

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES ESPONTÂNEAS SUAS POTENCIALIDADES
BIOATIVAS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA
PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (*Agave sisalana* PERRINE) NA BAHIA**

SARA SAMANTA DA SILVA BRITO

CRUZ DAS ALMAS / BAHIA

2018

**LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES ESPONTÂNEAS, SUAS POTENCIALIDADES
BIOATIVAS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA
PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (*Agave sisalana* PERRINE) NA BAHIA**

Sara Samanta da Silva Brito

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2011

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientadora: Profa. Dra. Franceli da Silva

Coorientador: Profa. Dr. José Alberto Pereira

CRUZ DAS ALMAS / BAHIA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

B862l Brito, Sara Samanta da Silva.
Levantamento de espécies espontâneas, suas potencialidades bioativas e caracterização de artrópodes no sistema produtivo da cultura de sisal (*Agave sisalana* Perrine) na Bahia / Sara Samanta da Silva Brito._ Cruz das Almas, BA, 2018.
150f.; il.
Orientadora: Franceli da Silva.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Sisal – Diversidade biológica. 2.Desenvolvimento sustentável – Plantas – Artrópode. 3.Caatinga – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 502.75

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES ESPONTÂNEAS, SUAS POTENCIALIDADES
BIOATIVAS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA
PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (*Agave sisalana* PERRINE) NA BAHIA**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE
Sara Samanta da Silva Brito**

Realizada em 23 de Fevereiro de 2018

Profa. Dra. Franceli da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / CCAAB
Examinador Interno (Orientadora)

Profa. Dra. Viviane Modesto Arruda
Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)
Examinador Externo

Prof. Dr. Paulo Juiz
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia/CCS
Examinador Externo

Profa. Dra. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / CCAAB
Examinador Interno Externo

Prof. Dr. Daniel Melo de Castro

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia / CCAAB
Examinador Externo

DEDICATÓRIA

Aos meus Pais.

À minha família, em especial à minha Avó Nazaré.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS pela vida e por ter me ajudado a concluir mais esta etapa.

Aos meus pais Maria José e Pedro e minha irmã Maiara que são à base de tudo!

À minha Avó Nazaré que está sempre presente com seu imenso amor e carinho.

Aos meus Tios Luiza e Nilton que me ajudam sempre com sua grande experiência de vida, bons conselhos e amor repassados como se fosse para um dos seus filhos.

À minha família que me deu força em todos os momentos.

Ao melhor presente que a vida e a Bahia me deu, meu companheiro, amigo, namorado Rafael. Obrigada pela paciência, carinho, compreensão, por tudo!

Aos amigos que fiz durante essa jornada, Cris, Rober, Lucylia, Fábio, Cristiano, Thais e em especial Milene, minha irmã do coração, obrigada por tudo!

À minha orientadora Prof^a Dr^a Franceli da Silva por ter me recebido de braços abertos, pela orientação, oportunidades, bons conselhos, incentivo, paciência, amizade e confiança.

A todos que fazem o GEPLAM, Dani, Jamile, Rosi, Mariane, Renata, Josi, Simone, Silvane, Samiris, Zuleide pelos bons momentos de risada, ajuda e amizade.

À Francis, Rafael, Marcos e Carlos Artur pelo auxílio nas coletas de campo, sem vocês não teria tese.

Aos proprietários das áreas rurais que utilizei para realização deste trabalho nos municípios de São Domingos, Valente e Conção do Coité em nome do Sr. Dermival.

À técnica do laboratório de Microbiologia Lene, sempre prestativa e amiga em todas as horas; aos técnicos e professores do herbário (HURB) Grênivel Mota, Prof^a Lydianne Aona e Prof. Márcio Lacerda pelo auxílio na identificação das espécies.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pelo suporte físico e financeiro para execução desta pesquisa.

Ao Instituto Politécnico de Bragança, a todos do Laboratório de Microbiologia e Proteção de Plantas em nome dos Profs. José Alberto e Paula Baptista agradeço a recepção e o auxílio na realização do trabalho, em especial ao Nuno e Ricardo pelos ensinamentos científicos, conselhos, companhia nos almoços e jantares e principalmente pela amizade.

À CAPES, Cnpq e Ciências Sem Fronteiras pelo apoio financeiro à pesquisa e pelas bolsas de doutorado e doutorado sanduiche.

À todos que direta e indiretamente me ajudaram a concluir este trabalho.

Muito obrigada!

O Sonho

“Sonhe com aquilo que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só se tem uma chance de fazer aquilo que quer.

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.

A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem a importância
das pessoas que passaram por suas vidas.”

Clarice Lispector

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	10
ABSTRACT	12
REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
LEVANTAMENTOS DE ESPÉCIES ESPONTÂNEAS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (<i>Agave sisalana</i> PERRINE)	31
ARTIGO 1	
Levantamento de plantas espontâneas e seus potenciais no sistema produtivo da cultura do sisal (<i>Agave sisalana</i> Perrine).....	32
ARTIGO 2	
Levantamento da diversidade de formigas no sistema produtivo da cultura do sisal (<i>Agave sisalana</i> perrine) na Bahia – Brasil.....	60
ARTIGO 3	
Artrópodes e vegetação espontânea na cultura do sisal, <i>Agave sisalana</i> Perrine, no bioma caatinga no Brasil.....	79
POTENCIALIDADES DE ESPECIES MEDICINAIS BIOATIVAS NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (<i>Agave sisalana</i> PERRINE) NA BAHIA.	102
ARTIGO 4	
<i>Croton argyrophyllus</i> Kunth and <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth: phytochemical characterization and bioactive properties.....	103
ARTIGO 5	
Potencial do óleo essencial de <i>Croton argyrophyllus</i> Kunth contra fungos <i>Aspergillus niger</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>passiflorae</i> e <i>Fusarium. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	112
ARTIGO 6*	

Atividade de óleos essenciais sobre fungos causadores da antracnose na oliveira (*Olea europaea* L.).....134

*Artigo oriundo dos resultados obtidos durante o doutorado sanduíche no Instituto Politécnico de Bragança em Portugal.

LEVANTAMENTO DE ESPÉCIES ESPONTÂNEAS, SUAS POTENCIALIDADES BIOATIVAS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (*Agave sisalana* PERRINE) NA BAHIA

Autora: Sara Samanta da Silva Brito

Orientadora: Dr^a Franceli da Silva

Resumo: Na região semiárida, o sistema produtivo da cultura de sisal (*Agave sisalana* Perrine), inserido no bioma Caatinga, tem arcado com sérios prejuízos, devido a perda da biodiversidade local. O que acarreta em extensas áreas de monocultivos e baixa diversidade nos sistemas de produção, conseqüentemente, baixo serviços ecossistêmicos. Portanto, diante da importância da cultura na região é necessária a integração da biodiversidade local com os sistemas de produção agrícolas para o desenvolvimento da agricultura sustentável dentro dos princípios de sistemas produtivos eficientes, sendo o objetivo do trabalho realizar o levantamento das espécies espontâneas, seus potenciais e dos artrópodes inseridos em 10 áreas com sistema produtivo de sisal nos municípios de Valente, São domingos e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité, Bahia, Brasil, verificando a sua importância e funcionalidade em sistemas produtivos. No período de Maio de 2015 a Maio de 2016, através do método do quadrado inventário foram quantificadas e identificadas as espécies espontâneas presentes nas áreas e no mesmo período foram instaladas 24 armadilhas pitfall no solo para amostragens dos artrópodes. Durante o período de amostragem foram selecionadas duas espécies espontâneas para extração e caracterização do óleo essencial, preparação e caracterização de extratos vegetais e avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos mesmos. Foram identificadas nas dez áreas um total de 69 espécies espontâneas, distribuídas em 55 gêneros e 26 famílias, as áreas estudadas não demonstraram alta discrepância na composição florística e diversidade, confirmando a elevada riqueza das famílias Fabaceae e Euphorbiaceae em áreas de caatinga. Para os artrópodes foram coletados um total de 17691 espécimes de formigas identificados destes 15 a nível de gênero e 9 a nível de espécie. As espécies foram distribuídos em 6 subfamílias e 11 gêneros, das quais Myrmicinae e Formicinae apresentaram maior número de espécies. Os gêneros *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* e *Ectatomma* foram encontrados em todas as áreas e o gênero *Atta* só foi encontrado em apenas na área 8. A mesma metodologia citada anteriormente foi utilizada em um agroecossistema de sisal no município de Antônio Gonçalves os resultados revelaram uma distribuição temporal e espacial de artrópodes e plantas durante o período de estudo, sendo que os artrópodes parecem colonizar a cultura do sisal dos campos além da safra durante a estação chuvosa. Na caracterização das espécies *Croton heliotropiifolius* Kunth e *Croton argyrophyllus* Kunth o biciclogermacrene (14%) foi encontrado como composto majoritário para o óleo de *C. argyrophyllus* Kunth e limonene (16.9%) para *C. heliotropiifolius* Kunth, os óleos essenciais e extratos metanólicos apresentaram potencial antioxidante

correlacionado com os altos valores de fenol total e flavanoides, e apresentaram também atividade contra as bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. cereus* e as leveduras *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*. O óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth apresentou atividade antimicrobiana frente aos fungos *Aspergillus niger* Tiegh, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, onde as técnicas de diluição em meio de cultura e exposição aos voláteis apresentaram potencial antifúngico nas concentrações 10 e 15 µL. Ocasionalmente ocorreram alterações morfológicas nos fungos, como perda de conteúdo citoplasmático, enrolamento, dobras e deformações nas hifas e formação de estruturas de resistência em todas as concentrações testadas. A atividade antifúngica dos óleos essenciais de *C. argyrophyllus* Kunth e *Ocimum basilicum* L. também foi avaliada sobre os fungos *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* e *Colletotrichum acutatum*, causadores da antracnose em oliveiras. Quando expostos aos voláteis de *C. argyrophyllus* a espécie *C. fiorinae* apresentou a maior inibição do crescimento micelial (45.34%) na concentração 10 µL. *O. basilicum* exibiu significantes reduções no crescimento micelial, *C. godetiae* apresentou os maiores valores de inibição em todas as concentrações, obtendo reduções superiores a 50% na concentração 5 µL. Diante dos resultados obtidos é possível observar o potencial existente na biodiversidade local do sistema produtivo do sisal, podendo assim gerar subsídios importantes nas pesquisas fitoquímicas e a possibilidade de descobertas de novos ativos, que poderão gerar produtos, processos e renda ao agricultor do semiárido que convive com a Caatinga.

Palavras-chave: Caatinga, Caracterização fitoquímica, Propriedades bioativas, Levantamento florístico, Diversidade.

SPONTANEOUS SPECIES SURVEY, THEIR BIOACTIVE POTENTIALITIES AND CHARACTERIZATION OF ARTHROPODS IN THE PRODUCTION SYSTEM OF SISAL CULTURE (*Agave sisalana* PERRINE) IN BAHIA

Autora: Sara Samanta da Silva Brito

Orientadora: Dr^a Franceli da Silva

Abstract: In the semi-arid region, the productive system of sisal (*Agave sisalana* Perrine), inserted in the Caatinga biome, has suffered serious losses due to the loss of local biodiversity. This entails extensive areas of monoculture and low diversity in production systems, consequently low ecosystem services. Therefore, in view of the importance of culture in the region, it is necessary to integrate local biodiversity with agricultural production systems for the development of sustainable agriculture within the principles of efficient production systems. The objective of this work is to survey spontaneous species, their potential and arthropods in 10 areas with a sisal production system in the municipalities of Valente, São Domingos and the district of Salgadália belonging to the municipality of Conceição do Coité, Bahia, Brazil, verifying their importance and functionality in productive systems. From May 2015 to May 2016, the spontaneous species were quantified and the spontaneous species present in the areas were identified. In the same period, 24 pitfall traps were installed in the soil for arthropod samplings. During the sampling period, two spontaneous species were selected for extraction and characterization of the essential oil, preparation and characterization of vegetal extracts and evaluation of the antibacterial and antifungal activity of the same. A total of 69 spontaneous species, distributed in 55 genera and 26 families, were identified in the ten areas. The studied areas did not show a high discrepancy in floristic composition and diversity, confirming the high wealth of Fabaceae and Euphorbiaceae families in caatinga areas. For the arthropods, a total of 17691 specimens of ants were collected from these 15 at the genus level and 9 at the species level. The species were distributed in 6 subfamilies and 11 genera, of which Myrmicinae and Formicinae presented a greater number of species. The genus *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* and *Ectatomma* were found in all areas and the genus *Atta* was only found in area 8 only. The same methodology was previously used in a sisal agroecosystem in the municipality of Antônio Gonçalves. The results revealed a distribution temporal and spatial distribution of arthropods and plants during the study period, and arthropods appear to colonize field sisal cultivation beyond the harvest during the rainy season. In the characterization of the species *Croton heliotropiifolius* Kunth and *Croton argyrophyllus* Kunth bicyclogermacrene (14%) was found as the major compound for the oil of *C. argyrophyllus* Kunth and limonene (16.9%) for *C. heliotropiifolius* Kunth, essential oils and methanolic extracts showed potential antioxidant correlated with the high values of total phenol and flavanoids, and also showed activity against the

bacteria *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. cereus* and yeasts *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*. The essential oil of *C. argyrophyllus* Kunth presented antimicrobial activity against fungi *Aspergillus niger* Tiegh, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, where dilution techniques in culture media and exposure to volatiles presented antifungal potential at 10 and 15 μL concentrations. They caused morphological changes in fungi, such as loss of cytoplasmic content, folding, folds and deformations in the hyphae and formation of resistance structures in all tested concentrations. The antifungal activity of the essential oils of *C. argyrophyllus* Kunth and *Ocimum basilicum* L. was also evaluated on the fungi *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* and *Colletotrichum acutatum*, which cause anthracnose in olive trees. When exposed to *C. argyrophyllus* volatiles, *C. fiorinae* showed the highest inhibition of mycelial growth (45.34%) in the 10 μL concentration. *O. basilicum* exhibited significant reductions in mycelial growth, *C. godetiae* showed the highest inhibition values at all concentrations, obtaining reductions greater than 50% at the 5 μL concentration. Considering the results obtained, it is possible to observe the potential of the local biodiversity of the sisal production system, thus generating important subsidies in phytochemical research and the possibility of discovering new assets, which could generate products, processes and income for the semiarid farmer who lives with the Caatinga.

Key words: Caatinga, Phytochemical characterization, Bioactive properties, Floristic survey, Diversity.

REFERENCIAL TEÓRICO

1. Biodiversidade:

Com cerca de 20% do número total de espécies do planeta, uma variedade de biomas e diversos tipos de solo e clima, o Brasil, possui a maior biodiversidade do mundo (MMA, 2018). Diante desta biodiversidade, destaca-se o bioma Caatinga, com cerca de 844 mil Km², a região semiárida representa a quarta maior formação vegetal do país, incluindo os estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e Minas Gerais (MMA, 2018). Um bioma com alto poder de resiliência, a Caatinga apresenta altas taxas de diversidade taxonômica e de espécies endêmicas que exercem funções ecológicas fundamentais dentro do agroecossistema (Oliveira-Filho et al., 2013; Stupino et al., 2014; Saradón e Flores, 2014).

A biodiversidade refere-se a todas as espécies de plantas, animais e microrganismos existentes e que interagem dentro do ecossistema. As interações e os processos fazem os organismos, populações e ecossistemas preservarem sua estrutura e funcionarem em conjunto favorecendo assim, o equilíbrio natural (Wood et al., 2015). Ou seja, a biodiversidade é fundamental na sustentabilidade dos sistemas de produção, bem como a compreensão da sua funcionalidade.

Os agroecossistemas definidos como o conjunto de sistemas funcionais, diferenciam-se dos ecossistemas naturais por serem regulados pela ação do homem (agricultor) na busca da produção eficiente e sustentável (Altieri, 1989; Gliessman, 2005). Além dos serviços ecossistêmicos, o agroecossistema possui a função de produção de alimentos e outros subprodutos necessários na manutenção do próprio ecossistema, voltada ao atendimento das necessidades humanas (Handa et al., 2014; Evans, 2016).

Atualmente tem aumentado o interesse em entender a relação da biodiversidade dentro dos agroecossistemas para Darwin (1872) foi o primeiro a reconhecer o potencial da biodiversidade, onde em suas teorias supunham que quanto mais recursos disponíveis pela maior presença de espécies,

consequentemente, maior seria a produtividade da comunidade vegetal (McNaughton, 1993; Cardinale et al., 2007). Segundo Altieri e Nicholls (2010) os princípios ecológicos inseridos nos agroecossistemas sustentáveis são: o aumento da biodiversidade, cultivos perenes que protegem o solo por mais tempo, pouso da área, aumento da matéria orgânica entre outras técnicas.

Na região semiárida, o sistema produtivo da cultura de sisal, inserido no bioma Caatinga, tem arcado com prejuízos devido à perda da biodiversidade local. A inserção dessa cultura na região promoveu extensas áreas de monocultivos e baixa diversidade nos sistemas de produção, consequentemente, baixos serviços ecossistêmicos. O sisal, *Agave sisalana* Perrine é uma cultura perene, plurianual, rústica que requer clima quente, grande luminosidade e que se adaptou facilmente à região semiárida da Bahia (Coutinho et al., 2006). Cerca de 95% da produção nacional de sisal está concentrada no estado da Bahia, sendo a base da agricultura familiar nesta região movimentando o setor econômico e industrial, e a exportação de seus produtos oriundos da fibra (FAO, 2016). No entanto a expansão da cultura no estado ocorreu sem planejamento agrícola prévio, gerando sérios impactos à produção e, consequentemente, a degradação do bioma Caatinga no qual está inserido.

Segundo Cabell e Oelofse (2012) quatro características importantes devem ser exploradas dentro dos agroecossistemas: a diversidade da vegetação dentro e ao redor do agroecossistema; a diversificação de culturas; a intensidade da gestão e a extensão do isolamento do agroecossistema da vegetação natural. Portanto, diante da importância da cultura na região é necessária a integração da biodiversidade local com os sistemas de produção agrícolas para o desenvolvimento da agricultura sustentável, dentro dos princípios de sistemas produtivos eficientes, surgindo assim a necessidade de conhecer as espécies da flora e fauna inserida no sistema produtivo do sisal na Bahia.

1.2. Biota de recursos:

O agroecossistema pode ser dividido em duas partes a biota produtiva local e a biota de recursos. A biota produtiva local refere-se às culturas e animais inseridos pelo homem no sistema produtivo, no estudo a cultura do sisal (*Agave sisalana* Perrine) (Stupino et al., 2014).

A biota de recursos do agroecossistema inclui toda fauna e flora do solo, herbívoros, decompositores, polinizadores, predadores e parasitas que estabelece a relação com o ambiente e auxilia no funcionamento do agroecossistema. Um dos componentes da flora associada são as espécies espontâneas, que muitas vezes são consideradas prejudiciais aos sistemas de cultivos, mas no entanto, exercem funções ecológicas fundamentais dentro do agroecossistema (Stupino et al., 2014).

São ecologicamente denominadas de espécies pioneiras, invadem habitats abertos ou perturbados e adaptam-se facilmente iniciando o processo de sucessão vegetal (Pulsford et al., 2016). Promovem importantes serviços ecológicos como controle da erosão, adição de matéria orgânica, sequestro de carbono, regulação dos processos hidrológicos e do microclima, ciclagem de nutrientes, abundância de organismos benéficos como inimigos naturais, polinizadores, microrganismos antagonistas, indicadoras de características de solo, além de possuírem e também apresentarem potencial medicinal (Saradón e Flores, 2014).

A diversidade das plantas influenciam diretamente na abundância e diversidade da fauna do solo. De acordo com Abbas et al. (2014) a diversidade de organismos pode ser desencadeada pela maior quantidade de plantas, efeito da biomassa ou por mudanças na qualidade nutricional. A fauna do solo pode ser dividida em três grupos em relação ao seu diâmetro ou tamanho: a microfauna, a mesofauna e a macrofauna.

Na microfauna estão presentes os microrganismos menores que 0.2 mm representado pelos fungos, nematoides e protozoários. Apesar de algumas espécies de fungos causarem doenças em plantas trazendo prejuízo econômico ao sistema produtivo, esses microrganismos são imprescindíveis para a sustentabilidade dos agroecossistemas e qualidade do solo (Primavesi, 1999). O limite da relação dos fungos patógenos, tróficos e simbioses com as plantas depende da interação do hospedeiro com as condições ambientais, apresentando entre os principais benefícios a decomposição da matéria orgânica, formação de agregados do solo e controle biológico (Chandrashekar et al., 2014).

Entre os fungos fitopatógenos de planta, os gêneros *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp. são considerados importantes no mundo, causam doenças como o Mal do Panamá em bananeiras e a Podridão vermelha do sisal (Ellis et al., 2014). O gênero *Aspergillus* é encontrado principalmente em ambientes de clima quente e

temperado, classificados como saprófitas ou parasitas fracos, ou seja, dependem das condições ambientais e fisiológicas do hospedeiro para causar a infecção (Deepake, 2009; Samson et al., 2014). *A. niger* Tiegh. está inserido na seção *Nigri*, necessitam de temperatura média variando entre 35 e 37°C para um bom desenvolvimento e pode infectar a planta do sisal em qualquer estágio do seu desenvolvimento (Silva et al., 2011; Taniwaki et al., 2017). O *A. niger* Tiegh tem sido responsável pela doença Podridão vermelha do sisal, atinge atualmente cerca de 5 a 40% das áreas de plantio variando em função da localização e tem dizimados áreas de plantio na região sisaleira na Bahia (Gama et al., 2015).

As espécies do gênero *Fusarium* spp. são fungos filamentosos que podem ocorrer como organismos saprofíticos no solo ou como agentes patogênicos, incluem diversidade de cepas responsáveis por murcha ou podridões em uma ampla gama de hospedeiros (Manganyi et al., 2015). Entre estes o *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* coloniza os vasos do maracujazeiro causando obstruções do xilema e morte da planta (Ferreira et al., 2015), já o *F. oxysporum* f. sp. *cubense* provoca descoloração vascular dos rizomas e pseudocaule de bananeiras (Karangwa et al., 2016).

A mesofauna do solo é composta por indivíduos que medem de 0.2 a 2.0 mm e inclui Acari, Collembola, Protura, Diplura, Palpigradi, Pauropoda, Enchytraeidae e Symphyla; a macrofauna inclui organismos visíveis a olho nu maiores que 2.0 mm representado por mais de 20 grupos taxonômicos, principalmente os insetos (Silva e Amaral, 2013). Os Artrópodes representam a classe com maior número de indivíduos no mundo, dos 9 milhões de organismos conhecidos 90% são insetos. São organismos com amplitude estreita a respeito de um ou mais fatores ecológicos indicando uma condição ambiental particular ou estabelecida, ou seja, são altamente influenciados pelo meio onde estão inseridos; além disso, destacam-se por características importantes como predadores generalistas, facilidade de coleta e grande número de espécies (Allaby, 1992).

As Ordens Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera e Orthoptera são algumas das que mais destacam-se pela função que desempenham no ecossistema como, ciclagem de nutrientes, decompositores, polinizadores, predação e dispersão de sementes (Price, 1984; Oliveira et al., 2014). A ordem Hymenoptera agrupa espécies de abelhas, vespas e formigas, são espécies importantes pelas interações com outros organismos responsáveis pelo parasitismo,

predação e polinização além da forte correlação da abundância e riqueza desses insetos com as alterações do ambiente em que estão inseridos (Barbieri Junior et al., 2012).

Nesta ordem as formigas (Formicidae) se destacam e estão envolvidas em diversos processos ambientais fundamentais dentro do agroecossistema como coleta e dispersão de sementes, fragmentação do lixo, ciclagem de nutrientes, aeração e estruturação do solo e controle de outros grupos de organismos no solo (Baccaro et al., 2015, Janicki et al., 2016). Características como alta sensibilidade a mudanças do meio no qual estão inseridas e fácil coleta fazem desses insetos excelentes indicadores de qualidade ambiental indicando respostas ecológicas as mudanças abióticas como temperatura, umidade, precipitação e tipo de vegetação (Pereira et al., 2010; Segat et al., 2017).

2. Bioativos:

Por meio do conhecimento sobre as espécies vegetais presentes dentro e ao redor dos sistemas produtivos e a sua interação com o ambiente é possível gerar importantes subsídios na descoberta de novos ativos. Além de aumentar a diversidade, a incorporação dessas espécies nos sistemas produtivos agrega diversos benefícios como auxílio na regulação de pragas e melhoria da qualidade do solo além de gerar produtos, processos e renda ao agricultor do semiárido que convive com a Caatinga.

As espécies vegetais, possuem metabolismo secundário resultantes da interação do ambiente com a composição química da planta, tendo a sua síntese é afetada diretamente pelas condições ambientais como luminosidade, temperatura, pluviosidade; interação planta/microrganismo, planta/inseto e planta/planta; além de fatores técnicos como idade e estágio de desenvolvimento, nutrição, época e horário de colheita dentre outros (Verna e Shukla, 2015). Segundo Taiz e Zeiger (2010) pode-se classificar esses compostos em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.

Os compostos nitrogenados incluem compostos conhecidos na defesa das plantas contra os herbívoros, os chamados alcaloides e glicosídeos cianogênicos. Os compostos fenólicos são substâncias caracterizadas pela presença de pelo menos um anel aromático na sua estrutura sendo classificados em diversas classes

como, antocianidinas, catequinas e isoflavonas (Taiz e Zeiger, 2010). Os flavonoides, a maior classe desse grupo, são importantes agentes de defesa da planta contra o ataque de pragas e microrganismos além de proteger contra a incidência de raios ultravioleta e atrair animais polinizadores (Simões et al., 2010). Os terpenos ou terpenoides apresentam uma variedade de estrutura, sendo classificados pelo número de unidades de isopreno: monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15), principais constituintes dos óleos essenciais, diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (Taiz e Zeiger, 2010).

Esses compostos podem ser extraídos das plantas por meio de diferentes processos em função do tipo de composto a ser extraído, parte da planta utilizada, estabilidade das substâncias, disponibilidade de equipamento e custo. Entre os mais utilizados estão a hidrodestilação para extração de óleo essenciais, extração sólido-líquido através da maceração e extração líquido-líquido também chamada de partição para compostos fenólicos entre outros (Ignat et al., 2011; Azmir, et al., 2013; Bucar et al., 2013).

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias odoríferas e líquidas que possuem aroma agradável, são incolores ou ligeiramente amarelados de aparência oleosa e diferem dos óleos fixos por possuírem alta volatilidade. A exploração dos óleos essenciais é antiga, iniciou nos países do Oriente antes de Cristo; com o passar do tempo foram surgindo destilarias pelo mundo chegando a manipulação de vários produtos com inúmeras aplicações (Saroya, 2011).

O Brasil se destaca como o terceiro maior exportador de óleo essencial seguido dos EUA e da França, fornecendo principalmente os óleos de laranja, limão, lima, eucalipto, pau-rosa e capim-limão (Souza, 2010); um mercado que gera em torno de 40.000 – 60.000 toneladas por ano com valor de mercado estimado em US\$ 700 milhões indicando que a produção e o consumo de óleos essenciais tende a aumentar cada vez mais (Djilani & Dicko, 2012).

O óleo essencial ocorre em estruturas secretoras especializadas que diferem de acordo com a família de cada planta, como pelos glandulares em Lamiaceae; células parenquimáticas diferenciadas em Lauraceae, Piperaceae e Poaceae; canais oleíferos em Apiaceae ou bolsas lisígenas ou esquizolisígenas em Pinaceae e Rutaceae (Marques et al., 2008). Todos os órgãos da planta podem acumular óleos voláteis, porém sua composição pode variar segundo a localização anatômica das

estruturas, localização geográfica da planta e condições ambientais (Deschamps et al., 2008).

Os extratos vegetais são definidos como preparações concentradas de vegetais frescos ou secos utilizando solventes para isolar os princípios ativos contidos nestes. O solvente a ser utilizado varia em função das substâncias a serem extraídas, pode ser uma extração seletiva onde se utiliza de um solvente de polaridade adequada ou total, utilizando – se um solvente orgânico polar onde será arrastado a maioria dos componentes da amostra (Seidel, 2006).

No processo de extração sólido-líquido os componentes solúveis contidos numa matriz sólida são separados quando entram em contato direto com o solvente (Theodore e Ricci, 2010; Ignat et al., 2011). Dentre as técnicas mais utilizadas estão: a maceração, processo simples e o mais utilizado onde o material vegetal é imerso no solvente por determinado tempo seguido pela filtração. O método da percolação quente ou fria, é uma extração exaustiva do material sendo esta técnica utilizada em larga escala (Azmir, et al., 2013; Bucar et al., 2013).

O processo de extração líquido-líquido chamado de partição, é o processo de separação e purificação dos componentes de uma mistura líquida, neste o solvente escolhido apresenta uma seletividade a um ou mais componentes da mistura e uma densidade diferente (Ignat et al., 2011; Otsuka, 2006). Diante da imensa gama de compostos presentes nas plantas esta extração permite a separação das frações em função das suas polaridades utilizando solventes imiscíveis de polaridade crescente, como por exemplo água, hexano, diclorometano, éter dietílico, acetato de etila, acetona, metanol, etanol e butanol (Dai e Mumper, 2010).

Após extração a separação, caracterização a identificação dos compostos pode ser realizada por meio da cromatografia gasosa ou líquida a depender do composto obtido. Esta técnica é uma das formas mais utilizadas para separar e purificar as substâncias presentes nas espécies vegetais afim de produzir a partir delas novos produtos.

3. Potencialidades:

As potencialidades de usos dos óleos essenciais e extratos vegetais de plantas, seguem desde a indústria farmacêutica, alimentícia até as pesquisas de novas tecnologias na agricultura, em função principalmente da crescente demanda

pela população por produtos naturais com menos efeitos colaterais no homem e no meio ambiente. Além das potencialidades de uso na agricultura, podem contribuir na elaboração de novos medicamentos de largo espectro em várias doenças.

3.1. Potencial antifúngico:

A maioria dos óleos essenciais possui atividade antifúngica comprovada, ação atribuída a presença das substâncias denominadas monoterpenos e terpenoides. Vários mecanismos estão envolvidos nesta ação, como efeitos tóxicos a estrutura e função da membrana celular, a penetração de quitina das paredes das hifas levam a um extravasamento do conteúdo citoplasmático e o murchamento das hifas (Mback et al., 2016). Por meio de observações microscópicas eletrônicas e teste de vazamento de íons foi possível identificar que o alvo fúngico do óleo essencial de *Mentha spicata* sobre *A. flavus* foi a membrana plasmática (Kedia et al., 2016).

Outro mecanismo é a hidrofobicidade dos óleos essenciais que ao entrar em contato com os lipídeos da membrana celular causam alterações na sua estrutura (Costa et al., 2011). O enrolamento das hifas e encolhimento dos esporos foi observado em *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* quando exposto ao óleo essencial de cravo *Syzygium aromaticum* (L.) (Sharma et al., 2017).

Bozik et al. (2017) constataram a atividade inibidora dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Nees., *Thymus vulgaris* L., *Origanum vulgare* L., *S. aromaticum* L., *Cymbopogon citratus* [DC] Stapf. e *Zingiber officinale* Rosc sobre o crescimento micelial de *A. parasiticus*, *A. flavus* e *A. clavatus*. Para os óleos de *C. citratus* e *O. vulgare* a produção de esporos foi 100% inibida utilizando a concentração 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$.

Alguns autores demonstram o potencial antimicrobiano dos extratos vegetais, o extrato de *Croton aromaticus* apresentou na sua análise fitoquímica a presença de alcaloides, terpenoides e quinonas com concentração mínima inibitória de 5 mg.mL^{-1} para controle dos fungos *Colletotrichum gloesporioides* e *Pestalotiopsis mangiferae* (Wijesundara et al., 2016).

Bernardo et al. (2015) estudaram o uso dos extratos aquosos de *Ocimum basilicum*, *Baccharis trimera* e *Cnicus benedictus* no crescimento *in vitro* de cinco fitopatógenos, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum graminicola*, *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia rolfsii* em seis concentrações. Foi observado que

para o extrato aquoso a inibição do crescimento aumentou em função do aumento da concentração, tendo a dose de 25% a dose ótima.

3.2. Potencial antibacteriano:

Os óleos essenciais são utilizados em pesquisas com bactérias, alguns autores afirmam que bactérias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* são mais suscetíveis aos óleos que as gram-negativas como *Escherichia coli* (Chorianopoulos et al., 2004), devido a interação direta da membrana com os componentes hidrofóbicos. Entretanto, alguns autores sugerem que as gram-negativas possuem uma parede celular hidrofílica, mais resistente a penetração de compostos hidrofóbicos (Kim et al., 2011).

As espécies *Croton heliotropiifolius* e *C. zambesicus* demonstraram resultados promissores contra as bactérias *Staphylococcus* ssp., *Bacillus* ssp, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* obtendo concentração inibitória mínima de 16 µg. mL⁻¹ para o óleo de *C. zambesicus* (Araújo et al., 2017; Yagi et al., 2016).

A atividade antibacteriana foi detectada nos extratos vegetais que continham compostos como alcaloides, saponinas, flavanoides, de acordo com Jaberian et al. (2013) a atividade das plantas está relacionada a presença desses compostos, porém a não atividade não significa completa ausência dos mesmos, mas baixa quantidade dos compostos ou outros compostos podem antagonizar os seus efeitos. Os compostos como saponinas, esteroides e taninos presentes no extrato etanólico de *Croton polyandrus* mostraram atividade contra *Candida albicans* (Fernandes et al., 2013).

Akhtar et al. (2015) avaliou a atividade antibacteriana dos extratos M/C (metanólico/clorofórmico) e aquoso de 61 plantas medicinais, o máximo de inibição do crescimento foi causada pelo extrato de M/C de *Ageratum conyzoides* e do extrato aquoso de *Grewia asiatica* contra *S. aureus*; as espécies *S. typhimurium*, *E. aerogensi* e *B. bronchiseptica* foram resistentes a maior parte dos extratos isto é explicado pelos autores devido à presença de uma membrana externa extra na parede celular das bactérias gram-negativas, resultando em uma permeabilidade seletiva.

3.3. Potencial antioxidante:

Um importante potencial dos ativos de plantas é a sua capacidade antioxidante, esses compostos inibem ou retardam a oxidação das moléculas diminuindo os efeitos nocivos gerados pelos radicais livres que causam o surgimento de diversas doenças nos seres humanos e alterações nos alimentos. Nas últimas décadas a demanda por antioxidantes naturais tem aumentado substancialmente, as plantas medicinais possuem compostos como polifenóis, alcaloides, carotenoides entre outros que se destacam como uma alternativa promissora como fonte de novos antioxidantes naturais (Uysal et al., 2018).

Vários autores relataram o potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos vegetais, Formisano et al. (2014) comprovaram a atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Calamintha organifolia* e *Micromeria myrtifolia* devido ao alto teor de compostos fenólicos. O óleo essencial de *C. zambesicus* apresentou potencial antioxidante necessitando apenas de 4.20 mg. mL⁻¹ do seu óleo para obter o sequestro de 50% dos radicais livres (Yagi et al., 2016).

Akhtar et al. (2015) demonstrou elevada atividade antioxidante do extrato metanólico/clorofórmico das espécies *Punica granatum*, *Phyllanthus emblica*, *Mentha piperita*, *Syzygium cumini*, *Ficus microcarpa*, *Rosa indica*, *Berberis lycium*, *Sambucus nigra* e *Mallotus philippensis*, assim como o extrato aquoso de *Pinus roxburghii* chegando a 90% de eliminação dos radicais livres pelo método do sequestro do radical livre.

Diante disso o objetivo do presente trabalho foi realizar o levantamento das espécies espontâneas, suas potencialidades e caracterização dos artrópodes inseridos no sistema produtivo do sisal nos municípios de Valente, São Domingos e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité, Bahia, Brasil, verificando a sua importância e funcionalidade em sistemas produtivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, M.; KLEINB, A.M.; EBELING, A.; OELMANN, Y.; PTACNIK, R.; WEISSER, W.W.; HILLEBRAND, H. Plant diversity effects on pollinating and herbivorous insects can be linked to plant stoichiometry. *Basic and Applied Ecology*, v. 15, p. 169–178, 2014.

- AKHTAR, N.; HAQ, I-U.; MIRZA, B. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species, *Arabian Journal of Chemistry*, 2015.
- ALLABY, Michael. *The concise Oxford Dictionary of Zoology*. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- ALTIERI, M. *Agroecologia: as bases científicas da agricultura alternativa*. 2ed. Rio de Janeiro: PTA; FASE, p. 240, 1989.
- ALTIERI, M.A.; NICHOLLS, C.I. *Disenõs agroecolõgicos: para incrementar la biodiversidad de entomofauna benéfica em agroecosistemas*. Medellín: Sociedad Científica Latino Americana de Agroecologia, p. 80, 2010.
- ARAÚJO, F.M.; DANTAS, M.C.S.M.; E SILVA, L.S.; AONA, L.Y.S.; TAVARES, I.F.; DE SOUZA-NETA, L.C. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 105, p. 203–206, 2017.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K.M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M.H.A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N.A.N.; OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*, v. 117, p. 426–436, 2013.
- BACCARO, F.B., FEITOSA, R.M., FERNANDEZ, F., FERNANDES, I.O., IZZO, T.J., SOUZA, J.L.P. *Guia para os gêneros de formigas do Brasil*. Editora INPA, p. 388, 2015.
- BARBIERI JUNIOR, C.A.; DIAS, A.M.P. Braconidae (Hymenoptera) fauna in native, degraded and restoration areas of the Vale do Paraíba, São Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, p. 305-310, 2012.
- BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; OLIVEIRA, J.S.B.; CRUZ, M.E.S.; MESQUINI, R.M. Atividade fungitóxica in vitro de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. *Scientia Agraria Paranaensis – SAP; Marechal Cândido Rondon*, v. 14, n. 2, p. 89-93, 2015.
- BOZIK, M., CÍSAROVÁ, M., TANCINOVÁ, D., KOURIMSKÁ, L., HLEBA, L., KLOUCEK, P. Selected essential oil vapours inhibit growth of *Aspergillus* spp. in oats with improved consumer acceptability. *Industrial Crops and Products*, v. 98, p. 146–152, 2017.

- BRASIL, D.S.B.; MÜLLER, A.H.; GUILHON, G.M.S.P.; ALVES, C.N.; ANDRADE, E.H.A.; SILVA, J.K.R.; MAIA, J.G.S. Essential oil composition of *Croton palanostigma* Klotzsch from North Brazil, J. Braz. Chem. Soc., v. 20, p. 1188-1192, 2009.
- BUCAR, F.; WUBE, A.; SCHMID, M. Natural product isolation: how to get from biological material to pure compounds. Natural product reports, v. 30, n. 4, p. 525-545, 2013.
- CABELL, J.F.; OELOFSE, M. An indicator framework for assessing agroecosystem resilience. Ecol Soc, v. 17, n. 1, p. 18, 2012.
- CARDINALE, B.J.; WRIGHT, J.P.; CADOTTE, M.W.; CARROLL, I.T.; HECTOR, A.; SRIVASTAVA, D.S.; LOREAU, M.; WEIS, J.J. Impacts of plant diversity on biomass increase through time because of species complementarity. Proc Natl Acad Sci USA, v. 104, p. 18123–18128, 2007.
- CHANDRASHEKAR, M.A.; SOUMYA PAI, K.; RAJU, N.S. Fungal Diversity of Rhizosphere Soils in Different Agricultural fields of Nanjangud Taluk of Mysore District, Karnataka, India. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, v.3, p. 559-566, 2014.
- CHORIANOPOULOS, N.G.; LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; EVERGETIS, E.T.; HAROUTOUNIAN, S.A.; NYCHAS, G.J.E. A newly developed assay to study the minimum inhibitory concentration of *Satureja spinosa* essential oil. Journal of Applied Microbiology, v. 100, p. 778-786, 2006.
- COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 13, n. 2, p. 240-245, 2011.
- COUTINHO, W.M.; SUASSUNA, N.D.; LUZ, C.M.; SUINAGA, F.A.; SILVA O.F.E. Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. Fitopatologia Brasileira, v. 31, p. 6, 2006.
- DAI, J.; MUMPER, R.J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, v. 15, p. 7313-7352, 2010.
- DARWIN, C. The origin of species, 6th edn. Murray, London, 1872.

- DEEPAKE, U. Aero-microbiological studies of Moisture Affected Buildings in the Indoor Environment. *Journal of Young Investigators*, v. 19, 2009.
- DE LA ROSA, L.A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZ-AGUILAR, G.A. Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability. 1^o ed. Wiley-Blackwell. Iowa, USA, v.1, p. 382, 2010.
- DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C.; ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento do óleo essencial em espécies de menta. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 32, n. 3, p. 725-730, 2008.
- DJILANI, A.; DICKO, A. The therapeutic benefits of essential oils. In: Bouayed, J., Bohn, T. (Eds.), *Nutrition, Well-being and Health*. InTech, Croatia, p. 155–178, 2012.
- ELLIS, M.L.; JIMENEZ, D.R.; LEANDRO, L.F.; MUNKVOLD, G.P. Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. *Phytopathology*, v. 104, p. 1329-1339, 2014.
- EVANS, E.W. Biodiversity, ecosystem functioning, and classical biological Control. *Appl Entomol Zool*, v. 51, p. 173–184, 2016.
- FAOSTAT. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acessado: 01.02.18.
- FERREIRA, R.B.; RODRIGUES, A.A.C.; MORAES, F.H.R.; SILVA, E.K.C.; NASCIMENTO, I.O. Resíduos orgânicos no controle de *Fusarium oxysporum* f sp. *passiflorae* em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Acta biol. Colomb.*, v. 20, n. 3, p 111-120, 2015.
- FERNANDES, H.M.B.; LEÃO, A.D.; OLIVEIRA-FILHO, A.A.; SOUSA, J.P.; OLIVEIRA, T.L.; LIMA, E.O.; SILVA, M.S.; TAVARES, J.F. Antimicrobial activity and phytochemical screening of extracts from leaves of *Croton polyandrus* spreng. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, v. 5, p. 223–226, 2013.
- FORMISANO, C.; OLIVIERO, F.; RIGANO, D.; SAAB, A.M.; SENATORE, F. Chemical composition of essential oils and in vitro antioxidant properties of extracts and essential oils of *Calamintha organifolia* and *Micromeria myrtifolia*, two Lamiaceae from the Lebanon flora. *Industrial Crops and Products*, v. 62, p. 405–411, 2014.

- GAMA, E.V.S.; SILVA, F.; SANTOS, I.; MALHEIRO, R.; SOARES, A.C.F.; PEREIRA, J.A.; ARMOND, C. Homeopathic drugs to control red rot disease in sisal plants. *Agronomy of Sustainable Development*, v. 35, p. 649–656, 2015.
- GLIESSMAN, S.R. *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. 3ed. Porto Alegre: UFRGS, 653p, 2005.
- HANDA, I.T.; AERTS, R.; BERENDSE, F.; BERG, M.P.; BRUDER, A.; BUTENSCHOEN, O.; CHAUVET, E.; GESSNER, M.O.; JABIOL, J.; MAKKONEN, M.; MCKIE, B.G.; MALMQVIST, B.; PEETERS, E.T.H.M.; SCHEU, S.; SCHMID, B.; RUIJVEN, J.V; VOS, V.C.A.; HATTENSCHWILER, S. Consequences of biodiversity loss for litter decomposition across biomes. *Nature*, v. 509, 2014.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.
- JABERIAN, H.; PIRI, K.; NAZARI, J. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*, v. 136, p. 237–244, 2013.
- JANICKI, J., NARULA, N., ZIEGLER, M., GUÉNARD, B. ECONOMO, E.P. Visualizing and interacting with large-volume biodiversity data using client-server web-mapping applications: The design and implementation of ant maps.org. *Ecological Informatics*, v. 32, p. 185-193, 2016.
- KARANGWA, P.; BLOMME, G.; BEED, F.; NIYONGERE, C.; VILJOEN, A. The distribution and incidence of banana *Fusarium* wilt in subsistence farming systems in east and central Africa. *Crop Protection*, v. 84, p. 132-140, 2016.
- KEDIA, A.; DWIVEDY, A.K.; JHA, D.K.; DUBEY, N.K. Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action. *Protoplasma*, v. 253, p. 647–653, 2016.
- KIM, S.Y.; KANG, D.H.; KIM, J.K.; HA, Y.G.; HWANG, J.Y.; KIM, T. ET al. Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on fresh lettuce. *Journal of Food Science*, v. 76, p. 41-46, 2011.

- MANGANYI, M.C.; REGNIER, T.; OLIVIER, E.I. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. *South African Journal of Botany*, v. 99, p. 115–121, 2015.
- MARQUES, C.A.; LEITÃO, G.G.; BIZZO, H.R.; KRANZ, W.M.; PEIXOTO, A.L.; VIEIRA, R.C. Considerações anatômicas e análise de óleo essencial do hipanto e do fruto de *Hennecartia omphalandra* J. Poisson (Monimiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 3, p. 415-429, 2008.
- MBACK, M.N.L.N.; AGNANIET, H.; NGUIMATSI, F.; DONGMO, P.M.J.; FOKOU, J.B.H.; BAKARNGA-VIA, I.; BOYOM, F.F.; MENUT, C. Optimization of antifungal activity of *Aeollanthus heliotropioides* oliv essential oil and Time Kill Kinetic Assay. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, v. 26, n. 3, p. 233-243, 2016.
- MCNAUGHTON, S.J. Biodiversity and function of grazing ecosystems. In: Schulze E-D, Mooney HA (eds) Biodiversity and ecosystem function. *Ecological studies*, v. 99, p 361–383, 1993.
- MMA – Ministério do Meio Ambiente. Biomas Caatinga. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>. Acessado em: 17 de janeiro de 2018.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T., CARDOSO, D., SCHRIRE, B.D., LEWIS, G.P., PENNINGTON, R.T., BRUMMER, T.J., ROTELLA, J., LAVIN, M. Stability structures tropical woody plant diversity more than seasonality: insights into the ecology of high legumesucculent plant biodiversity. *South African Journal of Botany*, v. 89, p. 42-57, 2013.
- OLIVEIRA, M. A.; GOMES, C. F. F.; PIRES, E. M.; MARINHO, C. G. S.; LUCIA, T. M. C. D. Bioindicadores ambientais: insetos como um instrumento desta avaliação. *Revista Ceres, Viçosa*, v. 61, p. 800-807, 2014.
- OTSUKA, H. Purification by Solvent Extraction Using Partition Coefficient. Em: S. D. Sarker, Z. Latif & A. I. Gray, edits. *Natural products isolation*. 2º ed. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc., p. 269-273, 2006.
- PEREIRA, J.L., PICANÇO, M.C., DA SILVA, A.A., BARROS, E.C., SILVA, R.S., GALDINO, T.V.S., MARINHO, C.G.S. Ants as environmental impact bioindicators from insecticide application on corn. *Sociobiology*, v. 55, n. 1, p. 153-164, 2010.
- PRICE, P.W. *Insect Ecology*. 2aed. New York, John Wiley & Sons. 607p, 1984.

- PRIMAVESI, A. Manejo ecológico do solo: a agricultura em regiões tropicais. São Paulo: Nobel, p. 549, 1999.
- PULSFORD, S.A., LINDENMAYER, D.B., DRISCOLL, D.A. A succession of theories: purging redundancy from disturbance theory. *Biol. Rev.*, v. 91, p. 148–167, 2016.
- SAMSON, R.A.; VISAGIE, C.M.; HOUBRAKEN, J.; HONG, S.-B.; HUBKA, V.; KLAASSEN, C.H.W.; PERRONE, G.; SEIFERT, K.A.; SUSCA, A.; TANNEY, J.B.; VARGA, J.; KOCSUB, S.; SZIGETI, G.; YAGUCHI, T.; FRISVAD, J.C. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies In Mycology*, v. 78, p. 141–173, 2014.
- SARANDÓN, S.J.; FLORES, C.C. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2014.
- SAROYA, A.S. Herbalism, Phytochemistry and Ethnopharmacology. Published by Science Publishers, P.O. Box 699, Enfield, NH 03748, USA, v.1. p. 411, 2011.
- SEGAT, J.C., VASCONCELLOS, R.L.F., SILVA, D.P., BARETTA, D., CARDOSO, E.J.B.N. Ants as indicators of soil quality in an on-going recovery of riparian forests. *Forest Ecology and Management*, v. 404, p. 338–343, 2017.
- SEIDEL, V. Initial and Bulk Extraction. Em: S. D. Sarker, Z. Latif & S. D. Sarker, edits. *Natural Products Isolation*. 2^o ed. Totowa, New Jersey: Humana Press, pp. 27-46, 2006.
- SHARMA, A., RAJENDRAN, S., SRIVASTAVA, A., SHARMA, S., KUNDU, B. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 123, p. 308-313, 2017.
- SILVA, D.M.; BATISTA, L.R.; REZENDE, E.F.; FUNGARO, M.H.P.; SARTORI, D.; ALVES, E. Identification of fungi of the genus *Aspergillus* section *nigri* using polyphasic taxonomy. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, n. 2, 2011.
- SILVA, L.N.; AMARAL, A.A. Amostragem da mesofauna e macrofauna de solo com armadilha de queda. *Revista Verde de agroecologia*, v. 8, n.5, p. 108-115, 2013.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto

- Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, p. 1102, 2010.
- STUPINO, S., IERMANÓ, M.J., GARGOLOFF, N.A., BONICATTO M.M. La biodiversidad en los agroecosistemas. En: Sarandón, S.J., Flores C.C. (ed.). Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. La Plata: Edulp, p. 131- 158, 2014.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. Plant Physiology. Sunderland, Sinauer Assoc. Inc. Publ. , 2010
- TANIWAKI, M.H.; FRISVAD, J.C.; FERRANTI, L.S.; LOPES, A.S.; LARSEN, T.O.; FUNGARO, M.H.P.; IAMANAKA, B.T. Biodiversity of mycobiota throughout the Brazil nut supply chain: From rainforest to consumer. Food Microbiology, v. 61, p. 14-22, 2017.
- THEODORE, L.; RICCI, F. Mass transfer operations for the practicing engineer. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. , 2010.
- UYSAL, S.; ELALFI, Z.A.; ZENGIN, G.; AKTUMSEK, A.; MAŠKOVIĆ, P.Z.; VUJIĆ, J.M.; MAHOMOODALLY, M.F. *In vitro* antioxidant, cytotoxicity and chemical profile of different extracts from *Acanthus hirsutus* Boiss used in Anatolian folk medicine. European Journal of Integrative Medicine, v. 17, p. 135–140, 2018.
- VERMA, N., SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants, v. 2, p. 105–113, 2015.
- WIJESUNDARA, S.A.D.T.L., KANNANGARA, B.T.S.D.P., ABEYWICKRAMA, K. Antifungal Activity of *Croton aromaticus* L. *in vitro*, Against Post-Harvest Fungal Pathogens Isolated from Tropical Fruits, v. 11, p. 105–117, 2016.
- WOOD, S.; BRADFORD, A.M.A.; GILBERT, J.A.; MCGUIRE, K.L.; PALM, C.A.; TULLY, K.L.; ZHOU, J.; NAEEM, S. Agricultural intensification and the functional capacity of soil microbes on smallholder African farms. Journal of Applied Ecology, v. 52, p. 744–752, 2015.
- YAGI, S.; BABIKER, R.; TZANOVA, T.; SCHOHN, H. Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v. 9, p. 763–770, 2016.

LEVANTAMENTOS DE ESPÉCIES MEDICINAIS E CARACTERIZAÇÃO DE ARTRÓPODES NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DE SISAL (*AGAVE SISALANA* PERRINE)

ARTIGO 1

LEVANTAMENTO DE PLANTAS ESPONTÂNEAS E SEUS POTENCIAIS NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DO SISAL (*Agave sisalana* PERRINE)

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Journal of Pharmacognosy, em versão na língua inglesa.

Levantamento de plantas espontâneas e seus potenciais no sistema produtivo da cultura do sisal (*Agave sisalana* Perrine)

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Francis Almeida da Silva; Simone Teles, José Alberto Pereira

Resumo: Diante da importância da biodiversidade no agroecossistema, as espécies espontâneas oferecem serviços ecológicos fundamentais na manutenção do equilíbrio ecológico. No trabalho objetivou-se conhecer a comunidade de espécies espontâneas e sua importância nos sistemas produtivos da cultura de sisal (*Agave sisalana* Perrine) em 10 áreas distribuídas nos municípios de Valente, São domingos e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité, Bahia, Brasil. Foi utilizado o método do quadrado inventário, lançado 8 vezes ao acaso em 3 entrelinhas do plantio totalizando 24 pontos entre Maio de 2015 a Maio de 2016. O material coletado foi contabilizado, identificado e depositado no Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) Campus Cruz das Almas e a partir dos dados foram calculados os parâmetros fitossociológicos: frequência relativa, abundância relativa, índices de diversidade, a similaridade florística entre as áreas e a correlação entre a abundância de espécies e as variáveis do solo através da análise de correspondência canônica. Como resultados foram identificadas o total de 69 espécies espontâneas, distribuídas em 55 gêneros e 26 famílias. Destas apenas três espécies são endêmicas da região semiárida brasileira: a *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S.Mill, *Colicodendron yco* Mart e *Turnera chamaedrifolia* Cambess. As áreas estudadas não demonstraram alta discrepância na composição florística e diversidade, confirmando a elevada riqueza das famílias Fabaceae e Euphorbiaceae em áreas de caatinga. *Pavonia cancellata* (L.) Cav. e *Melochia tomentosa* (L.) apresentaram maior abundância nas áreas e *Croton heliotropiifolius* Kunth maior frequência durante o período estudado. Esses resultados demonstram a funcionalidade destas espécies no ambiente de cultivo do sisal e suas possibilidades de manejo, assim como, potencial para sua exploração em termos de bioativos e no desenvolvimento de novos produtos, além da preservação da flora espontânea da Caatinga na região.

Palavras-chave: Biodiversidade funcional, Caatinga, levantamento florístico.

Survey of spontaneous plants and their potentials in the productive system of sisal (*Agave sisalana* Perrine)

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Francis Almeida da Silva; Simone Teles, José Alberto Pereira

Abstract: In view of the importance of biodiversity in the agroecosystem, spontaneous species offer ecological services that are fundamental in maintaining the ecological balance. The objective of this work was to know the community of spontaneous species and their importance in the productive systems of sisal (*Agave sisalana* Perrine) in 10 areas distributed in the municipalities of Valente, São Domingos and the district of Salgadália belonging to the municipality of Conceição do Coité, Bahia Brazil. It was used the method of the square inventory, launched 8 times at random in 3 lines between the planting totaling 24 points between May 2015 and May 2016. The collected material was counted, identified and deposited in the Herbarium of the Federal University of Recôncavo da Bahia (UFRB) Campus Cruz das Almas and from the data were calculated the phytosociological parameters: relative frequency, relative abundance, diversity indexes, floristic similarity between areas and correlation between species abundance and soil variables through correspondence analysis canonical. As results were identified the total of 69 spontaneous species, distributed in 55 genera and 26 families. Of these, only three species are endemic to the Brazilian semi-arid region: *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S.Mill, *Colicodendron yco* Mart and *Turnera chamaedrifolia* Cambess. The studied areas did not show a high discrepancy in floristic composition and diversity, confirming the high wealth of Fabaceae and Euphorbiaceae families in caatinga areas. *Pavonia cancellata* (L.) Cav. and *Melochia tomentosa* (L.) showed higher abundance in the areas and *Croton heliotropiifolius* Kunth higher frequency during the studied period. These results demonstrate the functionality of these species in the sisal growing environment and their management possibilities, as well as the potential for their exploitation in terms of bioactives and the development of new products, as well as the preservation of the spontaneous Caatinga flora in the region.

Keywords: Functional biodiversity, Caatinga, floristic survey.

1. INTRODUÇÃO

Monocultura perene e resistente a estiagens prolongadas o sistema produtivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine) constitui a base da agricultura familiar na região semiárida da Bahia (Suinaga et al., 2006). Diante da grande importância econômica da fibra principal produto do sisal, a expansão da cultura ocorreu sem nenhum planejamento agrícola. Os solos em formação dessas áreas, aliados a escassez de chuvas, altas temperaturas e falta de manejo da cultura têm levado a perda da biodiversidade local e degradação do bioma Caatinga, no qual está inserido (Souza, 2010; Paz et al., 2011).

A biodiversidade é fator determinante na dinâmica do ecossistema natural. A simplificação dos sistemas agrícolas como nas monoculturas ocasiona a perda de grupos funcionais inteiros gerando impactos como a ocorrência de pragas e doenças, a dependência por insumos externos entre outros (Cabell e Oelofse, 2012; Fernandez e Marasas, 2015). Um dos componentes importantes da biodiversidade são as espécies espontâneas, que muitas vezes são consideradas prejudiciais aos sistemas de cultivos, mas que exercem funções ecológicas fundamentais dentro do agroecossistema (Stupino et al., 2014).

Essas espécies são ecologicamente denominadas de espécies pioneiras, invadem habitats abertos ou perturbados e adaptam-se facilmente iniciando o processo de sucessão vegetal (Pulsford et al., 2016). Entre os serviços ecológicos fornecidos por elas podem ser observados o controle da erosão, adição de matéria orgânica, sequestro de carbono, regulação dos processos hidrológicos e do microclima, ciclagem de nutrientes, abundância de organismos benéficos como inimigos naturais, polinizadores, microrganismos antagonistas, indicadores de características de solo, além de apresentarem também potencial medicinal (Silva, 2010; Saradón e Flores, 2014).

Para conhecer os benefícios das espécies espontâneas faz-se necessário entender e conhecer a diversidade vegetal dentro do sistema produtivo. A caracterização do sistema pode ser em função da sua composição, através de uma lista de espécies e do número de espécies; da sua estrutura, distribuição das espécies dentro do sistema e a funcionalidade de cada uma mediante os processos ecológicos os quais cada uma exerce (Noss, 1990; Gliessman, 2002; Nicholls,

2006). O método fitossociológico ou quantitativo proposto por Mueller-Dombois & Elleberg (1974) é o mais utilizado no reconhecimento florístico em áreas agrícolas ou não. Nesta análise têm-se o conhecimento sobre as populações, biologia e mecanismos de interações das espécies espontâneas no sistema produtivo, o que constitui importante ferramenta nas recomendações de manejo integrado, potencializando seus efeitos benéficos reduzindo assim a utilização de insumos externos (Gliessman, 2005; Silva et al., 2010).

Neste contexto, no presente trabalho objetivou-se conhecer a comunidade de espécies espontâneas presente nos sistemas produtivos da cultura de sisal (*Agave sisalana*), nos municípios de Valente, São domingos e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité, localizados na Mesorregião do Nordeste Baiano, Bahia, Brasil, verificando a sua importância e funcionalidade em sistemas produtivos.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Caracterização da área de estudo:

Na caracterização da composição florística foram delimitadas 10 áreas agrícolas com produção de sisal nos municípios de Valente (11° 24' 43" S e 39° 27' 43"), São Domingos (11°27'56" S 39°31'34" O) e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité (11° 33' 50" S e 39° 16' 58") (Figura 1), todos localizados na Mesorregião do Nordeste Baiano, Microrregião de Serrinha – Bahia – Brasil (IBGE, 2017).

O clima da região, segundo classificação Köppen é BSh, clima semiárido quente com temperatura média de 22°C e pluviosidade média anual de 585 mm e vegetação de caatinga. Os dados de temperaturas médias, mínimas e máximas; a umidade e a precipitação durante o período de realização do estudo foram obtidas a partir do site do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) (<http://www6.cptec.inpe.br/proclima/>) e estão apresentados na figura 2.

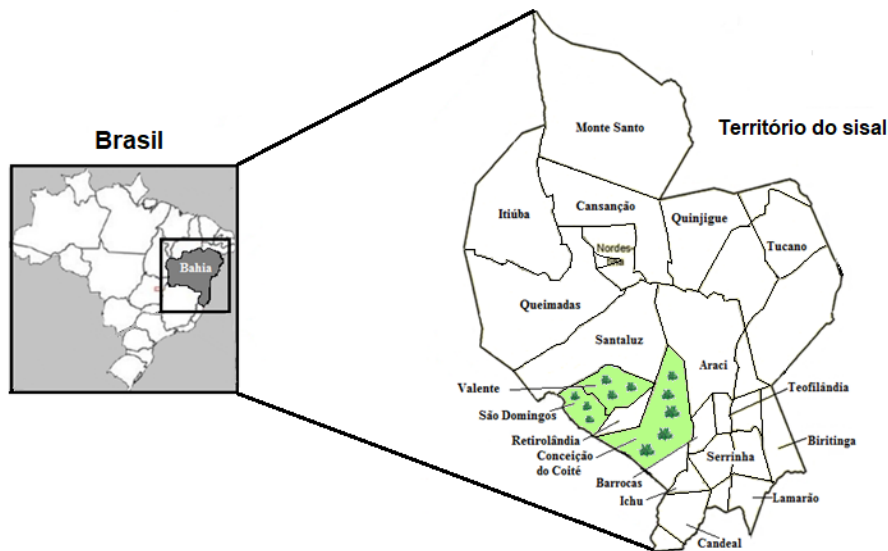


Figura 1. Localização dos municípios onde estão inseridas as áreas produtoras de sisal na Bahia, Brasil.

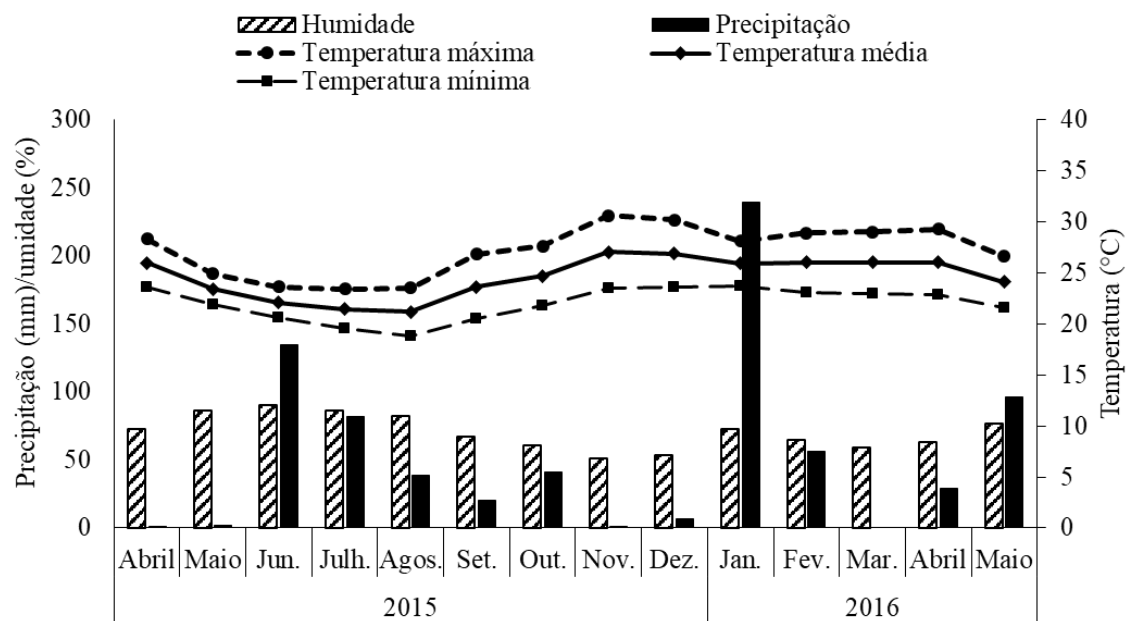


Figura 2. Dados de precipitação (mm), temperatura máxima (Máx. T.), média e mínima (Mín. T.) (°C) e umidade (%) no período entre Abril 2015 e Maio 2016 para a área experimental (dados adaptados do banco de dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia– INMET 2015).

2.2. Amostragem:

A coleta de dados ocorreu durante os meses de Maio de 2015 a Maio de 2016, totalizando 10 amostragens finais para cada área produtora de sisal. Foi utilizado o método do quadrado inventário (quadro de 0.50 por 0.50 cm), o qual foi lançado 8 vezes ao acaso em 3 entrelinhas do plantio de sisal totalizando 24 pontos. Em cada quadro, as plantas foram contabilizadas, coletadas e acondicionadas em sacos de papel para identificação e depósito no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. O material coletado foi identificado com auxílio dos taxonomistas do Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) Campus Cruz das Almas, mediante consulta a chaves dicotômicas e a base de dados "Species Link" (<http://www.splink.org.br/>)

As amostras de solo das áreas foram coletadas em triplicata a uma profundidade de 0-20 cm para caracterização físico-química. As amostras foram homogeneizadas, retiradas três repetições de 100g cada e acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e enviadas ao Laboratório Agrônomo S/C Ltda, onde os resultados estão descritos na Tabela 1.

2.3 Análise dos dados:

A partir dos dados do levantamento foram calculados os parâmetros fitossociológicos proposto por Mueller-Dombois e Ellenberg, 1974:

- Frequência (Freq) e Frequência relativa (Fr):

$\text{Freq} = N^{\circ} \text{ de parcelas que contêm a espécie} / N^{\circ} \text{ total de parcelas utilizadas}$

$\text{Fr (\%)} = (\text{Freq} / \Sigma \text{Freq de todas as espécies}) * 100;$

- Abundância (Ab) e Abundância relativa (Abr):

$\text{Ab} = N^{\circ} \text{ total de indivíduos por espécie} / N^{\circ} \text{ total de parcelas que contêm a espécie}$

$\text{Abr (\%)} = (\text{Ab} / \Sigma \text{Ab de todas as espécies}) * 100.$

A diversidade das áreas foi determinada pelo Índice de Shannon (H' , em nats./ind.), Índice de Magalef (D_{mg}), a equitabilidade de Pielou (J') e a dominância pelo Índice de Simpson. A similaridade florística entre as áreas foi analisada com base na distância de Bray-Curtis, através da matriz de similaridade onde os dados obtidos foram ordenados através da análise de agrupamento. Em seguida foi realizada Análise de Espécies Indicadoras, visando verificar a significância das

espécies como indicadoras das áreas de estudo, esta análise é uma combinação de abundância relativa e frequência relativa das espécies e o significado desses valores foi determinado pelo teste de Monte Carlo usando 9999 permutações (Dufrene e Legendre, 1997) considerando as espécies significativas para a análise ($p < 0.05$). As análises foram realizadas com o auxílio dos programas Primer versão 6.1.6 (Clarke and Gorley, 2006) e PC-ORD versão 6.0 (McCune; Mefford, 2011).

Para analisar a correlação entre a abundância de espécies e as variáveis do solo foi realizada uma análise de correspondência canônica com o auxílio do programa R versão 3.4.1. Para compensar os desvios causados por alguns poucos valores muito elevados, as variáveis do solo (quarta raiz) e abundância das espécies foram transformados ($\log_{10}(x + 1)$).

Tabela 1: Característica químicas do solo das áreas experimentais utilizada no presente estudo.

Características do solo	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5	Área 6	Área 7	Área 8	Área 9	Área 10
Matéria orgânica (g.dm ⁻³)	20.3	28.3	35.3	50.3	20.7	20.5	20.0	20.3	23.7	25.7
pH	5.8	5.3	4.9	5.3	4.3	4.6	4.8	4.7	4.7	4.7
P (ppm)	42.0	33.7	31.7	94.0	4.7	5.0	13.0	7.0	7.70	4.3
K (mmolc.dm ⁻³)	2.60	1.0	1.70	2.50	0.80	2.10	1.20	1.10	1.50	1.13
Ca + Mg (mmolc.dm ⁻³)	211.7	212.3	148.6	314.5	34.7	44.0	33.0	26.0	36.3	57.0
Ca (mmolc.dm ⁻³)	177	151	113.3	272.7	28.0	36.0	27.0	21.0	28.3	43.3
Mg (mmolc.dm ⁻³)	34.7	61.3	35.3	42.3	6.7	8.0	6.0	5.0	8.0	13.7
Al (mmolc.dm ⁻³)	1.0	1.3	1.0	1.0	3.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	9.0	29.9	31.3	18.3	26.0	17.0	14.0	13.0	17.0	24.0
CTC (mmolc.dm ⁻³)	222.5	243.4	181.7	335.8	62.0	63.1	48.2	40.1	54.8	82.1
V (%)	96	87.7	82.7	95	58	72.3	71	68	68.7	71.3
S (ppm)	9.0	10.3	9.7	6.7	9.0	8.3	5.0	6.0	8.3	8.3
Na (mmolc.dm ⁻³)	1.53	1.83	0.93	1.03	0.53	0.63	0.2	0.27	0.60	0.70
Fe (mg.dm ⁻³)	15.3	50	76.3	33	79.3	18.3	20.3	22.3	40.6	37.3
Mn (mg.dm ⁻³)	3.53	40.5	25.6	12.2	47	19.1	36.2	36.5	22.0	46.8
Cu (mg.dm ⁻³)	1.47	1.87	1.77	1.9	0.83	0.60	0.33	0.47	0.47	1.57
Zn (mg.dm ⁻³)	0.17	0.20	1.13	2.20	1.67	1.87	0.83	0.40	2.53	1.10

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com cerca de 89,5% da região Nordeste do Brasil, o semiárido e sua vegetação denominada Caatinga é considerado o maior e mais diverso núcleo de florestas tropicais sazonais secas (IBGE, 2017; Oliveira-Filho et al., 2013). Vegetação xerófila, diferentes tipos de solo e regime irregular de chuvas

caracterizam o bioma como um complexo vegetacional que reúne ambientes muito distintos, fisionomias variadas, alta diversidade biológica e inúmeros endemismos (Andrade et al., 2011).

No entanto, o bioma caatinga ainda apresenta grande deficiência de conhecimento florístico. As áreas estudadas no presente trabalho são cultivadas com sisal (*Agave sisalana* Perrine) e estão inseridas neste bioma, por meio do levantamento florístico foram identificadas nas 10 áreas um total de 69 espécies espontâneas, distribuídas em 55 gêneros e 26 famílias (Tabela 2). A família Fabaceae apresentou a maior quantidade de espécies identificadas (16) seguida por Malvaceae (8), Rubiaceae (6) e Euphorbiaceae (5). Os gêneros *Varronia*, *Croton*, *Bauhinia*, *Evolvulus*, *Senna* e *Solanum* apresentaram mais de uma espécie (Tabela 2).

Entre as espécies identificadas no levantamento a família Poaceae foi a mais abundante. Com 12.79% a *Pavonia cancellata* (L.) Cav. (Malvaceae) foi a segunda espécie mais abundante em todas as áreas cultivadas com sisal, seguida de *Melochia tomentosa* L. (Malvaceae) (11.08%). Entre as espécies mais frequentes durante os dez meses de coletas, a *M. tomentosa* L. também se destacou com 13.14%, seguida de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) com 9.71% e *P. cancellata* (L.) Cav. com 9.10% (Tabela 2). Entre todas as espécies registradas *C. heliotropiifolius* Kunth e *P. cancellata* (L.) Cav. foram consideradas indicadoras para as áreas de estudo devido a sua abundância nas áreas estudadas.

Tabela 2: Lista de espécies espontâneas identificadas nas áreas produtoras de sisal e parâmetros fitossociológicos.

	Famílias	Espécies	Voucher	AR¹	FR²
1	Amaranthaceae	<i>Alternanthera tenella</i> Colla	-	1.16	0.96
2	Asteraceae	<i>Centratherum punctatum</i> Cass.	HURB 18128	6.09	6.07
3		<i>Lourteigia ballotifolia</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.		1.45	1.68
4		<i>Trixis</i> sp.		0.01	0.03
5	Boraginaceae	<i>Heliotropium indicum</i> (L.)	HURB 18121	4.45	4.34
6		<i>Cordia verbenaceae</i> DC.		7.81	5.00
7		<i>Varronia leucocephala</i> (Moric.) J.S.Mill.	HURB 18129	0.01	0.03
8	Capparaceae	<i>Colicodendron yco</i> Mart.	HURB 18109	0.14	0.61
9		<i>Neocalyptocalyx longifolium</i> (Mart.) Cornejo & Iltis	HURB 18091	0.03	0.08
10	Celastraceae	<i>Maytenus rígida</i> Mart.	HURB 18106	0.03	0.03
11	Cleomaceae	<i>Physostemon</i> sp.	-	0.01	0.03
12	Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i> (L.)	-	0.87	0.77
13	Convolvulaceae	<i>Evolvulus frankenioides</i> Moric.	HURB 18115	0.02	0.05
14		<i>Evolvulus nummularis</i> (L.)	-	0.05	0.13
15	Curcubitaceae	<i>Melothria</i> sp.	-	0.78	0.85
16	Euphorbiaceae	<i>Astraea lobata</i> (L.)	HURB 18122	0.04	0.03
17		<i>Croton argyrophyllus</i> Kunth	HURB 15401	0.35	0.85
18		<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	HURB 15400	6.28	9.71
19		<i>Tragia</i> sp.	HURB 18100	0.01	0.03
20		<i>Euphorbia hyssopifolia</i> (L.)	HURB 18105	0.03	0.03
21	Fabaceae	<i>Abrus precatorius</i> (L.)	-	0.03	0.03
22		<i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong.) Steud.	HURB 18108	1.41	2.15
23		<i>Bauhinia dumosa</i> Benth.	HURB 18111	0.05	0.03
24		<i>Calopogonium</i> sp	-	0.03	0.08
25		<i>Centrosema</i> sp.	-	0.25	0.64
26		<i>Chamaecrista rotundifolia</i> (Pers.)	HURB 18132	0.10	0.13
27		<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill.	-	0.57	0.93
28		<i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir.	HURB 18114	1.32	1.46
29		<i>Poecilanthe ulei</i> (Harms) Arroyo & Rudd	HURB 18099	0.06	0.03
30		<i>Poiccianella pyramidales</i> (Tul.) L.P.Queiroz	-	0.92	1.44
31		<i>Rhynchosia cf mínima</i> (L.)	HURB 18117	0.10	0.11
32		<i>Senna macranthera</i> (DC. Ex Collad). H.S.Irwin & Barneby	HURB 18119	0.68	1.30

33		<i>Senna uniflora</i> (Mill.) H.S.Irwin & Barneby	-	2.94	2.61
34		<i>Stylosanthes viscosa</i> (L.) Sw.	HURB 18127	3.42	3.41
35		<i>Zornia</i> sp.	HURB 18096		
36		Sp 1	-	3.05	4.60
37	Lamiaceae	<i>Eriope tumidicaulis</i> Harley	HURB 18097	0.01	0.03
38		<i>Hyptis eriase</i>	-	0.01	0.01
39		<i>Hyptis</i> sp.	-	0.05	0.08
40		<i>Raphiodon echinus</i> Schauer	HURB 18107	0.22	0.21
41	Malvaceae	<i>Melochia tomentosa</i> (L.)	HURB 18120	11.08	13.14
42		<i>Pavonia cancellata</i> (L.) Cav.	HURB 18095	12.48	9.10
43		<i>Sida cordifolia</i> (L.)	HURB 18113	2.26	2.15
44		<i>Sidastrum paniculatum</i> (L.) Fryxell	HURB 18098	4.06	4.23
45		<i>Waltheria rotundifolia</i> Schrank	HURB 18118	1.68	2.26
46		Sp 1	-	2.97	1.20
47		Sp 2	-	0.25	0.32
48		Sp 3	-	0.09	0.08
49	Nyctaginaceae	<i>Boerhavia paniculata</i> Rich.	-	0.74	0.96
50	Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.	-	0.04	0.08
51	Plassifloraceae	<i>Plassifora foetida</i> (L.)	HURB 18123	0.01	0.03
52	Poaceae	Sp 1	-	12.79	7.13
53	Polygalaceae	<i>Polygala</i> sp.	HURB 18103	0.01	0.03
54	Portulacaceae	<i>Portulaca</i> sp.	-	0.01	0.03
55	Rosaceae	<i>Rubus rosifolius</i> Sm.	HURB 18101	0.05	0.05
56	Rubiaceae	<i>Borreria scabiosoides</i> (L.) G.mey	HURB 18110	3.32	4.50
57		<i>Chiococca alba</i> (L.) Hitchc.	HURB 18102	0.02	0.05
58		<i>Hexasepalum apiculatum</i> (Willd.) Delprete & J.H. Kirkbr.	HURB 18087	0.01	0.03
59		<i>Leptoscela ruellioides</i> Hook.f.	HURB 18130	0.07	0.11
60		<i>Randia armata</i> DC.	HURB 18092	0.01	0.03
61		Sp 1	-	0.67	0.77
62	Sapindaceae	<i>Serjania sapindaceae</i>	HURB 18131	0.01	0.08
63	Solanaceae	<i>Solanum agrarium</i> Sendtn.	-	0.01	0.03
64		<i>Solanum lycocarpum</i> A.St.-Hill	HURB 18088	0.76	1.33
65	Turneraceae	<i>Turnera chamaedrifolia</i> Cambess.	HURB 18112	0.96	0.80
66	Urticaceae	<i>Urtica</i> sp.	-	0.43	0.48
67	Verbenaceae	<i>Lippia sidioides</i> Cham.	HURB 18126	0.01	0.03

68		<i>Priva bahiensis</i> A.DC.	HURB 18125	0.02	0.03
69	Não identificada	Sp 1	-	0.19	0.27
	Total			100	100

*AR – abundância relativa; FR – frequência relativa. – Espécies sem parte reprodutiva para depósito.

No entanto, entre as 69 espécies identificadas no estudo apenas três espécies são endêmicas da região semiárida brasileira, a *Varronia leucocephala* (Moric.) J.S.Mill, *Colicodendron yco* Mart e *Turnera chamaedrifolia* Cambess. Na região sisaleira da Bahia os cultivos não recebem manejos e em algumas áreas animais como bodes e cabras são liberados ao pastoreio. Essa ação em conjunto com a vulnerabilidade da monocultura a fatores como seca, pragas, doenças, baixa fertilidade do solo contribui na perda da biodiversidade, levando a ausência de espécies endêmicas (Gomiero et al., 2011).

A diversidade das áreas foi comparada por meio dos Índices ecológicos (Tabela 3). Ao observar o Índice de Shannon-Wiener percebe-se pouca discrepância entre as áreas. A área 10 apresenta-se mais diversa e mais rica ($H' = 2.11 \text{ nat.ind}^{-1}$; 38 espécies) quando comparada as demais áreas, ou seja, apresenta a maior quantidade de espécies espontâneas diferentes. Seus indivíduos estão bem distribuídos entre as espécies identificadas apresentando uma alta equitabilidade ($J' = 0.813$) e uma baixa dominância de espécies ($D = 0.932$) (Tabela 3).

Ao contrário da área 6, que apesar de apresentar o maior número de indivíduos totais de espécies espontâneas (1368), possui uma baixa diversidade e uma menor riqueza ($H' = 1.46 \text{ nat.ind}^{-1}$; 24 espécies). Isso devido a sua baixa uniformidade na distribuição dos indivíduos ou equitabilidade ($J' = 0.593$), muitos indivíduos de uma mesma espécie como por exemplo a dominância da espécie *P. cancellata* (L.) Cav. indicada pelo Índice de Simpson ($D = 0.749$) (Tabela 3). Segundo Gaiglio et al. (2010) os índices de diversidade da Caatinga têm valores baixos, com o índice de Shannon-Wiener variando entre 1.5 e 3.0 nat.ind^{-1} , corroborando com os resultados do presente estudo.

Tabela 3. Número de indivíduos coletados (N^o Ind.), Número de famílias, Riqueza, Índice de Margalef (D_{mg}), Equitabilidade de Pielou (J'), Índice de Shannon-Wiener (H') e Índice de Simpson (D) das áreas estudadas, Bahia, Brasil.

Áreas	N ^o Ind.	N ^a Famílias	Riqueza	D _{mg}	H' (nat.ind ⁻¹)	J'	D
Área1	815	10	26	3.73	1.86	0.676	0.831
Área2	651	12	34	5.09	1.81	0.719	0.849
Área3	1317	15	37	5.01	1.88	0.795	0.915
Área4	968	13	34	4.08	1.91	0.825	0.929
Área5	1335	14	34	4.58	1.87	0.766	0.898
Área6	1368	12	24	3.18	1.46	0.593	0.749
Área7	884	12	24	3.39	1.77	0.760	0.868
Área8	844	11	25	3.56	1.75	0.807	0.902
Área9	1298	13	33	4.46	1.88	0.763	0.892
Área10	1080	16	38	5.30	2.11	0.813	0.932

As áreas de estudo não demonstraram alta discrepância na composição florística e diversidade. As espécies de Fabaceae e Euphorbiaceae sempre apresentam elevada riqueza em áreas de Caatinga. Costa et al. (2015) investigando a composição florística em duas ecorregiões de Caatinga da Bahia encontraram a predominância da família Fabaceae seguida por Euphorbiaceae, assim como a ocorrência dos gêneros *Croton*, *Mimosa* e *Senna* como os mais diversos. Segundo Costa et al. (2010) as espécies da Caatinga possuem caráter comportamental e fisiológico de acordo com o ambiente, como por exemplo, espessura e tamanho da folha, metabolismo fotossintético entre outras adaptações. Neste trabalho as espécies encontradas se adaptam com as características físicas do meio, no caso o agroecossistema do sisal inserido na caatinga.

A família Fabaceae de maior ocorrência no presente trabalho, é frequentemente encontrada em levantamentos florísticos em áreas de caatinga, incluindo mais de 720 gêneros e 19 mil espécies apresenta grande diversidade de hábitos desde herbáceas até árvores de grande porte (Lewis et al., 2005). No Brasil é destacada como a família mais rica na Caatinga, com 86 gêneros e 320 espécies, constituindo cerca de um terço da riqueza do bioma (Queiroz, 2009). Possuem potencial econômico, ambiental e ecológico, produzem óleos, resina e são utilizadas na alimentação humana e animal. Ecologicamente exercem importantes papéis no agroecossistema, apresentam alto potencial de crescimento e colonização sendo

pioneiras na sucessão vegetal, apresentam efeitos alelopáticos sobre outras espécies, fornecem pólen, néctar, frutos e sementes a fauna local entre outras (Lewis, 2005).

Entre as espécies identificadas podemos destacar a *Senna macranthera* (DC. Ex Collad) H.S.Irwin & Barneby árvore de pequeno porte, possui flores amarelas que destacam-se entre as folhas disponibilizando grandes quantidades de pólen para abelhas nativas como as mamangavas-de-toco (gênero *Xylocopa*) e as mamangavas-de-chão (gênero *Bombus*), possuem crescimento rápido podendo ser utilizada para recuperação de áreas degradadas (Maia-Silva et al., 2012). A *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. é uma espécie importante no agroecossistema por florescer durante a estação seca fornecendo alimento e refúgio para insetos no período mais escasso além do seu rápido crescimento e capacidade de rebrota (Lima et al., 2105).

Uma característica importante da Fabaceae são as associações simbióticas das espécies com bactérias fixadoras de nitrogênio, principalmente do gênero *Rhizobium* (Freitas et al., 2010). Entre essas espécies fixadoras temos *Stylosanthes viscosa* (L.) Sw. e *Senna uniflora* (Mill.) H.S.Irwin & Barneby, essas associações são fundamentais no crescimento da planta, além da utilização como adubos verdes reduzindo a necessidade de insumos externos. O sucesso ecológico de Fabaceae também é atribuído as suas estratégias reprodutivas e de defesa, a presença de acúleos e taninos apresentam papel importante como agentes inibidores ou antimicrobianos (Polhill, 1981; Silva et al., 2015).

Dentro da família Euphorbiaceae temos o gênero *Croton* L. considerado o segundo maior gênero com maior, tem como seu centro de diversidade a caatinga, reforçando a sua importância florística em todo o bioma (Carneiro, Torres 2009). Possui cerca de 1250 espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, no Brasil encontram-se cerca 350 espécies sendo 252 endêmicas e 68 exclusivas do bioma caatinga (Secco et al., 2012; Cordeiro et al., 2015). É considerado um grupo com alta biodiversidade funcional dentro do agroecossistema, suas espécies são pioneiras, possuem produção massiva de flores e frutos durante a maior parte do ano (Lima e Pirani, 2008).

Conhecida popularmente como “velame”, “velaminho” o *C. heliotropiifolius* Kunth é encontrada em toda região Nordeste predominante no bioma caatinga, no entanto também encontrada em brejos de altitude, restinga e cerrado (Silva et al.,

2009). Taxonomicamente é caracterizado como arbusto, que apresenta folhas alternas e anfiestomáticas com predominância dos estômatos na face abaxial com a presença de tricomas estrelados, lignificados com base cutinizada ou suberificada (Barros e Soares, 2013).

Devido a sua produção massiva de flores, pólen e néctar, essas espécies fornecem habitat e são fontes de alimentos aos polinizadores e inimigos naturais. Possui constituintes químicos como β -caryophyllene, bicyclogermacrene e germacrene-D que conferem potencial antioxidante e antimicrobiano contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus* ssp. e *Bacillus* ssp (Filho et al., 2017; Araújo et al., 2017), antifúngica contra *Candida albicans* (Maciel et al., 2000; Angélico et al., 2014; Queiroz et al., 2014).

O *C. argyrophyllus* Kunth outra espécie do gênero encontrada nas áreas cultivadas com sisal é comum em áreas sob grandes perturbações, devido à sua facilidade de reprodução e dispersão essa espécie é pioneira da caatinga e tende a dominar os primeiros estágios de regeneração (Pereira et al., 2001). Silva et al (2012) observaram que o *C. argyrophyllus* Kunth e outras duas espécies obtiveram maior densidade e regeneração natural no bioma de caatinga do estado de Pernambuco, representando 81,54% no total de plantas amostradas. Promissora na produção de óleo essencial essa espécie possui em sua composição sphaatulenol e bicyclogermacrene entre outros compostos com potenciais como: antifúngico contra *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Microsporum canis*, anti-inflamatória e antioxidante (Fontenelle, 2007; Ramos et al., 2013; Araújo et al., 2014).

A similaridade florística entre essas áreas pode ser observada através do dendrograma na Figura 3. Formaram-se 6 grupos com 80% de similaridade. No grupo 1 formado pelas áreas 1 e 2 destaca-se a abundância da espécie *M. tomentosa* L. A área 6 foi separada como o grupo 2 com a predominância da espécie *P. cancellata* (L.) Cav.; o grupo 3 foi formado pela área 7 com a espécie *Heliotropium indicum* L. e a área 8 formando o grupo 4 com a espécie *Centratherum punctatum* Cass. As áreas 3 e 4 formaram o grupo 5 com a espécie *Cordia verbenaceae* DC (Boraginaceae) e o grupo 6 abrange as áreas 5, 9 e 10 com a espécie *C. heliotropiifolius* Kunth.

Dados transformados: log
Similaridade de Bray Cu

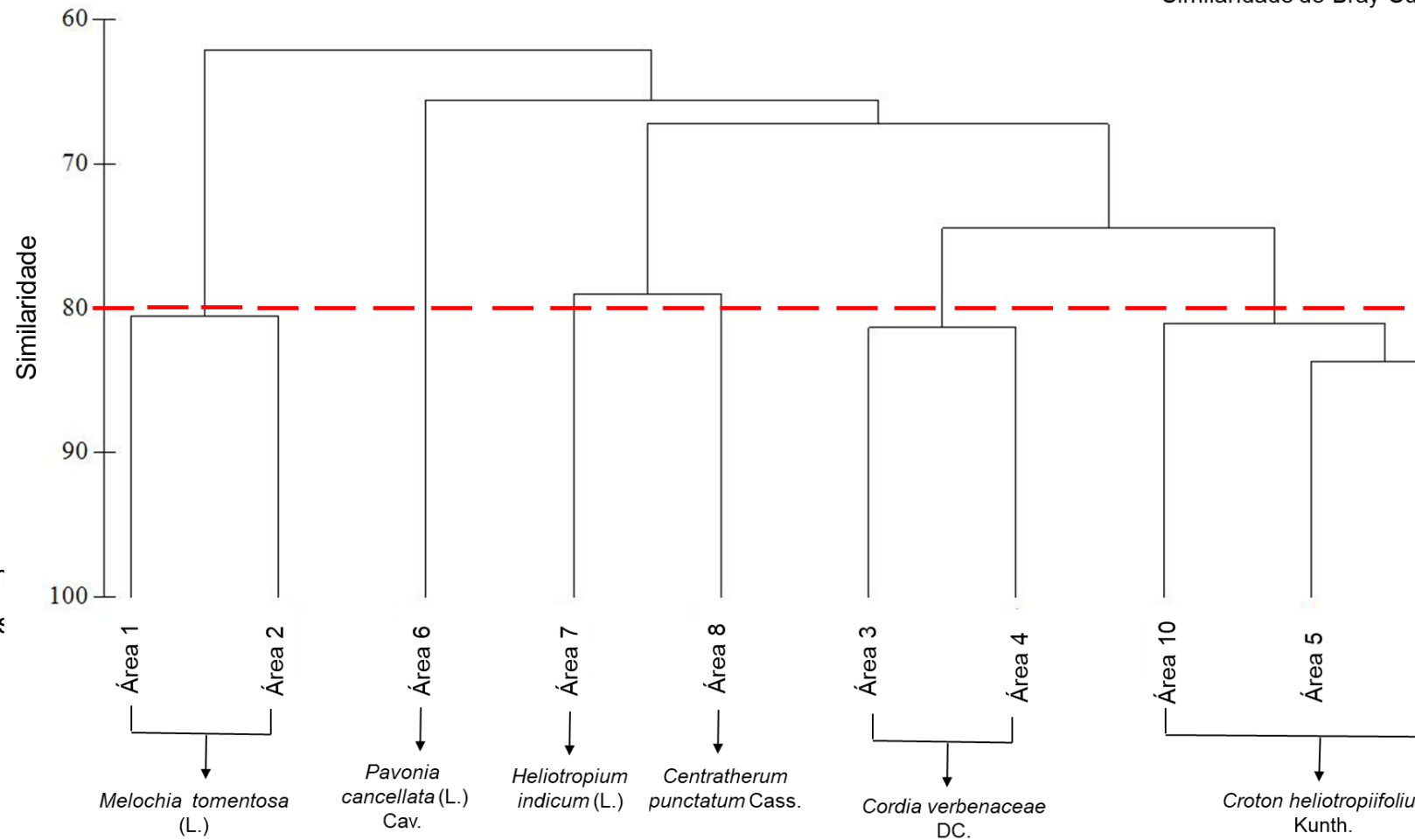


Figura 3. Dendrograma de similaridade de Bray-Curtis (Dados transformados: log)

Os resultados da análise dos parâmetros químicos dos solos das 10 áreas de estudo estão descritos na tabela 1. Os solos da região sisaleira da Bahia são classificados como Planossolos, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos são solos com pouco a moderado desenvolvimento, com drenagem imperfeita, os valores de saturação por bases e CTC indicam solos eutróficos, sendo assim solos com altas quantidades de nutrientes no entanto não disponíveis para as plantas.

Na análise de correspondência canônica realizada entre as espécies e as variáveis do solo a variância total explicada foi de 52,37%, com autovalores de 0,056 e 0,042 para o 1º e 2º eixos respectivamente (Figura 4). De acordo com Ter Braak (1995) valores baixos indica que a maioria das espécies se encontram distribuídas em toda área com algumas espécies variando apenas na abundância. Observa-se nesta análise a não formação de grupos, sugere-se a associações de algumas espécies de plantas espontâneas a algumas variáveis do solo devido a morfologia, ciclo de vida e comportamento dessas espécies.

As espécies *Senna uniflora* (Mill.) H.S.Irwin & Barneby (Sp 33), *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Sp 18), *Cordia verbenaceae* DC. (Sp 6), *Heliotropium indicum* L. (Sp 5), *Commelina erecta* L. (Sp 12), *Indigofera suffruticosa* Mill. (Sp 27), *Croton argyrophyllus* Kunth (Sp 17), *Solanum lycocarpum* A.St.-Hill (Sp 64), *Borreria scabiosoides* Cham. & Schltdl (Sp 56), *Pavonia cancellata* (L.) Cav. (Sp 42), *Melothria* sp. (Sp 15), Malvaceae sp1 (Sp 48), Fabaceae sp 1 (Sp 36) associadas mais fortemente as variáveis CTC, Ca, Mg, K, Matéria orgânica, S, H+Al, P e pH (Figura 4).

Essas espécies associadas a maior parte dos nutrientes são caracterizadas como herbáceas ou arbustivas, a maioria perenes que necessitam de solos com maior quantidade de nutrientes, pois apresentam muitas ramificações e florescimento vistoso fornecendo néctar e pólen por exemplo para abelhas nativas dos gêneros *Paratrigona*, *Melipona*, *Xyloxopa* e *Bombus* (Jesus et al., 2015). A *P. cancellata* (L.) Cav. (Sp 42) pertence à família Malvaceae, que possui cerca de 250 gêneros e 4.200 espécies distribuídas pelas regiões tropicais e temperadas com cerca de 65% dos gêneros concentrados na América do Sul (Grings e Boldrini, 2011). No Brasil são encontrados 72 gêneros e 781 espécies, sendo 8 gêneros endêmicos com 412 espécies (Flora do Brasil, 2017).

Conhecida popularmente como corda-de-viola ou malva rasteira, *P. cancellata* (L.) Cav. é uma espécie anual, herbácea, muito ramificada que ocorre em solos arenosos e em áreas abertas. Planta rústica, resistente a estiagens, apresenta grande potencial apícola por apresentar flores grandes e vistosas onde os machos de abelhas solitárias dormem dentro das suas flores (Silva et al., 2012). Segundo Oliveira et al. (2012) as espécies da família Malvaceae apresentam alto teor de compostos fenólicos com elevado potencial antioxidante como a rutina nos extratos da espécie *P. alnifolia* (Andrade et al., 2012; Ewald et al., 2015).

A *Cordia verbenaceae* DC. (Sp 6) conhecida como erva-baleeira é uma espécie bastante conhecida devido ao potencial medicinal do seu óleo essencial rico em α -humuleno. Seu óleo é utilizado na produção do anti-inflamatório fitoterápico Acheflan®, no controle de fungos fitopatogênicos como *Lasiodiplodia theobromae* e *Oidium eucalypti* (Nizio et al., 2015; Silva et al., 2017); o extrato das suas folhas apresentam atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *P. aeruginosa* (Matias et al., 2016). Também utilizada como planta isca na diminuição do ataque de brocas do gênero *Cratosomus* em cultivos de graviola (Santos et al., 2010).

Pertencente a família Boraginaceae o *Heliotropium indicum* L. (Sp 5) subarbusto muito ramificado, contribuem ecologicamente no fornecimento de pólen e néctar durante todo o ano, são plantas que preferem solos úmidos e ricos em matéria orgânica. Apresenta metabólitos como alcaloides, saponinas e terpenoides responsáveis pela ação antibacteriana sobre *Klebsiella pneumonia* e *Streptococcus pyogenes* (Villa et al., 2016) e ação inseticida sobre *Callosobruchus maculatus* (Jose e Adesina, 2014).

O *S. lycocarpum* A.St.-Hill (Sp 64) nativa do Brasil, pertencente à família Solanaceae, conhecida popularmente como fruta-do-lobo é indicadora de solos ácidos. Encontrada em maior ocorrência nas áreas 3, 7, 8 e 9 que apresentaram pH mais baixo. Apresenta alta contribuição ecológica servindo de fonte de alimentos aos animais no período da seca, rústica e apresenta um crescimento vigoroso. É uma espécie pioneira em áreas degradadas indicada para o reflorestamento (Elias et al., 2003; Vieira et al., 2003; Piana et al., 2017).

Esta espécie é rica em alcaloides como solasonina e solamargina que demonstram atividade contra células cancerígenas presentes em órgãos humanos

como próstata e cólon (Kuo et al., 2000; Lee e al., 2004); a acumulação dos alcaloides no pericarpo do fruto está relacionado com o uso desta espécie no controle de diabetes devido a inibição do aumento da glicose no sangue (Farina et al., 2010; Rocha et al., 2012).

A espécie *M. tomentosa* L. subarbusto, perene, ramificada é indiferente às condições edáficas, adapta-se facilmente em áreas antropizadas. Possui grande quantidade de flores vistosas durante todo o ano, servindo de ótimo potencial apícola. Tem demonstrado atividade contra uma série de patógenos, em seu extrato foi identificado a presença de flavonoides, catequinas e apigeninas responsáveis pela inibição da germinação de esporos de *Curvularia inaequalis* e *Colletotrichum gloeosporioides* (Borges et al., 2017); a Mancha-de-alternaria foi controlada em mudas de melancia com extratos da casca e da raiz de *M. tenuiflora* L. (Borges et al., 2013).

As espécies *Senna macranthera* (DC. Ex Collad). H.S.Irwin & Barneby (Sp 32), *Centrosema* sp. (Sp 25), *Croton heliotropiifolius* Kunth (Sp 18) e *Urtica* sp. (Sp 66) estão mais fortemente associadas a variável V (saturação por bases) (Figura 4). As demais espécies não foram associadas a nenhuma variável específica, podendo assim serem consideradas espécies de ampla distribuição ou não exigentes. Como a *Sida* spp., espécie indicadora de solos compactados ou com erosão inicial e a *Louthergia ballotifolia* (Kunth) R.M.King & H.Rob. (Sp 3) espécie típica de áreas sob distúrbios em regiões semiáridas do Nordeste que apresentam solos de baixa fertilidade e pouca umidade.

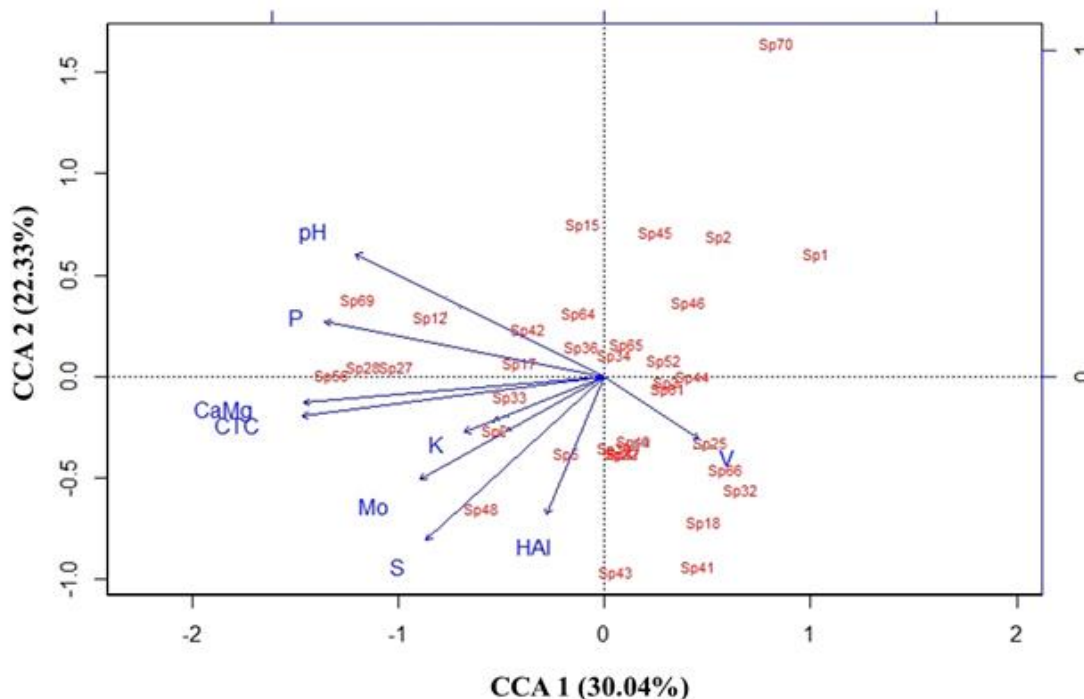


Figura 4. Análise de correspondência canônica a partir das matrizes de abundância de espécies espontâneas e características do solo em áreas produtoras de sisal na Bahia, Brasil.

4. CONCLUSÕES

Com 69 espécies de plantas espontâneas identificadas, distribuídas em 55 gêneros e 26 famílias os resultados obtidos demonstram que tais espécies possuem potencial de inserção no sistema de cultivo do sisal, dentro do agroecossistema, assim como, potencial para sua exploração em termos de bioativos, no desenvolvimento de novos produtos.

As 10 áreas distribuídas em três municípios do estado da Bahia não demonstraram alta discrepância na composição florística e diversidade. Ratificando a elevada riqueza das famílias Fabaceae e Euphorbiaceae em áreas de Caatinga. O que mostra de certa forma, a preservação da caatinga na região e a possibilidade de inserção destas espécies nos sistemas de cultivo de sisal.

5. REFERÊNCIAS:

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ALBUQUERQUE, I.L.L. DE. Investigação da atividade oxidante e antioxidante do extrato etanólico e das fases hexânica, clorofórmica, Acetato de etila e butanólica das partes aéreas de *Pavonia cancellata* (L.) Malvaceae. 2015. Monografia. Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, João Pessoa/PB, 2015. Universidade Federal da Paraíba, 46p.
- ANDRADE, L.A.; FABRICANTE, J.R.; ARAÚJO, E.L. Estudos de Fitossociologia em vegetação de Caatinga. In: Felfili, J.M.; Eisenlohr, P.V.; Melo, M.M.R.F.; Andeade, L.A.; Meira-Neto, J.A.A (Ed). *Fitossociologia do Brasil: Métodos e estudos de casos*. Viçosa, p. 339-371, 2011.
- ARAÚJO, F.M.; DANTAS, M.C.S.M.; E SILVA, L.S.; AONA, L.Y.S.; TAVARES, I.F.; DE SOUZA-NETA, L.C. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. *Industrial Crops and Products*, v. 105, p. 203–206, 2017.
- ARAUJO, S.S.; SANTOS, M.I.S.; DIAS, A.S.; FERRO, J.N.S.; LIMA, R.N.; BARRETO, E.O.; CORRÊA, C.B.; ARAÚJO, B.S.; LAUTON-SANTOS, S.; SHAN, A.Y.K.; ALVES, P.B.; SANTANA, A.E.G.; THOMAZZI, S.M.; ANTONIOLLI, A.R.; ESTEVAM, C.S. Chemical composition and cytotoxicity analysis of the essential oil from leaves of *Croton argyrophyllus* Kunth, *Journal of Essential Oil Research*, v. 26, n. 6, p. 446-451, 2014.
- BARROS, I.O.; SOARES, A.A. Adaptações anatômicas em folhas de marmeleiro e velame da caatinga brasileira. *Revista Ciência Agronômica*, v. 44, p. 192–198, 2013.
- BORGES, I.V.; PEIXOTO, A.R.; CAVALCANTI, L.S.; LIMA, M.A.G.; SILVA, M.S.; 2013. Extratos de jurema preta no controle de mancha-de-alternária em melancia. *Revista Caatinga, Mossoró*, v. 26, n. 3, p. 36 – 45.
- BORGES, I.V.; CAVALCANTI, L.S.; NETO, A.F.; ALMEIDA, J.R.G.S.; ROLIM, L.A.; ARAÚJO, E.C.C. Identificação da fração antimicrobiana do extrato da *Mimosa tenuiflora*. *Comunicata Scientiae*, v. 8, n. 1, p. 155-164, 2017.

- CABELL, J.F.; OELOFSE, M. An indicator framework for assessing agroecosystem resilience. *Ecol Soc*, v. 17, n. 1, p. 18, 2012.
- CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, 2006.
- CORDEIRO, I. et al. *Croton* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB17497>>. Acesso: 25 de janeiro de 2016.
- COSTA, G.M.; CARDOSO, D.; QUEIROZ, L.P.; CONCEIÇÃO, A.A. Variações locais na riqueza florística em duas ecorregiões de caatinga. *Rodriguésia*, v, 66, n. 3, p. 685-709, 2015.
- COUTINHO, W.M.; SUASSUNA, N.D.; LUZ, C.M.; SUINAGA, F.A.; SILVA O.F.E. Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, v. 31, n. 6, 2006.
- DUFRENE, M.; LEGENDRE, P. Species assemblages and indicator species: The need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs*, v. 67, n. 3, p. 345-366, 1997.
- ELIAS, S.R.M. et al. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.Hil. (Solanaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, n. 2, p. 169-174, 2003.
- EWALD, B.T.; LOYOLLA, C.M.; PEREIRA, A.C.H.; LENZ, D.; MEDEIROS, A.R.S.; ANDRADE, T.U.; NOGUEIRA, B.V.; PEREIRA, T.M.C.; ENDRINGER, D.C. Atividade gastroprotetora do extrato etanólico de *Pavonia alnifolia* A.St.-Hil. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v. 17, n. 3, p. 392-397, 2015.
- FARINA, F.; PIASSI, F.G.; MOYSÉS, M.R.; BAZZOLLI, D.M.S.; BISSOLI, N.S. Glycemic and urinary volume responses in diabetic mellitus rats treated with *Solanum lycocarpum*. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, v. 35, p. 40–44, 2010.
- FERNANDEZ, V.I.; MARASAS, M.E. Análisis comparativo del componente vegetal de la biodiversidad en sistemas de producción hortícola familiar del Cordón Hortícola de La Plata (CHLP), Provincia de Buenos Aires, Argentina. Su importancia para la transición agroecológica. *Rev. Fac. Agron. La Plata*, v. 114, Núm. Esp.1, p. 15-29, 2015.

- FILHO, J.M.T.A.; ARAÚJO, L.C.; OLIVEIRA, A.P.; GUIMARÃES, A.L.; PACHECO, A.G.M.; SILVA, F.S.; CAVALCANTI, L.S.; LUCCHESI, A.M.; ALMEIDA, J.R.G.S.; ARAÚJO, E.C.C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. *Braz. J. Pharmacogn.*, v. 27, p. 440-444, 2017.
- FONTENELLE, R.O.S.; MORAIS, S.M.; BRITO, E.H.S.; BRILHANTE, R.S.N.; CORDEIRO, R.A.; NASCIMENTO, N.R.F.; KERNTOPF, M.R.; SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. *Journal of Applied Microbiology*, v. 104, p. 1383-1390, 2007.
- FREITAS, A.D.S.; SAMPAIO, E.V.S.B.; FERNANDES, A.R. et al. Biological nitrogen fixation in legume trees of the Brazilian caatinga. *Journal of Arid Environments*, v. 74, p. 344-349, 2010.
- FLORA DO BRASIL 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 18 Out. 2017.
- GAMA, E.V.S.; SILVA, F.; SANTOS, I.; MALHEIRO, R.; SOARES, A.C.F.; PEREIRA, J.A.; ARMOND, C. Homeopathic drugs to control red rot disease in sisal plants. *Agronomy of Sustainable Development*, v. 35, p. 649–656, 2015.
- GARCÍA-DÍAZ, J.; ESCALONA-ARRANZ, J.; ROJAS-VARGAS, J.; MACHADO-GARCÍA, R.; GORDILLO-PÉREZ, M.; ESCALONA-CAPARROS, A. Pharmacognostic and Phytochemical Studies of *Croton linearis* Jacq. Leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, v. 8, n. 3, p. 512-518, 2016.
- GOMIERO, T.; PIMENTEL, D.; PAOLETTI, M.G. Is there a need for a more sustainable agriculture? *Crit. Rev. Plant Sci.*, v. 30, p. 6–23, 2011.
- GLIESSMAN, S.R. Agroecología. Procesos ecológicos en agricultura sustentable. CATIE, Turrialba, Costa Rica, p. 359, 2002.
- GLIESSMAN, S.R. Agroecología: procesos ecológicos em agricultura sustentável. 3. ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.
- GRINGS, M.; BOLDRINI, I.I. *Sphaeralcea binariensis* (Cav.) Griseb. (Malvaceae): nova ocorrência para o Brasil. *Revista Brasileira de Biociência*, v. 9, n. 3, p. 382-386, 2011.

- HILL, M.O.; GAUCH, H.G. Detrended correspondence analysis an improved ordination technique. *Vegetatio*, The Hague, v. 42, p. 47-58, 1980.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <https://www.ibge.gov.br/geociencias-novoportal/cartas-e-mapas/mapas-regionais/15974-semiarido-brasileiro.html>. Acessado em: junho de 2016.
- JESUS, M.C.; BORGES, R.L.B.; SOUZA, B.A.; BRAND, H.N.; SANTOS, F.A.R.A. Study of pollen from light honeys produced in Piauí State, Brazil. *Palynology*, v. 39, n. 1, p. 110-124, 2015.
- JOSE, A.R.; ADESINA, J.M. Oviposition, Infestation Deterrent Activity and Phytochemical Screening of *Heliotropium indicum* and *Lawsonia inermis* Against *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Chrysomelidae) on Cowpea Seeds. *International Journal of Molecular Zoology*, v. 4, n. 1, 2014.
- KUO, K.W.; HSU, S.H.; LI, Y.P.; LIN, W.L.; LIU, L.F.; CHANG, L.C.; LIN, C.C.; LIN, C.N.; SHEU, H.M. Anticancer activity evaluation of the *Solanum* glycoalkaloid solamargine. Triggering apoptosis in human hepatoma cells. *Biochem Pharmacol.*, v. 60, p. 1865–1873, 2000.
- LEE, K.R.; KOZUKUE, N.; HAN, J.S.; PARK, J.H.; CHANG, E.Y.; BAEK, E.J.; CHANG, J.S.; FRIEDMAN, M. Glycoalkaloids and metabolites inhibit the growth of human colon (HT29) and liver (HepG2) cancer cells. *J Agric Food Chem*, v. 52, p. 2832–2839, 2004.
- LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, Kew, 2005.
- LIMA, K.D.R.; CHAER, G.M.; ROWS, J.R.C.; MENDONÇA, V.; RESENDE, A.S. Seleção de espécies arbóreas para revegetação de áreas degradadas por mineração de piçarra na caatinga. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 28, n. 1, p. 203-213, 2015.
- LIMA, L.R.; PIRANI, J.R. Revisão taxonômica de *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). *Biota Neotropical*. Campinas, v. 8, n. 2, 2008.
- MATIAS, E.F.F.; ALVES, E.F.; SILVA, M.K.N.; CARVALHO, V.R.A.; MEDEIROS, C.R.; SANTOS, F.A.V.; BITU, V.C.N.; SOUZA, C.E.S.; FIGUEREDO, F.G.; BOLIGON, A.A.; ATHAYDE, M.L.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. Potentiation of antibiotic activity of aminoglycosides by natural products from *Cordia verbenacea* DC. *Microbial Pathogenesis*, v. 95, p. 111-116, 2016.

- MCCUNE, B.; MEFFORD, M.J. PC-ORD Multivariate Analysis of Ecological Data, Version 5. MjM Software, Glenden Beach, Oregon, USA, 2006.
- MUELLER-DOMBOIS, D.; ELLEMBERG, H.A. Aims and methods of vegetation ecology. New York: John Wiley 574, 1974.
- NICHOLLS, C. Bases agroecológicas para diseñar e implementar una estrategia de manejo de hábitat para control biológico de plagas. Agroecología, v. 1, p. 37-48, 2006.
- NIZIO, D.A.C.; BRITO, F.A.; SAMPAIO, T.S.; MELO, J.O.; SILVA, F.L.S.; GAGLIARDI, P.R.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; ANJOS, C.S.; ALVES, P.B.; WISNIEWSKI J.R.A.; BLANK, A.F. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*, Ind. Crops Prod., v. 76, p. 437–448, 2015.
- NOSS, R.F. Indicators for Monitoring Biodiversity: a hierarchical approach Conservation Biology, v. 4, n. 4, p. 355-364, 1990.
- OLIVEIRA, A.M.F.; PINHEIRO, L.S.; PEREIRA, C.K.S.; MATIAS, W.N.; GOMES, R.A.; CHAVES, O.S.; SOUZA, M.F.V.; ALMEIDA, R.N., ASSIS, T.S. Total phenolic content and antioxidant activity of some malvaceae family species. Antioxidants, v. 1, p. 33-43, 2012.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T.; CARDOSO, D.; SCHRIRE, B.D.; LEWIS, G.P.; PENNINGTON, R.T.; BRUMMER, T.J.; ROTELLA, J.; LAVIN, M. Stability structures tropical woody plant diversity more than seasonality: insights into the ecology of high legumesucculent plant biodiversity. South African Journal of Botany, v. 89, p. 42-57, 2013.
- PARENTE, R.G. et al. Composição florística do banco de sementes do solo da caatinga em perímetro irrigado de Petrolina – Pernambuco. Revista Semiárido De Visu, Petrolina, v. 1, n. 1, p. 18-31, 2011.
- PIANA, M.; CAMPONOGARA, C.; BOLIGON, A.A.; OLIVEIRA, S.M. *Solanum paranense* extracts and Solanine Present Anti-Inflammatory Activity in an Acute Skin Inflammation Model in Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 8, 2017.
- POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H.; STIRTON, C.H. Evolution and systematics of the Leguminosae. In: Polhill, R.M.; Raven, P.H., 1981. (Eds.). Advances in Legume Systematics, part 1. Royal Botanic Gardens, Kew.

- PULSFORD, S.A.; LINDENMAYER, D.B.; DRISCOLL, D.A. A succession of theories: purging redundancy from disturbance theory. *Biol. Rev.* 91, 148–167.
- QUEIROZ, L.P. 2009. Leguminosas da Caatinga. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, p. 443, 2016.
- RAMOS, J.M.O.; SANTOS, C.A.; SANTANA, D.G.; SANTOS, D.A.; ALVES, P.B.; Thomazzi, S.M. Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 23, n. 4, p. 644–650, 2013.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (2017). URL <http://www.R-project.org/>.
- ROCHA, D.A.; ABREU, C.M.P.; SOUSA, R.V.; CORRÊA, A.D. Método de obtenção e análise da composição centesimal do polvilho da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil). *Rev. Bras. Frut.*, v. 34, p. 248–254, 2012.
- SANTOS, M.C.B.G.; PINHO, M.S. Estratégias tecnológicas em transformação: Um estudo da indústria Farmacêutica Brasileira. ENEGEP, p. 1-15, 2010.
- SARAIVA, M.E.; ULISSES, A.V.R.A.; RIBEIRO, D.A.; OLIVEIRA, L.G.S.; MACÊDO, D.G.; SOUSA, F.F.S.; MENEZES, I.R.A.; SAMPAIO, E.V.S.B.; SOUZA, M.M.A. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 171, p. 141–153, 2015.
- SARANDÓN, S.J.; FLORES, C.C. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. La Plata: Universidad Nacional de La Plata, 2014.
- SECCO, R.S.; CORDEIRO, I.; SENNA-VALE, L.; SALES, M.F.; LIMA, L.R.; MEDEIROS, D.; HAIAD, B.S.; OLIVEIRA, A.S.; CARUZO, M.B.R.; CARNEIRO-TORRES, D.; BIGIO, N.C. An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae. *Rodriguésia*, v. 63, n. 1, p. 227-242, 2012.
- SILVA, A.C.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; SILVA JR, M.B.; RIBEIRO JR, P.M.; ZEVIANI, W.M. Local and systemic control of powdery mildew in eucalyptus using essential oils and decoctions from traditional Brazilian medicinal plants. *Forest Pathology*, v. 44, n. 2, 2014.

- SILVA, D.L.S.; OLIVEIRA, K.P.; AROEIRA, L.J.M.; CHAVES, D.F.; PONCIANO, M.F.; BRAGA, A.P.; LIMA JÚNIOR, D.M. Chemical composition of caatinga potential forages species. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, v. 18, n. 3, p. 267-272, 2015.
- SILVA, J.S.; SALES, M.F.; CARNEIRO-TORRES, D.S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na microrregião do vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. *Rodriguésia*, v. 60, n. 4, p. 879-901, 2009.
- SILVA, M.A. Levantamento das plantas espontâneas e suas potencialidades terapêuticas: um estudo no complexo Aluizio campos- Campina grande-PB. *Revista brasileira de informações científicas*, v. 1, n. 1, 2010.
- STUPINO, S.; IERMANÓ, M.J.; GARGOLOFF, N.A.; BONICATTO M.M. La biodiversidad en los agroecosistemas. En: Sarandón, S.J., Flores C.C. (ed.). *Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables*. La Plata: Edulp, p. 131- 158, 2014.
- SUINAGA, F.A.; SILVA, O.R.F.; COUTINHO, W.M. Cultivo do sisal na região semiárida do Nordeste brasileiro. *Embrapa Algodão. Sistemas de Produção*, 2006.
- TER BRAAK, C.J.F. Ordination. In: Jongmann R.H.G., ter Braak C.J.F. e van Tangeeren O.R.F. (eds.), *Data analysis in community and landscape ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, 91-173, 1995.
- VIEIRA, G.J.; FERREIRA, P.M.; MATOS, L.G.; FERREIRA, E.C.; RODOVALHO, W.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D; COSTA E.A. Anti-inflammatory effect of *Solanum lycocarpum* fruits. *Phytotherapy Research*, v. 17, p. 892-896, 2003.
- VILLA, M.H.; PERIA, J.N.T.; MANGANSAT, N.J.M.; DULAY, R.M.R. Antitussive and antibacterial activity of Trompang Elepante (*Heliotropium indicum* Linn.). *Asian Journal of Plant Science and Research*, v. 6, n. 1, p. 30-34, 2016.

ARTIGO 2

LEVANTAMENTO DA DIVERSIDADE DE FORMIGAS NO SISTEMA PRODUTIVO DA CULTURA DO SISAL (*Agave sisalana* PERRINE) NA BAHIA - BRASIL

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Journal of Entomology and Nematology, em versão na língua inglesa.

Levantamento da diversidade de formigas no sistema produtivo da cultura do sisal (*Agave sisalana* perrine) na Bahia - Brasil

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Rozimar Campos Pereira, Renata de Lima; José Alberto Pereira

Resumo: Importantes componentes da biodiversidade as formigas são fundamentais em diversas funções ecossistêmicas como ciclagem de nutrientes, decomposição da matéria orgânica, herbivoria e predação. Diante da alta diversidade e fácil coleta estes artrópodes são considerados indicadores ambientais, o presente trabalho teve por objetivo conhecer as espécies de formigas presentes nas áreas produtoras de sisal através da sua abundância, diversidade e relação com as variáveis ambientais locais. A amostragem foi realizada em 10 áreas com produção de sisal, no período de Maio de 2015 a Maio de 2016. Um total de 24 armadilhas pitfall localizadas no solo em 3 entrelinhas do cultivo de sisal (8 armadilhas por fileira) separadas a cada 3 metros foram amostradas mensalmente. Após 24 horas, as formigas foram coletadas e mantidas em álcool 70% até a identificação das morfoespécies em laboratório. No mesmo período, foram registradas a abundância das espécies espontâneas pelo método do quadrado inventário. Os resultados demonstraram um total de 17691 espécimes de formigas identificados destes 15 a nível de gênero e 9 a nível de espécie. As espécies foram distribuídos em 6 subfamílias e 11 gêneros, das quais Myrmicinae e Formicinae apresentaram maior número de espécies. Os gêneros *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* e *Ectatomma* foram encontrados em todas as áreas e o gênero *Atta* só foi encontrado em apenas na área 8. A área 6 apresentou maior abundância de formigas e de plantas espontâneas no entanto, a área 5 apresentou a maior riqueza, diversidade e melhor distribuição dos indivíduos entre as espécies de formigas. A menor diversidade foi encontrada na área 9 que apresentou uma alta dominância da espécie *Ectatomma edentatum*. Observa-se o aumento da abundância das formigas durante o período quente e seco. Diante da grande diversidade e riqueza de espécies de formigas identificadas, esses resultados elucidam a importância da preservação do bioma Caatinga e dos sistemas produtivos inseridos nele.

Palavras-chave: Mimercofauna, Formicidae, Bioindicadores, Caatinga.

Survey of the diversity of ants in the sisal (*Agave sisalana perrine*) production system in Bahia – Brazil

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Rozimar Campos Pereira, Renata de Lima; José Alberto Pereira

Abstract: Important components of biodiversity ants are fundamental in various ecosystem functions such as nutrient cycling, organic matter decomposition, herbivory and predation. In view of the high diversity and easy collection these arthropods are considered environmental indicators, the present work aimed to know the species of ants present in the sisal producing areas through their abundance, diversity and relation with local environmental variables. Sampling was carried out in 10 areas with sisal production from May 2015 to May 2016. A total of 24 pitfall traps located in the soil in 3 lines of sisal cultivation (8 traps per row) separated every 3 meters were sampled monthly. After 24 hours, the ants were collected and maintained in 70% alcohol until the identification of the morphospecies in the laboratory. In the same period, the abundance of the spontaneous species was recorded by the inventory square method. The results demonstrated a total of 17691 specimens of ants identified from these 15 at the genus level and 9 at the species level. The species were distributed in 6 subfamilies and 11 genera, of which Myrmicinae and Formicinae presented a greater number of species. The genera *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* and *Ectatomma* were found in all areas and the genus *Atta* was only found in area 8 only. Area 6 showed greater abundance of ants and spontaneous plants, however, area 5 presented the greatest wealth, diversity and better distribution of individuals among ant species. The lowest diversity was found in area 9 that presented a high dominance of the species *Ectatomma edentatum*. It is observed the increase of the abundance of the ants during the warm and dry period. Given the great diversity and richness of identified ant species, these results elucidate the importance of the preservation of the Caatinga biome and the productive systems inserted in it.

Keywords: Mimercofauna, Formicidae, Bioindicators, Caatinga.

1.INTRODUÇÃO

Apresentando a maior diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) das Américas e uma das maiores do mundo, o Brasil detém cerca de 1458 espécies distribuídas em 111 gêneros onde destas 559 são nativas da Bahia. Devido a essa ampla distribuição e abundância as formigas se destacam entre os Artropódes nos agroecossistemas (Baccaro et al., 2015, Janicki et al., 2016).

Organismos ecologicamente importantes para o agroecossistema, as formigas estão envolvidas em diversos processos ambientais como coleta e dispersão de sementes, fragmentação do lixo, ciclagem de nutrientes, aeração e estruturação do solo e controle de outros grupos de organismos no solo (Shukla et al., 2013). Características como a alta sensibilidade a mudanças do meio no qual estão inseridas e fácil coleta esses insetos são considerados excelentes indicadores de qualidade ambiental (Pereira et al., 2010; Segat et al., 2017). A diversidade de formigas podem indicar respostas ecológicas as mudanças abióticas como temperatura, umidade, precipitação e tipo de vegetação (Hoffmann, 2010).

Por esses motivos o estudo da mimercofauna tem sido utilizado para avaliar o estado de conservação e/ou degradação de ambientes, como o sistema produtivo do sisal (*Agave sisalana* Perrine) inserido na região semiárida da Bahia. Base da agricultura familiar a cultura do sisal é responsável pela geração de emprego e renda nesta região, contribuindo a Bahia com 95% da produção de fibra de sisal no mundo (FAO, 2017).

Esta cultura está inserida em um ecossistema exclusivamente brasileiro composto de florestas secas e árvores baixas e arbustos caducifólios, o bioma Caatinga. O qual vem sendo degradado pelo uso insustentáveis dos seus recursos naturais, somado a sua condição de aridez e baixa capacidade de regeneração a inserção de monocultivos sem manejo sustentável como o sisal tem contribuído cada vez mais para a perda da biodiversidade neste bioma (Campos et al., 2015).

Diante disso a redução da biodiversidade afeta relações e funções ecológicas importantes desempenhadas pelas formigas no agroecossistema, a riqueza e a diversidade de formigas é associada positivamente com a complexidade e heterogeneidade dos agroecossistemas permitindo assim uma maior interação entre organismos que contribuem para manutenção da biodiversidade (Pacheco e

Vasconcelos, 2012). Tendo em vista a importância das formigas, objetivou-se com o presente trabalho conhecer as espécies de formigas presentes nas áreas produtoras de sisal na Bahia, Brasil.

2.MATERIAL E MÉTODO

2.1. Área de estudo:

Foram delimitadas 10 áreas agrícolas com produção de sisal nos municípios de Valente (11° 24' 43" S e 39° 27' 43"), São Domingos (11°27'56" S 39°31'34" O) e no distrito de Salgadália pertencente ao município de Conceição do Coité (11° 33' 50" S e 39° 16' 58"), todos localizados na Mesorregião do Nordeste Baiano, Microrregião de Serrinha – Bahia - Brasil (IBGE, 2017). A cultura está localizada no bioma Caatinga, caracterizado pela presença de florestas de pequeno porte com árvores e arbustos baixos adaptados ao déficit hídrico. As condições climáticas nas áreas durante o período de estudo são apresentadas na Tabela 1.

2.2. Amostragem das plantas e formigas:

De Maio de 2015 a Maio de 2016 um total de 24 armadilhas pitfall (7.5 cm diâmetro e 6 altura) localizadas no solo em 3 entrelinhas do cultivo de sisal (8 armadilhas por fileira) separadas a cada 3 metros foram amostradas mensalmente. As armadilhas continham água (200mL) e 4 gotas de detergente líquido neutro. Após 24 horas, as formigas foram coletadas e mantidas em álcool 70% até a identificação das morfoespécies em laboratório. No mesmo período, foram registradas a abundância das espécies espontâneas pelo método do quadrado inventário (quadro de 0.50 por 0.50 cm), o qual foi lançado 8 vezes ao acaso em 3 entrelinhas do plantio de sisal totalizando 24 pontos. Em cada quadro, as plantas foram contabilizadas, cortadas e acondicionadas em sacos de papel para identificação e depósito no herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. O material coletado foi identificado com auxílio dos taxonomistas do Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) Campus Cruz das Almas, mediante consulta a chaves dicotômicas e a base de dados Species link (<http://www.splink.org.br/>).

Tabela 1. Dados de precipitação (mm), temperatura máxima (Máx. T.), média e mínima (Mín. T.) (°C) e umidade (%) para o período entre Abril 2015 e Maio 2016 para a área experimental (dados adaptados do banco de dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia– INMET 2015).

	Precipitação (mm)	Max. T. (°C)	Média T. (°C)	Min. T. (°C)	Umidade (%)	
2015	Abril.	1	28.3	25.9	23.6	72.6
	Maio	2	24.9	23.4	21.9	86.2
	Junho	135	23.6	22.1	20.6	90.3
	Julho	82	23.4	21.4	19.5	86.5
	Agost.	39	23.5	21.1	18.8	82.3
	Setemb.	20	26.8	23.6	20.5	66.9
	Outub.	41	27.6	24.7	21.8	60.9
	Nov.	1	30.6	27.0	23.5	50.9
	Dez.	7	30.2	26.9	23.6	53.5
2016	Jan.	239	28.1	25.9	23.7	72.9
	Fev.	56	28.9	26.0	23.1	64.9
	Mar.	0	29.0	26.0	23.0	59.2
	Abril	29	29.3	26.0	22.8	63.4
	Maio	96	26.6	24.1	21.6	76.8

2.3. Análise dos dados:

Foram contabilizados a abundância total dos indivíduos das morfoespécies de formigas e das plantas espontâneas por área e mês de amostragem, com esses dados foi calculado a frequência e abundância relativa das formigas de acordo com Brower & Zar, 1984 e Dajoz, 1973:

- Frequência (Freq) e Frequência relativa (Fr):

$$\text{Freq} = \text{N}^{\circ} \text{ de parcelas que contêm a morfoespécie} / \text{N}^{\circ} \text{ total de parcelas utilizadas};$$

$$\text{Fr} (\%) = (\text{Freq} / \sum \text{Freq de todas as espécies}) * 100;$$

- -Abundância (Ab) e Abundância relativa (Abr):

$$\text{Ab} = \text{N}^{\circ} \text{ total de indivíduos por morfoespécie} / \text{N}^{\circ} \text{ total de parcelas que contêm a espécie}$$

$$\text{Abr} (\%) = (\text{Ab} / \sum \text{Ab de todas as espécies}) * 100.$$

A diversidade das áreas foi expressa pela riqueza das espécies, Índice de Shannon-Wiener (ShDI), Índice de Simpson (SiDI) e equitabilidade (E). A similaridade faunística entre as áreas foi analisada com base na distância de Bray-Curtis, através da matriz de similaridade os dados foram ordenados através de uma análise de agrupamento, para isso os valores de abundância das morfoespécies de formigas foram transformados ($\log_{10}(x + 1)$) para compensar os desvios causados

por alguns poucos valores muito elevados, todas as análises citadas anteriormente foram realizadas com o auxílio do programa Primer versão 6.1.6 (Clarke and Gorley, 2006) e PC-ORD versão 6.0 (McCune; Mefford, 2011).

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletados um total de 17691 espécimes de formigas pelas armadilhas do tipo pitfall nas 10 áreas produtoras de sisal na Bahia, identificados destes 15 a nível de gênero e 9 a nível de espécie (Tabela 2). As espécies foram distribuídos em 6 subfamílias e 11 gêneros, das quais Myrmicinae e Formicinae apresentaram maior número de espécies 6 e 12 respectivamente, sendo a Myrmicinae a subfamília mais diversa com 6 gêneros. Entre os gêneros *Ectatomma* e *Dorymyrmex* foram os mais prevalentes com 27.72 e 25.62 % de frequência, o gênero *Atta* só foi encontrado em apenas uma área de estudo (área 8) com um indivíduo enquanto os gêneros *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* e *Ectatomma* foram encontrados em todas as áreas (Tabela 2).

Essa grande representatividade dos Formicidae encontra nas áreas pode ser atribuída aos diferentes papéis ecológicos desempenhados por elas no ecossistema. Atuam como polinizadores, dispersores de sementes, predadoras de diversos artrópodes muitos deles pragas agrícolas além da ciclagem de nutrientes e aeração do solo (Medeiros et al., 2012; Segat et al., 2017).

A mimercofauna observada nas áreas de estudo foi semelhante a encontrada em outros trabalhos realizados em áreas do bioma caatinga (Freire et al., 2012; Souza et al., 2015). A subfamília Myrmicinae foi dominante, tanto em número de gêneros quanto de espécies. Isto reflete a diversidade geral da mimercofauna, pois esta subfamília é a mais frequente e diversa entre as subfamílias de Formicidae (Baccaro et al., 2015). Destacam-se além da sua riqueza de espécies pela sua variação morfológica, de estratégias de reprodução, nidificação e obtenção de alimento adaptando-se a qualquer nicho ecológico (Guimarães et al., 2013).

Tabela 2. Número de indivíduos das espécies de formigas, Abundância relativa (AR), Frequência relativa (FR) e Índices de diversidade de Shannon-Wiener (H'), de Simpson (D), Equitabilidade de Pielou (J'), espécies espontâneas por área produtora de sisal e número de indivíduos totais de cada espécie (Nº IT) em todas as áreas.

Subfamílias/Espécies	Área1	Área2	Área3	Área4	Área5	Área6	Área7	Área8	Área9	Área10	FR	AR	Nº IT
Subfamília Dolichoderinae													
<i>Dorymyrmex pyramicus</i>	443	278	184	278	379	917	521	266	268	657	25.56	23.66	4191
<i>Dorymyrmex</i> sp 1	0	0	3	0	2	0	1	0	0	0	0.10	0.03	6
<i>Dorymyrmex</i> sp 2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.03	0.005	1
Subfamília Dorylinae													
<i>Eciton quariglume</i>	0	0	21	311	629	0	1	0	2	0	0.45	5.44	964
Subfamília Ectatomminae													
<i>Ectatomma edentatum</i>	113	49	58	140	662	1237	558	392	1675	864	27.72	32.46	5748
Subfamília Formicinae													
<i>Camponotus</i> sp 1	18	14	19	8	19	8	9	0	7	3	1.99	0.59	105
<i>Camponotus</i> sp 2	3	0	2	1	0	0	3	0	0	0	0.31	0.05	9
<i>Camponotus</i> sp 3	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0.07	0.01	2
<i>Camponotus senex</i>	8	83	24	14	26	28	0	3	17	34	3.98	1.34	237
<i>Camponotus vittatus</i>	2	12	13	0	1	0	1	0	1	0	1.99	0.17	30
<i>Camponotus</i> aff. <i>melanoticus</i>	1	0	33	2	0	0	2	0	0	0	0.66	0.21	38
Subfamília Myrmicinae													
<i>Atta</i> sp	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.07	0.005	1
<i>Cyphomyrmex</i> sp 1	0	0	1	41	2	2	0	0	0	3	0.03	0.28	49
<i>Pheidole</i> sp 1	495	713	848	751	301	243	327	254	98	63	19.24	23.11	4093
<i>Pheidole</i> sp 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> aff. <i>radoszkowskii</i>	76	2	123	70	429	6	30	25	245	391	4.57	7.89	1397
<i>Solenopsis</i> sp 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trachymyrmex</i> sp 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trachymyrmex</i> sp 2	15	2	0	13	10	203	25	12	120	28	2.51	2.42	428
<i>Wasmania auropunctata</i>	0	0	0	0	21	0	0	0	3	0	0.14	0.13	24
Subfamília Ponerinae													

<i>Dinoponera quadriceps</i>	17	29	24	63	28	94	3	6	33	68	10.33	2.06	365
Não identificadas													
Sp 1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0.07	0.11	1
Sp 2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.04	0.005	1
Sp 3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.04	0.005	1
TOTAL Formigas	1191	1182	1354	1694	2509	2739	1482	960	2469	2111	100	100	17691
TOTAL Espécies Espontâneas	815	651	1317	968	1335	1368	884	844	1298	1080			
Índice de Shannon-Wiener (<i>H'</i>)	1.43	1.18	1.35	1.64	1.75	1.34	1.30	1.29	1.14	1.40			
Índice de Simpson (<i>D</i>)	0.68	0.57	0.58	0.73	0.80	0.67	0.69	0.68	0.51	0.70			
Equitabilidade de Pielou (<i>J'</i>)	0.57	0.51	0.51	0.62	0.66	0.56	0.51	0.58	0.46	0.61			

*Nº IT – número de indivíduos total de cada espécie; AR – abundância relativa; FR – frequência relativa; - indivíduos inseridos junto a outras espécies.

A subfamília Formicinae também abriga gêneros bastantes abundantes e de fácil coleta, tem sido apontada como uma subfamília típica de ambientes abertos ou pouco conservados (Freire et al., 2012). O gênero *Camponotus* foi o único encontrado nas áreas, esse gênero apresenta mais de mil espécies descritas, com uma variedade de adaptações e especializações (Baccaro et al., 2015). A primeira lista de espécies de formigas da Caatinga confeccionada por Souza et al. (2015) relatam a maior frequência dos gêneros *Pheidole* e *Camponotus*.

O gênero *Ectatomma* de mais frequência e abundância nas áreas, possui espécies caracterizadas como formigas grandes, agressivas e com preferência por habitats quentes. Têm hábitos generalistas e oportunistas, sendo algumas espécies consideradas importantes predadores de insetos pragas, na falta de alimentos se alimentam de outras espécies de formigas inibindo assim o aumento populacional das espécies menos agressivas (Fernandes et al., 2000; Camacho e Feitosa, 2015).

Dorymyrmex o segundo gênero mais abundante e frequente nas áreas de sisal é frequente de áreas áridas e semiáridas como as do presente estudo, preferem lugares abertos com pouca cobertura vegetal. São formigas rápidas, forrageiam isoladamente e preferem as horas mais quentes do dia, diminuindo assim a competição por alimento (Baccaro et al., 2015). Segundo Sant'Ana et al. (2008) os gêneros *Solenopsis*, *Pheidole*, *Brachymyrmex* e *Dorymyrmex* apresentam comportamento agressivo e recrutamento massivo, o que favorece a competição interespecífica.

Um aspecto relevante é a ocorrência de apenas um indivíduo do gênero *Atta*. Essa espécie pertence a tribo *Attini*, é conhecida como formiga cortadeira, está presentes em áreas abertas causando grandes prejuízos econômicos em diversas culturas. Se alimentam das folhas dessas culturas para cultivar o fungo dentro da colônia que serve de alimentos para as operárias, além de serem indicadoras de ambientes perturbados (Costa et al., 2010; Della Lucia et al., 2014).

Mesmo sendo consideradas insetos-pragas a baixa ocorrência desse gênero nas áreas produtoras de sisal indicam uma baixa biodiversidade nessas áreas, pois esta espécie de formiga não forrageia a planta de sisal devido a características da própria planta como epiderme muito quitinizada sendo necessário a presença de outras espécies para nidificação. A sobrevivência dos formigueiros dependem

diretamente da seleção e diversidade de plantas forrageadas pelas formigas cortadeiras (Camargo et al., 2004; Viana-Bailez e Endringer, 2016).

A abundância e a diversidade das formigas apresentaram diferenças entre as áreas estudadas. A área 6 apresentou maior abundância de formigas com 2739 indivíduos assim como de plantas espontâneas (1368) no entanto, a área 5 apresentou a maior riqueza (14), diversidade (ShDI=1.75) e melhor distribuição dos indivíduos entre as espécies de formigas ($E=0.66$). A menor diversidade (ShDI=1.14) foi encontrada na área 9 que apresentou uma alta dominância da espécie *Ectatomma edentatum* (SiDI=0.51) (Tabela 2).

De acordo com Sousa-Santos et al. (2016) os habitats são importantes para manutenção da biodiversidade da Caatinga. Em seu trabalho a riqueza de formigas diferiu entre os estádios de sucessão da Caatinga, aumentando com a complexidade do habitat. Segundo Dahms et al. (2010) a competição interespecífica entre espécies interfere na diversidade da área, assim a diversidade tende a diminuir em função do maior número de espécies comuns com alta abundância reduzindo as espécies raras.

A presença da subfamília Ponerinae nas áreas é importante ser ressaltada, a espécie *Dinoponera quadriceps* foi encontrada em todas as áreas e em maior abundância na área 6 a qual também apresentou maior presença de plantas espontâneas. Essa espécie é endêmica da região Nordeste do Brasil, possui hábito onívoro e preferência por locais úmidos e florestados, em ambientes secos como a caatinga utilizam estratégias que minimizam os efeitos das altas temperaturas e baixa umidade como construção de ninhos profundos (Medeiros et al., 2014).

Também são observadas diferenças na abundância de acordo com o mês de amostragem. A alta abundância das formigas ocorreu durante os meses de Abril e Novembro onde a precipitação foi baixa e a temperatura alta. Comportamento contrário as espécies espontâneas onde a maior ocorrência de indivíduos segue o período de baixas temperaturas e início das chuvas (Tabela 1 e 3).

Os gêneros *Ectatomma* e *Pheidole* encontrados em todas as áreas apresentaram maior abundância nos meses de Abril, Outubro, Novembro e Dezembro de 2015 que apresentaram altas temperaturas (Tabela 1 e 3). Haddad et al. (2012) observaram espécies de *Pheidole* menos abundantes na estação chuvosa, mas que aumentaram a densidade populacional com o incremento da

temperatura. Esse gênero é denominado como espécie fugitiva, predominam em ambientes degradados, em estágio de sucessão inicial e com frequentes distúrbios (Crepaldi et al., 2014).

A ocorrência de diferentes espécies nas áreas estudadas retifica a importância da diversidade nos sistemas produtivos, os formicídeos estão envolvidas em diversos processos ambientais como coleta e dispersão de sementes, fragmentação do lixo, ciclagem de nutrientes, aeração e estruturação do solo e controle de outros grupos de organismos (Shukla et al., 2013).

Muitas espécies de formigas são estenotérmicas, ou seja, não toleram grandes variações de temperatura. Por isso a temperatura é considerada um fator determinante na riqueza e composição de espécies de formigas, geralmente diminuem sua abundância e riqueza com a ocorrência de baixas temperaturas (Longino et al., 2014). De acordo com Medeiros et al. (2014) altas temperaturas levam a um maior forrageamento devido a instabilidade ou ausência de alimento. Assim como a grande quantidade de precipitação pode diminuir o tamanho das colônias e a atividade das formigas, o que pode estar relacionado a necessidade de proteção devido a força dos ventos e tamanho das gotas da chuva (Delsinne et al., 2013).

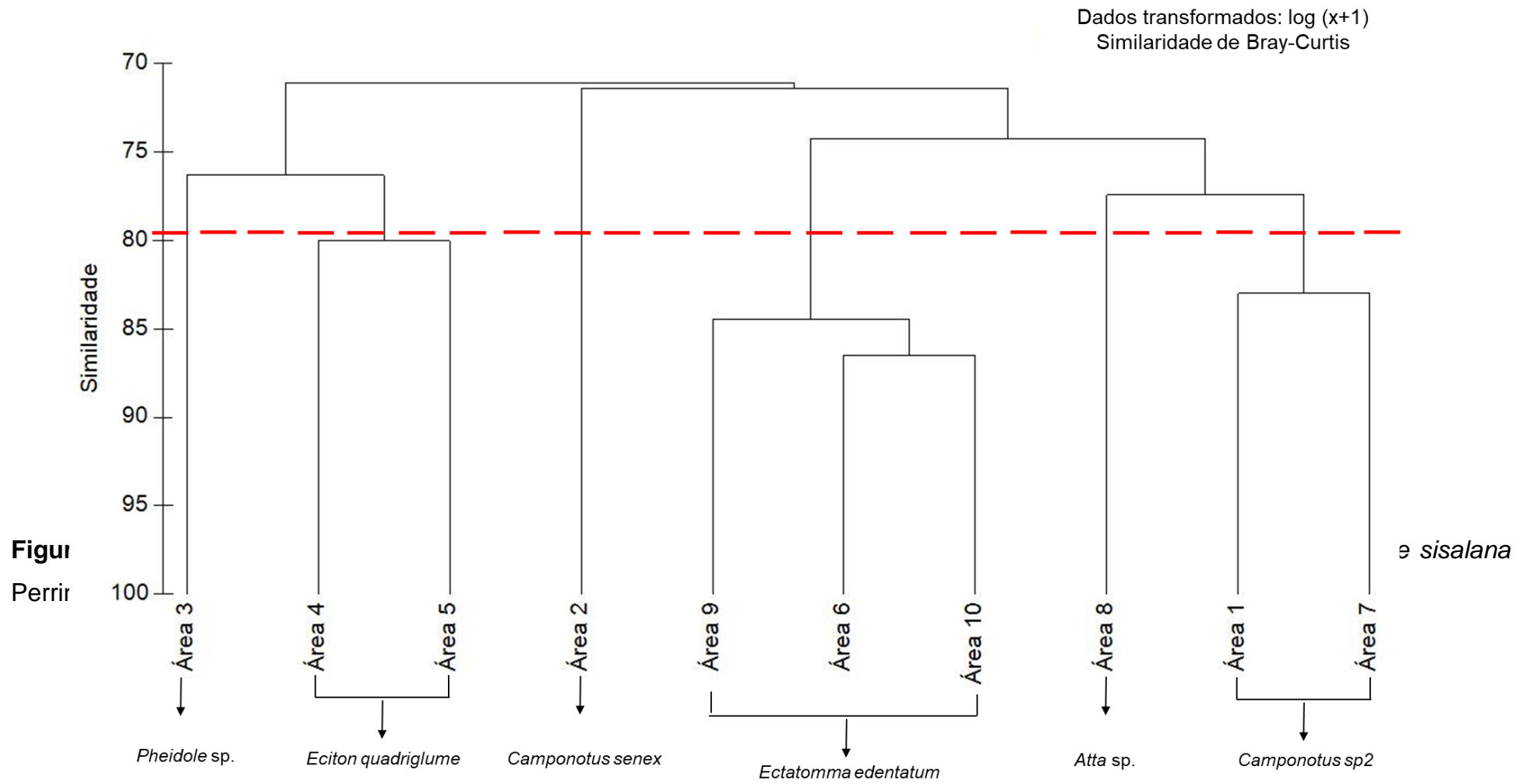
Na figura 1 observa-se o dendograma de similaridade faunística entre as áreas, que apresentou um coeficiente de 0.80, sendo portanto formados 6 grupos em função da abundância e frequência das espécies de formigas. A área 3 destaca-se com a espécie *Pheidole* sp, as áreas 4 e 5 são similares pela presença da espécie *Eciton quadriglume* e a área 2 pela maior abundância da *Camponotus senex*. As áreas 6, 9 e 10 são similares com a abundância da *Ectatomma edentatum*, as áreas 1 e 7 pela *Camponotus* sp 2 e a área 8 é separada por ser a única que apresenta um indivíduo da *Atta* sp.

Tabela 3. Número de indivíduos totais de formigas e espécies espontâneas por mês de amostragem nas áreas produtoras de sisal no período de Maio de 2015 a Maio de 2016.

Subfamílias/Espécies	Abril	Mai	Julho	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Maio
Subfamília Dolichoderinae										
<i>Dorymyrmex pyramicus</i>	1251	460	218	331	478	439	350	88	135	441
<i>Dorymyrmex</i> sp 1	0	0	2	3	1	0	0	0	0	0
<i>Dorymyrmex</i> sp 2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Subfamília Dorylinae										
<i>Eciton quariglume</i>	0	0	0	0	3	898	0	0	63	0
Subfamília Ectatomminae										
<i>Ectatomma edentatum</i>	1981	232	320	313	749	500	603	269	287	465
Subfamília Formicinae										
<i>Camponotus</i> sp 1	5	0	8	9	17	17	0	14	9	26
<i>Camponotus</i> sp 2	2	1	0	2	1	0	0	1	0	2
<i>Camponotus</i> sp 3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Camponotus senex</i>	20	0	42	10	6	60	81	4	6	1
<i>Camponotus vittatus</i>	2	0	1	4	1	5	13	2	0	1
<i>Camponotus</i> aff. <i>melanoticus</i>	1	25	1	4	0	2	3	0	0	2
Subfamília Myrmicinae										
<i>Atta</i> sp	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Cyphomyrmex</i> sp 1	0	0	0	0	3	6	0	0	0	0
<i>Pheidole</i> sp 1	919	312	183	446	353	1054	610	62	82	72
<i>Pheidole</i> sp 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> sp 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pheidole</i> aff. <i>radoszkowskii</i>	42	5	67	0	324	693	228	15	23	0
<i>Solenopsis</i> sp 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trachymyrmex</i> sp 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<i>Trachymyrmex</i> sp 2	20	0	10	19	203	41	9	4	121	1
<i>Wasmania auropunctata</i>	2	1	0	2	1	0	0	1	0	2
Subfamília Ponerinae										
<i>Dinoponera quadriceps</i>	127	94	46	54	16	13	77	39	20	39
Não identificadas										
Sp 1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Sp 2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Sp 3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL Formigas	4373	1130	899	1199	2156	2784	1974	499	747	1052
TOTAL Espécies Espontâneas	1700	2037	1960	1450	1071	423	348	693	591	280

- Indivíduos inseridos junto a outras espécies.



4. CONCLUSÃO

As áreas produtoras de sisal na Bahia apresentaram uma grande diversidade de formigas, as espécies encontradas estão distribuídas em 6 subfamílias e 11 gêneros, das quais Myrmicinae e Formicinae apresentaram maior número de espécies. Os gêneros *Dinoponera*, *Dorymyrmex*, *Pheidole* e *Ectatomma* foram encontrados em todas as áreas e o gênero *Atta* só foi encontrado em apenas na área 8 com um indivíduo.

A área 6 apresentou maior abundância de formigas e de plantas espontâneas no entanto, a área 5 apresentou a maior riqueza, diversidade e melhor distribuição dos indivíduos entre as espécies de formigas. A menor diversidade foi encontrada na área 9 que apresentou uma alta dominância da espécie *Ectatomma edentatum*.

Correlacionando as variáveis ambientais com a abundância das formigas observa-se o aumento da abundância no período quente e seco. Comportamento contrário as espécies espontâneas onde a maior ocorrência de indivíduos segue o período de baixas temperaturas e início das chuvas.

5. REFERÊNCIAS

- BACCARO, F.B., FEITOSA, R.M., FERNANDEZ, F., FERNANDES, I.O., IZZO, T.J., SOUZA, J.L.P. Guia para os gêneros de formigas do Brasil. Editora INPA, p. 388, 2015.
- BROWER, J.E., ZAR, J.H. Field and laboratory methods for general ecology. 2.ed. Dubuque: W. C. Brown Company, p. 226, 1984.
- CAMARGO, R.S., FORTI, L.C., MATOS, C.A.O., ANDRADE, A.P.P. Physical resistance as a criterion in the selection of foraging material by *Acromyrmex subterraneus brunneus* Forel, 1911 (Hym., Formicidae). Journal of Entomology and Nematology, v. 128, n. 5, p. 329-331, 2004.

- CAMPOS, S.A.C., FERREIRA, M.D.P., COELHO, A.B., LIMA, J.E. Degradação Ambiental Agropecuária No Bioma Caatinga. *Rev. Econ. NE, Fortaleza*, v. 46, n. 3, p. 155-170, 2015.
- COSTA, C.B., RIBEIRO, S.P., CASTRO, P.T.A. Ants as Bioindicators of Natural Succession in Savanna and Riparian Vegetation Impacted by Dredging in the Jequitinhonha River Basin, *Brazil Restoration Ecology*, v. 18, S1, p. 148–157, 2010.
- CLARKE, K.R., GORLEY, R.N. *PRIMER v6: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E, Plymouth, 2006.
- CREPALDI, A.C., PORTILHO, I.I.R., SILVESTRE, R., MERCANTE, F.M. Formigas como bioindicadores da qualidade do solo em sistema integrado lavourapecuária. *Ciência Rural, Santa Maria*, v. 44, n. 5, p. 781- 787, 2014.
- DAHMS, H., LENIOR, L., LINDBORG, R., WOLTERS, V., DAUBER, J. Restoration of Seminatural Grasslands: What is the Impact on Ants? *Restoration Ecology*, v. 18, p. 330- 337, 2010.
- DAJOZ, R. *Ecologia Geral*. Petrópolis: Vozes; São Paulo: EDUSP, p. 474, 1973.
- DELLA LUCIA, T.M.C., GANDRA, L.C., GUEDES, R.N.C. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. *Pest Management Science*, v. 70, p. 14- 23, 2014.
- DELSINNE, T., ARIAS-PENNA, T., LEPONCE, M. Effect of rainfall exclusion on antassemblages in montane rainforests of Ecuador. *Basic Appl. Ecol.*, v. 14, p. 357–365, 2013.
- FAO, 2017: Jute, Kenaf, Sisal, Abaca, Coir and Allied Fibres. Market and Policy Analysis of Raw Materials, Horticulture and Tropical (RAMHOT). Products Team Trade and Markets Division. Statistical Bulletin. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 33 pp.
- FERNANDES, W.D., CRUZ, M.C.A, FACCENDA, O., VALENTE, T.O. Impacto de herbicidas em uma guilda de formigas predadoras. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 1, p. 225 – 231, 2000.

- FREIRE, C.B., OLIVEIRA, G.V., MARTINS, F.R.S., SOUZA, L.E.C., RAMOS-LACAU, L.S., CORRÊA, M.M. Riqueza de formigas em áreas preservadas e em regeneração de caatinga arbustiva no sudoeste da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 10, n. 1, p. 131-134, 2012.
- GONZÁLEZ-CASTILLO M.P., QUINTOS ESCALANTE M. CASTAÑO-MENESES G: Arthropods in natural communities in Mescal Agave (*Agave durangensis* Gentry) in an Arid Zone *Am. J. Appl. Sc.*, v. 8, n. 10, p. 933-944, 2011.
- GUIMARÃES, M.V.A, BENATI, K.R., PERES, M.C.L., DELABIE, J.H.C. Assembléia de formigas de serrapilheira em três fragmentos florestais de Salvador, Bahia. *Revista Biociências*, v. 19, n. 2, p. 1-9, 2013.
- HOFFMANN, B.D. Using ants for rangeland monitoring: global patterns in the responses of ant communities to grazing. *Ecol. Indic.*, v. 10, p. 105–111, 2010.
- JANICKI, J., NARULA, N., ZIEGLER, M., GUÉNARD, B. ECONOMO, E.P. Visualizing and interacting with large-volume biodiversity data using client-server web-mapping applications: The design and implementation of ant maps.org. *Ecological Informatics*, v. 32, p. 185-193, 2016.
- LONGINO, J.T., BRANSTETTER, M.G., COLWELL, R.K. How ants drop out: ant abundance on tropical mountain. *PLoS One*, v. 9, p. 104030, 2014.
- MCCUNE, B., MEFFORD, M.J. PC-ORD Multivariate Analysis of Ecological Data, Version 5. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, USA, 2006.
- MEDEIROS, J., AZEVEDO, D. L. O., SANTANA, M. A. D., LOPES, T. R. P.; ARAUJO, A. Foraging activity rhythm of the queenless ant, *Dinoponera quadriceps*, in its natural environment. *Journal of Insect Science*, v. 14, p. 220, 2014.
- MEDEIROS, J.; ARAUJO, A.; ARAUJO, H.F.P.; QUEIROZ, J.P.C.; VASCONCELOS, A. Seasonal activity of *Dinoponera quadriceps* Santschi (Formicidae, Ponerinae) in the semi-arid Caatinga of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, Curitiba, v. 56, p. 81-85, 2012.

- PACHECO, R., VASCONCELOS, H.L. Habitat diversity enhances ant diversity in a naturally heterogeneous Brazilian landscape. *Biodivers Conserv.*, v. 21, p. 797–809, 2012.
- PEREIRA, J.L., PICANÇO, M.C., DA SILVA, A.A., BARROS, E.C., SILVA, R.S., GALDINO, T.V.S., MARINHO, C.G.S. Ants as environmental impact bioindicators from insecticide application on corn. *Sociobiology*, v. 55, n. 1, p. 153-164, 2010.
- POTEAUX, C., PRADA -ACHIARDI, F. C., FERNANDEZ, F., LACHAUD, J.P. Diversidade genética e fenotípica no gênero *Ectatomma*. In: DELABIE, J.H.C. et al. As formigas poneromorfas do Brasil. Ilheus: Editus, p. 127-144, 2015.
- SANTOS, M.P.C.J., CARRANO-MOREIRA, A.F., TORRES, J.B. Diversidade de formigas epigéicas (Hymenoptera: Formicidae) em floresta ombrófila densa e em cultivo de cana-de-açúcar, no município de Igarassu, PE. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 7, n. 4, p. 648-656, 2012.
- SOARES, I.M.F., DELLA LUCIA, T.M.C., SANTOS, A.A., NASCIMENTO, I.C., DELABIES, J.H.C. Caracterização de ninhos e tamanho de colônia de *Acromyrmex rugosus* (F. Smith) (Hymenoptera: Formicidae) em restingas de Ilhéus, BA, 137 Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 50, n. 1, p. 128- 130, 2006.
- SOUSA, I.D., MARINHO, C.G.S., LIMA, A.S., MELO, B.A., OLIVEIRA, M.A., DELABIE, J.H.C. Diversidade de formigas (Hymenoptera: Formicidae) epigéicas na mesoregião do sertão paraibano. *Revista Brasileira de Zociências*, v. 16, p. 43 – 53, 2015.
- SOUSA-SOUTO, L., FIGUEIREDO, P.M.G., AMBROGI, B.G., OLIVEIRA, A.C.F., RIBEIRO, G.T., NEVES, F.S. Composition and Richness of Arboreal Ants in Fragments of Brazilian Caatinga: Effects of Secondary Succession. *Sociobiology*, v. 63, n. 2, p. 762-769, 2016.
- SEGAT, J.C., VASCONCELLOS, R.L.F., SILVA, D.P., BARETTA, D., CARDOSO, E.J.B.N. Ants as indicators of soil quality in an on-going

recovery of riparian forests. *Forest Ecology and Management.*, v. 404, p. 338–343, 2017.

SHUKLA, R.K., SINGH, H., RASTOGI, N., AGARWAL, V.M. Impact of abundant *Pheidole* ant species on soil nutrients in relation to the food biology of the species. *Appl. Soil Ecol.*, v. 71, p. 15–23, 2013.

VIANA-BAILEZ, A.M., ENDRINGER, F.B. Plasticidade do comportamento de forrageamento em formigas cortadeiras. *Oecologia Australis*, v. 20, n. 3, p. 11-19, 2016.

ARTIGO 3

ARTRÓPODES E VEGETAÇÃO ESPONTÂNEA NA CULTURA DO SISAL, *Agave sisalana* PERRINE, NO BIOMA CAATINGA NO BRASIL

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico European Journal of Entomology, em versão na língua Inglesa.

Artrópodes e vegetação espontânea na cultura do sisal, *Agave sisalana* Perrine, no bioma Caatinga no Brasil

Sara Samanta da Silva Brito, Maria Villa, Jacinto Benhadi-Marín, Franceli Silva, José Alberto Pereira

Resumo: A *Agave sisalana* Perrine, sisal, é cultivada para a produção de fibras, sendo o Brasil o principal país produtor. Hoje em dia, devido ao crescente interesse em produtos orgânicos, o mercado de sisal pode se tornar uma alternativa econômica para áreas rurais com baixas entradas econômicas. No entanto, o sisal é ameaçado por diferentes pragas e doenças. O controle biológico de conservação poderia auxiliar na limitação desses inimigos das plantas, mas esse agroecossistema é pouco conhecido. Neste contexto, estudamos a diversidade de plantas e artrópodes e suas relações potenciais, os padrões espaciais de artrópodes e plantas em função da proximidade com a margem do campo e o esforço mínimo de amostragem para registrar a biodiversidade ocorrida em uma cultura de sisal. Os resultados revelaram uma distribuição temporal e espacial de artrópodes e plantas durante o período de estudo, sendo que os artrópodes parecem colonizar a cultura do sisal dos campos além da safra durante a estação chuvosa. Esses resultados fornecem novas informações sobre a biodiversidade de artrópodes e plantas a partir de um agroecossistema em uma região semiárida e levantam novas questões sobre o manejo de sisal.

Palavras-chave: Biodiversidade, semiárido, interação planta-artropóde, padrão especial, protocolos de amostragem

**Arthropods and non-crop vegetation in a Sisal crop, *Agave sisalana*
Perrine, in the Caatinga biome in Brazil**

Sara Samanta da Silva Brito, Maria Villa, Jacinto Benhadi-Marín, Franceli Silva,
José Alberto Pereira

Abstract: The *Agave sisalana* Perrine, sisal, is cultivated for fiber production being Brazil the main producer country. Nowadays, given the increasing interest in organic products, the market of sisal could become an economical alternative for rural areas with low economical inputs. However, the sisal is threatened by different pests and diseases. Conservation biological control could assist in the limitation of these plant enemies but this agroecosystem is poorly known. In this context, we studied the diversity of plants and arthropods and their potential relations, the spatial patterns of arthropods and plants in function of the proximity to the margin of the field and the minimum sampling effort to record the occurring biodiversity in a sisal crop. Results revealed a temporal and spatial distribution of arthropods and plants during the period of study, being that arthropods seem to colonize the sisal crop from the fields beyond the crop during the rainy season. These results provide new information about arthropods and plants biodiversity from an agroecosystem in a semi-arid region and raise new queries about the management of sisal crops.

Key words: biodiversity, semi-arid, arthropod-plant interactions, spatial pattern, sampling protocol.

1.INTRODUÇÃO

A *Agave sisalana* Perrine (Sisal), com origem no México, é utilizada para a produção de fibras. Esta planta é xerófito, tolerando secas prolongadas e altas temperaturas e podem sobreviver em solos pobres em regiões tropicais propensas a seca, se estabelecendo em uma ampla gama de ambientes de regiões sub-úmidas até áridas e semiáridas (Saxena et al., 2009). No Brasil, primeiro país produtor, a produção se concentra na Bahia, seguida da Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará (IBGE, 2015). No entanto, nas últimas décadas, a produção diminuiu, sendo que na década de 1970, a produção no Brasil excedeu 700.000 tons (Silva, 2014) e, em 2015, produziu 91.100 toneladas do total de 257.800 que produzem entre todos os países produtores (FAO, 2017). Isto deve-se principalmente aos baixos preços de mercado, às condições climáticas desfavoráveis nos principais países produtores e a concorrência com as fibras sintéticas.

No entanto, com o crescente interesse pelos produtos orgânicos, o interesse nas fibras naturais está aumentando. Apesar da baixa representação da safra do sisal para a economia brasileira, tem a vantagem de melhorar a produtividade de regiões semiáridas com baixas alternativas econômicas e população rural com baixos rendimentos econômicos (Lima Verde, 2007). No entanto, as técnicas de extração de fibras ou produção de culturas não foram modernizadas (Lima Verde, 2007) e não há mecanização ou uso de fertilizantes químicos (Silva, 2014).

As espécies de *Agave* são atacadas por doenças como a podridão do caule causada pelo *Aspergillus niger*, que foi encontrada pela primeira vez no Brasil em 2006 (Coutinho et al., 2006), ou pragas como o Coleoptera *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, nativo do México e estabelecido particularmente em América Central e do Sul, Caribe, África e Ásia, e que é considerada a principal praga *Agave* em todo o mundo (Cabi, 2017). Atualmente, o *S. acupunctatus* é principalmente controlado com inseticidas sintéticos, mas a sua eficácia é reduzida porque larvas e adultos

freqüentemente se alimentam no interior das plantas de gave (Terán-Vargas et al., 2012).

As doenças das culturas e as pragas podem ser reguladas através do controle biológico de conservação, que consiste em melhorar o meio ambiente para seus inimigos naturais. Portanto, é necessário um profundo conhecimento sobre as necessidades dos inimigos naturais para melhorar seu desempenho sem aumentar as doenças ou pragas das culturas em cada agroecossistema (Landis et al., 2000). No entanto, em geral o agroecossistema *Agave*, e particularmente o Sisal, é pouco conhecido. Poucos estudos foram realizados em diferentes espécies *Agave*. Alguns deles se concentraram nas propriedades do solo em diferentes condições (Bautista-Cruz et al., 2007; Gobeille et al., 2006).

Valdés-Estrada et al. (2016) estudaram o efeito do extrato de plantas contra a larva de *S. acupunctatus* e várias obras avaliaram diferentes iscas para a captura de adultos (ex. Valdés et al., 2009), mas poucos estudos abordaram a diversidade de artrópodes ou plantas em culturas de *Agave* em um quadro de controle biológico de conservação. Por exemplo, González-Castillo et al. (2011) estudaram a diversidade de Artrópodes em *Agave durangensis* Gentry no México e, a nosso conhecimento, nenhum estudo abordou este tema em *A. sisalana*. Além disso, em geral, a biodiversidade é menos estudada nas estações de escassez de recursos (Villa et al., 2016).

Nesse contexto de falta geral de conhecimento sobre o agroecossistema do Sisal, buscamos estudar durante o inverno, estação fria e chuvosa: (i) analisar a diversidade e potencial de relações entre artrópodes e as plantas que ocorrem na cultura do Sisal; (ii) estudar os padrões espaciais de artrópodes e plantas em função da proximidade com as margens do campo (iii) determinar o esforço de amostragem mínimo para registrar a biodiversidade ocorrida em uma cultura de Sisal.

2.MATERIAL E MÉTODO

2.1. Área de estudo:

Foi utilizada uma área de sisal orgânico de 3 anos localizada no município de Antônio Gonçalves – Bahia - Brasil (10°34'22'' S e 40°16'26'' O). Onde realizou-se adubação com esterco bovino e incorporação da biomassa dos brotos a cada 4 meses nas fileiras. As condições climáticas da área de estudo durante o período de estudo e o solo são apresentadas na Tabela 1 e Figura 1.

Tabela 1. Características do solo do site experimental utilizado no presente estudo.

Características do solo	Características da área experimental
Organic matter (g.dm ⁻³)	18.33
pH	4.37
P (ppm)	2.0
K (mmolc.dm ⁻³)	1.2
Ca + Mg (mmolc.dm ⁻³)	20.63
Ca (mmolc.dm ⁻³)	16.33
Mg (mmolc.dm ⁻³)	4.33
Al (mmolc.dm ⁻³)	1.33
H + Al (mmolc.dm ⁻³)	15.99
Na (ppm)	0.16
S (ppm)	5.33
CTC (mmolc.dm ⁻³)	37.87

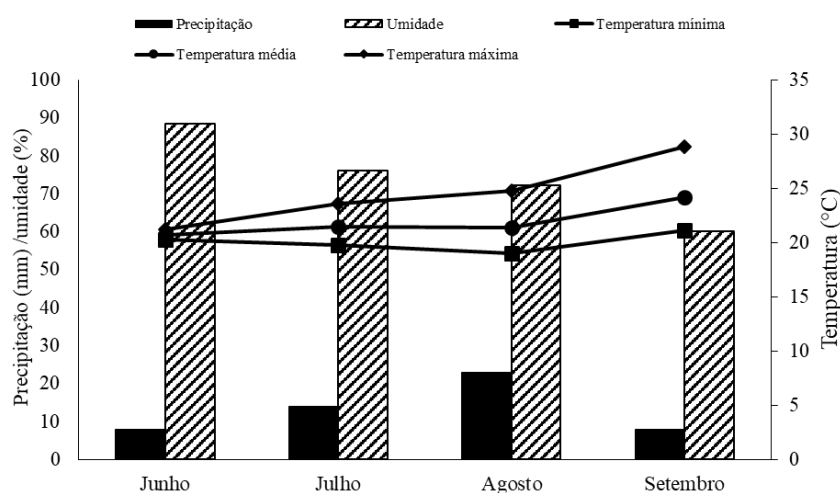


Figura 1. Dados de precipitação (mm), temperatura máxima (Máx. T.), média e mínima (Mín. T.) (°C) e umidade (%) para o período entre Junho e Setembro de 2015 para a área experimental (dados adaptados do banco de dados meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia– INMET 2015).

A cultura está localizada no bioma Caatinga, composto por florestas de floresta semidecidual e floresta decídua em áreas mais secas. A estrutura da floresta varia de árvores espinhosas, de folhas decíduas ou semidecíduas, e muitas vezes com uma camada de solo de pequenos arbustos decíduos e ervas anuais, com predominância de Fabaceae, para bosques decíduos de baixa estatura, com alta proporção de arbustos e subarbustos, e caracterizada pela presença de muitos cactos, bromélias e Euphorbiaceae. Na estação chuvosa, a folhagem verde cobre as árvores e o solo é coberto por ervas anuais.

2.2. Amostragem de artrópodes e plantas:

De junho a setembro de 2015 (estação fria e chuvosa), um total de 24 armadilhas do tipo pitfall (7.5 cm de diâmetro e 6 de altura) foram localizadas no solo em 3 entrelinhas (8 armadilhas por fileira) e separadas a cada 3 metros foram amostradas mensalmente. Dezesesseis armadilhas foram localizadas mais perto das bordas da plantação (armadilhas externas) e as restantes oito foram localizadas na parte interna da plantação. As armadilhas continham água (200 mL) e 4 gotas de detergente líquido neutro. Após 24 horas, os artrópodes foram coletados e mantidos em álcool 70% até a identificação à ordem e a morfoespécie. No mesmo período, foram registradas as espécies de plantas e sua abundância de 24 quadrados (50 x 50 cm), cada um correspondendo a uma armadilha (Figura 2).

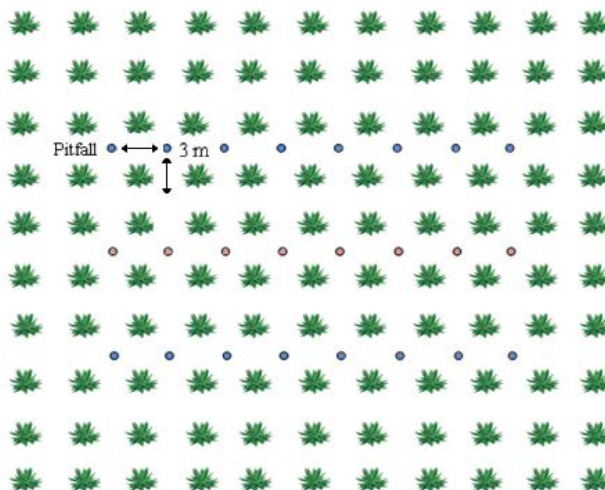


Figura 2. Diagrama do projeto experimental.

2.3. Análise dos dados:

2.3.1. Diversidade de artrópodes e plantas:

Quanto aos artrópodes, o índice de diversidade de Shannon (ShDI), o índice de diversidade Simpson (SiDI) e Equitatividade (E) foram calculados usando o software Past versão 2.16 (2012). Além disso, para cada planta, o índice de valor de importância (IVI) foi calculado.

Para explorar as potenciais relações de artrópodes com espécies de plantas, realizou-se uma análise de redundância (RDA) usando a função "rda" do pacote "vegan" (Oksanen et al., 2016) do programa R (R Core Team, 2016). A morfo-espécie de artrópodes de cada armadilha foi utilizada como dados de resposta e as IVIs das espécies de plantas identificadas ao lado de cada armadilha foram usadas como variáveis explicativas. A transformação de Hellinder, recomendada para a ordenação de dados de abundância de espécies (Rao, 1995), foi aplicada na matriz de dados de artrópodes. A seleção de frente foi usada para redução de variável explicativa usando a função ordistep do pacote "vegan". O significado do RDA foi testado usando a função anova do pacote "stats".

2.3.2. Diferenças entre amostras externas e internas:

As diferenças estatísticas entre amostras externas e internas foram avaliadas quanto à abundância total de artrópodes (N) e riqueza (S) usando o teste de soma de classificação Wilcoxon não paramétrico que estima a probabilidade de um sujeito escolhido aleatoriamente do primeiro grupo (interno) ter maior peso do que um sujeito escolhido aleatoriamente do segundo grupo (externo). Para isso, a função `wilcox.test` do pacote "Stats" em R (equipe principal de R, 2016) foi usada.

2.3.3. Protocolo de amostragem:

A proporção dos taxas registrados e a qualidade do inventário (Benhadi-Marín et al., 2011) foram seguidas para determinar o esforço mínimo de amostragem. As curvas de acumulação de morfoespécies de artrópodes e espécies espontâneas foram calculadas usando o software Estimates 8.2 (Colwell, 2009) separadamente para cada mês (de junho a setembro). Este método mostra a taxa em que novos táxons são adicionados ao inventário dentro de uma área definida. Um número crescente de amostras leva a um aumento do número de taxa até atingir um patamar. O diagrama resultante indica o número acumulado de táxons recuperados de acordo com o aumento do número de amostras (Benhadi-Marín et al., 2011). Em seguida, as curvas foram modeladas usando Statistica 7.0 (StatSof, 2008) e ajustadas pelo modelo de Clench (Soberón & Llorente, 1993; Jiménez-Valverde & Hortal, 2003) de acordo com a equação:

$$S_n = a \times n / (1 + b_n) \quad (\text{Eqn 1})$$

onde S_n é a riqueza de espécies, representa a taxa de aumento no início da coleta, b é um parâmetro relacionado com a forma da curva e n é o esforço de amostragem.

As proporções dos taxa registrados foram calculadas para artrópodes e ervas daninhas utilizando a equação: $F(\%) = S_{obs} / (a/b) \times 100$ (Eqn 2), onde S_{obs} representa a riqueza observada e a/b é a assíntota da curva. A qualidade do inventário foi calculada como $C_i = a / (1 + bn)^2$ (Eqn 3), onde C_i é a inclinação da curva em cada ponto de amostragem. Quando $C_i < 0.1$ o inventário

pode ser considerado completo e confiável. O número de amostras necessárias para $C_i = 0,1$ foi calculado com o Eqn 4.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Diversidade de artrópodes e plantas:

Neste trabalho, a diversidade de artrópodes do solo e plantas de um agroecossistema de Sisal foi identificada durante o inverno, caracterizada pelo frio e chuva na Bahia, no Brasil. Um total de 3259 artrópodes foram capturados nas armadilhas de queda. Eles pertenciam as ordens Araneae, Acari, Diptera, Hymenoptera, Collembola, Coleoptera, Orthoptera, Hemiptera, Blattodea e Lepidoptera (Figura 3) e foram separados em 153 morfoespecies. Estes taxa incluem vários grupos funcionais como predadores, parasitóides, polinizadores ou decompositores que poderiam desempenhar papéis importantes no agroecossistema do sisal.

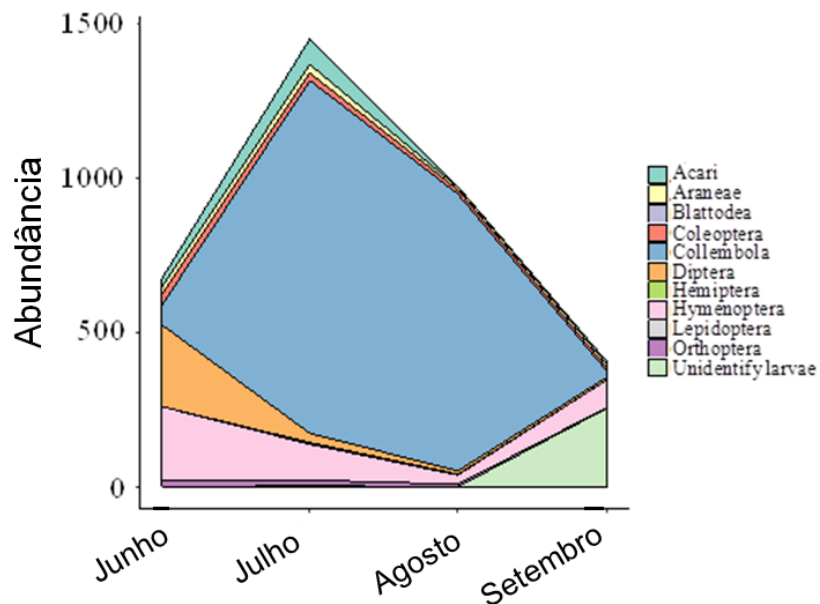


Figura 3. Abundância (Número) dos taxóns identificados na cultura de sisal de Junho a Setembro de 2015.

Os artrópodes apresentaram diferentes abundâncias durante o período de estudo. Em junho, os taxóons mais abundantes foram Diptera e Hymenoptera com 38,4% e 35,5%, respectivamente, e SiDI, ShDI e E foram 0,85, 2,43 e 066, respectivamente. A maior abundância de espécies ocorreu em julho (1452) e agosto (975). Durante estes meses, o SiDI, ShDI e E diminuíram (julho-SiDI = 0,53 / ShD = 1,46 / E = 0,38; Agosto-SiDI = 0,26 / ShD = 0,77 / E = 0,22) sendo os Collembola dominantes representando 78,6% e 91%, respectivamente. Em setembro, o taxón mais abundante foi Hymenoptera representando 58% do total, e SiDI, ShDI e E aumentaram (0,59, 1,65 e 0,50, respectivamente).

Para o nosso conhecimento, não existem outros estudos que abordem a diversidade de artrópodes em uma cultura de Sisal, no entanto, em *Agave tequilana* var. *azul* cultura do México, González Castillo et al. (2011) encontraram ShDI entre 1,5 e 3,5. Além disso, a riqueza que eles encontraram foi maior do que neste estudo, tendo especial relevância as ordens Hemiptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera. Outros estudos avaliaram as plantas colonizadoras de artrópodes de *Agave palmeri* Engelmann (Gwendolyn et al., 1987), mas estudaram os artrópodes no solo.

Em relação às plantas, o aumento da riqueza de espécies parece estar relacionado com o aumento da diversidade de interação que pode melhorar a funcionalidade dos ecossistemas. Assim, a perda de biodiversidade vegetal tem implicações importantes para interações de grupos funcionais em níveis tróficos (Rzanny e Voigt, 2012). Além disso, um aumento da diversidade de interação com base em diversas comunidades de plantas tem o potencial de aumentar e estabilizar a taxa de diversos processos ecossistêmicos (Tylianakis et al., 2007). Isso destaca a importância do conhecimento da diversidade de plantas e sua interação com artrópodes em um quadro de gerenciamento de culturas. Neste estudo, foram identificadas 21 espécies de plantas espontâneas pertencentes a 8 famílias (Tabela 2).

As famílias mais ricas foram Asteraceae, Malvaceae e Fabaceae e a diversidade variou ao longo do período de estudo. Em junho, apenas a Commelinaceae *Commelina erecta* L. foi coletada e identificada. Em julho, 13

espécies foram identificadas. O IVI mais alto foi apresentado pela Amaranthaceae *Alternanthera tenella* Colla seguida de espécies pertencentes a Asteraceae, Malvaceae e Fabaceae. Em agosto 15 espécies foram identificadas. As espécies mais representadas pertenciam a Asteraceae e foram seguidas por *A. tenella*. Finalmente, em setembro, 10 espécies foram identificadas e a maior IVI foi mostrada pela Fabaceae *Chamaecrista rotundifolia* Moench seguida da Asteraceae *Lepidaploa cotoneaster* (Willd. Ex Spreng) e Malvaceae *Pavonia cancellata* (L.) Cav. (Tabela 2). Esses resultados estão de acordo com o fato de que, nos ecossistemas tropicais como a Caatinga, os padrões sazonais em artrópodes do solo abundam e a riqueza ocorre após as estações seca e chuvosa, sendo diretamente influenciado pelas condições climáticas e recursos alimentares (Marques & Del-Claro, 2010).

No que se refere às relações entre artrópodes e espécies de plantas espontâneas, até à data, as pesquisas não estudaram amplamente as interações de espontâneas-artrópodes nas paisagens agrícolas (Bàrberi et al., 2010). Em outros ecossistemas, como as pastagens, as interações das plantas de artrópodes foram profundamente investigadas e a composição das espécies de plantas, a biomassa total, a qualidade dos tecidos, a riqueza de espécies e a arquitetura / heterogeneidade foram encontradas para influenciar polinizadores, predadores e artrópodes de herbívoros (Joern & Laws, 2013). Por exemplo, a riqueza de espécies de gafanhotos variou de forma negativa com a biomassa da grama e a altura do dossel e positivamente com a altura heterogênea do dossel e a riqueza de espécies de plantas (Joern, 2005) ou a abundância, riqueza e índice de Shannon das comunidades de artrópodes do solo foi correlacionada positivamente com a riqueza de espécies da planta em floresta na China (Wu, et al., 2012).

Neste trabalho foram reveladas algumas relações entre artrópodes e plantas. Após a seleção, as espécies de plantas para realizar a RDA foram reduzidas a *Alternanthera tenella* (P1), *Centratherum punctatum* (P6), *Louteigia ballotifolia* (P2), *Solanum lycocarpum* (P7), espécie não identificada 2 (P20), *Pavonia cancellata* (P9) e *Chamaecrista rotundifolia* (P12). O RDA foi

significativo ($F = 4.969$, $df = 7$, $p\text{-value} = 0.001$) e resultou em 7 eixos canônicos com contribuição cumulativa para a variância (explicada pelas variáveis explicativas IVIs das espécies de plantas) de 28,33%. O R2 ajustado reduziu a variância explicada para 22,63%.

As percentagens de autovalores limitados acumulados mostram que o eixo do punho explicou $22,63 \times 66,17 = 14,97\%$ e o segundo $22,629 \times 27,81 = 6,29\%$ da variância. O primeiro autovalor residual explicou 20,21% da variância, mais do que todos os autovalores RDA. Isso significa que a primeira estrutura residual dos dados tem mais variação do que as estruturas que podem ser explicadas pelas variáveis explicativas (Bocard et al., 2011). Isso pode ser devido a uma influência potencial de outras variáveis não incluídas na análise. Outros estudos devem abordar os mecanismos ecológicos que desencadeiam essas correlações, bem como outros fatores potenciais que os influenciam.

Tabela 2. Índice de valor de importância das plantas (IVI) coletadas de junho a setembro na cultura do sisal.

Família/Espécie	IVI			
	Junho	Julho	Agosto	Setembro
Amaranthaceae				
<i>Alternanthera tenella</i> Colla	0	40.0	22.54	9.19
Asteraceae				
<i>Artemisia absinthium</i> L.	0	0	0.68	0
<i>Centratherum punctatum</i> Cass.	0	6.73	11.91	0
<i>Lepidaploa cotoneaster</i> (Willd. ex Spreng.)	0	13.14	8.5	18.09
<i>Lourteigia ballotifolia</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.	0	36.23	26.19	9.85
<i>Tridax procumbens</i> L.	0	6.23	0	0
Commelinaceae				
<i>Commelina erecta</i> L.	100	7.16	7.45	0
Fabaceae				
<i>Calopogonium</i> sp	0	9.67	6.97	6.56
<i>Chamaecrista rotundifolia</i> Moench	0	0	0	20.15
<i>Mimosa</i> sp.	0	3.32	5.75	2.71
Malvaceae				
<i>Sida cordifolia</i> L.	0	9.98	5.72	5.62
<i>Pavonia cancellata</i> (L.) Cav.	0	2.38	0	11.67
<i>Sidastrum paniculatum</i> (L.) Fryxell	0	0	3.89	0
<i>Sida</i> sp	0	0	1.07	0
Poaceae				
Specie 1	0	1.43	0	0

Rubiaceae				
<i>Borreria verticilata</i> (L.) G.Mey.	0	0	1.95	0
Solanaceae				
<i>Solanum lycocarpum</i> A.St.-Hil.	0	3.74	1.07	0
<i>Solanum agrarium</i> Sendtn.	0	2.56	0	0
Unidentified				
Specie 2	0	0	0	0.96
Specie 3	0	0	0	1.05
Specie 4	0	0	1.07	0
Specie 5	0	0	3.04	0

O triplot (Figura 4) mostra que as plantas desempenharam um papel importante na dispersão dos insetos ao longo do primeiro eixo. As plantas *Alternanthera tenella* (P1), *Centratherum punctatum* (P6), *Lourteigia ballotifolia* (P2) e a espécie não identificada 2 (P20) caracterizaram os locais amostrados em julho e agosto e o artrópode 61 seguido pelo artrópode 50 (ambos collembolas) foram correlacionados com eles, e *Solanum lycocarpum* (P7), *Pavonia cancellata* (P9) e *Chamaecrista rotundifolia* (P12) caracterizaram os locais amostrados em setembro e foram correlacionados com os artrópodes 112 (larvas). Os outros artrópodes apresentaram projeções mais curtas, indicando que ocorreram durante a maioria dos meses da amostra ou que foram relacionados com várias plantas. Os artrópodes podem ser influenciados pela vegetação através de diferentes processos. Por exemplo, a herbivoria foliar pode afetar indiretamente a biota do solo e afetar os processos subterrâneos afetando as plantas.

Esses efeitos podem manifestar-se como mudanças na alocação de planta C e exsudação de raiz ou como na biomassa e morfologia da raiz, o que poderia alterar a qualidade da lixa vegetal (Bardgetta e Yeatesc, 1998). No presente estudo, as mudanças produzidas nas área por P1, P6, P2 e P20, juntamente com a maior precipitação durante esses meses, poderiam ter afetado os decompositores da lixeira, como o Collembola. Além disso, a presença de Collembola pode modificar a composição química do solo que afeta diferentes espécies de plantas (Bardgett & Chan, 1999). Portanto, a grande quantidade de collembolas durante julho e agosto pode afetar a

composição química do solo e, conseqüentemente, os resultados encontrados em setembro.

Em geral, a biodiversidade semiárida brasileira é pouco conhecida (Pimentel et al., 2012) e, em particular, a biota da Caatinga é mal protegida. Por exemplo, em 2004, vários grupos de animais do estado da Bahia foram inventariados através da Avaliação Ecológica Rápida e foram coletadas 14 espécies de Asilidae (Diptera), a maioria dos novos registros para o estado (Bravo, 2006), destacando o conhecimento limitado da biodiversidade da região. Os projetos de estratégias de conservação para este bioma podem reduzir as perdas de habitat e a desertificação, manter os principais serviços ecológicos necessários para melhorar os padrões de vida da população rural e promover o uso sustentável dos recursos naturais da região (Leal et al., 2005). Neste contexto, os resultados do presente estudo contribuem para aumentar o conhecimento sobre o ecossistema semiárido no Brasil.

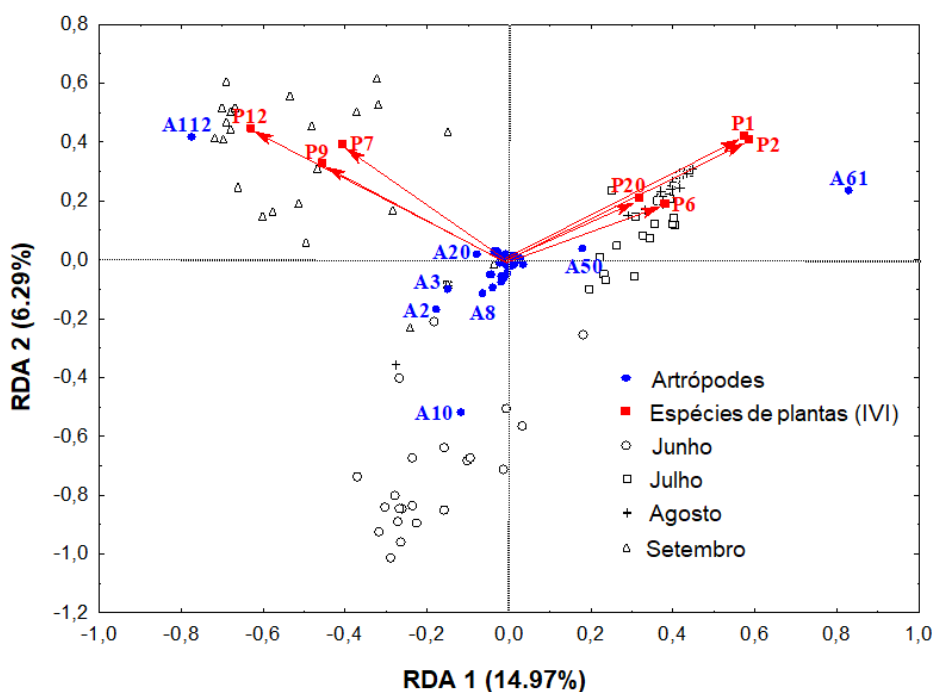


Figura 4. RDA triplot mostrando as relações entre a abundância de artrópodes transformada por Hellinger (variável resposta) (●), o IVI das espécies de plantas (variável exploratória) (■), e pontos de amostragem em Junho, Julho,

Agosto e Setembro (◦, ◻, +, △). A porcentagem de variância explicada pelos dois primeiros eixos canônicos (RDA 1 e RDA 2) é indicada entre colchetes nos títulos dos eixos. *P1 - *Alternanthera tenella*, P6 - *Centratherum punctatum*, P2 - *Louiteigia ballotifolia*, P7 - *Solanum lycocarpum*, espécie 2 não identificada (P20), P9 - *Pavonia cancellata*, P12 - *Chamaecrista rotundifolia*. A2, A3, A8 – morfoespécie da ordem Hymenoptera; A10 – morfoespécie da ordem Diptera; A20 - ; A50, A61 - morfoespécie da ordem Collembola; A112 – larvas não identificadas.

3.2. Distribuição espacial das margens do campo:

A maioria das espécies de artrópodes experimentam seus habitats em escalas espaciais além do nível da parcela e há um aumento de inimigos naturais em toda a interface de culturas não cultivadas (Tscharntke et al., 2007). Neste estudo, avaliou-se a abundância e a riqueza de artrópodes de acordo com a distância das margens do campo durante o período de amostragem, a fim de analisar padrões de distribuição potenciais relacionados à proximidade com as bordas da cultura. Os resultados indicaram uma distribuição temporal e espacial dos artrópodes.

Em junho, a abundância total de artrópodes (N) e a riqueza (S) foram significativamente maiores nas amostras externas do que nas internas (N junho: $w = 110$, $p\text{-valor} = 0,030$; S junho: $114,5$, $p\text{-valor} = 0,014$). Em julho, não foram encontradas diferenças em N entre amostras internas e externas, mas S foi significativamente maior nas amostras externas (N julho: $w = 57$, $p\text{-valor} = 0,402$; S julho: $w = 114,5$, $p\text{-valor} = 0,034$). Tanto N e S não foram significativamente diferentes entre amostras internas e externas em agosto e setembro (N agosto: $w = 51,5$; $p\text{-valor} = 0,248$; S agosto: $w = 88$, $p\text{-valor} = 0,357$; N setembro: $w = 65,5$; $0,729$; S setembro $w = 74,5$, $p\text{-valor} = 0,906$) (Figura 5). Isso poderia indicar a colonização por artrópodes ao longo do período da amostra e está de acordo com vários estudos que encontraram colonização de predadores, que invernam nas margens do campo e se

dispersam na safra na primavera nas latitudes onde a primavera é a estação chuvosa e favorável para artrópodes (Landis et al., 2000).

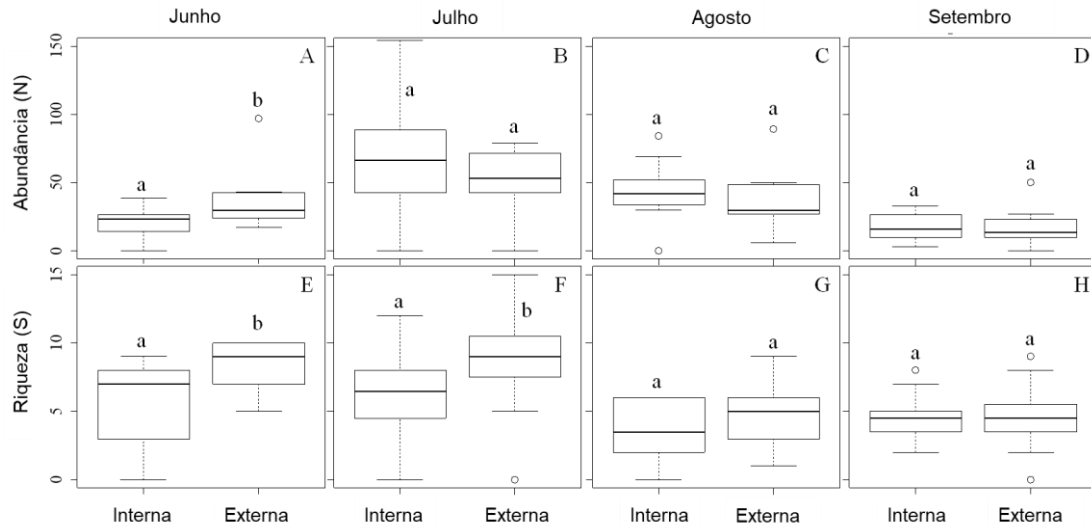


Figura 5. Bloxplots da abundância e riqueza de artrópodes nas armadilhas mais próxima (interior) e mais longe (exterior) do limite da cultura durante os meses de estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas no teste de soma de classificação de Wilcoxon.

3.3. Protocolo de amostragem:

As curvas de taxa de acumulação (Figura 6) para os meses estudados foram calculadas utilizando os parâmetros mostrados na tabela 3. A porcentagem de riqueza registrada variou de 67,25 a 75,51 no caso dos artrópodes e de 76,29 a 90,17 no caso de as ervas daninhas. A qualidade dos estoques foi sempre superior a 0,1 para artrópodes, indicando que uma amostragem mais intensiva seria necessária para um inventário representativo. O número de amostras para $C_i = 0,1$ variou de 54 a 80. No caso das espécies espontâneas, foi em todo mês inferior a 0,1 indicando uma boa qualidade do inventário e o número de amostras para $C_i = 0,1$ variou de 22 a 24. Estes parâmetros não foram calculados para espécies espontâneas em junho, uma vez que apenas uma espécie foi encontrada.

Assim, neste estudo, o número mínimo de amostras para elaborar um inventário abrangente de artrópodes e plantas em uma cultura de Sisal foi determinado. No entanto, a biologia e a distribuição das espécies no campo podem trazer vários constrangimentos para a otimização de um protocolo de amostragem (Benhadi-Marín et al., 2011) e diferentes técnicas de amostragem, como armadilhas entomológicas ou cromotrópicas, poderiam melhorar a qualidade da inventário. Por exemplo, Prasifka et al. (2007) compararam armadilhas e sacos de lixo e mostraram que os sacos de lixo com maior frequência conseguiram coletar certos grupos de artrópodes associados à umidade em áreas abrigadas e armadilhas mais frequentemente capturam táxons considerados ativos no nível do solo. Além disso, o mínimo de amostras pode visar estoques menos completos, mas mais rápidos, que podem ser suficientemente satisfatórios em função dos objetivos do estudo (Benhadi-Marín et al., 2011).

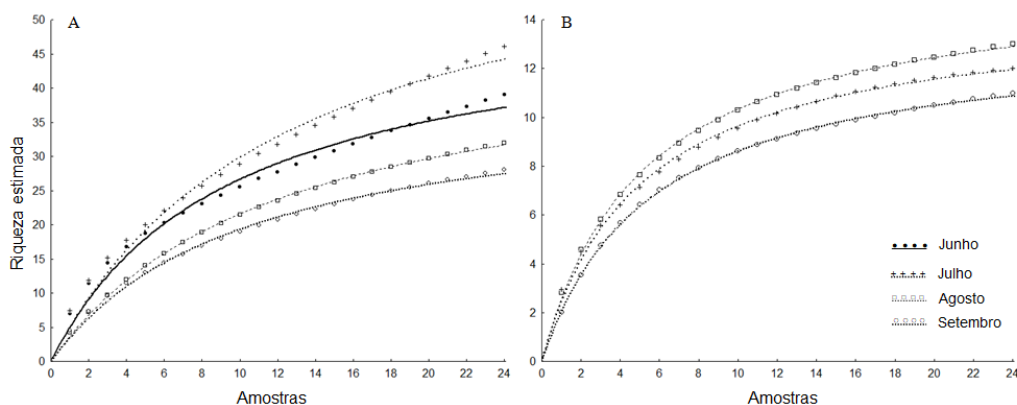


Figura 6. Curvas de acumulação de riqueza estimada para espécies de morfologia de artrópodes (A) e espécies de plantas (B). Cada marca (●, +, □, e ○) representa a média de 500 randomizações nos meses de estudo. As linhas representam a acumulação estimada de táxons.

Tabela 3. Caracterização do inventário de artrópodes e espécies espontâneas coletados de junho a setembro em uma cultura de sisal.

Artrópodes				Espécies espontâneas			
Junho	Julho	Agosto	Setemb.	Junho	Julho	Agosto	Setemb.

Riqueza	39	46	32	28	1	12	13	11
Parâmetro a	5.509	5.369	3.947	3.816	-	2.914	3.037	2.432
Parâmetro b	0.106	0.797	0.083	0.097	-	0.202	0.194	0.182
Porcentagem de taxa registrada (F)	75.51	68.273	67.253	71.397	-	83.235	90.171	76.299
Qualidade do inventário (Ci)	0.435	0.683	0.441	0.343	-	0.085	0.095	0.084
Porcentagem da variância explicada (R ²)	98,164	98,725	99.935	99.569	-	99.648	99.896	76.298
Número de amostras (n) para Ci = 0.1	61	80	64	54	-	22	24	22

4.REFERÊNCIAS

- BÀRBERI, P.; BURGIO, G.; DINELLI, G.; MOONEN, A.C.; OTTO, S.; VAZZANA, C.; ZANIN, G. Functional biodiversity in the agricultural landscape: relationships between weeds and arthropod fauna. — *Weed Research.*, v. 50, p. 388-401, 2010.
- BARDGETT, R.; CHAN., K.F: Experimental evidence that soil fauna enhance nutrient mineralization and plant nutrient uptake in montane grassland ecosystems. — *Soil Biol. Biochem.*, v. 31, n. 7,1007-1014, 1999.
- BARDGETTA, R.D.; YEATESC, G.W. Linking above-ground and below-ground interactions: how plant responses to foliar herbivory influence soil organisms. — *Soil Biol. Biochem.*, v. 30, p. 1867-1878, 1998.
- BAUTISTA-CRUZ, A.; CARRILLO, R.; ARNAUD-VIÑAS, M.R.; DE LEÓN, F: Soil fertility properties on *Agave angustifolia* Haw. Plantations. *Soil Till. Res.*, v. 9, n.1-2, p. 342-349, 2007.
- BENHADI-MARÍN, J.; PEREIRA, J.A.; BARRIENTOS, J.A.; BENTO, A.; SANTOS, S.A.P. Diversity of predaceous arthropods in the almond tree canopy in Northeastern Portugal: A methodological approach.. — *Entomol. Sci.* , v.14, p. 347–358, 2011.
- BORCARD, D.; GILLET, F.; LEGENDRE, P. Numerical Ecology with R. Springer, New York, p. 306, 2011.

- BRAVO, F. Perspectives for the study of Diptera (Insecta) in the Brazilian Semi-arid. In: Paganucci de Queiroz, L., Rapini, A. & Giuletti, A.M. (eds): Towards Greater Knowledge of the Brazilian Semi-arid Biodiversity. Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT), Brasília, pp. 87-88, 2006.
- CABI, 2017: Invasive Species Compendium. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/3855#7653AB7A-0D29-4346-833E-BF36D323BEA7> (last accessed 03 Jan. 2018).
- COLWELL, R.K.; 2009: EstimateS: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples. Version 8.2. User's Guide and application. URL: <http://purl.oclc.org/estimates> (last accessed 03 Jan. 2018).
- COUTINHO, W.M.; SUASSUNA, N.D.; LUZ, C.M.; SUINAGA, F.A.; SILVA, O.R.R.F. Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. — Fitopatol. Bras., v. 31, n.6, p. 606, 2006.
- FAO, 2017: Jute, Kenaf, Sisal, Abaca, Coir and Allied Fibres. Market and Policy Analysis of Raw Materials, Horticulture and Tropical (RAMHOT). Products Team Trade and Markets Division. Statistical Bulletin. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 33 pp.
- GOBEILLE, A.; YAVITT, J.; STALCUP, P.; VALENZUELA, A. Effects of soil management practices on soil fertility measurements on *Agave tequilana* plantations in Western Central Mexico. — Soil Till. Res., v. 87, p. 80-88, 2006.
- GONZÁLEZ-CASTILLO, M.P.; QUINTOS ESCALANTE, M.; CASTAÑO-MENESES, G. Arthropods in natural communities in Mescal *Agave* (*Agave durangensis* Gentry) in an Arid Zone. — Am. J. Appl. Sc., v. 8, n. 10, p. 933-944, 2011.
- GWENDOLYN, L.W.; SMITH R.L. Patterns of Faunal Succession in *Agave palmeri*. — The Southwestern Naturalist., v. 32, n. 4, p. 489-497, 1987.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015: Produção Agrícola Municipal (PAM). Sisal. Sidra. Sistema IBGE de recuperação automática. URL

<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pam/default.asp?o=29&i=P>
(last accessed 03 Jan. 2018).

- JIMÉNEZ-VALVERDE, A.; HORTAL, J. The species accumulation curves and the need to evaluate the quality of biological inventories. — *Revista Ibérica de Aracnología*, v. 8, p. 151–161, 2003.
- JOERN, A.; LAWS, A.N. Ecological Mechanisms Underlying Arthropod Species Diversity in Grasslands. — *Annu. Rev. Entomol.*, v. 58, p. 19–36, 2013.
- JOERN, A. Disturbance by fire frequency and bison grazing modulate grasshopper assemblages in tallgrass prairie. — *Ecology*, v. 86, p. 861–73, 2005.
- LANDIS, D.A.; WRATTEN, S.D.; GURR, G.M. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. — *Annu. Rev. Entomol.*, v. 45, p. 175–201, 2000.
- LEAL, I.R.; CARDOSO DA SILVA, J.M.; TABARELLI, M.; LANCHER, T.E.J.R. Changing the Course of Biodiversity Conservation in the Caatinga of Northeastern Brazil. — *Conserv. Biol.*, v. 19, n. 3, p. 701-706, 2005.
- LIMA VERDE, V.M.C. Estudo de caso: desenvolvimento sustentável da região sisalera. Instituto Brasileiro de administração Municipal, Rio de Janeiro. p. 82, 2007.
- MARQUES, G.D.V.; DEL-CLARO K.. Sazonalidade, abundância e biomassa de insetos de solo em uma reserva de Cerrado. — *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 12, n. 2, p. 141-150, 2010.
- OKSANEN, J.; GUILLAUME, B.F.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MINCHIN, P.R.; O'HARA, R.B.; SIMPSON, G.L.; SOLYMOS, P.; HENRY, M.; STEVENS, H.; WAGNER, H. 2016. Vegan: Community Ecology Package. R package versão 2.3-4 URL: <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> (last accessed 03 Jan. 2018).
- PIMENTEL, M.S.; SILVA CARVALHO, R.; PIONÓRIO VILARONGA, D.; VIEIRA MARTINS, L.M.; LOPES DA SILVA, A.V. Dynamic of epigeous macrofauna under organic soil management in the Brazilian semi-arid region. — *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 33, p. 183-192, 2012.

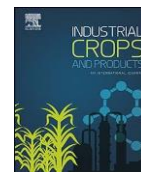
- PRASIFKA, J.R.; LOPEZ, M.D.; HELLMICH, R.L.; LEWIS, L.C.; DIVELY G.P.
Comparison of pitfall traps and litter bags for sampling ground-dwelling arthropods — *J. Applied Entomol.*, v. 131, n. 2, p. 115-120, 2007.
- R Core Team. 2016: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.R-project.org/> (last accessed 03 Jan. 2018).
- RAO, C.R. A review of canonical coordinates and an alternative to correspondence analysis using Hellinger distance. — *Qüestiió*, v. 19, p. 23–63, 1995.
- RZANNY, M.; VOIGT W. Complexity of multitrophic interactions in a grassland ecosystem depends on plant species diversity. — *J. Anim. Ecol.*, v. 81, p. 614–627, 2012.
- SAXENA, M.; MURALLI, S.; NANDA, M.J.; RAMAKRISHNAN N. Sisal: Potential for Employment Generation and Rural Development. In Moni M. & Misra S. (eds): *Rural India: Achieving Millennium Development Goals and Grassroots Development*. Concept Publishing Company, New Delhi, p. 110-117, 2009.
- SILVA, F.P.M. O mercado internacional das fibras naturais: uma análise comparativa do abacá, coco, juta e sisal. FPMS. Textos para Discussão, Salvador, 1, 2014.
- SOBERÓN, J.; LLORENTE, J. The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. — *Conserv. Biol.*, v. 7, p. 480–488, 1993.
- STATSOFT. Statistica (Data Analysis Software System). version 7. StatSoft Inc., Tulsa, O.K. 2008.
- TERÁN-VARGAS, A.P.; AZUARA-DOMÍNGUEZ, A.; VEGAAQUINO, P.; ZAMBRANO-GUTIÉRREZ, J.; BlancomonteRO, C. Biological effectiveness of insecticides to control the agave weevil, *Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), in Mexico. — *Southwestern Entomol.*, v. 37, p. 47-53, 2012.

- TSCHARNTKE, T.; BOMMARCO, R.; CLOUGH, Y.; CRIST, T.O.; KLEIJN, D.; RAND, T.A.; TYLIANAKIS, J.M.; NOUHUYS, S.; VIDAL, S. Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. — *Biol. Control.*, v. 43, p. 294–309, 2007.
- TYLIANAKIS, J.M.; TSCHARNTKE, T.; LEWIS O.T. Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. — *Nature*, v. 445, p. 202–205, 2007.
- VALDÉS, M.A.E.; ALDANA, L.L.L.; FIGUEROA BRITO, R.; GUTIÉRREZ, M.O.; HERNÁNDEZ, M.C.R.; CHAVELAS, T.M. Trapping of *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) with two natural baits in a field of *Polianthes tuberosa* (Liliales:Agavaceae) in the state of Morelos, México. — *Fla Entomol.*, v. 88, n. 3, p. 338-340, 2009.
- VALDÉS-ESTRADA, M.; ALDANA-LLANOS, L.; SALINAS-SÁNCHEZ, D.O.; FIGUERIA-BRITO, R.; HERNÁNDEZ-REYES, M.C.; VALLADARES-CISNEROS, M.G. Toxicity of Plant Extracts to *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae). — *Fla. Entomol.*, v. 99, n. 2, p. 226-230, 2016
- VILLA, M.; SANTOS, S.A.P.; MARRÃO, R.; PINHEIRO, L.A.; LÓPEZ-SAEZ, J.A.; MEXIA, A.; BENTO, A.; PEREIRA, J.A. Syrphids feed on multiple patches in heterogeneous agricultural landscapes during the autumn season, a period of food scarcity. — *Agr. Ecosyst. Environ.*, v. 233, p. 262-269, 2016.

ARTIGO 4

***Croton argyrophyllus* KUNTH AND *croton heliotropiifolius* KUNTH: PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION AND BIOACTIVE PROPERTIES**

¹Artigo publicado pelo periódico científico Industrial Crops and Products.



Croton argyrophyllus Kunth and Croton heliotropiifolius Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties

Sara Samanta da Silva Brito^a, Franceli Silva^{a,**}, Ricardo Malheiro^b, Paula Baptista^b, José Alberto Pereira, b,*



^a Center for Agricultural, Environmental and Biological Sciences, Federal University of Recôncavo da Bahia (UFRB), University Campus, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brazil

^b Centro de Investigação de Montanha (CIMO), School of Agriculture, Polytechnic Institute of Bragança, Santa Apolónia Campus, 5300-253, Bragança, Portugal

* Corresponding author at: Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253, Bragança, Portugal.

** Corresponding author. Centre for Agricultural, Environmental and Biological Sciences, Federal University of Recôncavo da Bahia, 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brazil. E-mail addresses: franceli.silva@ufrb.edu.br (F. Silva), jpereira@ipb.pt (J.A. Pereira).

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.044>

Received 25 August 2017; Received in revised form 23 December 2017; Accepted 19 January 2018

ARTICLE INFO

Keywords:

Medicinal plants
Croton spp
Essential oil
Chemical composition
Bioactive properties

ABSTRACT

Croton heliotropiifolius Kunth and *Croton argyrophyllus* Kunth are endemic plant species from northeastern Brazil widely used in folk medicine and scarcely studied. In this context, the essential oils (EO's) and methanolic extracts (leaves and stalk) of both species were chemically characterized, and their antioxidant and antimicrobial activities were assessed. The chemical characterization of the EO's identified sixty components, being the major ones in *C. argyrophyllus* bicyclogermacrene (14.0%), β -pinene (8.9%) and spathulenol (8.7%), and in *C. heliotropiifolius* limonene (16.9%), α -pinene (13.3%) and caryophyllene (12.1%). Essential oils and methanolic extracts from leaves of *C. argyrophyllus* possess greater antioxidant potential, which could be related to the high levels of total phenols and flavonols. The antimicrobial activity of *C. argyrophyllus* essential oil proven to be more efficient than chloramphenicol (30 $\mu\text{g mL}^{-1}$), with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* and 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ against *B. cereus*. Leaf extracts presented high activity against yeasts (MIC = 50 mg mL^{-1}) being *C. heliotropiifolius* effective against *Candida albicans* and *C. parapsilosis*, while *C. argyrophyllus* was effective against *C. glabrata*. Overall results showed that these plant species are potential sources of phytochemicals with interest in the fields of both pharmacology (e.g., antimicrobial) and human health (e.g., antioxidant). Furthermore, in the socio-economic aspect, these results can improve and disseminate the cultivation of these species, inducing improvements in the rural populations.

1. Introduction

The genus *Croton*, the most diverse genus of the Euphorbiaceae family, contains about 1300 species distributed across the world's tropical regions. In Brazil, around 350 of these species can be found, being 252 of them considered endemic (Secco et al., 2012). *Croton* great diversity in species is also reflected in their chemical constituents, most of them still unknown (Dória et al., 2010). *Croton heliotropiifolius* Kunth and *Croton argyrophyllus* Kunth are popularly known in Brazil as “velame” or “velame-branco” and “cassutinga”. They are endemic species from northeastern Brazil and are frequently found in the vegetation of the Caatinga biome. These species are greatly used in folk medicine in Africa, Asia and South America, generally as stimulants, tranquilizers, insecticides, vermifuges and analgesics, among other uses (Compagnone et al., 2010).

Different chemical classes of compounds were identified in *Croton* species, such as terpenoids and phenylpropanoids, which could be related to the biological activity demonstrated by their species (Aguiar et al., 2016). Concerning to *C. heliotropiifolius* and *C. argyrophyllus* some important terpenic compounds, monoterpenes and sesquiterpenes, were

identified namely limonene, β -caryophyllene, spathulenol, bicyclogermacrene and germacrene D (Fontenelle et al., 2008; Angélico et al., 2014; Souza et al., 2017). Plant extracts and essential oils are good sources of molecules such as terpenoids, flavonoids, and tannins (Sun et al., 2015), that possess important biological activities. When present in food, due to their antimicrobial and antioxidant activities prevent the deterioration and increase the nutritional value. The importance of this type of matrices increases nowadays with the knowledge of the rise of resistance to human pathogenic bacteria and fungi to the available synthetic products (Grundmann et al., 2011). In this context, the use of plant extracts and essential oils in food and pharmaceutical industries has been growing significantly and is an open field with great potential. Recent works have demonstrated the antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of *Croton* species (Queiroz et al., 2014; Wijesundara et al., 2016) which are correlated with the chemical composition of their essential oils. Compounds present in the essential oils of some *Croton* species, such as spathulenol and caryophyllene oxide, have the capacity to inhibit the growth of some filamentous fungi species (Wenqiang et al., 2006); whereas bicyclogermacrene, α -pinene

and caryophyllene have been described to possess antimicrobial activity (Cavin et al., 2006; Morais et al., 2006; Ramos et al., 2013). In this context, the main objective of this work is to contribute for the phytochemical characterization of two key plant species of established socio-economic importance in the Caatinga biome, namely *C. heliotropiifolius* and *C. argyrophyllus*. Exploitation of their essential oil and aerial part for bioactive compounds (i.e. antioxidant and antimicrobial) is imperative to better know the real potential of these plants as a source for drug development and use as a health supplement.

2. Material and methods

2.1. Standards and reagents

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS [2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), iron (III) chloride, potassium persulfate, trichloroacetic acid, gallic acid, quercetin, Tween 80, rezasurin, dimethyl sulfoxide, sodium chloride, agar-agar and saturated alkanes series were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Methanol (HPLC grade), ethanol absolute, sodium dihydrogen phosphate dihydrate, glucose, and potassium hexacyanoferrate (III) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Hydrochloric acid, disodium hydrogen phosphate 2-hydrate, and caffeic acid were obtained from Panreac (Barcelona, Spain). Chloramphenicol and fluconazole were obtained from Oxoid Ltd (Basingstoke, UK). Yeast extract, peptone and tryptone were obtained from Himedia (Mumbai, India). The water was treated in a Milli-Q water purification system (Millipore, Bedford, MA, USA).

2.2. Plant material

Both species were collected in the Caatinga biome (Bahia, Brazil) between February and April 2016. *Croton argyrophyllus* was recovered in São Domingos (11°27'56"S 39°31'34"W), and *C. heliotropiifolius* in Conceição do Coité (11°33'50"S 39°16'58"W). Voucher species were deposited in the Herbarium of the Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, with the catalog numbers HURB 15400, for *C. heliotropiifolius*, and HURB 15401 for *C. argyrophyllus*. For each species, six independent samples were taken and prepared separately.

2.3. Distillation of essential oil and preparation of extracts

The plant material was dried in a heated chamber with forced circulation at 40 °C until a constant weight was reached. This took around three to four days. After drying, the leaves were ground up manually and 50 g of them were placed in a balloon flask and distilled water was added up to a total volume of three liters. This mixture was then subjected to a hydrodistillation process in steam using Clevenger apparatus (model TE 2762 from Tecnal) for two hours, to obtain the essential oil. Methanolic extracts were prepared from the leaves and stalk. Briefly, 500 mL of methanol (HPLC grade) was added to 50 g of plant material and the extraction was carried out during 72 h, being the solvent renewed every 24 h (500 mL of methanol) and recovered through filtration. Once finished the 72 h, the solvents were combined and the methanolic extract was obtained under vacuum in a rotary evaporator (RE300/MS, Bibby Scientific Limited, Staffordshire, UK) at a temperature of 40 °C. All the extractions, both for essential oils and methanolic extracts were carried out in triplicate.

2.4. Characterization of essential oils

The essential oils of *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* were determined through gas chromatography analysis using mass spectrometry detection (GC/MS). Before injection, 10 µL of the essential oil were diluted in 0.5 mL of methanol, and 1 µL of the volume was injected.

2.4.1. Gas chromatography with mass spectrometry detection (GC/MS)

The gas chromatograph used was a Shimadzu model GC-2010 coupled to a GC/MS-QP 2010 Shimadzu mass spectrometer (Kyoto, Japan). A TRB-5MS capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm; Teknokroma, Spain) was used. The injector port (model AOC20i + s) was heated to

220 °C, and the injections were performed in split mode (1:20). The oven temperature was programmed to start at 60 °C and then increase by 3 °C/min until reaching 240 °C, and this was then maintained for 20 min. The carrier gas was helium (Praxair, Portugal), at a linear velocity of 30 cm/s and a total flow rate of 44.3 mL/min. The temperature of the ionization source was maintained at 240 °C, the ionization energy at 70 eV, and the ionization current at 0.1 kV. Compounds were identified by comparing their MS spectra with those obtained from a database (NIST 11; the minimum identification similarity is 80%), and with those of pure compounds analyzed under the same conditions, and by comparing the retention indices (in the form of Kovats indices, with the series of alkanes injected with the same chromatographic conditions used for the EO's) with data in the literature (Adams, 2007). Retention indices were calculated according to van Den Dool and Kratz (1963). The results were expressed as the relative percentages of each compound, calculated via normalization of the chromatographic peak areas.

2.5. Antioxidant activity

Three methodologies were used to evaluate the antioxidant potential of the species studied. For the essential oil, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) methods were used, at concentrations ranging from 10 to 50 mg mL⁻¹. For the methanolic extracts from the leaves and stalks, the DPPH, ABTS and reducing power methods were tested, at concentrations ranging from 0.1 to 2.0 mg mL⁻¹. Trolox was used as a reference for the three methods at concentrations ranging from 0.0025 to 0.25 mg mL⁻¹.

2.5.1. Scavenging effect on DPPH radicals

The capacity to scavenge the DPPH free radical was monitored in accordance with the method of Hatano et al. (1988) with minor modifications. The extract solution/EO (0.3 mL) was mixed with 2.7 mL of a methanol solution containing DPPH radicals (6 × 10⁻⁵ mol L⁻¹). The mixture was shaken vigorously and left to stand for 60 min and three hours, respectively for the methanolic extracts and EO's, at room temperature in the dark (until stable absorbance values were obtained). The reduction of the DPPH radical was measured by continuous monitoring of the absorption decrease at 517 nm (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). The DPPH scavenging effect was calculated as the percentage of DPPH discoloration, using the following formula: [(A_{DPPH} - A_S)/A_{DPPH}] × 100, where A_S was the absorbance of the solution when the sample extract has been added at a particular level, and A_{DPPH} was the absorbance of the DPPH solution. The EO/methanolic extract concentration providing 50% inhibition (EC₅₀) was calculated from the graph of percentage scavenging effect against extract concentration in the solution.

2.5.2. Scavenging effect on ABTS radicals

The ABTS method was performed as described by Sánchez et al. (2007), based on the capacity of a sample to inhibit the ABTS radical. The ABTS scavenging effect was calculated as the percentage of ABTS discoloration, using the same formula as used for the DPPH method. The ABTS radical was generated by chemical reaction with potassium persulfate (K₂S₂O₈). To 25 mL of ABTS (7 mmol L⁻¹) were added 440 µL of K₂S₂O₈ (140 mmol L⁻¹), being the solution kept in darkness during 12–16 h at room temperature in order to form the radical. An accurate volume of the previous solution was diluted in absolute ethanol until an absorbance of 0.70 ± 0.02 at λ = 734 nm (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). Once the radical was formed 2 mL of the ABTS radical solution were mixed with 100 µL of the methanolic extracts/EO and the absorbance measured at λ = 734 nm. The ABTS scavenging effect and EC₅₀ values were calculated according to the previously mentioned for the DPPH method.

2.5.3. Reducing power

The reducing power was determined in accordance with the procedure described by Berker et al. (2007). The extract solution (1 mL from 0.1 to 2 mg mL⁻¹) was mixed with 2.5 mL of 200 mmol L⁻¹ sodium phosphate

buffer (pH 6.6) and 2.5 mL of 1% potassium ferricyanide. The mixture was incubated at 50 °C for 20 min. After cooling, 2.5 mL of 10% trichloroacetic acid (w/v) were added and the mixture was centrifuged at 1000 rpm for 8 min (Centorion K24OR-2003 refrigerated centrifuge). The upper layer (2.5 mL) was mixed with 2.5 mL of deionised water and 0.5 mL of 0.1% ferric chloride, and the absorbance was measured spectrophotometrically at 700 nm (higher absorbance readings indicate higher reducing power). Extract concentration providing 0.5 of absorbance (EC₅₀) was calculated from the graph of absorbance at 700 nm (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation) against extract concentration in the solution.

2.6. Determination of different groups of phenolic compounds

The total phenols, hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols content were determined in triplicate in accordance with the methodology described by Boulanouar et al. (2013). One mL of the methanolic extract (1 mg mL⁻¹) was diluted with 1 mL of aqueous ethanol (95% v/v) containing 0.1% hydrochloric acid and 8 mL of 2% hydrochloric acid. The absorbance was measured at 280 nm to determine total phenols, 320 nm for hydroxycinnamic acid derivatives, and 360 nm for flavonols content (Genesys 10UV, Thermo Electron Corporation). The results were expressed as gallic acid equivalents (GAE) g⁻¹ of extract for total phenols, caffeic acid equivalents (CAE) g⁻¹ of extract for hydroxycinnamic acid derivatives and quercetin (QE) g⁻¹ of extract for flavonols. The calibration curves followed the same methodology applied to the methanolic extracts, with concentrations varying from 0.001 and 1 mM for gallic and caffeic acids, and concentrations from 0.001 to 0.5 mM for quercetin.

2.7. Antimicrobial activity

The antimicrobial activity of both the extracts and the essential oils obtained from *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* were evaluated against Gram-positive bacteria (*Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* 48886 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* CECT 423 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145), and yeasts (*Candida albicans* IGC 3436T, *Candida glabrata* IGC 2418T and *Candida parapsilosis* 28B), which were obtained from the collection from the University of Minho, Portugal. The yeast strains were maintained at 4 °C in YEPDA medium [(Yeast Extract-Peptone-Dextrose-Agar) 1% (w/v) yeast extract, 2% (w/v) peptone, 2% (w/v) glucose and 2% (w/v) agar], and were subcultured periodically. Growth was promoted aerobically at 28 °C. Bacterial stock cultures were maintained at 4 °C in LBA medium [(Luria-Bertani Agar) tryptone 1% (w/v), yeast extract 0.5% (w/v), NaCl 1% (w/v) and agar 2% (w/v)], and were subcultured periodically at 37 °C.

The minimum inhibitory concentration (MIC) values for both the extracts and the essential oils were determined using a resazurin microtiter assay plate (Sarker et al., 2007) in YEPDA medium (for yeast) or LBA medium (for bacteria). Briefly, stock solutions of essential oils (100 µL mL⁻¹ in 5% Tween 80) and extracts (100 mg mL⁻¹ in 10% dimethyl sulfoxide – DMSO) were diluted in broth medium, in 96-well microtiter plates, to yield final concentrations ranging from 10 to 50 µL mL⁻¹ for essential oils and from 5 to 50 mg mL⁻¹ for plant extracts. Each well was further inoculated with bacterium/yeast suspension to achieve the final concentration of 10⁶ colony-forming units (CFU) mL⁻¹, in a final volume of 150 µL. Chloramphenicol (30 µg mL⁻¹) and fluconazole (25 µg mL⁻¹) were used as positive controls for antibacterial and antifungal activity, respectively. Negative controls were carried out with resazurin and culture medium, and with the presence of the microorganisms, and no color changes were recorded, indicative that resazurin has no influence in the results obtained. Bacterium/yeast inoculum with 10% (v/v) DMSO or 5% (v/v) Tween 80 and without essential oils/extracts were also included as controls. All experiments were performed in triplicate. Antimicrobial activity was detected after 24 h of incubation at 25 °C (for yeast) or 37 °C (for bacteria), by adding 25 µL (for bacteria) or 30 µL (for yeast) of resazurin-staining aqueous solution (0.15 mg mL⁻¹) to each well. Any color changes from purple to pink or colorless were recorded as positive for bacterial/yeast growth. MICs were

recorded as the lowest concentration of extract/essential oil that inhibited the growth of bacteria/ yeast. The results were expressed as mg mL⁻¹ or µL mL⁻¹ for methanolic extracts and essential oils, respectively.

2.8. Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) was performed using the Sisvar statistical software, version 5.6. Means were compared using Tukey's test, with a 5% probability level.

Correlations between the antioxidant methods and the phenolic compounds in the plant extracts from the two species were performed by means of regression analysis using the Excel software (Microsoft Corporation).

Principal component analysis (PCA) was applied to reduce the number of variables corresponding to the chemical components of the essential oils of *C. heliotropiifolius* and *C. argyrophyllus*. This produced a smaller number of new derived variables (principal components or factors) that adequately summarized the original information. Overall, 60 variables corresponding to the essential oil components of the two *Croton* species were used in PCA. This analysis was performed using the SPSS software, version 22.0 (IBM Corporation, New York, USA).

3. Results and discussion

3.1. Chemical composition of the essential oils

The essential oils composition of *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* are described in Table 1. From the essential oil of the analyzed species, a total of 60 compounds were identified, 51 and 37 in *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* respectively (Fig. 1 and Table 1). From those, 23 were exclusively identified in *C. argyrophyllus* and nine in *C. heliotropiifolius*, while 28 other compounds were present in both species. The composition of essential oils of the analyzed species differed both quantitatively and qualitatively. In a general way, the relative abundance of each identified compound differed statistically (P < 0.001) among species, with the exception of humulene (P = 0.713) and α-murolene (P = 0.501) (Table 1).

The essential oil of *C. argyrophyllus* was mainly constituted by bicyclogermacrene, accounting for 14.0%, followed by β-pinene (8.9%), spathulenol (8.7%) and caryophyllene (7.6%) (Table 1). Similarly, to the present work, the most abundant compound observed by Araújo et al. (2014) in *C. argyrophyllus* essential oil was bicyclogermacrene, that represents 27.8% of the total identified components, followed by δelemene (8.7%), β-elemene (8.5%), and prenopsan-8-ol (8.5%).

Table 1

Volatile composition of the essential oils of *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth (mean ± SD; n = 6) (only the components with a relative area greater than 0.1% were reported).

Oil composition	LRI Lit	EOCA (%) ¹	EOCH (%) ²	P - value
1 Tricyclene	926	n.d.	0.29 ± 0.01	–
2 α-thujene	930	1.13 ± 0.05	1.71 ± 0.04	< 0.001
3 α-pinene	939	4.06 ± 0.13	13.30 ± 0.17	< 0.001
4 Camphene	954	0.14 ± 0.01	0.91 ± 0.02	< 0.001
5 Sabinene	975	1.05 ± 0.04	4.75 ± 0.04	< 0.001
6 β-pinene	979	8.92 ± 0.27	1.28 ± 0.03	< 0.001
7 β-myrcene	990	2.78 ± 0.09	2.52 ± 0.04	< 0.001
8 α-phellandrene	1002	n.d.	2.81 ± 0.03	–
9 3-carene	1011	1.61 ± 0.08	n.d.	–
10 α-terpinene	1017	0.12 ± 0.03	0.63 ± 0.04	< 0.001
11 p-cymene	1024	0.33 ± 0.02	2.75 ± 0.03	< 0.001
12 Limonene	1029	n.d.	16.91 ± 0.13	–
13 β-phellandrene	1029	5.72 ± 0.13	n.d.	–
14 1,8-cineole	1033	n.d.	1.14 ± 0.09	–
15 (Z)-β-ocimene	1037	0.51 ± 0.01	0.70 ± 0.01	< 0.001
16 γ-terpinene	1059	0.15 ± 0.03	9.55 ± 0.06	< 0.001
17 (E)-sabinene	1070	0.17 ± 0.03	n.d.	–
18 α-terpinolene	1088	0.40 ± 0.03	0.75 ± 0.03	< 0.001
19 Linalool	1096	1.07 ± 0.03	0.36 ± 0.03	< 0.001
20 Terpinen-4-ol	1177	0.17 ± 0.01	0.25 ± 0.01	< 0.001
21 Naphthalene	1181	0.35 ± 0.01	0.22 ± 0.02	< 0.001

22	α -terpineol	1188	0.19 \pm 0.02	n.d.	–
23	Bornyl acetate	1285	n.d.	1.40 \pm 0.03	–
24	δ -elemene	1338	0.54 \pm 0.04	n.d.	–
25	β -terpinyl acetate	1349	0.17 \pm 0.02	n.d.	–
26	α -copaene	1376	0.13 \pm 0.01	0.16 \pm 0.02	0.005
27	β -bourbonene	1388	0.25 \pm 0.01	0.07 \pm 0.05	< 0.001
28	Elemene	1390	3.00 \pm 0.07	0.14 \pm 0.01	< 0.001
29	Gurjunene	1409	0.12 \pm 0.02	n.d.	–
30	Caryophyllene	1419	7.65 \pm 0.11	12.10 \pm 0.17	< 0.001
31	β -gurjunene	1433	0.60 \pm 0.06	n.d.	–
32	Aromadendrene	1441	0.15 \pm 0.05	n.d.	–
33	Humulene	1454	1.53 \pm 0.04	1.54 \pm 0.02	0.713
34	Alloaromadendrene	1460	0.81 \pm 0.02	0.36 \pm 0.02	< 0.001
35	γ -muurolene	1479	0.29 \pm 0.03	0.14 \pm 0.02	< 0.001
36	Germacrene D	1485	0.76 \pm 0.04	3.11 \pm 0.06	< 0.001
37	Selinene	1490	0.48 \pm 0.04	n.d.	–
38	Viridiflorene	1496	0.23 \pm 0.02	n.d.	–
39	Bicyclogermacrene	1500	14.01 \pm 0.26	10.30 \pm 0.19	< 0.001
40	α -muurolene	1500	0.19 \pm 0.02	0.18 \pm 0.02	0.501
41	Germacrene A	1503	n.d.	0.12 \pm 0.06	–
42	α -bulnesene	1505	1.92 \pm 0.02	n.d.	–
43	β -bisabolene	1509	0.24 \pm 0.02	n.d.	–
44	γ -cadinene	1513	0.52 \pm 0.03	0.39 \pm 0.02	< 0.001
45	δ -cadinene	1523	0.50 \pm 0.03	0.70 \pm 0.09	< 0.001
46	α -calacorene	1545	0.17 \pm 0.01	n.d.	–
47	Elemol	1549	0.73 \pm 0.03	n.d.	–
48	Sesquiterpene-like compound 1	–	6.23 \pm 0.14	n.d.	–
49	Germacrene B	1561	n.d.	0.18 \pm 0.04	–
50	Spathulenol	1578	8.72 \pm 0.10	1.26 \pm 0.05	< 0.001
51	Caryophyllene oxide	1583	2.17 \pm 0.17	1.52 \pm 0.13	< 0.001
52	Guaial	1600	4.14 \pm 0.06	n.d.	–
53	γ -eudesmol	1632	1.51 \pm 0.03	n.d.	–
54	δ -cadinol	1636	n.d.	2.11 \pm 0.04	–
55	β -cadinol	1653	n.d.	0.89 \pm 0.09	–
56	Sesquiterpene-like compound 2	–	1.08 \pm 0.02	n.d.	–
57	Sesquiterpene-like compound 3	–	1.21 \pm 0.02	n.d.	–
58	Sesquiterpene-like compound 4	–	1.14 \pm 0.03	n.d.	–
59	Bunesol	1666	1.13 \pm 0.04	n.d.	–
60	Sesquiterpene-like compound 5	–	0.53 \pm 0.07	n.d.	–
Total identified (%)*			91.71	97.91	

LRI Lit. – linear retention index reported in literature (Adams, 2007); n. d. – not detected. 1 EOCA – essential oil of *C. argyrophyllus*. 2 EOCH – essential oil of *C. heliotropiifolius*.

However, in the work conducted by Fontenelle et al. (2008) the main compound was spathulenol (20.3%), whereas bicyclogermacrene (11.7%) appears in the second position. Also, spathulenol, with 14.3%, was a main component in the work conducted by Morais et al. (2006), with higher values comparatively to those reported in the present study (8.7%).

Concerning *C. heliotropiifolius* essential oil, limonene was the main compound, with 16.9%, followed by α -pinene (13.3%), caryophyllene (12.1%), bicyclogermacrene (10.3%) and γ -terpinene (9.6%) (Table 1). Once again, in general, other authors identified similar compounds although in different quantities. For instance, in the study conducted by Araújo et al. (2017) (E)-caryophyllene was the largest component, accounting for 23.8%, followed by γ -muurolene (10.5%) and viridiflorene (8.1%). Whereas, in other works the main compounds were 1,8-cineole (Angélico et al., 2014) and β -caryophyllene (Neves and Camara, 2012). Still, Filho et al. (2017) characterized the essential oil of this species, in different seasons of the year, observed that the β -caryophyllene, bicyclogermacrene, germacrene-D, limonene, and 1,8-cineole were the major components, varying their relative abundance according to the season.

In general, our results are in agreement with literature for *Croton* species. Nevertheless, for each species, the composition of the essential

oils varies. The observed differences could be attributed to a range of factors: geographical origin of plants, the characteristics of the soil and climatic conditions; season of sample collection (Gupta et al., 2011; Verma and Shukla, 2015); genetic factors and development of adaptive structures to the region; the time of collection along the day (Souza et al., 2017); and extraction conditions, among others. Other important aspect could be related to different chemotypes inside of the same species as noticed in other medicinal plants produced in the same biome. Such existence has already been proven in *C. lichleri* essential oils (Milanowski et al., 2002). Therefore, the results obtained may be indicative of new chemotypes, mainly in the case of *C. heliotropiifolius*, rich in α -pinene (Table 1). This hypothesis need to be deeper studied in the future to verify the possible level of polymorphism within *C. heliotropiifolius* and *C. argyrophyllus*.

The essential oil composition was used to verify whether the two species could be grouped according to their chemical components. For this, PCA was applied to the 60 components of *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius*. The results obtained is depict in Fig. 2. The PCA showed that the two species were completely separated by the first principal component (PC1). *Croton heliotropiifolius* was represented in the positive region of PC1, while *C. argyrophyllus* was represented in the negative region. Three main characteristic groups of compounds (A, B, and C) could be perceived through the PCA results. Group A was composed of five compounds: β -pinene, linalool, elemene, alloaromadendrene and spathulenol (respectively numbers 6, 19, 28, 34 and, 50; Table 1).

These five components were represented in the negative region of PC1, near to the samples of *C. argyrophyllus* essential oils, which means that those compounds were reported in both species, but at higher concentrations in *C. argyrophyllus*, thus characterizing this species. Group B was located in the opposite region and was composed by a group of seven compounds: α -pinene, camphene, sabinene, p-cymene, γ -terpinene, caryophyllene and germacrene D (respectively numbers 3, 4, 5, 11, 16, 30, and 36; Table 1). These seven compounds were present in both species, but with significantly higher abundance in *C. heliotropiifolius*, thus characterizing this species.

However, there was a third group of compounds that also characterized *C. heliotropiifolius* essential oils, which was represented by letter C in Fig. 2. Group C was composed of six compounds: α -phellandrene, 1,8-cineole, bornyl acetate, germacrene A, δ -cadinol, and β -cadinol (respectively numbers 8, 14, 23, 41, 54, and 55; Table 1).

These compounds characterized *C. heliotropiifolius*, since they were only identified in the essential oil of this species, and thus were absent from the chromatographic profile of *C. argyrophyllus* (Table 1).

In the light of the results obtained and the interpretation derived from the PCA results, these two species may have different properties and bioactive potentials. This may explain the results that are presented in the next section.

Fig. 1. Chromatographic profile of the essential oils of *Croton argyrophyllus* (A) and *Croton heliotropiifolius* (B) (numbers correspond to the compounds reported in Table 1).

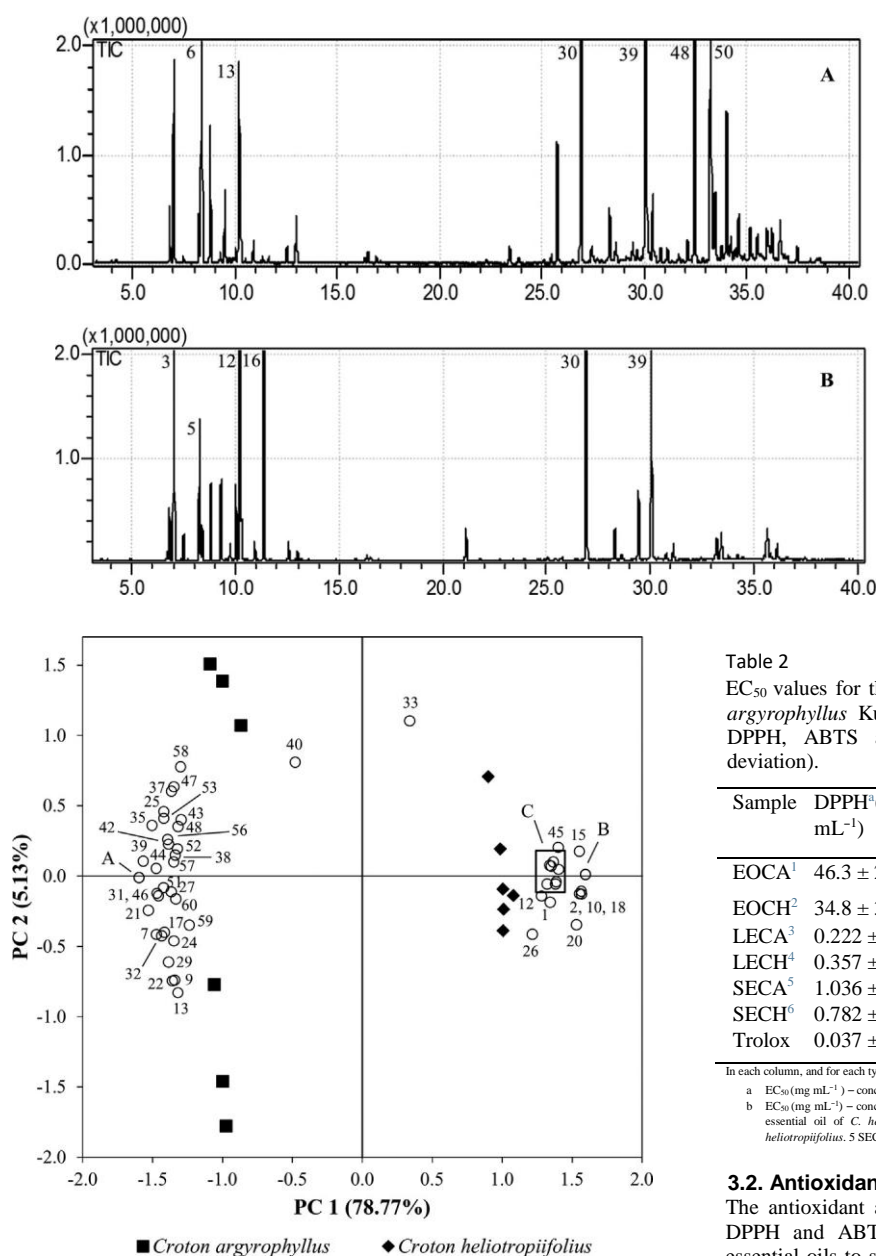


Fig. 2. Principal component analysis on the volatile composition of the essential oils of *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth. The two principal components (PC) explained 83.9% of the total variance. A – compounds 6, 19, 28, 34 and 50 of Table 1; B – compounds 3, 4, 5, 11, 16, 30 and 36 of Table 1; C – compounds 8, 14, 23, 41, 54 and 55.

Table 2

EC₅₀ values for the essential oils and methanolic extracts from *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth through the DPPH, ABTS and reduction power methods (mean ± standard deviation).

Sample	DPPH ^a (EC ₅₀ mL ⁻¹)	mg ABTS ^b (EC ₅₀ mL ⁻¹)	mg Reduction power ^b (EC ₅₀ mg mL ⁻¹)
EOCA ¹	46.3 ± 2.75 b	16.6 ± 2.47 a	–
EOCH ²	34.8 ± 3.75 a	22.7 ± 6.12 a	–
LECA ³	0.222 ± 0.008 a	0.245 ± 0.037 a	0.658 ± 0.021 a
LECH ⁴	0.357 ± 0.004 b	0.314 ± 0.071 a	0.791 ± 0.015 b
SECA ⁵	1.036 ± 0.069 b	0.311 ± 0.112 a	1.781 ± 0.044 b
SECH ⁶	0.782 ± 0.040 a	0.398 ± 0.011 a	1.281 ± 0.065 a
Trolox	0.037 ± 0.000	0.068 ± 0.001	0.159 ± 0.001

In each column, and for each type of extract, different letters mean statistical differences according to Tukey's test.

a EC₅₀(mg mL⁻¹) – concentration at which 50% of the DPPH and ABTS radicals are captured.

b EC₅₀(mg mL⁻¹) – concentration at which the absorbance is 0.5. 1 EOCA – essential oil of *C. argyrophyllus*. 2 EOCH – essential oil of *C. heliotropiifolius*. 3 LECA – leaf extract of *C. argyrophyllus*. 4 LECH – leaf extract of *C. heliotropiifolius*. 5 SECA – stalk extract of *C. argyrophyllus*. 6 SECH – stalk extract of *C. heliotropiifolius*.

3.2. Antioxidant activity

The antioxidant activity of the essential oils was evaluated using the DPPH and ABTS methods. These methods assess the capacity of essential oils to scavenge free radicals and thus provide a measurement of the potential for antioxidant activity. For DPPH, the essential oils from *C. heliotropiifolius* possess higher antioxidant activity, with an EC₅₀ value of 34.8 mg mL⁻¹. Nevertheless, when the ABTS method was tested, no significant differences were found between both species (P = 0.185), *C. argyrophyllus* presented an EC₅₀ of 16.5 mg mL⁻¹ and *C. heliotropiifolius* 22.7 mg mL⁻¹ (Table 2). Other works demonstrated the antioxidant activity of *Croton* essential oils (Ramos et al., 2013; Morais et al., 2006) with similar or better results than the obtained in this work. For the methanolic extracts, and using the same methods, lower EC₅₀ values (mg mL⁻¹) were observed than those of the essential oils. So, a lower extract concentration was needed to neutralize 50% of the free radicals, thus generating a higher antioxidant potential. This fact could be related with the high temperatures and time used for the extraction of

essential oils that could have negative impact on antioxidant molecules (Teixeira et al., 2007).

In a general way, the part of the plant used for extract preparation had a significant effect on the obtained results for the three methods used, being the leaf extracts more antioxidant than the stalk extracts ($P < 0.001$). For leaf extracts, in general, *C. argyrophyllus* is more effective and present higher antioxidant potential than *C. heliotropiifolius* with lower EC_{50} values ($P < 0.001$), with the exception for ABTS method ($P = 0.218$) (Table 2). Using the DPPH method, the EC_{50} values for leaf methanolic extracts were 0.222 mg mL^{-1} and 0.357 mg mL^{-1} for *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius*, respectively. The values obtained with the other methodologies were higher but follow the same tendency, attesting the higher antioxidant potential for *C. argyrophyllus* essential oils (Table 2). For stalk methanolic extracts an opposite tendency was observed, with lower EC_{50} values for the extracts obtained by *C. heliotropiifolius* showing greater antioxidant potential than *C. argyrophyllus* (in DPPH and reducing power). Nevertheless, for ABTS method no significant differences were observed between the two plant species (Table 2). Previous studies have already demonstrated the antioxidant potential of stalk from *Croton* species (Ndhlala et al., 2013) and for the same type of extracts and using the same methodologies, the extracts of the present work showed higher antioxidant potential.

The total phenols content, flavonols and hydroxycinnamic acid derivatives content of the leaf and stalk extracts from *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* are presented in Table 3. The species *C. argyrophyllus* presented higher total phenols content (299 and $242 \text{ mg GAE g}^{-1}$) and flavonols (188 and 126 mg QE g^{-1}) for leaves and stalks respectively in comparison to the obtained for *C. heliotropiifolius* (Table 3). For hydroxycinnamic acid derivatives, no significant differences were obtained for the extracts ($P = 0.312$ for leaves; $P = 0.848$ for stalks) obtained from both species. The values obtained for leaf and stalk methanolic extracts from *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius* were higher than those reported in literature for other species of the genus *Croton* (Motta et al., 2013; Júnior et al., 2016).

The antioxidant activity of plant extracts is correlated with their chemical composition like the existence of phenolic compounds (Furlan et al., 2015). In this work, were established regression analysis between the different analyzed fractions of methanolic extracts and EC_{50} values for the total phenols content and different used methods. For DPPH and reducing power there was an extremely significant correlation for *C. argyrophyllus* ($R^2 = 0.989$; $P < 0.001$; $y = -0.014x + 4.467$ for DPPH; $R^2 = 0.984$; $P < 0.001$; $y = -0.019x + 6.479$ for reducing power) and very significant for *C. heliotropiifolius* ($R^2 = 0.872$; $P = 0.004$; $y = -0.009x + 2.837$ for DPPH; $R^2 = 0.848$; $P = 0.006$; $y = -0.011x + 3.634$ for reducing power). Nevertheless, no correlation was observed for ABTS method for both species ($R^2 = -0.249$; $P = 0.965$; $y = -1.7 \cdot 10^5x + 0.250$ for *C. argyrophyllus*; $R^2 = -0.077$; $P = 0.467$; $y = -0.0004x + 0.477$ for *C. heliotropiifolius*). The results demonstrated that the composition of the extracts was preponderant for the antioxidant activity observed, and extracts with higher content of total phenols possess high antioxidant activity and low EC_{50} , on the other side low values of total phenols are related with high EC_{50} values and low antioxidant activity.

Table 3

Total phenols content (mg GAEg^{-1}), flavonols (mg QE g^{-1}) and hydroxycinnamic acid derivatives (mg CAE g^{-1}) in the methanolic extracts from *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth (mean \pm standard deviation).

Sample	Total Phenols (mg GAEg^{-1})	Hydroxycinnamic acid derivatives (mg CAE g^{-1})	Flavonols (mg QE g^{-1})
LECA ¹	299.47 ± 4.89 a	70.29 ± 1.71 a	187.93 ± 1.41 a
LECH ²	251.52 ± 10.50 b	67.75 ± 3.40 a	139.27 ± 5.26 b
SECA ³	242.38 ± 4.28 a	51.23 ± 1.29 a	125.89 ± 2.83 a
SECH ⁴	201.20 ± 18.50 b	51.91 ± 5.63 a	104.39 ± 10.44 b

In each column, and for each type of extract, different letters mean statistical differences according to Tukey's test.

¹ LECA – leaf extract of *C. argyrophyllus*.

² LECH – leaf extract of *C. heliotropiifolius*.

³ SECA – stalk extract of *C. argyrophyllus*.

⁴ SECH – stalk extract of *C. heliotropiifolius*.

3.3. Antimicrobial activity

The essential oil of *C. argyrophyllus* inhibited all the bacterial strains tested, with MIC values ranging from $10 \mu\text{L mL}^{-1}$ (*B. cereus*) to $25 \mu\text{L mL}^{-1}$ (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*) (Table 4); And without any obvious difference in susceptibility between Gram-negative and Gram-positive bacteria. This oil also showed to be more potent than the antibiotic chloramphenicol ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$). These findings highlight the potential use of *C. argyrophyllus* essential oil in treating infections caused by these bacteria, especially as a potential therapeutic agent for eradicating antibiotic resistance. This is of particular importance regarding *E. coli* and *P. aeruginosa*, given the increasing levels of resistance of these bacteria to multiple classes of antibiotics. Bertini et al. (2005) also used the essential oil of *C. argyrophyllus* to combat *S. aureus* and *E. coli*, and obtained MIC values of lower than 5% of oil.

The antimicrobial activity of essential oils is influenced by its chemical composition and abundance of each compound (Nazzaro et al., 2013), that could present different action mechanisms at cell level. In this work, the largest component of the oil of this species is bicyclogermacrene, a sesquiterpenoid with well-known antimicrobial activity in other essential oils (Fontenelle et al., 2008; Wijesundara et al., 2016). Other compounds present in high amounts in the EO from *C. argyrophyllus* were spathulenol, caryophyllene, and β -pinene. Caryophyllene is ascribed as one of the main responsible for the antifungal activity of *Zingiber nimmonii* against *C. glabrata* and *C. albicans* (Sabulal et al., 2006). β -pinene, as an isolated compound, was reported to inhibited the growth of some bacteria (Leite et al., 2007). The action of these compounds (either isolated or interacting with other components) may be responsible for the antimicrobial potential of *Croton* species including of those of the present study.

The essential oils of other species of *Croton* genus, also showed antimicrobial activity. The diterpenes isolated from *C. nepetifolius* showed action against *Staphylococcus* sp. strains (Sá et al., 2012); and, essential oil of *C. rhamnifolioides* inhibit the growth and survival of pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *E. coli* and *S. aureus* (Costa et al., 2013). Yagi et al. (2016) using *C. rotundus* found MICs of $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ against *S. aureus* and $32 \mu\text{g mL}^{-1}$ against *B. subtilis* and *E. coli*.

In the present work, no antibacterial nor antifungal activity was demonstrated by the essential oil of *C. heliotropiifolius* (Table 4). This result is in line with the obtained by Angélico et al. (2014) to the essential oil of the same species. Those author evaluate the essential oil against a variety of bacterial strains, and no positive results nor very high MICs were obtained for *Staphylococcus aureus* (MICs of $512 \mu\text{L mL}^{-1}$), and for *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* (MICs of $1024 \mu\text{L mL}^{-1}$).

When plant extracts were tested, the antimicrobial activity was low. Nevertheless, two extracts exhibit action against important pathogenic yeasts. The leaf extract of *C. argyrophyllus* exhibited antifungal activity against *C. parapsilosis*, and the leaf extract of *C. heliotropiifolius* processes antifungal activity against *C. albicans* and *C. glabrata*, all with a MIC value of 50 mg mL^{-1} (Table 4), two-fold the result obtained with the antifungal agent fluconazole ($25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Queiroz et al. (2014) obtained best results than the observed in this work. These authors, with ethanolic extract from *C. heliotropiifolius*, found a MIC of $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ against *C. albicans*.

The antimicrobial potential of plant extracts may be related to the chemical composition and the presence of some compounds like phenols (Cushnie and Lamb, 2005). Extracts obtained by *Croton* species, as *C. macrostachyus*, were rich in compounds with antimicrobial activity such as phenolic compounds, tannins and alkaloids (Teugwa et al., 2013), that could justify the antimicrobial activity of plant extracts (Jaberian et al., 2013). Nevertheless, low activity or absence of activity does not mean the absence of the compounds, once the biological potential may vary

according to the solvent, the part of the plant, the quality of the material and the extraction conditions (Harvey et al., 2015).

Table 4

Minimum inhibitory concentrations (MIC) of essential oils and plant extracts of *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth against bacteria and yeast.

Microorganisms	Essential oil ($\mu\text{L mL}^{-1}$)		Plant extract (mg mL^{-1})			
	EOCA ¹	EOCH ²	LECA ³	LECH ⁴	SECA ⁵	SECH ⁶
Bacteria						
<i>Bacillus subtilis</i>	25	–	–	–	–	–
<i>Bacillus cereus</i>	10	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	–	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	25	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	–	–	–	–	–
Yeast						
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	50	–	–
<i>Candida parapsilosis</i>	–	–	–	50	–	–
<i>Candida glabrata</i>	–	–	50	–	–	–

(–) = no inhibition.

¹ EOCA – essential oil of *C. argyrophyllus*.

² EOCH – essential oil of *C. heliotropiifolius*.

³ LECA – leaf extract of *C. argyrophyllus*.

⁴ LECH – leaf extract of *C. heliotropiifolius*.

⁵ SECA – stalk extract of *C. argyrophyllus*.

⁶ SECH – stalk extract of *C. heliotropiifolius*.

4. Conclusions

The present work contributed for the characterization of the EO's and phytochemical composition of two *Croton* species, *C. argyrophyllus* and *C. heliotropiifolius*. The results indicated that both antioxidant and antimicrobial activity of *C. argyrophyllus* EO and aerial part are greater than *C. heliotropiifolius*. Moreover, *C. argyrophyllus* EO inhibited more the growth of both gram-positive and gram-negative bacteria than traditional antimicrobials tested, opening a clear window for the exploitation of these antimicrobial agents from natural sources. Nowadays this is of special importance because of the emergence of resistance to numerous conventional antibiotics. The chemical composition of the EO's allowed distinguish the two *Croton* species, and the results possibly point out to new chemotypes in comparison to literature. Briefly, the main conclusion of this study is that *Croton* species are a great source of phytochemicals with exceptional bioactive properties, and their exploitation can be helpful for different industrial sectors, mainly food sector, cosmetics, and most of all medicinal and pharmaceutical industries.

Acknowledgements

This work was financially supported by CNPQ/CsF and CAPES and UID/AGR/00690/2013 – CIMO funded by FEDER – Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional through COMPETE2020 – Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) – and by national funds through FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Portugal. The authors are also grateful to UFRB Herbarium for the help with the plant species identification.

References

Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed. Allured Business Media, Carol Stream.

Aguiar, F.L.L., Morais, S.M., Santos, H.S., Albuquerque, M.R.J.R., Bandeira, P.N., Brito, E.H.S., Rocha, M.F.G., Fontenelle, R.O.S., 2016. Antifungal activity and synergistic effect of acetophenones isolated from species *Croton* against dermatophytes and yeasts. *J. Med. Plants Res.* 10, 216–222.

Angélico, E.C., Rodrigues, O.G., Costa, J.G.M., Lucena, M.F.A., Neto, V.Q., Medeiros, R.S., 2014. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils and *Croton* varieties modulator in the Brazilian Northeast semiarid. *Acad. J.* 8, 392–397.

Araújo, S.S., Santos, M.I.S., Dias, A.S., Ferro, J.N.S., Lima, R.N., Barreto, E.O., Corrêa, C.B., Araújo, B.S., Lauton-Santos, S., Shan, A.Y.K., Alves, P.B., Santana, A.E.G., Thomazzi, S.M., Antonioli, A.R., Estevam, C.S., 2014. Chemical composition and cytotoxicity analysis of the essential oil from leaves of *Croton argyrophyllus* Kunth. *J. Essent. Oil Res.* 26, 446–451.

Araújo, F.M., Dantas, M.C.S.M., Silva, L.S., Aona, L.Y.S., Tavares, I.F., Souza-Neta, L.C., 2017. Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of *Croton heliotropiifolius* Kunth from Amargosa, Bahia, Brazil. *Ind. Crops Prod.* 105, 203–206.

Berker, K., Güçlü, K., Tor, I., Apak, R., 2007. Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline bathophenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP) and ferricyanide reagents. *Talanta* 72, 1157–1165.

Bertini, L.M., Pereira, A.F., Oliveira, C.L.L., Menezes, E.A., Morais, S.M., Cunha, F.A., Cavalcanti, E.S.B., 2005. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. *Infarma* 17 (3/4).

Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., Miguel, M.G., 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Ind. Crops Prod.* 46, 85–96.

Cavin, A.L., Hay, A.E., Marston, A., Stoeckli-Evans, H., Scopelliti, R., Diallo, D., Hostettmann, K., 2006. Bioactive diterpenes from the fruits of *Detarium microcarpum*. *J. Nat. Prod.* 69, 768–773.

Compagnone, R.S., Chavez, K., Mateu, E.A., Orsini, G., Arvelo, F.O., Suarez, A.I., 2010. Composition and cytotoxic activity of essential oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. *Rec. Nat. Prod.* 4, 101–108.

Costa, A.C.V., Melo, G.F.A., Madruga, M.S., Costa, J.G.M., Garino Junior, F., Queiroga Neto, V., 2013. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax & Hoffm. *Semina* 34, 2853.

Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Agents* 26, 343–356.

Dória, G.A.A., Silva, W.J., Carvalho, G.A., Alves, P.B., Cavalcanti, S.C.H., 2010. A study of the larvicidal activity of two *Croton* species from northeastern Brazil against *Aedes aegypti*. *Pharm. Biol.* 48, 615–620.

Filho, J.M.T.A., Araújo, L.C., Oliveira, A.P., Guimarães, A.L., Pacheco, A.G.M., Silva, F.S., Cavalcanti, L.S., Lucchese, A.M., Almeida, J.R.G.S., Araújo, E.C.C., 2017. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. *Braz. J. Pharmacogn.* 27, 440–444.

Fontenelle, R.O.S., Morais, S.M., Brito, E.H.S., Brilhante, R.S.N., Cordeiro, R.A., Nascimento, N.R.F., Kerntopf, M.R., Saldim, J.J.C., Rocha, M.F.G., 2008. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian Caatinga biome. *J. Appl. Microbiol.* 104, 1383–1390.

Furlan, C.M., Santos, K.P., Sedano-Partida, M.D., Motta, L.B., Santos, D.Y.A.C., Salatino, M.L., Negri, G., Berry, P.E., Ee, B.W.V., Salatino, A., 2015. Flavonoids and antioxidant potential of nine Argentinian species of *Croton* (Euphorbiaceae). *Braz. J. Bot.* 38, 693–702.

Grundmann, H., Kraker, M., Davey, P., 2011. Clinical impact of antimicrobial resistance: design matters. *Lancet Infect. Dis.* 11, 344.

Gupta, S., Bhaskar, G., Andola, C.H., 2011. Altitudinal variation in essential oil content in leaves of *Zanthoxylum alatum* a high value aromatic tree from Uttarakhand. *Res. J. Med. Plant* 5, 348–351.

Harvey, A.L., Edrada-Ebel, R., Quinn, R.J., 2015. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nat. Rev. Drug Discov.* 14, 111–129.

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* 36, 2090–2097.

Júnior, F.B., Macedo, G.E., Zemolin, A.P., Silva, F.G., Cruz, L.C., Boligon, A.A., Menezes, I.R.A., Franco, J.L., Posser, T., 2016. Oxidant effects and toxicity of *Croton campestris* in *Drosophila melanogaster*. *Pharm. Biol.* 54, 3068–3077.

Jaberian, H., Piri, K., Nazari, J., 2013. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chem.* 136, 237–244.

Leite, A.M., Lima, E.O., Souza, E.L., Diniz, M.F.F.M., Trajano, V.N., Medeiros, I.A., 2007. Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing gram-positive bacteria. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 43, 121–126.

Milanowski, D.J., Winter, R.E., Elvin-Lewis, M.P., Lewis, W.H., 2002. Geographic distribution of three alkaloid chemotypes of *Croton lechleri*. *J. Nat. Prod.* 65, 814–819.

Morais, S.M., Júnior, F.E.A.C., Silva, A.R.A., Neto, J.S.M., Rondina, D., Cardoso, J.H.L., 2006. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. *Quim. Nova* 29, 907–910.

- Motta, L.B., Furlan, C.M., Santos, D.Y.A.C., Salatino, M.L.F., Negri, G., De Carvalho, J.E., Monteiro, P., Ruiz, A.L.T.G., Caruzo, M.B., Salatino, A., 2013. Antiproliferative activity and constituents of leaf extracts of *Croton sphaerogynus* Baill. (Euphorbiaceae). *Ind. Crop. Prod.* 50, 661–665.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V., 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6, 1451–1474.
- Ndhlala, A.R., Aderogba, M.A., Ncube, B., Van Staden, J., 2013. Anti-oxidative and cholinesterase inhibitory effects of leaf extracts and their isolated compounds from two closely related *Croton* species. *Molecules* 18, 1916–1932.
- Neves, I.A., Camara, C.A.G., 2012. Volatile constituents of two croton species from Caatinga Biome of Pernambuco–Brazil. *Rec. Nat. Prod.* 6, 161–165.
- Queiroz, M.M.F., Queiroz, E.F., Zeraik, M.L., Marti, G., Favre-Godal, Q., Simões-Pires, C., Marcourt, L., Carrupt, P.A., Cuendet, M., Paulo, M.Q., Bolzani, V.S., Wolfender, J.L., 2014. Antifungals and acetylcholinesterase inhibitors from the stem bark of *Croton heliotropiifolius*. *Phytochem. Lett.* 10, lxxxviii–xciii.
- Ramos, J.M.O., Santos, C.A., Santana, D.G., Santos, D.A., Alves, P.B., Thomazzi, S.M., 2013. Chemical constituents and potential antiinflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*. *Braz. J. Pharmacogn.* 23, 644–650.
- Sá, N.C., Cavalcante, T.T., Araújo, A.X., dos Santos, H.S., Albuquerque, M.R., Bandeira, P.N., da Cunha, R.M., Cavada, B.S., Teixeira, E.H., 2012. Antimicrobial and antibiofilm action of Casbane Diterpene from *Croton nepetaefolius* against oral bacteria. *Arch. Oral Biol.* 57, 550–555.
- Sánchez, C.S., González, A.M.T., García-Parrilla, M.C., Granados, J.J.Q., Serrana, H.L.G., Martínez, M.C.L., 2007. Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Anal. Chim. Acta* 593, 103–107.
- Sabulal, B., Dan, M., John, A., Kurup, R., Pradeep, N.S., Valsamma, R.K., George, V., 2006. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: chemical characterization and antimicrobial activity. *Phytochemistry* 67, 2469–2473.
- Sarker, S.D., Nahar, L., Kumarasamy, Y., 2007. Microtiter plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods* 42, 321–324.
- Secco, R.S., Cordeiro, I., Senna-Vale, L., Sales, M.F., Lima, M.R., Medeiros, D., Haiad, B.S., Oliveira, A.S., Caruzo, M.B.R., Carneiro-Torres, D., Bigio, N.C., 2012. An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s.l in Brazil. *Rodriguésia* 63, 227–242.
- Souza, G.S., Bonilla, O.H., Lucena, E.M.P., Barbosa, Y.P., 2017. Chemical composition and yield of essential oil from three *Croton* species. *Ciênc. Rural* 47, e20161054.
- Sun, J., Wang, X., Wang, P., Li, L., Qu, W., Liang, J., 2015. Antimicrobial: antioxidant and cytotoxic properties of essential oil from *Dictamnus angustifolius*. *J. Ethnopharmacol.* 159, 296–300.
- Teixeira, S., Mendes, A., Alves, A., Santos, L., 2007. Simultaneous distillation–extraction of high volatile compounds from *Cistus ladanifer* L. *Anal. Chim. Acta* 584, 439–446.
- Teugwa, M.C., Sonfack, D.C.R., Fokom, R., Penlap, B.V., Amvam, Z.P.H., 2013. Antifungal and antioxidant activity of crude extracts of three medicinal plants from Cameroon pharmacopeia. *J. Med. Plants Res.* 7, 1537–1542.
- Verma, N., Shukla, S., 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 2, 105–113.
- Wenqiang, G., Shufen, L., Ruixiang, Y., Yanfeng, H., 2006. Comparison of composition and antifungal activity of *Artemisia argyi* Lévl. et Vant inflorescence essential oil extracted by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide. *Nat. Prod. Res.* 20, 992–998.
- Wijesundara, S.A.D.T.L., Kannagara, B.T.S.D.P., Abeywickrama, K., 2016. Antifungal Activity of *Croton aromaticus* L. in vitro: against post-harvest fungal pathogens isolated from tropical fruits. *J. Agric. Sci.* 11, 105–117.
- Yagi, S., Babiker, R., Tzanova, T., Schohn, H., 2016. Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. *Asia-Pac. J. Trop. Med.* 9, 763–770.
- van Den Dool, H., Kratz, P.D., 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A* 11, 463–471.

ARTIGO 5

**ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton argyrophyllus* KUNTH
SOBRE OS FUNGOS *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f. sp.
passiflorae E *Fusarium. oxysporum* f. sp. *cubense***

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico European Journal of Plant Pathology, em versão na língua inglesa.

**Atividade do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth sobre os
fungos *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e
Fusarium. oxysporum f. sp. *cubense***

Sara Samanta da Silva Brito; Rafael Mota da Silva; José Alberto Pereira;
Franceli Silva

Resumo: Diante da resistência adquirida pelos microrganismos causadores de doenças em plantas a produtos químicos a busca por novas tecnologias para seu controle tem crescido. Neste sentido os óleos essenciais têm recebido uma grande atenção e vem sendo estudados cada vez mais o seu potencial antimicrobiano. No presente trabalho objetivou-se caracterizar e avaliar o potencial do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth através da sua atividade antimicrobiana frente aos fungos *Aspergillus niger* Tiegh, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. As folhas de *C. argyrophyllus* Kunth foram secas e preparadas separadamente para extração do óleo essencial pelo processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger por 2 horas, este foi caracterizado pela cromatografia gasosa com detecção de espectrometria de massa. A atividade antifúngica foi avaliada através da concentração inibitória mínima, difusão em disco, diluição em meio e exposição aos voláteis e avaliação macro e microscópia das colônias fúngicas. Na caracterização química o óleo essencial apresentou como compostos majoritários: biciclogermacreno (14.0%), β -pineno (8.9%) e espatulenol (8.7%). Os microrganismos *A. niger* Tiegh, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* não apresentaram inibição do crescimento micelial quando utilizada a técnica da microdiluição. *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* apresentou propriedade fungistática com a concentração inibitória mínima (MIC) de 80 mg mL⁻¹. Na utilização da técnica de difusão em disco apenas o *A. niger* apresentou halo de inibição com 0,12 e 0,18 cm nas concentrações 10 e 15 μ L respectivamente. As técnicas de diluição em meio de cultura e exposição aos voláteis apresentaram potencial fungistático em todas as concentrações testadas. Além disso, ocasionaram alterações morfológicas nos fungos, como perda de conteúdo citoplasmático, enrolamento, dobras e deformações nas hifas e formação de estruturas de resistência em todas as concentrações testadas. Entre as técnicas utilizadas a diluição em meio de cultura se destacou proporcionando inibições superiores as demais técnicas utilizadas.

Palavra-chave: Atividade antifúngica, *Croton* spp, Bioativo.

**Activity of *Croton argyrophyllus* Kunth essential oil against fungi
Aspergillus niger, *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* and *Fusarium*.
oxysporum f. sp. *cubense***

Sara Samanta da Silva Brito; Rafael Mota da Silva; Ricardo Malheiro, José Alberto Pereira; Franceli Silva

Abstract: Faced with the resistance acquired by microorganisms that cause disease in plants to chemicals, the search for new technologies for its control has grown. In this sense the essential oils have received great attention and their antimicrobial potential is being studied more and more. The present work aimed to characterize and evaluate the potential of the essential oil of *Croton argyrophyllus* Kunth through its antimicrobial activity against the fungi *Aspergillus niger* Tiegh, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*. The leaves of *C. argyrophyllus* Kunth were dried and prepared separately for extracting the essential oil by hydrodistillation using the Clevenger apparatus for 2 hours, which was characterized by gas chromatography with mass spectrometric detection. The antifungal activity was evaluated through minimum inhibitory concentration, disk diffusion, dilution in medium and exposure to volatiles, and macro evaluation and microscopy of fungal colonies. In the chemical characterization the essential oil presented a major compounds: bicyclogermacrene (14.0%), β -pinene (8.9%) and esphatulenol (8.7%). The microorganisms *A. niger* Tiegh, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* showed no inhibition of mycelial growth when the microdilution technique was used. *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* presented fungistatic property with the minimum inhibitory concentration (MIC) of 80 mg mL⁻¹. In the use of the disc diffusion technique, only *A. niger* presented inhibition halo with 0.12 and 0.18 cm in concentrations 10 and 15 μ L respectively. Dilution techniques in culture medium and volatile exposure showed fungistatic potential at all concentrations tested. In addition, they caused morphological alterations in the fungi, such as loss of cytoplasmic content, folding, folds and deformations in the hyphae and formation of resistance structures in all concentrations tested. Among the techniques used the dilution in culture medium was highlighted providing higher inhibitions to the other techniques used.

Keywords: Antifungal activity, Phytopathogenic fungi, *Croton* spp.

1. INTRODUÇÃO

Mais de 10.000 espécies de fungos conhecidas atualmente podem causar doenças em plantas, além da destruição da planta e limitação da produção, geram micotoxinas que chegam a causar 25% de perdas em produtos agrícolas no mundo (Pandey et al., 2017). Entre estes microrganismos os do gêneros *Fusarium* spp. e *Aspergillus* spp. são considerados importantes fitopatógenos de plantas no mundo, causando doenças como o Mal do Panamá em bananeiras e a Podridão vermelha do sisal (Ellis et al., 2014).

A utilização de fungicidas químicos compreende a principal estratégia para controle destes fitopatógenos, tanto no campo como no armazenamento. Com o surgimento de microrganismos cada vez mais resistentes e a necessidade de maior segurança, o desenvolvimento de novas tecnologias para controle de doenças e pragas têm crescido atualmente (Pandey et al., 2017).

Entre essas tecnologias destaca-se a utilização de compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, como terpenoides, flavanoides, triterpenos e esteroides (Garcia-Diaz et al., 2016). Os óleos essenciais, misturas complexas de compostos voláteis constituídos majoritariamente por terpenoides e fenilpropanoides, possuem uma ampla gama de atividades biológicas. Devido a características como baixo custo, alta funcionalidade e fácil degradação, os óleos essenciais são um dos grupos mais promissores para o desenvolvimento de agentes antifúngicos (Siddiqui et al., 2017).

Diversos estudos têm relatado a atividade antifúngica in vitro de óleos essenciais de diferentes plantas medicinais contra fungos fitopatogênicos: o óleo essencial de *Thymus capitatus* L. causou inibição completa do crescimento dos fungos *A. parasiticus* e *F. moniliforme* após 96 h de incubação (López-Meneses et al., 2015); o efeito inibidor do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. também foi comprovado sobre os fungos *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* e *Rhizoctonia solani* (Mohr et al., 2017). Segundo Jantapan et al. (2017) a produção de aflatoxina e o crescimento micelial dos fungos *A. parasiticus* e *A. flavus* foram reduzidas utilizando os óleos essenciais de

Boesenbergia rotunda L. Mansf., *Pinus pinaster*, *Aniba rosaedora*, *Styrax tonkinensis*, *Moringa oleifera*, *Cananga odorata*.

O *Croton argyrophyllus* Kunth (Euphorbiaceae) espécie endêmica do bioma Caatinga no Nordeste do Brasil, conhecida como espécie espontânea, exerce importante papel no agroecossistema e produz óleo essencial rico em compostos fenólicos e terpenos (Turiel et al., 2016). Algumas espécies do gênero *Croton* revelam-se promissoras no controle de microrganismos: o extrato de *C. aromaticus* apresentou efeitos inibitórios dos fungos *C. gleosporioides*, *C. musae* e *Pestalotiopsis mangiferae* (Wijesundara et al., 2016; Dilhani et al., 2016); o óleo essencial de *C. heliotropiifolius* e *C. zambesicus* demonstraram resultados promissores contra as bactérias *Staphylococcus* ssp., *Bacillus* ssp, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Araújo et al., 2017; Yagi et al., 2016).

Diante disso, no presente trabalho teve-se por objetivo investigar o potencial antifúngico in vitro do óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth contra os fungos fitopatogênicos *A. niger* Tiegh; *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

2.MATERIAL E MÉTODO

2.1. Material vegetal:

As folhas de *Croton argyrophyllus* Kunth foram coletados no município de São Domingos (Bahia – Brasil) (11°27'56" S 39°31'34" O) durante o dia no mês de Fevereiro de 2016. A espécie foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, catalogada com o Voucher HURB 15401. Seis amostras independentes de 50 g cada foram secas e preparadas separadamente para extração do óleo essencial.

2.2. Destilação do óleo essencial:

O material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C até atingir peso constante, totalizando cerca de 3 a 4 dias. Após a secagem, as folhas foram trituradas manualmente e cada 50 g foi adicionada em um balão com água destilada no volume total de 3 litros. Essa mistura foi

submetida ao processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger por 2 horas para obtenção do óleo essencial.

2.3. Caracterização do óleo essencial:

O óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth foi caracterizado através da análise por cromatografia gasosa utilizando a detecção por espectrometria de massa (GC/MS). Antes da injeção, 10 µL do óleo essencial foi diluído em 0.5 mL de metanol, e 1 µL do volume foi injetado.

2.3.1. Cromatografia gasosa com detecção de espectrometria de massa (GC / MS):

O cromatógrafo de gás utilizado foi um modelo Shimadzu GC-2010 acoplado a um espectrômetro de massa GC/MS-QP 2010 Shimadzu. Foi utilizada uma coluna capilar TRB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Teknokroma, Espanha). A porta do injetor (modelo AOC20i+s) foi aquecida a 220 °C, e as injeções foram realizadas em modo dividido (1:20). A temperatura do forno foi programada para começar a 60 °C e depois aumentou em 3 °C / min até atingir 240 °C, e isso foi mantido por 20 min. O gás transportador foi o hélio (Praxair, Portugal), a uma velocidade linear de 30 cm/s e uma taxa de fluxo de 44,3 mL/min. A temperatura da fonte de ionização foi mantida a 240 °C, a energia de ionização a 70 eV e a corrente de ionização a 0,1 kV. Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massa com os obtidos de um banco de dados (NIST 11) e com os compostos puros analisados nas mesmas condições e comparando os índices de retenção (na forma de índices de Kovats) com dados na literatura (Adams, 2007). Os resultados foram expressos como porcentagens relativas de cada composto, calculados através da normalização das áreas de pico cromatográficas.

2.4. Obtenção dos Isolados

O isolado de *A. niger* Tiegh. foi obtido da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola do CCAAB-UFRB; os isolados de *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae*, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* foram obtidos da coleção de culturas da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura – Cruz das Almas - BA. Cada isolado foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultivo

BDA, e mantidos por 7 dias à temperatura de $\pm 28^{\circ}\text{C}$ para crescimento da colônia e posterior utilização nos ensaios.

2.5 Ensaios antifúngicos:

2.5.1. Concentração inibitória mínima (MIC): a amostra do óleo essencial foi testada quanto à inibição do crescimento micelial dos isolados através das técnicas de microdiluição em caldo padronizada pelo CLSI (Eloff 1998; Kusucu et al., 2004). Inicialmente foi preparada a solução estoque do óleo essencial na concentração de 160 mg. mL^{-1} diluído em Tween 20 (10%) e o controle positivo ciclopirox de olamina $400 \mu\text{g/mL}$ em água. Cada solução foi distribuída, em triplicata, na primeira fileira de uma placa de 96 poços, que continha o meio de cultivo batata e dextrose (BD), além do controle positivo e o controle negativo, formado por Tween. Fez-se uma microdiluição seriada de razão dois. Em seguida, foram adicionados a cada poço, $100 \mu\text{L}$ de suspensão de esporos dos fungos na concentração de $10^6 \text{ conídios.mL}^{-1}$. A concentração final do óleo e controle diluente foram de: 80; 40; 20; 10; 5; $2,5 \text{ mg. mL}^{-1}$; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; $3,12 \text{ mg. mL}^{-1}$ respectivamente. Após a adição de $100 \mu\text{L}$ de suspensão de esporos as placas foram vedadas com filme PVC e incubadas em B.O.D. por 72 horas a 28°C . A avaliação se deu através da observação visual do crescimento do microrganismo nos poços comparados com o controle positivo.

2.5.2. Difusão em disco: na determinação da inibição do crescimento micelial dos fungos pelo método da difusão em ágar foram utilizadas placas de Petri (5 cm diâmetro) contendo o meio de cultura BDA onde foi adicionado 1mL do meio de cultura ágar-água contendo a suspensão de esporos dos fungos estudados ajustada em $10^6 \text{ conídios.mL}^{-1}$. Sobre esta suspensão de esporos no centro da placa foi adicionado um disco de papel filtro estéril com o óleo essencial puro nas concentrações de 5, 10 e $15 \mu\text{L}$ além do controle com água destilada estéril. Após 24 horas de incubação em câmara climática tipo B.O.B foi avaliado o diâmetro do halo de inibição no entorno do papel filtro com o auxílio de uma régua milimetrada (Kumar et al., 2010).

2.5.3. Exposição aos voláteis: neste método foi realizada a exposição dos fungos aos voláteis presentes no óleo essencial. No centro da tampa da placa

de Petri foi adicionado um disco de papel filtro estéril com o óleo essencial puro nas concentrações de 5, 10 e 15 µL além do controle com água destilada estéril (Hong et al., 2015). Na outra superfície da placa foi adicionado o meio de cultura do tipo B.D.A com as estruturas fúngicas. A avaliação do crescimento micelial se deu através da medição a cada dois dias do diâmetro da colônia em dois eixos ortogonais (longitudinal e transversal) finalizando com o crescimento por completo da colônia na testemunha totalizando 8 dias. A porcentagem de inibição dos óleos essenciais em cada concentração foi calculada através da fórmula: $I = (DTT - DT) / DTT * 100$ Onde: DTT= diâmetro no tratamento testemunha; DT= diâmetro no tratamento (Royse and Ries, 1977). A produção de esporos foi determinada por meio da contagem do número de esporos produzido nas diferentes concentrações após o 8º dia de inoculação através da câmara de Neubauer com o auxílio de microscópio óptico. A porcentagem de inibição da esporulação foi calculada através da fórmula utilizada para inibição do crescimento micelial substituindo o diâmetro pelo número de esporos contabilizados (10^6 conídios.mL⁻¹).

2.5.4. Diluição em meio: no método de diluição em meio de cultura após esterilização em autoclave a 121 °C foi adicionado ao meio de cultura tipo B.D.A. (batata-dextrose-ágar) o óleo essencial nas concentrações definidas (5, 10, 15 µL) diluído em Tween 20 (10%). Após a homogeneização do meio com o óleo essencial estes foram distribuídos em placas de Petri além do tratamento controle sem adição de óleo. A avaliação do crescimento micelial e da produção de esporos se deu da mesma maneira descrita na metodologia anterior.

2.6. Avaliação macro e microscópica: foram realizadas observações das características morfológicas das colônias fúngicas no último dia de avaliação das técnicas de exposição aos voláteis e diluição em meio de cultura através das características macroscópicas: cor da colônia e reverso da colônia, tipo de colônia e microscópicas: alterações morfológicas nas hifas e demais estruturas utilizando o microscópio LEICA ICC50 HD com auxílio do programa LAS Version 4.5.0.

2.7. Análise estatística: os dados obtidos na porcentagem de inibição do crescimento micelial e inibição da esporulação foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste F sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância com auxílio do programa estatístico Sisvar.5.6 (Ferreira, 2014).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição química do óleo essencial:

A análise por GC/MS do óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth resultou na identificação de 51 compostos, ondes estão reportados na Tabela 1. O biciclogermacreno foi identificado como composto majoritário com 14.01%, seguido por β -pineno (8.92%), espatulenol (8.72%), cariofileno (7.65%) e β -felandrene (5.72%) (Brito et al., 2018).

Tabela 1. Composição volátil do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth (média \pm SD; n = 6) (somente os componentes com área relativa maior do que 1% foram reportados).

	LRI Lit	(%)
Monoterpenos		
α -thujeno	930	1.13 \pm 0.05
α -pineno	939	4.06 \pm 0.13
Sabineno	975	1.05 \pm 0.04
β -pinene	979	8.92 \pm 0.27
β -myrceno	990	2.78 \pm 0.09
3-careno	1011	1.61 \pm 0.08
β -felandrene	1029	5.72 \pm 0.13
Linalool	1096	1.07 \pm 0.03
Σ		26.34
Sesquiterpenos		
Elemeno	1390	3.00 \pm 0.07
Cariofileno	1419	7.65 \pm 0.11
Humuleno	1454	1.53 \pm 0.04
Biciclogermacreno	1500	14.01 \pm 0.26
α -bulneseno	1505	1.92 \pm 0.02
Composto tipo sesquiterpeno 1	-	6.23 \pm 0.14
Espatulenol	1578	8.72 \pm 0.10
Óxido cariofileno	1583	2.17 \pm 0.17
Guaiol	1600	4.14 \pm 0.06
γ -eudesmol	1632	1.51 \pm 0.03
Composto tipo sesquiterpeno 2	-	1.08 \pm 0.02

Composto tipo sesquiterpeno 3	-	1.21 ± 0.02
Composto tipo sesquiterpeno 4	-	1.14 ± 0.03
Bulnesol	1666	1.13 ± 0.04
Σ		55,43

LRI Lit. – Índice de retenção linear reportado na literatura (Adams, 2001).

3.2. Ensaio antifúngicos:

O óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth apresentou atividades antifúngicas sobre os fitopatógenos estudados mediante as técnicas utilizadas. Na técnica de microdiluição os microrganismos *A. niger* Tiegh, *F. oxysporum* f. sp. *cubense* não apresentaram inibição do crescimento micelial. *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* apresentou propriedade fungistática do óleo essencial com a concentração inibitória mínima (MIC) de 80 mg.mL⁻¹. Seseni et al. (2015) em seus estudos avaliaram a atividade antifúngica de 10 óleos essenciais comerciais sobre 4 estirpes de *Fusarium*, obtendo como melhor resultado um MIC de 300 e 400 µL para o óleo de *Cymbopogon citratus* para os fungos *Fusarium oxysporum* e *Fusarium circinatum* respectivamente.

Na utilização da técnica de difusão em disco apenas o *A. niger* Tiegh apresentou halo de inibição com 0,12 e 0,18 cm nas concentrações 10 e 15 µL respectivamente. Reddy et al. (2017) utilizando a técnica de difusão em disco encontrou halos de inibição de 0,20 e 0,30 cm para as espécies de *A. flavus* e *A. fumigates* utilizando o óleo essencial de *Mentha x Piperita* L.

Através das técnicas de exposição aos voláteis e diluição em meio de cultura foi possível confirmar a atividade fungistática do óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth. Na Figura 1 observar-se a inibição do crescimento micelial (1^a) e da produção de esporos (1B) dos fungos pela técnica de exposição aos voláteis. Nesta metodologia a concentração 10 µL apresentou maiores porcentagens de inibição quando comparada as demais para os fungos *A. niger* Tiegh e *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, obtendo 51,9% e 47,73% para o crescimento e 65,30% e 67,33% para a produção de esporos respectivamente.

Já *F. oxysporum* f.sp. *passiflorae* apresentou reduções superiores na concentração 15 µL com 41,17% para o crescimento micelial e 73,07% para a produção de esporos. Também utilizando a técnica de exposição aos voláteis Bozik et al. (2017) constataram a atividade inibidora dos óleos essenciais de

Cinnamomum zeylanicum Nees., *Thymus vulgaris* L, *Origanum vulgare* L., *Syzygium aromaticum* L., *Cymbopogon citratus* [DC] Stapf. e *Zingiber officinale* Rosc sobre o crescimento micelial de *Aspergillus parasiticus*, *A. flavus* e *A. clavatus*. Para os óleos de *C. citratus* e *O. vulgare* a produção de esporos foi 100% inibida utilizando a concentração 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$.

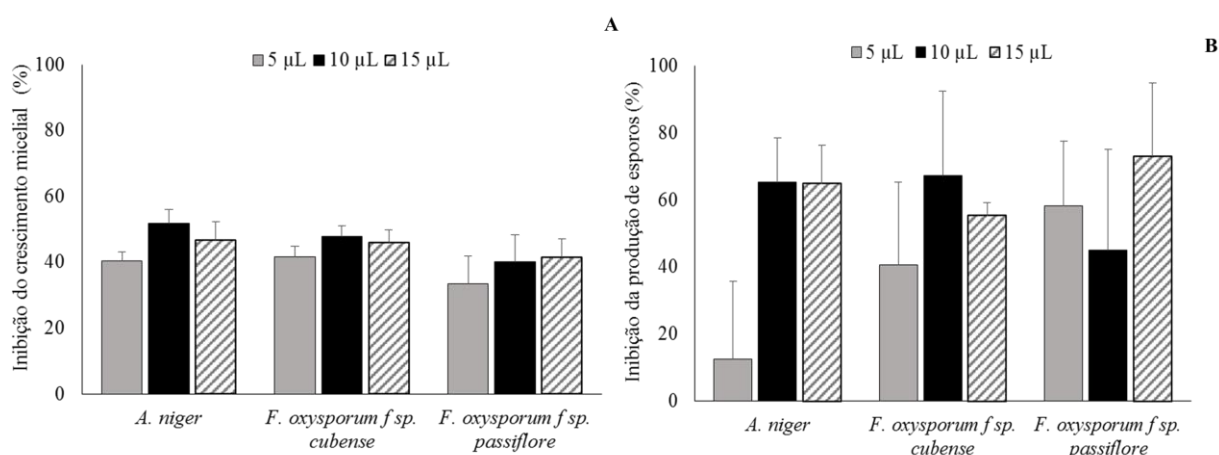


Figura 1: Efeito do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth pela técnica de exposição aos voláteis. (A) Inibição do crescimento micelial e (B) Inibição da produção de esporos de *A. niger* Tiegh; *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (media \pm desvio padrão; n=5) em diferentes concentrações do óleo essencial.

Na técnica de diluição do óleo em meio de cultura as concentrações 10 e 15 μL não diferiram estatisticamente entre si para todas as espécies (Figura 2). O fungo *A. niger* Tiegh apresentou inibição superior do crescimento micelial quando comparado as demais espécies estudadas, seu crescimento se deu proporcional ao aumento da concentração, chegando a 64% na concentração 15 μL . Para as espécies de *Fusarium* a inibição do crescimento variou de 48,4 a 58,55% (Figura 2).

Manganyi et al. (2015) utilizando a técnica de diluição em meio de cultura observaram 100% de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* com os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Syzygium aromaticum* na concentração 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$. Li et al. (2012) observaram um aumento da inibição de *A. niger* proporcional ao aumento da concentração utilizando o óleo

essencial de citronela, chegando a inibição completa dos seus conídios quando expostos a 0,5% (v/v) do óleo.

Para a produção de esporos na técnica de diluição em meio de cultura os resultados demonstram uma redução de 90,16% para *A. niger* Tiegh, 78% para *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, e 83,35% para *F. oxysporum* f.sp. *passiflorae* na maior concentração (Figura 2). No entanto, é importante ressaltar que a concentração 10 µL já ocasionou reduções significantes na produção de esporos chegando a 71,61% para *A. niger* e 55,95% para *F. oxysporum* f. sp. *cubense*. A atividade antifúngica do óleo essencial de *C. argyrophyllus* apresentada nos resultados anteriores pode estar associada à sua composição química. Os sesquiterpenos biciclogermacreno e espatulenol identificados como compostos majoritários além da presença de monoterpenos como β-pineno, γ-terpineno, p-cimeno são caracterizados na literatura como responsáveis pelas propriedades antifúngicas dos óleos essenciais (Jantapan et al., 2017).

O óleo essencial de *Xylopia aethiopica* por exemplo, contém em sua composição β-pineno como composto majoritário e apresenta atividade antifúngica sobre *A. niger* Tiegh, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. flavus* e *F. oxysporium* (Tegang et al., 2017). Segundo Nguetack et al. (2012) compostos como o p-cimeno são conhecidos por induzir a expansão das membranas celulares e permitir o transporte de outros compostos ativos sugerindo um efeito sinérgico entre eles e outros compostos fenólicos.

Como pode ser observado na Tabela 1 os compostos γ-terpinene, p-cimene estão presentes em menores concentrações no óleo *C. argyrophyllus*, estes são precursores dos compostos eugenol, carvacrol e timol que possuem ação antifúngica comprovada na literatura (Youssef et al., 2016). De acordo com Tabti et al. (2014) os hidrocarbonetos terpênicos e os compostos fenólicos presentes no óleo essencial de *Thymus capitatus* foram responsáveis pelos efeitos ocasionados em *A. niger*, *A. flavus* e *F. oxysporum*. O óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry) que contém na sua composição o eugenol ocasionou 84,7% de inibição do *A. flavus* (Boukaew et al., 2017).

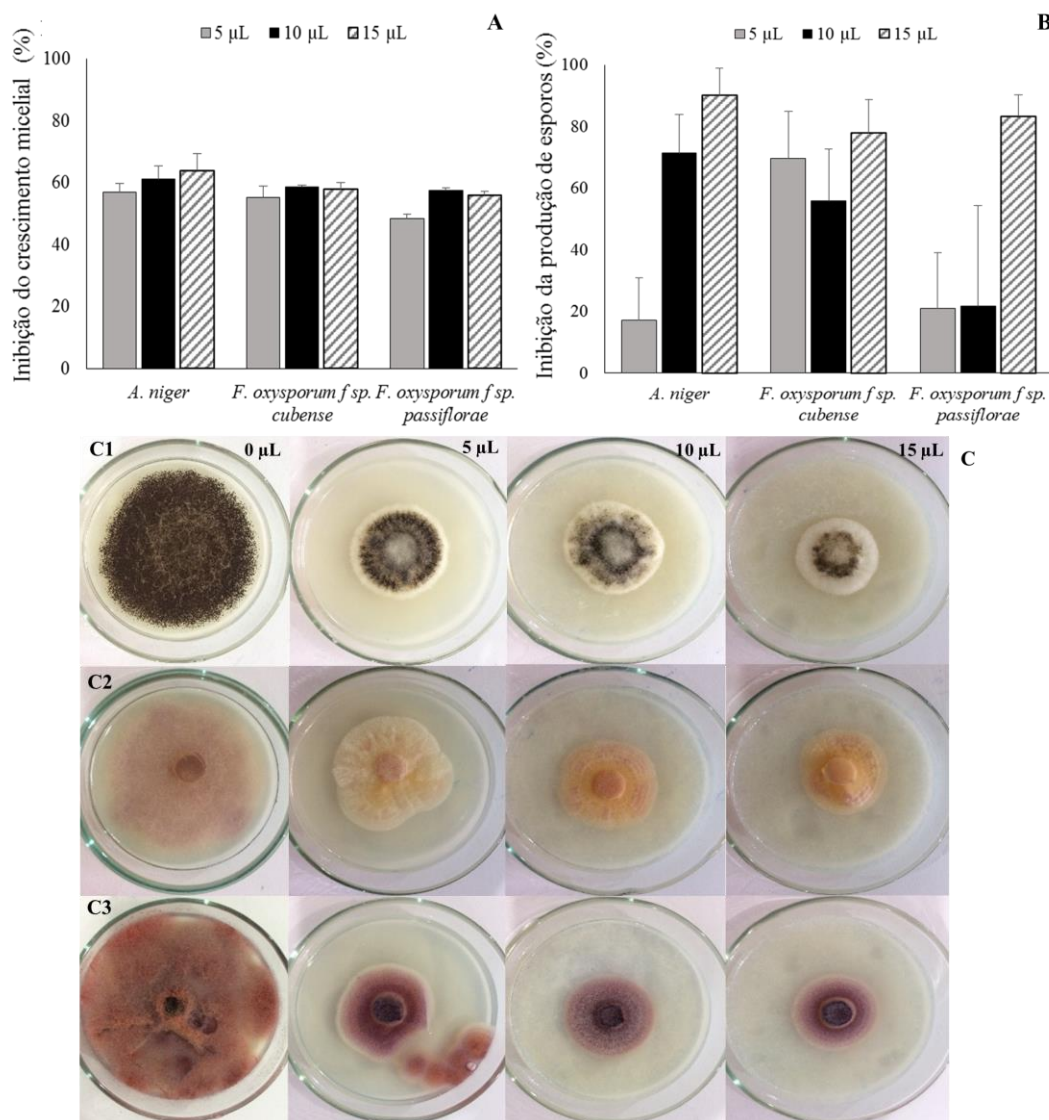


Figura 2. Efeito do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth pela técnica de diluição em meio de cultura. (A) Inibição do crescimento micelial, (B) Inibição da produção de esporos e (C) Tamanho da colônia de *A. niger* Tiegh (C1); *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* (C2) e *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (C3) (media \pm desvio padrão; n=5) pós contato com o óleo essencial em diferentes concentrações.

Diversos são os modos de ação antifúngica dos óleos essenciais, segundo Cristani et al. (2007) o principal mecanismo dos monoterpênicos é causar danos a membrana celular fúngica; através de observações microscópicas eletrônicas e teste de vazamento de íons foi possível identificar

que o alvo fúngico do óleo essencial de *Mentha spicata* sobre *A. flavus* foi a membrana plasmática (Kedia et al., 2016).

Espécies do gênero *Croton* revelam-se promissoras contra fungos fitopatogênicos, Filho et al. (2017) estudando a composição química e atividade microbiana de *C. heliotropiifolius* encontrou como compostos majoritários β -caryophyllene e bicyclogermacrene e confirmaram sua atividade biológica contra microrganismos. O extrato de *C. aromaticus* apresentou concentração inibitória mínima de 5 mg.mL⁻¹ além da inibição do crescimento e da germinação de esporos contra fungos fitopatogênicos isolados da banana (*C. gleosporioides*, *Lasiodiplodia theobromae*), do mamão (*Colletotrichum gleosporioides*, *L. theobromae*) e da manga (*Alternaria alternata*, *Pestalotiopsis mangiferae*, *L. theobromae*) (Wijesundara et al., 2016).

3.3. Avaliação macro e microscópica dos fungos:

Observa-se nas características macroscópicas que o *F. oxysporum* f. sp. *cubense* apresentaram colônia plana com bordas regulares, do tipo cotonoso com coloração rósea a alaranjada na colônia e no reverso dela. O *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* apresentou colônia plana com bordas irregulares, do tipo lanoso com coloração roxa-escura a avermelhado na colônia e no reverso dela; o *A. niger* apresentou colônia plana com bordas regulares, do tipo cotonoso com coloração branca a amarelada na colônia e no reverso dela.

Na figura 3 podem ser observadas as modificações morfológicas encontradas no *A. niger* Tiegh quando exposto ao óleo essencial nas técnicas de exposição aos voláteis e diluição em meio de cultura em todas as concentrações utilizadas. O tratamento controle apresentou conidióforos e hifas com estruturas normais (Figura 3A) já na presença do óleo essencial os conidióforos apresentaram-se distorcidos e com malformação das fiálides (Figura 3B - D). Além disso, foi constatado também o enrolamento e perda de conteúdo citoplasmático nas hifas (Figura 3E - G) e a formação de clamidósporos, estruturas de resistência (Figura 3H).

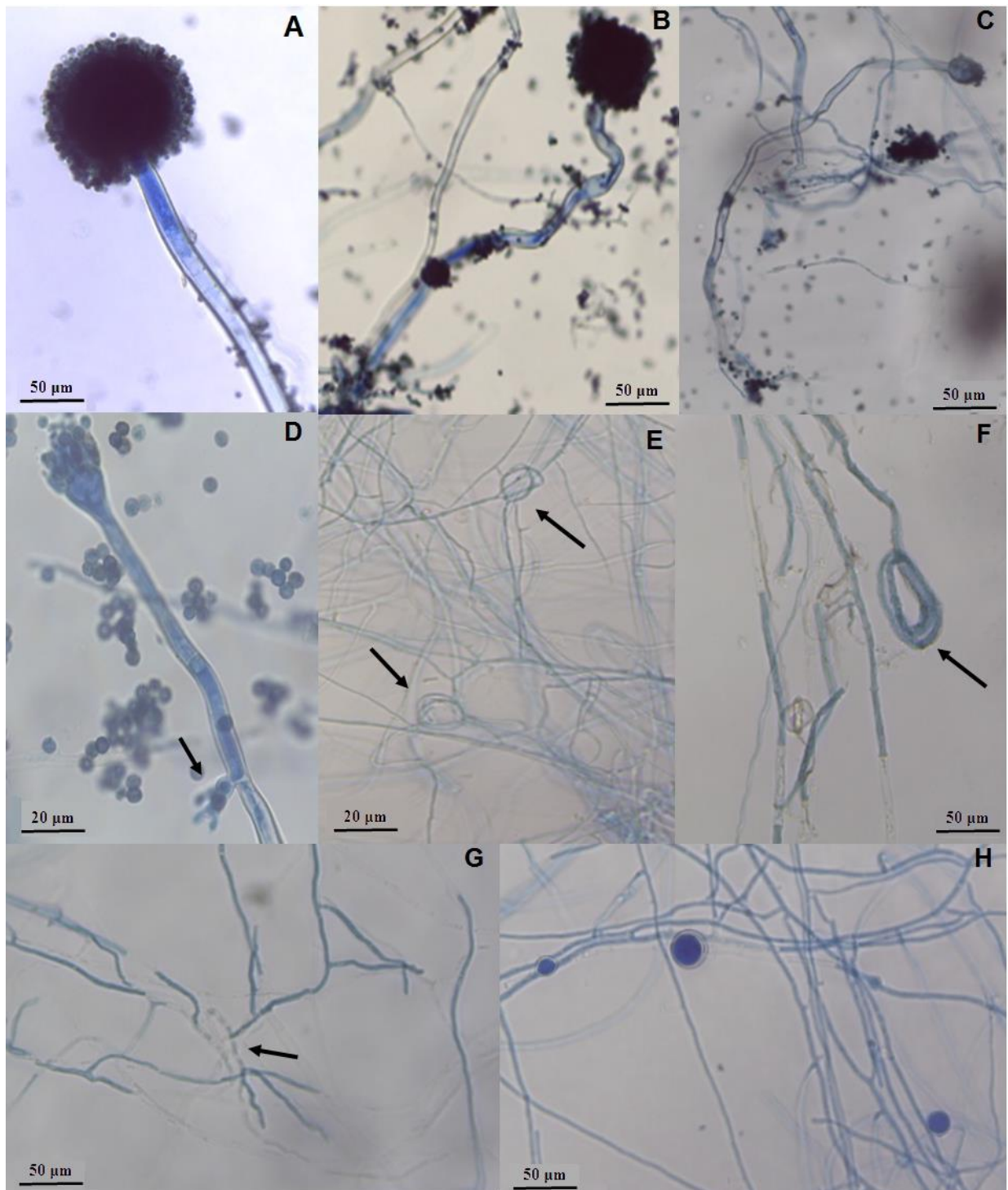


Figura 3. Modificações morfológicas observadas em *A. niger* quando exposto ao óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth em todas as concentrações utilizadas. (A) Conidióforo e hifas normais do controle, (B – G) Alterações morfológicas, malformações das fiáides, enrolamento e perda de conteúdo citoplasmático das hifas de *A. niger* Tiegh, (H) Formação de clamidósporos (estruturas de resistência) nas hifas de *A. niger* Tiegh.

Nas duas espécies de *F. oxysporum* foram observadas modificações morfológicas semelhantes como pode ser observada na figura 4. Nas figuras 4A - B temos o tratamento controle com hifas normais, formação de conidióforos, micro e macroconídios. Nas figuras 4C - F apresenta modificações como perda de conteúdo citoplasmático nas hifas e nos conidióforos, enrugamento, dobra e enrolamento das hifas. No presente trabalho foi possível constatar a maior ocorrência de microconídios nas duas espécies de *Fusarium* estudadas em todos os tratamentos, além da não ocorrência de clamidósporos e pequena produção de macroconídios.

Esse comportamento pode ser considerado importante nos programas de manejo da doença, pois os macroconídios são responsáveis pela disseminação do patógenos e os microconídios e clamidósporos são os principais responsáveis pela sobrevivência e infecção do fungo no solo. No entanto, quando comparadas a virulência dos microconídios e clamidósporos, alguns trabalhos mostram que os microconídios são menos infecciosos (Couteaudier e Alabouvette, 1990). Vários estudos relatam alterações morfológicas em espécies de *Aspergillus* e *Fusarium* devido à ação de óleos essenciais; como a ação antifúngica dos óleos essenciais de canela, limão e bergamota foi correlacionada com as alterações morfológicas observadas em *A. niger* Tiegh (Ribes et al., 2016) assim como o enrolamento das hifas e encolhimento dos esporos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* quando exposto ao óleo essencial de cravo (*S. aromaticum* (L.) (Sharma et al., 2017).

Alguns autores sugerem que os compostos químicos presente nos óleos essenciais possuem a capacidade de danificar as enzimas no sistema celular associados à produção de energia e síntese de compostos estruturais (Conner e Beuchat, 1984). Os monoterpenos são considerados os compostos que causam maiores impactos na membrana celular, aumentam a permeabilidade e a fluidez alterando a posição das proteínas levando ao extravasamento do conteúdo celular (Mback et al., 2016). A ruptura e perda do conteúdo citoplasmático e conseqüente morte da célula é explicada também pela inibição da síntese de ergosterol. Componente da membrana plasmática, o ergosterol é responsável pela manutenção da permeabilidade e fluidez da membrana, a sua ausência e o acúmulo de seus percussores afetam a estrutura tornando o fungo vulnerável aos danos (Kedia et al., 2016).

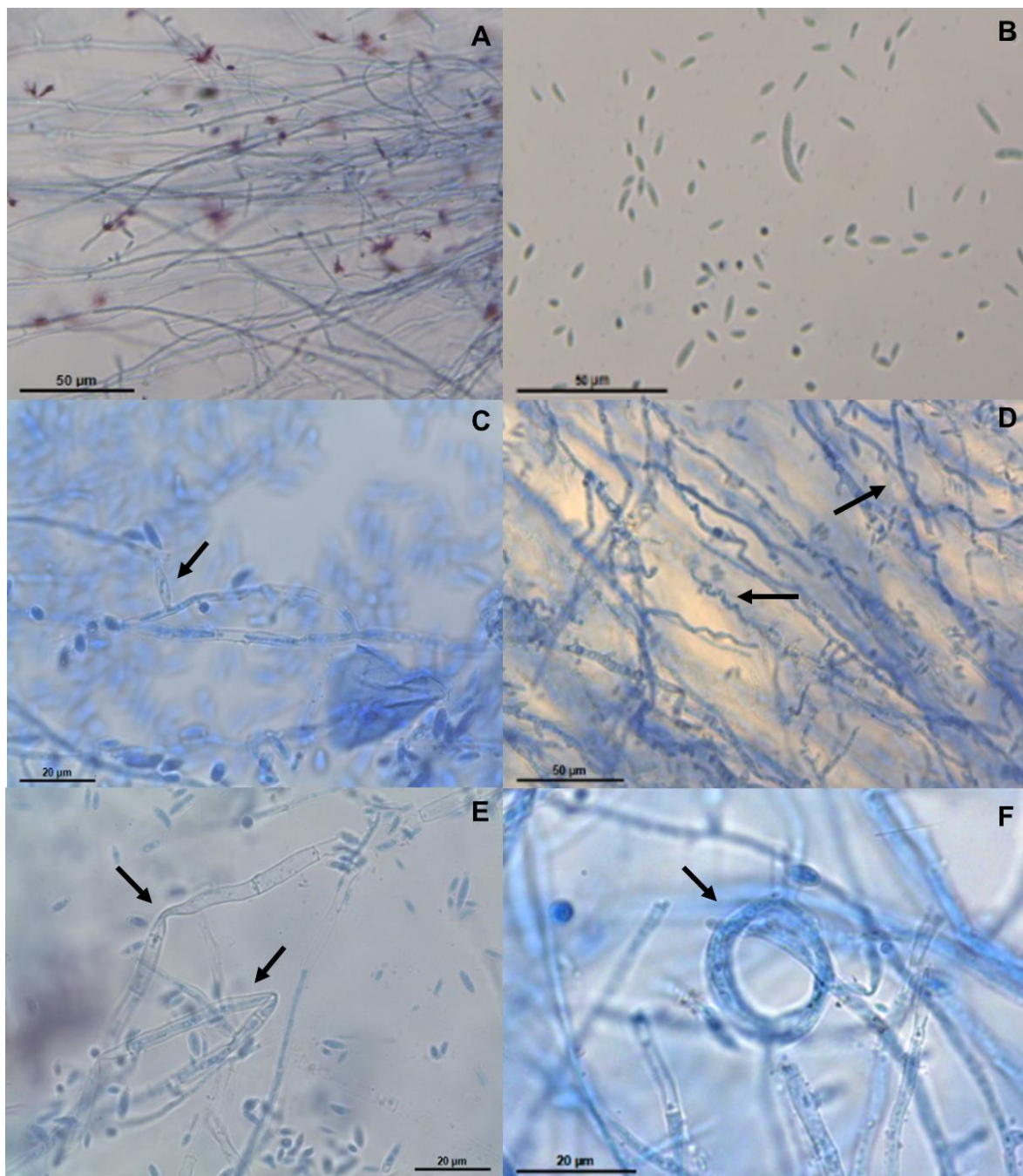


Figura 4. Modificações morfológicas observadas em *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *F. oxysporum* f. sp. *Cubense* quando expostos ao óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth em todas as concentrações. (A-B) Hifas normais, formação de conidióforos, micro e macroconídios do controle, sem óleo essencial. (C – F) Perda de conteúdo citoplasmático nas hifas e nos conidióforos, enrugamento, dobra e enrolamento das hifas.

4. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *C. argyrophyllus* possui potencial fungistático em todas as concentrações testadas;

A técnica de diluição em meio de cultura proporcionou inibições superiores as demais técnicas utilizadas;

As técnicas de exposição aos voláteis e diluição do óleo essencial de *C. argyrophyllus* em meio de cultura ocasionaram alterações morfológicas nos fungos, como perda de conteúdo citoplasmático, enrolamento, dobras e deformações nas hifas e formação de estruturas de resistência em todas as concentrações testadas.

5. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed. Allured Business Media, Carol Stream, 2007.
- BRITO, S.S.S.; SILVA, F.; MALHEIRO, R.; BAPTISTA, P.; PEREIRA, J.A. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. *Industrial Crops & Products*, v. 113, p. 308–315, 2018.
- BOUKAEWA, S., PRASERTSANB, P., SATTAYASAMITSATHIT, S. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. *Industrial Crops and Products*, v. 97, p. 558–566, 2017.
- BOZIK, M., CÍSAROVÁ, M., TANCINOVÁ, D., KOURIMSKÁ, L., HLEBA, L., KLOUCEK, P. Selected essential oil vapours inhibit growth of *Aspergillus* spp. in oats with improved consumer acceptability. *Industrial Crops and Products*, v. 98, p. 146–152, 2017.
- CONNER, D.E., BEUCHAT, L.R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, v. 49, n. 2, p. 429–434, 1984.

- COUTEAUDIER, Y., ALABOUVETTE, C. Survival and inoculum potential of conidia and chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* in soil. Canadian Journal of Microbiology, v. 36, p. 551-556, 1990.
- CRISTANI, M., D'ARRIGO, M., MANDALARI, G., CASTELLI, F., SARPIETRO, M.G., MICIELI, D., VENUTI, V., BISIGNANO, G., SAIJA, A., TROMBETTA, D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. J. Agric. Food Chem., v. 55, n. 15, p. 6300–6308, 2007.
- DILHANI, S., WIMALASIRI, S., ABEYWICKRAMA, K., KANNANGARA, S. Evaluation of antifungal effect of *Croton aromaticus* on storage life extension of banana. International Journal of Agriculture and Environmental Research., v. 2, n. 5, p. 1507-1525, 2016.
- ELLIS, M.L., JIMENEZ, D.R., LEANDRO, L.F., MUNKVOLD, G.P. Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. Phytopathology, v. 104, p. 1329-1339, 2014.
- ELOFF, J.N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Medica, v. 64, p. 711-713, 1998.
- FerreIRA, D.F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. Ciênc. agrotec., v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- FILHO, J.M.T.A.; ARAÚJO, L.C.; OLIVEIRA, A.P.; GUIMARÃES, A.L.; PACHECO, A.G.M.; SILVA, F.S.; CAVALCANTI, L.S.; LUCHESE, A.M.; ALMEIDA, J.R.G.S.; ARAÚJO, E.C.C. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 27, p. 440–444, 2017.
- HONG, J.K., YANG, H.J., JUNG, H., YOON, D.J., SANG, M.K., JEUN, Y.C. Application of Volatile Antifungal Plant Essential Oils for Controlling Pepper Fruit Anthracnose by *Colletotrichum gloeosporioides*. Plant Pathol. J., v. 31, n. 3, p. 269-277, 2015.
- JANTAPAN, K.; POAPOLATHEP, A.; IMSILP, K.; POAPOLATHEP, S.; TANHAN, P.; KUMAGAI, S.; JERMNAK, U. Inhibitory Effects of Thai

- Essential Oils on Potentially Aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. *Biocontrol Science*, v. 22, n. 1, p. 31-40, 2017.
- KEDIA, A.; DWIVEDY, A.K.; JHA, D.K.; DUBEY, N.K. Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action. *Protoplasma*, v. 253, p. 647–653, 2016.
- KUMAR, A.S., VENKATESALU, V., KANNATHASAN, K., CHANDRASEKARAN, M. Chemical constituents and antibacterial activity of the leaf essential oil of *Feronia limonia*. *Indian J. Microbiol.*, v. 50, n. 1, p. 70–73, 2010.
- KUSUCU, C.; RAPINO, B.; MCDERMOTT, L.; HADLEY, S. Comparison of the Semisolid Agar Antifungal Susceptibility Test with the NCCLS M38-P Broth Microdilution Test for Screening of Filamentous Fungi. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, p. 1224, 2004.
- LI, W.R., SHI, Q.S., OUYANG, Y.S., CHEN, Y. BEN, DUAN, S.S. Antifungal effects of citronella oil against *Aspergillus niger* ATCC 16404. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 97, p. 7483–7492, 2013.
- LÓPEZ-MENESES, A.K., PLASCENCIA-JATOMEA, M., LIZARDI-MENDOZA, J., ROSAS-BURGOS, E.C., LUQUE-ALCARAZ, A.G., CORTEZ-ROCHA, M.O. Antifungal and antimycotoxigenic activity of essential oils from *Eucalyptus globulus*, *Thymus capitatus* and *Schinus molle*. *Food Sci. Technol, Campinas*, v. 35, n. 4, p. 664-671, 2015.
- MANGANYI, M.C., REGNIER, T., OLIVIER, E.I. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. *South African Journal of Botany*, v. 99, p. 115–121, 2015.
- MBACK, M.N.L.N.; AGNANIET, H.; NGUIMATSIA, F.; DONGMO, P.M.J.; FOKOU, J.B.H.; BAKARNGA-VIA, I.; BOYOM, F.F.; MENUT, C. Optimization of antifungal activity of *Aeollanthus heliotropioides* oliv essential oil and Time Kill Kinetic Assay. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, v. 26, n. 3, p. 233-243, 2016.
- MOHR, F.B.M.; LERMEN, C.; GAZIM, Z.C.; GONÇALVES, J.E.; ALBERTON, O. Antifungal activity, yield, and composition of *Ocimum gratissimum* essential oil. *Genetics and Molecular Research*, v. 16, p. 1, 2017.

- NGUEFACK, J., TAMGUE, O., DONGMO, J.B.L., DAKOLE, C.D., LETH, V., VISMER, H.F., AMVAM ZOLLO, P.H., NKENGFACK, A.E. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*, v. 23, p. 377–383, 2012.
- PANDEY, A.K., KUMAR, P., SINGH, POOJA, TRIPATHI, N.N., BAJPAI, V.K. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. *Front. Microbiol.*, v. 7, p. 2161, 2017.
- REDDY, D.N., AL-RAJAB, A.J., SHARMA, M., MOSES, M.M., REDDY, G.R., ALBRATTY, M. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha x Piperita* L. (peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University – Science*, 2017.
- RIBES, S., FUENTES, A., TALENS, P., BARAT, J.M., FERRARI, G., DONSI, F. Influence of emulsifier type on the antifungal activity of cinnamon leaf, lemon and bergamot oil nanoemulsions against *Aspergillus niger*. *Food Control*, v. 73, Part B, p. 784-795, 2016.
- ROYSE, D., RIES, S. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, v. 68, p. 603–607, 1977.
- SESENI, L., REGNIER, T., ROUX-VAN DER MERWE, M.P., MOGALE, E., BADENHORST, J. Control of *Fusarium* spp. causing damping-off of pine seedlings by means of selected essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 76, p. 329–332, 2015.
- SHARMA, A., RAJENDRAN, S., SRIVASTAVA, A., SHARMA, S., KUNDU, B. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 123, p. 308-313, 2017.
- SIDDIQUI, S.A., ISLAM, R., ISLAM, R., JAMAL, A.H.M., PARVIN, T., RAHMAN, A. Chemical composition and antifungal properties of the essential oil and various extracts of *Mikania scandens* (L.) Willd. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, p. S2170–S2174, 2017.
- TABTI, L., DIB, M. E. A., GAOUAR, N., SAMIRA, B., & TABTI, B. Antioxidant and antifungal activity of extracts of the aerial parts of *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns against four phytopathogenic fungi of *Citrus sinensis*.

Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, v. 9, n. 1, p. 49-54, 2014.

- TEGANG, A.S., BEUMO, T.M.N., DONGMO, P.M.J., NGOUNE, L.T. Essential oil of *Xylopi aethiopica* from Cameroon: Chemical composition, antiradical and in vitro antifungal activity against some mycotoxigenic fungi. Journal of King Saud University – Science, 2017.
- TURIEL, N.A., RIBEIRO, A.F., CARVALHO, N.C.C., MONTEIRO, S., LUCAS, F.C.A., CARREIRA, L.M.M., ANDRADE, H.A., MAIA, J.G.S., ANDRADE, E.H.A., MAIA, J.G.S. Variability in Essential Oil Composition of Croton Species With Occurrence in the Eastern Brazilian Amazon, v. 3, p. 380–384, 2016.
- WIJESUNDARA, S.A.D.T.L.; KANNANGARA, B.T.S.D.P.; ABEYWICKRAMA, K. Antifungal Activity of *Croton aromaticus* L. *in vitro*, Against Post-Harvest Fungal Pathogens Isolated from Tropical Fruits. The Journal of Agricultural Sciences, v. 11, n. 2, p. 105 – 117, 2016.
- YAGI, S., BABIKER, R., TZANOVA, T., SCHOHN, H. Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, v. 9, n. 8, p. 763–770, 2016.
- YOOUSSEF, M.M., PHAM, Q., ACHAR, P.N., SREENIVASA, M.Y. Antifungal activity of essential oils on *Aspergillus parasiticus* isolated from peanuts. Journal of Plant Protection Research, v. 56, n. 2, p. 139-142, 2016.

ARTIGO 6

ATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE FUNGOS CAUSADORES DA ANTRACNOSE NA OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico Industrial Crops & Products, em versão na língua inglesa.

Atividade de óleos essenciais sobre fungos causadores da antracnose na oliveira (*Olea europaea* L.)

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Simone Teles; Paula Baptista;
José Alberto Pereira

Resumo: Causada por diferentes espécies do gênero *Colletotrichum*, a antracnose é considerada a doença mais importante na cultura da oliveira (*Olea europaea* L.) em todo mundo. Esta doença antracnose possui alta incidência nos olivais, chegando a causar 100% de perdas em cultivares mais susceptíveis. Diante da grande quantidade de fungicidas químicos utilizados no controle deste fitopatógeno, existe a necessidade de pesquisas que viabilizem o uso de antifúngicos derivados de produtos naturais, portanto o objetivo deste trabalho foi verificar a ação dos óleos essenciais de *Croton argyrophyllus* Kunth e *Ocimum basilicum* L. sobre os fungos *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* e *Colletotrichum acutatum*, causadores da antracnose em oliveiras. Foram utilizadas as técnicas de difusão de disco e exposição dos voláteis dos óleos essenciais para determinação da inibição do crescimento micelial dos fungos. Os resultados obtidos demonstraram que o bicyclogermacrene foi identificado como composto majoritário (14.01%) no óleo de *C. argyrophyllus* e o linalool (28.59%) no óleo de *O. basilicum*. Quando expostos aos voláteis de *C. argyrophyllus* a espécie *C. fiorinae* apresentou a maior inibição do crescimento micelial (45.34%) na concentração 10 µL. *O. basilicum* exibiu significantes reduções no crescimento micelial, *C. godetiae* apresentou os maiores valores de inibição em todas as concentrações, obtendo reduções superiores a 50% na concentração 5 µL. Os óleos essenciais de *C. argyrophyllus* e *O. basilicum* são promissores e contribuem para o desenvolvimento de novas estratégias de controle contra a antracnose na oliveira.

Palavras-chave: *Colletotrichum*, *Olea europaea* L., *Croton argyrophyllus* Kunth, *Ocimum basilicum* L.

Activity of essential oils on fungi causing anthracnose in the olive tree (*Olea europaea* L.)

Sara Samanta da Silva Brito; Franceli Silva; Simone Teles; Paula Baptista;
José Alberto Pereira

Abstract: Caused by different species of the genus *Colletotrichum*, anthracnose is considered the most important disease in the olive tree (*Olea europaea* L.) worldwide. This anthracnose disease has a high incidence in olive groves, causing 100% losses in susceptible cultivars. In view of the large amount of chemical fungicides used in the control of this phytopathogen, there is a need for research that allows the use of antifungals derived from natural products, so the objective of this work was to verify the action of the essential oils of *Croton argyrophyllus* Kunth and *Ocimum basilicum* L. on the fungi *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* and *Colletotrichum acutatum*, which cause anthracnose in olive trees. The techniques of disc diffusion and volatile exposure of the essential oils were used to determine the inhibition of fungal mycelial growth. The results obtained demonstrated that bicyclogermacrene was identified as the major compound (14.01%) in *C. argyrophyllus* oil and linalool (28.59%) in *O. basilicum* oil. When exposed to *C. argyrophyllus* volatiles, *C. fiorinae* showed the highest inhibition of mycelial growth (45.34%) in the 10 μ L concentration. *O. basilicum* exhibited significant reductions in mycelial growth, *C. godetiae* showed the highest inhibition values at all concentrations, obtaining reductions greater than 50% in the 5 μ L concentration. The essential oils of *C. argyrophyllus* and *O. basilicum* are promising and contribute to the development of new control strategies against anthracnose in the olive tree.

Keywords: *Colletotrichum*, *Olea europaea* L., *Croton argyrophyllus* Kunth, *Ocimum basilicum* L.

1.INTRODUÇÃO

O gênero *Colletotrichum* (Ascomycota) agrupa importantes espécies de fungos causadores de doenças em plantas. Essas espécies afetam uma gama de hospedeiros e são consideradas principais fitopatógenos de doenças pré e pós-colheita em frutas como manga, maracujá, morango, azeitona entre outras (Phoulivong et al. 2010). Conhecida como antracnose, os principais sintomas associados a infecção por fungos deste gênero são lesões necróticas afundadas onde encontra-se na maioria das vezes massas laranja de conídios (Freeman et al. 1998).

Na cultura da oliveira (*Olea europaea* L.) a antracnose é considerada a doença mais importante, com alta incidência, podendo causar 100% de perdas em alguns olivais com cultivares mais susceptíveis. Podendo afetar todas as partes da planta, a antracnose causa prejuízos mais significativos aos frutos causando a queda prematura das azeitonas (Talhinhas et al., 2011; Cacciola et al., 2012). A antracnose em oliveiras é causada pelo complexo de espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum* nomeado de *C. acutatum* sensu lato. Este complexo compreende diferentes espécies entre elas *C. fiorinae*, *C. godetiae* e *C. acutatum* sensu stricto (Damm et al., 2012; Romero et al., 2017).

Para o controle da antracnose da azeitona são utilizados principalmente produtos químicos, como compostos de cobre, no entanto a eficácia deste método é limitada e geram consequências negativas para o sistema produtivo, como a contaminação dos frutos, resistência de patógenos, contaminação da água e dos solos entre outros (Moral et al., 2014). Nesse contexto a utilização de óleos essenciais no controle de fitopatógenos têm sido amplamente investigada. Seu efeito antifúngico vem sendo correlacionado com os principais compostos presentes nos óleos ou ainda um efeito sinérgico ou antagonistas de vários compostos (Dubuk et al., 2015).

Constituídos principalmente de hidrocarbonetos terpênicos e terpenoides os óleos essenciais são metabólitos secundários com diversas utilizações, além do potencial biológico esses compostos são matérias-primas importantes na indústria de cosméticos, alimentos e farmacêutica (Pandey et al., 2014). Entre as espécies vegetais, as famílias Euphorbiaceae e Lamiaceae se destacam por possuírem espécies que produzem importantes compostos

voláteis. Entre entre espécies pode-se destacar o *Croton argyrophyllus* Kunth e *Ocimum basilicum* L.

O *Ocimum basilicum* L. conhecido popularmente como manjeriço é amplamente utilizada na culinária, indústria farmacêutica e seu óleo essencial têm sido caracterizado como rico em propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Shirazi et al., 2014). O *Croton argyrophyllus* Kunth chamado de “cassutinga” produz óleo essencial rico em compostos fenólicos e terpenos com atividades biológicas já comprovadas (Turiel et al., 2016).

O efeito antifúngico dos bioativos de plantas sobre espécies de *Colletotrichum* têm sido reportado por diversos autores. O efeito fungicida do óleo essencial de *O. basilicum* foi atingido na concentração 2000 µL L⁻¹ para o fungo *C. musae* (Vilaplana et al., 2018); o crescimento micelial do *C. acutatum* foi inibido quando exposto aos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae), *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) e *Syzygium aromaticum* [L.] (Myrtaceae) (Duduk et al., 2015). Os fitopatógenos *C. gleosporioides*, *C. musae* e *Pestalotiopsis mangiferae* foram inibidos quando expostos ao extrato de *C. aromaticus* (Wijesundara et al., 2016; Dilhani et al., 2016).

Neste contexto, no presente trabalho objetivou-se estudar o efeito dos óleos essenciais de *Croton argyrophyllus* Kunth e *Ocimum basilicum* L. na inibição do crescimento dos fungos *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* e *Colletotrichum acutatum* causadores da antracnose em oliveiras.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Material vegetal:

As folhas de *Croton argyrophyllus* foram coletados no município de São Domingos (Bahia – Brasil) (11°27'56" S 39°31'34" O) durante o dia no mês de Fevereiro de 2016. A espécie foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, catalogada com o Voucher HURB 15401. Seis amostras independentes de 50 g cada foram secas e preparadas separadamente para extração do óleo essencial. A espécie *Ocimum basilicum* L. foi cultivada em estufa agrícola no campus da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas – BA.

2.2. Destilação do óleo essencial:

O material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C até atingir peso constante, totalizando cerca de 3 a 4 dias. Após a secagem, as folhas foram trituradas manualmente e cada 50 g do *C. argyrophyllus* Kunth e 100 g do *O. basilicum* L. foram adicionadas em um balão com água destilada no volume total de 3 litros, separadamente. Essa mistura foi submetida ao processo de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger por 2 horas para obtenção do óleo essencial.

2.3. Caracterização do óleo essencial:

Os óleos essenciais de *C. argyrophyllus* Kunth e *O. basilicum* L. foram caracterizados através da análise por cromatografia gasosa utilizando a detecção por espectrometria de massa (GC/MS). Antes da injeção, 10 µL do óleo essencial foi diluído em 0.5 mL de metanol, e 1 µL do volume foi injetado.

2.3.1. Cromatografia gasosa com detecção de espectrometria de massa (GC / MS):

O cromatógrafo de gás utilizado foi um modelo Shimadzu GC-2010 acoplado a um espectrômetro de massa GC/MS-QP 2010 Shimadzu. Foi utilizada uma coluna capilar TRB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Teknokroma, Espanha). A porta do injetor (modelo AOC20i+s) foi aquecida a 220 °C, e as injeções foram realizadas em modo dividido (1:20). A temperatura do forno foi programada para começar a 60 °C e depois aumentou em 3 °C / min até atingir 240 °C, e isso foi mantido por 20 min. O gás transportador foi o hélio (Praxair, Portugal), a uma velocidade linear de 30 cm/s e uma taxa de fluxo de 44,3 mL/min. A temperatura da fonte de ionização foi mantida a 240 °C, a energia de ionização a 70 eV e a corrente de ionização a 0,1 kV. Os compostos foram identificados comparando seus espectros de MS com os obtidos de um banco de dados (NIST 11) e com os compostos puros analisados nas mesmas condições e comparando os índices de retenção (na forma de índices de Kovats) com dados na literatura (Adams, 2007). Os resultados foram expressos como porcentagens relativas de cada composto, calculados através da normalização das áreas de pico cromatográficas.

2.4. Atividade antimicrobiana:

2.4.1. Obtenção dos Isolados: Os fungos *Colletotrichum fiorinae*, *Colletotrichum godetiae* (MAF2) e *Colletotrichum acutatum* (COCa2011) foram obtidos da coleção de cultura de fungos da Escola de Agricultura do Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. O inóculo fúngico utilizado nos ensaios foram retirados de estoques congelados, transferindo-se esporos dos fungos para o meio batata-destrose-ágar (BDA) e mantidos no escuro a 25 ± 1 °C durante três a oito dias.

2.4.2. Difusão em disco: na determinação da inibição do crescimento micelial dos fungos pelo método da difusão em ágar foram utilizadas placas de Petri (5 cm diâmetro) contendo o meio de cultura BDA onde foi adicionado 1mL do meio de cultura ágar-água contendo a suspensão de esporos dos fungos estudados ajustada em 10^6 conídios.mL⁻¹. Sobre esta suspensão de esporos no centro da placa foi adicionado um disco de papel filtro estéril com o óleo essencial puro nas concentrações de 5, 10 e 15 µL além do controle com água destilada estéril. Após 24 horas de incubação em câmara climática tipo B.O.B foi avaliado o diâmetro do halo de inibição no entorno do papel filtro com o auxílio de uma régua milimetrada (Kumar et al., 2010).

2.4.3. Exposição aos voláteis: neste método foi realizada a exposição dos fungos aos voláteis presentes no óleo essencial, no centro da tampa da placa de Petri foi adicionado um disco de papel filtro estéril com o óleo essencial puro nas concentrações de 5, 10 e 15 µL além do controle com água destilada estéril (Hong et al., 2015). Na outra superfície da placa foi adicionado o meio de cultura do tipo B.D.A com as estruturas fúngicas. A avaliação do crescimento micelial se deu através da medição a cada dois dias do diâmetro da colônia em dois eixos ortogonais (longitudinal e transversal) finalizando com o crescimento por completo da colônia na testemunha totalizando 7 dias.

2.5. Análise dos dados: com os dados obtidos do halo de inibição e do diâmetro da colônia foram calculadas as porcentagens de inibição dos óleos essenciais em cada concentração através da fórmula: $I = (DTT-DT) / DTT * 100$

Onde: DTT= diâmetro/halo no tratamento controle; DT= diâmetro/halo no tratamento (Royse and Ries, 1977).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição química dos óleos essenciais:

A análise por GC/MS do óleo essencial de *C. argyrophyllus* Kunth resultou na identificação de 51 compostos, o biclogermacreno foi identificado como composto majoritário com 14.01%, seguido por β -pineno (8.92%), espatulenol (8.72%), cariofileno (7.65%) e β -felandrene (5.72%) (Brito et al., 2018).

Para o óleo essencial de *O. basilicum* L. foram identificados 38 compostos reportados na Tabela 1. Com 28.59% o linalol foi identificado como composto majoritário seguido de metil chavicol (18.68%), Epi- α -cadinol (8%) e eucaliptol (6.22%).

Tabela 1. Composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (média \pm DP; n = 6, somente os compostos com área relativa superior a 1% são reportados).

LRI Lit	LRI Calc	Composição	<i>Ocimum basilicum</i> (%)
1033	1059	Eucaliptol	6.33 \pm 0.25
1096	1082	Linalol	28.43 \pm 0.26
1195	1172	Estragol	18.43 \pm 0.53
1285	1277	Bornyl acetato	1.17 \pm 0.02
1390	1398	β -elemeno	1.03 \pm 0.02
1403	1361	Metil eugenol	2.39 \pm 0.06
1434	1430	α -trans-bergamoteno	6.33 \pm 0.06
1454	1579	Humuleno	1.32 \pm 0.03
1485	1515	Germacreno D	2.34 \pm 0.07
1490	1431	Elixeno	1.22 \pm 0.05
1509	1490	α -bulneseno	2.19 \pm 0.11
1513	1435	γ -cadineno	3.64 \pm 0.05
1578	1536	Espatulenol	1.20 \pm 0.06
1654	1580	α -cadinol	8.02 \pm 0.10
Total identificado (%)			84.02

*LRI Lit. – Índice de retenção linear reportado na literatura (Adams, 2001), LRI Calc – Índice de retenção calculado.

Diante da grande diversidade de componentes químicos o óleo essencial de *O. basilicum* é caracterizado em diferentes quimiotipos de acordo com proporção dos seus compostos. Alguns autores classificam os acessos em

cinco quimiotipos básicos: (a) linalol como composto principal, (b) metil-chavicol como composto principal; (c) proporções semelhantes de linalol e metil chavicol; (d) proporções semelhantes de linalol e eugenol e (e) proporções semelhantes de metil chavicol e eugenol (Joshi, et al., 2014; Avetisyan, et al., 2017), sendo o do presente estudo classificado como quimiotipo com linalol como composto principal.

Piras et al. (2018) caracterizaram o linalool como composto majoritário no óleo essencial de *O. basilicum* com 35.1%; assim como Thomidis e Filotheou (2016) e Marandi et al. (2011) que obtiveram como composto majoritário o linalol, variando seu teor de 34,9 e 65,25%. Freitas et al. (2018) analisando sete óleos essenciais de diferentes espécies de *Ocimum* encontraram 3 quimiotipos: eugenol para *O. gratissimum*, *O. micranthum* e *O. tenuiflorum*, estragole para *O. basilicum*, *O. basilicum* var. *purpuracens* e *O. selloi* e cinamato de metila para *O. americanum*. Estudos com espécies de *Ocimum* ocorrentes no Brasil verificaram teores em torno de 29 – 32% de linalool (Oliveira et al., 2013).

3.2. Atividade Antimicrobiana:

Os óleos essenciais de *C. argyrophyllus* Kunth e *O. basilicum* L. demonstraram a capacidade de inibir o crescimento micelial dos fungos estudados em todas as concentrações testadas. Para o óleo de *C. argyrophyllus* Kunth os fungos estudados apresetaram pequenos halos de inibição (Figura 1A). Quando expostos aos voláteis do óleo a espécie *C. fiorinae* apresentou a maior inibição do seu crescimento micelial chegando a 45.34% quando exposta a concentração 10 µL, já as espécies *C. godetiae* e *C. acutatum* apresetaram maiores inibições na maior concentrações 15 µL (Figura 1B).

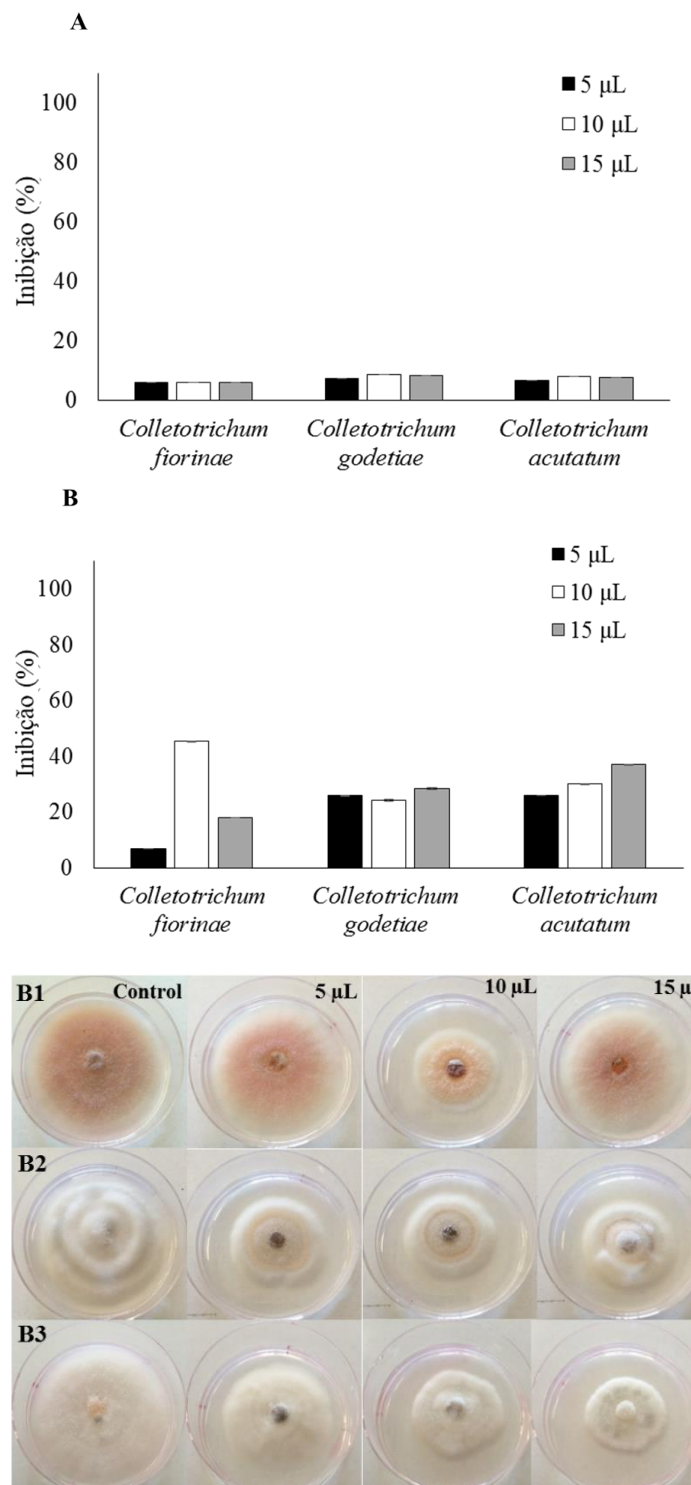


Figura 1: Efeito do óleo essencial de *Croton argyrophyllus* Kunth. em diferentes concentrações. (A) Halo de inibição, (B) Inibição do crescimento micelial e Tamanho da colônia de *Colletotrichum fiorinae* (B1), *Colletotrichum godetiae* (B2) e *Colletotrichum acutatum* (B3) (média \pm desvio padrão; n = 5).

No entanto é possível observar diferenças relevantes no tamanho da colônia dos fungos quando expostos as diferentes concentrações do óleo essencial através das figuras B1, B2 e B3. Dilhani et al. (2016) em seus estudos obtiveram inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos de *C. gleosporioides* isolados do mamão utilizando o extrato de *C. aromaticus* na concentração de 5 mg/mL.

O óleo essencial de *O. basilicum* L. demonstrou efeito antifúngico contra os fungos estudados em todas as concentrações utilizadas e exibiu significantes reduções no crescimento micelial. Os maiores halos de inibição foram observados para a espécie *C. godetiae* quando comparada as demais espécies, obtendo 38.5% na menor concentração utilizada (5 µL) (Figura 2A). Quando exposto aos voláteis do óleo essencial o *C. godetiae* apresentou a maior redução do tamanho da sua colônia com 81.38% na concentração 15 µL (Figura 2B e B1), *C. fiorinae* e *C. acutatum* apresentaram reduções superiores a 50% na concentração 5 µL como pode ser observado nas figuras B2 e B3.

O gênero *Ocimum* apresenta a maior diversidade de espécies dentro da família Lamiaceae, utilizadas para diversos fins esse gênero é considerado uma rica fonte de óleo essencial com ação antimicrobiana relatada contra diversos microrganismos (Avetisyan et al., 2018). Vilaplana et al. (2018) utilizando o óleo essencial *O. basilicum* obtiveram 78% de inibição do *C. musae* utilizando a concentração 500 µL L⁻¹ e efeito fungicida na concentração 2000 µL L⁻¹; a germinação de esporos de *C. gloeosporioides* foi reduzida em 93% na concentração de 1.000 ppm quando expostos ao óleo essencial de *O. selloi* (Costa et al., 2015); o crescimento micelial do *C. acutatum* foi inibido quando exposto aos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae), *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae) e *Syzygium aromaticum* [L.] (Myrtaceae) (Duduk et al., 2015).

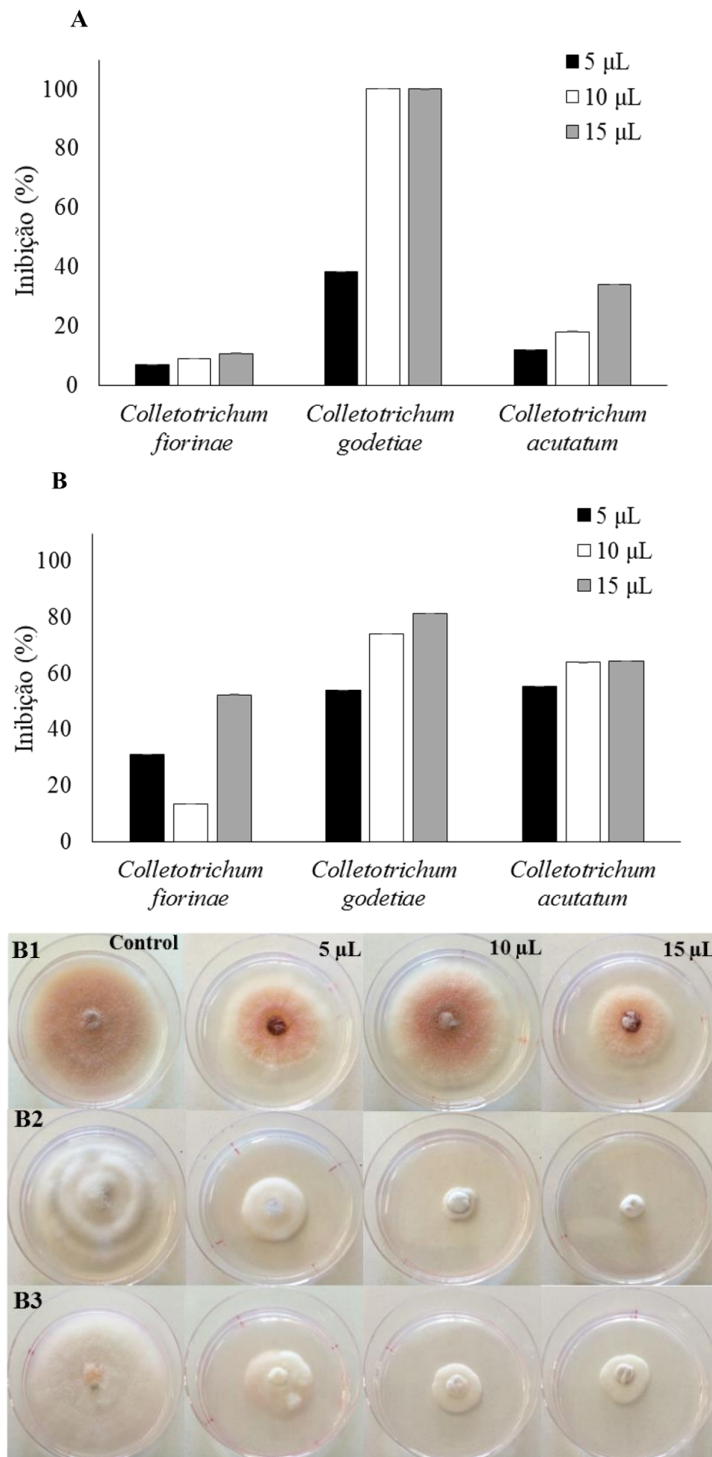


Figura 2. Efeito do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em diferentes concentrações. (A) Halo de inibição, (B) Inibição do crescimento micelial e Tamanho da colônia de *Colletotrichum fiorinae* (B1), *Colletotrichum godetiae* (B2) e *Colletotrichum acutatum* (B3) (média \pm desvio padrão; n = 5).

O óleo essencial de manjeriço na concentração de 80 mg/mL foi capaz de inibir em 100% o crescimento das espécies *Bipolaris* e *Cochliobolus* (Elsherbiny et al., 2016); e diminuir o crescimento de *Aspergillus parasiticus* e a sua produção de micotoxinas na concentração de 500 $\mu\text{L L}^{-1}$ (Císarová et al., 2016).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais testados tem sido associada a presença de monoterpenos e sesquiterpenos em sua composição. O linalool, composto majoritário do óleo essencial de manjeriço é um monoterpeno amplamente utilizada na indústria farmacêutica, perfumaria, cosmética e alimentícia (Camargo e Vasconcelos, 2014). Os sesquiterpenos bicyclogermacrene, spathulenol e os monoterpenos β -pinene, γ -terpinene, p -cymene compostos presentes no óleo essencial de *C. argyrophyllus* são caracterizados na literatura como responsáveis pelas propriedades antifúngicas dos óleos essenciais (Jantapan et al., 2017). Os mecanismos de ação em microrganismos destes compostos são caracterizados na literatura, podendo causar interferência na inibição da síntese de ergosterol, na integridade e função da membrana plasmática (Khan et al., 2014; Silva et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos conclui-se que os óleos essenciais possuem efeito antimicrobiano. O óleo essencial de *O. basilicum* L. com a presença majoritária do composto linalool (28.59%) apresentou significantes reduções no crescimento micelial dos fungos estudados, *C. godetiae* e *C. acutatum* apresentaram os maiores valores de inibição em todas as concentrações, obtendo reduções superiores a 50% na concentração 5 μL .

Para *C. argyrophyllus* Kunth a espécie *C. fiorinae* apresentou a maior inibição do crescimento micelial (45.34%) quando exposta a concentração 10 μL , as espécies *C. godetiae* e *C. acutatum* não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações utilizadas. Os óleos essenciais estudados são considerados promissores e contribuem para o desenvolvimento de novas estratégias de controle contra a antracnose da oliveira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVETISYAN, A.; MARKOSIAN, A.; PETROSYAN, M.; SAHAKYAN, N.; BABAYAN, A.; ALOYAN, S.; TRCHOUNIAN, A. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. BMC Complement. Altern. Med., v. 17, p. 60, 2017.
- BRITO, S.S.S.; SILVA, F.; MALHEIRO, R.; BAPTISTA, P.; PEREIRA, J.A. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. Industrial Crops & Products, v. 113, p. 308–315, 2018.
- CACCIOLA, S.O.; FAEDDA, R.; SINATRA, F.; AGOSTEO, G.E.; SCHENA, L.; FRISULLO, S.; MAGNANO DI SAN LIO, G. Olive anthracnose. J Plant Pathol, v. 94, p. 29–44, 2012.
- CAMARGO, S.B.; VASCONCELOS, D.F.S.A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpene Rev. Ciênc. Méd. Biol., Salvador, v. 13, n. 3, p. 381-387, 2014.
- CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F.E.; CRIPPA, L.B.; MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R.T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. Revista Brasileira de Agroecologia, Caixas do sul, p. 117-122, 2011.
- CHENNI, M.; EL ABED, D.; RAKOTOMANOMANA, N.; FERNANDEZ, X.; CHEMAT, F. Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free. Microwave Extraction Molecules, v. 21, p. 113, 2016.
- CÍSAROVÁ, M.; TANČINOVÁ, D.; MEDO, J.; KAČÁNIOVÁ, M. The *in vitro* effect of selected essential oils on the growth and mycotoxin production of *Aspergillus* species. J. Environ. Sci. Heal. Part B, v. 51, p. 668–674, 2016.
- COSTA, L.C.B.; PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; COSTA, J.C.B.; ALVES, P.B.; NICULAU, E.S. *In vitro* antifungal activity of *Ocimum selloi* essential oil and methylchavicol against phytopathogenic fungi. Revista Ciência Agronômica, v. 46, n. 2, p. 428-435, 2015.
- DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEBERG, J.H.C.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Stud Mycol., v. 73, p. 37–113, 2012.

- DILHANI, S.; WIMALASIRI, S.; ABEYWICKRAMA, K.; KANNANGARA, S. Evaluation of antifungal effect of *Croton aromaticus* on storage life extension of banana. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, v. 2, n. 5, p. 1507-1525, 2016.
- DUDUK, N.; MARKOVIC, T.; VASIC, M.; DUDUK, B.; VICO, I.; OBRADOVIC, A. Antifungal Activity of Three Essential Oils against *Colletotrichum acutatum*, the Causal Agent of Strawberry Anthracnose. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, v. 18, n. 3, p. 529-537, 2015.
- ELSHARBINY, E.A. et al. Chemical composition and fungicidal effects of *Ocimum basilicum* essential oil on *Bipolaris* and *Cochliobolus* species. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 18, n. 1, p. 1143-1152, 2016.
- FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*, v. 82, p. 596-605, 1998.
- FREITAS, J.V.; FILHO, E.G.A.; SILVA, L.M.A.; ZOCOLO, G.J.; BRITO, E.S.; GRAMOSA, N.V. Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. *Talanta*, v. 180, p. 329–336, 2018.
- JANTAPAN, K.; POAPOLATHEP, A.; IMSILP, K.; POAPOLATHEP, S.; TANHAN, P.; KUMAGAI, S.; JERMNAK, U. Inhibitory Effects of Thai Essential Oils on Potentially Aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*. *Biocontrol Science*, v. 22, n. 1, p. 31-40, 2017.
- JOSHI, R.K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka. India. *Anc. Sci. Life*, v. 33, p. 151–156, 2014.
- KHAN, A.; AHMAD, A.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. *Ocimum sanctum* (L.) essential oil and its lead molecules induce apoptosis in *Candida albicans*. *Res. Microbiol.*, v. 165, p. 411–419, 2014.
- MARANDI, R.J. et al. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on pear with *Thymus kotschyanus*, *Ocimum basilicum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 5, n. 4, p. 626-634, 2011.

- MORAL, J.; XAVIER, C.; ROCA, L.F.; ROMERO, J.; MOREDA, W.; TRAPERO, A. La Antracnosis del olivo y su efecto em la calidad del aceite. *Grasas Aceites*, v. 65, 2014.
- OLIVEIRA, R.A. et al. Linalool and methyl chavicol present basil (*Ocimum* sp.) cultivated in Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 2, p. 309-311, 2013.
- PANDEY, A.K.; SINGH, P.; TRIPATHI, N.N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4, 682–694, 2014.
- PHOULIVONG, S.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE, E.H.C.; ABDELSALAM, K.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K.D. *Colletotrichum gloeosporioides* in not a common pathogen on tropical fruits. *Fungal Diversity*, v. 44, p. 33-43, 2010.
- PIRASA, A.; GONÇALVES, M.J.; ALVES, J.; FALCONIERI, D.; PORCEDDA, S.; MAXIA, A.; SALGUEIRO, L. *Ocimum tenuiflorum* L. and *Ocimum basilicum* L., two spices of Lamiaceae family with bioactive essential oils. *Industrial Crops & Products*, v. 113, p. 89–97, 2018.
- ROMERO, J.; AGUST-BRISACH, C.; SANTA BARBARA, A.E.; CHERIFI, F.; OLIVEIRA, R.; ROCA, L.F.; MORAL, J.; TRAPERO, A. Detection of latent infections caused by *Colletotrichum* sp. in olive fruit. *Journal of Applied Microbiology*, p. 1-11, 2018.
- SHIRAZI, M.T.; GHOLAMI, H.; KAVOOSI, G.; ROWSHAN, V.; TAFSIRY, A. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. *Food Sci. Nutr.*, v. 2, n. 2, p. 146–155, 2014.
- SILVA, V.A.; SOUSA, J.P.; PESSOA, H.L.F.; FREITAS, A.F.R.; COUTINHO, H.D.M.; ALVES, L.B.N.; LIMA, E.O. *Ocimum basilicum*: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. *Pharmaceutical Biology*, p. 1–5, 2015.
- TALHINHAS, P.; MOTA-CAPITAO, C.; MARTINS, S.; RAMOS, A.P.; NEVES-MARTINS, J.; GUERRA-GUIMARAES, L.; VARZEA, V.; SILVA, M.C. et al. Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. *Plant Pathol.*, v. 60, p. 483–495, 2011.

- THOMIDIS, T.; FILOTHEOU, A. Evaluation of five essential oils as bio-fungicides on the control of *Pilidiella granati* rot in pomegranate. *Crop Protection*, v. 1, n. 89, p. 66- 71, 2016.
- TURIEL, N.A.; RIBEIRO, A.F.; CARVALHO, N.C.C.; MONTEIRO, S.; LUCAS, F.C.A.; CARREIRA, L.M.M.; ANDRADE, H.A.; MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G.S. Variability in Essential Oil Composition of Croton Species With Occurrence in the Eastern Brazilian Amazon, v. 3, p. 380–384, 2016.
- VILAPLANA, R.; PAZMIÑO, L.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. *Postharvest Biology and Technology*, v. 138, p. 56-63, 2018.
- WIJESUNDARA, S.A.D.T.L.; KANNANGARA, B.T.S.D.P.; ABEYWICKRAMA, K. Antifungal Activity of *Croton aromaticus* L. *in vitro*, Against Post-Harvest Fungal Pathogens Isolated from Tropical Fruits. *The Journal of Agricultural Sciences*, v. 11, n. 2, p. 105 – 117, 2016.