialmente el desarrollo del micelio del hongo y posteriormente tienen un daño similar o mayor al testigo (T1), a esto se interpreta como efecto fungistático. Un fungistático actúa inhibiendo la síntesis de varias enzimas a nivel de la célula fúngica, estas enzimas son determinantes en el desarrollo metabólico del hongo, por lo tanto al inhibir su metabolismo se está inhibiendo su crecimiento y proliferación (Vives y Medvedovsky, 2004). En la Fig. 4 se evidencia el efecto fungistático dado al elevado crecimiento del hongo y la rapidez con que se multiplica en condiciones climáticas favorables. Este efecto fungistático también lo demuestra García *et al.* (2006), al enfrentar el aceite esencial de canela contra la producción de aflatoxina por *Aspergillus flavus* en nuez pecanera, donde a partir de la dosis mínima probada, 100 ppm, se presentó una inhibición del desarrollo del hongo.

Es notorio que hay varias especies con actividad antimicótica y el aceite esencial de canela parece ser el que tiene la mayor diversidad de metabolitos antifúngicos (Montes *et al.*, 2000), por lo cual es de relevancia seguir estudiando su composición química con el fin de buscar principios activos con potencial fungicida o fungistático e incrementar las posibilidades de obtener productos de aplicación práctica, con las subsecuentes ventajas sobre los agroquímicos sintéticos.

CONCLUSIONES

- Se determinó que el aceite esencial de la corteza de *C. zeylanicum* “canela” posee efecto antifúngico contra *R. solani* en condiciones *in vitro*.

Juarez: Efecto antifúngico del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani*

- La velocidad de crecimiento micelial de *R. solani* disminuyó conforme aumentó la concentración del aceite esencial de *C. zeylanicum* en un período de cuatro días.
- Se estimó los porcentajes de inhibición del aceite esencial, siendo 400 ppm el de mayor inhibición con 66.74%, y con un 4.6% y 14%, para 100 y 200 ppm, respectivamente.
- Sí hubo efecto fungistático del aceite esencial de *C. zeylanicum* en el crecimiento micelial de *R. solani*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. 2004. Fitopatología (3° ed.). Editorial Limusa. Noriega Editores.

Almandoz, J. E.; V. Pico; L. Pérez; F. Rodríguez & J. Parra . 2000. Efectividad de nuevos fungicidas para el control de *Alternaria solani* Ellis y Martin en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa (ALAP). La Habana.

Arango, M. C. 2007. "Plantas Medicinales"-Botánica de interés Médico. Bogotá. : Editorial Forja.

Avila, S. R.; E. Palou; M. Jiménez; M.G.V. Nevárez; C.A. R. Navarro & M.A. López. 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Int. J. Food*, 153 (1-2): 66-72.

Bang, K.H.; D.W. Lee; H.M. Park & Y.H. Rhee. 2000. Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by trans-cinnamaldehyde. *Biosci. Biotech. Biochem*, 64 (5): 1061–1063.

Bravo, L.L.; T.K. Bermúdez & B.R. Montes. 2000. Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo Integrado de Plagas*, 57: 29-34

Bosquez, E.; S. Bautista & J. Morales. 2009. Aceites esenciales: bioconservadores con alto potencial en la industria alimentaria. *Industria Alimentaria*, 31: 12-24.

Cedeño, L. & C. Carrero. 2001. Biorregulación de *Rhizoctonia solani* en germinadores de Café. Boletín CENICAFE Avance Técnico N° 336 de 2005.

García, E.; M. Quezada.; J. Moreno; G. Sánchez.; E. Moreno & M. Pérez. 2006. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y óregano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24: 8-12.

García, J. 2008. Evaluación de tres métodos de aplicación del fungicida Flutolanil 50 WP para el control de Rhizoctonias (*Rhizoctonia solani*: Deuteromycetes) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*: Solanaceae) en Patzun, Chimaltenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Guatemala: Universidad Rafael Landívar.

Hernández, M.; F.D. Hernández; R.H. Lira & G. Gallegos, G. 2010. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium sp.* Con Microencapsulados de *Bacillus subtilis* y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. *Revista Agraria*, 7 (1, 2,3): 17-25.

Kuklinski, C. 2003. Farmacognosia "Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". España: Editorial Omega.

Lanciotti, R.; A. Gianotti; N. Patrignani; N. Belletti; M.E. Guerzoni & F. Gardini. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life of minimally processed fruits. *Trends Food Sci. Tech*, 15 (3–4): 201–208.

Montes, R.; V. Cruz; G. Martínez; G. Sandoval; R. García; S. Zilch Domínguez et al. 2000. Propiedades Antifúngicas en Plantas Superiores. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18 (2):125- 131.

Juarez: Efecto antifúngico del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani*

- Moura, J.; F.Q. Sarmiento; F. de Oliveira; J. Pereida; V. Noruega & E. Oliveira.** 2012. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Cándida tropicalis* de aislados clínicos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11 (3): 208-217.
- Murillo, W.; P. Araque; B. Henao & C. Peláez.** 2013. Actividad insecticida de una emulsión aceite/agua del aceite esencial de *Eucalyptus tereticornis*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1) 109-117.
- Peredo-Luna, H.A.; E. Palou-García & A. López-Malo.** 2009. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 3-1*: 24-32.
- Shan, B.; Z. Yizhong; M. Sun & H. Corke.** 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7749-7759.
- Tzortzakis, N.G.** 2009. Impact of cinnamon oil-enrichment on microbial spoilage of fresh produce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 97–102.
- Vives, V. D. & M. Medvedovsky.** 2004. *Drogas antimicóticas*. Disponible en: www.slideshare.net. Acceso: 12 de marzo 2017.
- Wang, R. & B. Yang.** 2009. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2): 289–292.
- Wojdyo, A.; J. Oszmianski & R. Czemerys.** 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105: 940-949.