

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**Extratos vegetais de espécies nativas do bioma Caatinga no
controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Colletotrichum
musae***

JAMILE RUFINO DOS SANTOS

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JANEIRO – 2018**

**EXTRATOS VEGETAIS DE ESPÉCIES NATIVAS DO BIOMA
CAATINGA NO CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*
e *Colletotrichum musae***

JAMILE RUFINO DOS SANTOS
Licenciada em Ciências Biológicas
Universidade do Estado da Bahia- UNEB, 2015.

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Dr^a. Ana Cristina Fermino Soares

Co-Orientador: Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JANEIRO – 2018

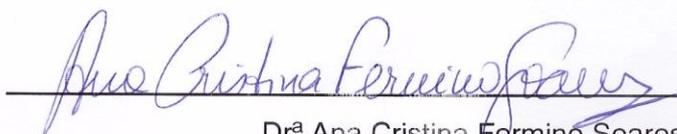
FICHA CATALOGRÁFICA

S237e	<p>Santos, Jamile Rufino dos. Extratos vegetais de espécies nativas do bioma Caatinga no controle de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. cubense e <i>Colletotrichum musae</i> / Jamile Rufino dos Santos. – Cruz das Almas, BA, 2019. 93.; il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Ana Cristina Fermino Soares Co-orientador: Prof. Dr. Thiago Alves Santos de Oliveira</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Microbiologia Agrícola.</p> <p>1. Cultura da Banana. 2. Banana - Fungo 3. Banana – Controle de Pragas. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrária, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD: 634.772</p>
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Neubler Nilo Ribeiro da Cunha (Bibliotecário - CRB5/1578)
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
JAMILE RUFINO DOS SANTOS



Dr^a Ana Cristina Fermino Soares
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Orientadora



Dr^o Aristóteles Pires de Matos
Embrapa Mandioca e Fruticultura



Dr^a Cíntia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola em _____ conferindo o grau de
Mestre em Microbiologia Agrícola em
_____.”

À minha mãe Ednália Santos, minha avó Nailde Santos e minhas tias, exemplos de mulheres fortes e guerreiras.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar conforto e forças nas horas difíceis.

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB e ao Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

À minha orientadora professora Dr^a Ana Cristina Fermino Soares pela orientação, exemplo, paciência e incentivo durante esse período.

Ao meu co-orientador Thiago Alves de Oliveira pelos ensinamentos.

Ao Dr^o Leandro Rocha pelo auxílio com as análises estatísticas.

À Bióloga Lorena Pimentel (Lore) pelo auxílio na montagem dos experimentos e pelos momentos de descontração.

Ao Dr^o Fábio Nascimento pela ajuda com os experimentos, pela amizade, ensinamentos, incentivo e por ter estado presente em todos os momentos. Exemplo de profissional e pessoa serei eternamente grata por tudo que fez por mim!

A toda equipe do laboratório de Microbiologia Agrícola, em especial a Dr^a Thais Feijó e a técnica Zozilene pelo apoio e palavras de incentivo.

À todos os funcionários do Bloco L: a técnica Verônica, Dona Val pelo carinho e alegria sempre.

Aos meus colegas de turma, Fátima Souza, Camila Mascena, Carlos Raimundo e Ramon Argôlo. Agradeço o companheirismo, o apoio, as caronas. A estrada foi árdua, mas vocês suavizaram meu caminhar.

A toda minha família pelo apoio, amor e incentivo sempre, em especial minha mãe Ednália pelo exemplo de mulher forte e íntegra.

Aos meus amigos, Caroline Viana, Gustavo Ferreira, Luma Raiana, Vilmária Soares, Dayane Gabriela e Gabriela Nascimento que mesmo na distância se mantêm presentes, incentivando e apoiando.

À companheira de casa Larissa Costa pela amizade e companheirismo.

Sou grata a todos que de forma direta ou indireta contribuiu para a realização de mais essa etapa de vida!

Muito obrigada!

“É melhor tentar e falhar que preocupar-se e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se, fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me esconder. Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade viver.”

-Martin Luther King

ÍNDICE

	Página
INTRODUÇÃO	15
CAPÍTULO 1	
REVISÃO DE LITERATURA.....	18
Resumo.....	19
Cultura da bananeira	21
Características do fruto.....	22
Mal do Panamá.....	23
Antracnose.....	25
Extratos vegetais no controle de fitopatógeno	26
Extratos vegetais na pós-colheita	28
<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	29
<i>Croton campestris</i> A. St.-Hil.....	31
<i>Capparis yco</i> (Mart.) Eichler.....	32
REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 2	
Controle de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i> com extratos vegetais.....	43
Resumo.....	44
Abstract.....	45
INTRODUÇÃO.....	46
MATERIAL E MÉTODOS.....	47
Local do experimento	46
Obtenção do inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ubense</i>	46
Material vegetal.....	46

Preparo dos extratos vegetais hidroalcoólicos.....	46
Avaliação <i>in vitro</i> dos extratos hidroalcoólicos sobre o crescimento micelial de <i>oxysporum f. sp cubense</i>	49
Avaliação <i>in vitro</i> dos extratos hidroalcoólicos sobre a germinação de conídios de <i>F.oxysporum f. sp cubense</i>	50
Análises estatísticas.....	51
Triagem fitoquímica	52
RESULTADOS.....	53
Avaliação <i>in vitro</i> dos extratos vegetais hidroalcoólicos no crescimento micelial de Foc.....	53
Avaliação <i>in vitro</i> da esporulação de Foc em meio BDA com extratos vegetais hidroalcoólicos.....	57
Avaliação <i>in vitro</i> dos extratos vegetais hidroalcoólicos na germinação de conídios de Foc	58
Triagem fitoquímica.....	59
DISCUSSÃO.....	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
REFÊRENCIAS.....	64

CAPÍTULO 3

Controle de <i>Colletotrichum musae</i> e antracnose da banana com extrato de <i>Ziziphus joazeiro</i>	68
Resumo	69
Abstract	70
Introdução.....	71
MATERIAL E MÉTODOS	72
Obtenção do inóculo de <i>Colletotrichum musae</i>	72
Material vegetal	72
Preparo do extrato hidroalcoólico de folhas de <i>Ziziphus joazeiro</i>	72
Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i>	73

Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> sobre a esporulação de <i>Colletotrichum musae</i>	74
Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> sobre a esporulação de <i>Colletotrichum musae</i>	74
Análises estatísticas	75
Avaliação de extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> no controle da antracnose da banana	76
Material vegetal.....	76
Tratamento dos frutos e inoculação.....	77
Experimento I.....	77
Avaliações dos frutos.....	78
Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de <i>Z. joazeiro</i> no diâmetro de lesões de antracnose em frutos de banana da variedade Prata	78
Perda de massa nos frutos de banana.....	78
Incidência da doença.....	79
Experimento II.....	79
Severidade da doença.....	80
RESULTADOS.....	80
Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de folhas de <i>Ziziphus joazeiro</i> sob crescimento micelial de <i>C. musae</i>	80
Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> sobre a esporulação de <i>Colletotrichum musae</i>	82
Avaliação <i>in vitro</i> do extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> sobre a germinação de conídios de <i>Colletotrichum musae</i>	83
Avaliação de extrato hidroalcoólico de <i>Ziziphus joazeiro</i> no controle da antracnose da banana	83
Experimento I	83
Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de <i>Z. joazeiro</i> no diâmetro de lesões de antracnose em frutos de banana da variedade Prata	85
Perda de massa nos frutos de banana	85
Incidência da doença	85
Experimento II	86
Severidade da doença	86

DISCUSSÃO.....	88
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
REFÊRENCIAS.....	91

RESUMO GERAL

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F. Extratos de espécies vegetais nativas do bioma Caatinga no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e *Colletotrichum musae*

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. e Curtis) Arx. e o mal do Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) são doenças que causam elevado impacto na produção de banana (*Musa* spp.) no mundo. Tendo em vista o potencial bioativo de plantas nativas do Brasil, investigações estão sendo feitas na busca de produtos de origem vegetal que possam ser uma opção no controle de doenças. Os objetivos deste trabalho foram: i) avaliar *in vitro*, o potencial fungitóxico de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* e *Croton campestris* no controle de Foc e de *C. musae* e ii) avaliar o efeito de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Z. joazeiro* Mart no controle de *C. musae* em frutos de banana. Nos testes com Foc *in vitro*, o extrato de juazeiro, diluído para 40%, reduziu em 99% o crescimento micelial e em 96% e 100% a produção de microconídios e macroconídios, respectivamente. O extrato de velame, na mesma concentração, proporcionou redução de 99% do crescimento micelial e 92% e 100% da produção de microconídios e macroconídios, respectivamente. O extrato de icó não apresentou resultados satisfatórios. O extrato de juazeiro adicionado ao meio de cultura, na concentração de 20%, causou a redução de 98,33% no crescimento micelial e esporulação de *C. musae*. Em frutos de banana, todas as concentrações (10; 20; 30 e 40%) do extrato de juazeiro diminuiram a severidade da antracnose. A severidade da doença em frutos tratados com 40% desse extrato foi menor do que os frutos tratados com *Tecto*® SC e o extrato não afetou a massa dos frutos. O extrato de juazeiro apresenta ação contra Foc e potencial de controle da antracnose da banana.

Palavras-chave: *Ziziphus joazeiro* Mart.; *Capparis yco*; *Croton campestris*; Mal do Panamá; antracnose; banana

ABSTRACT

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Caatinga biome plant leaf extracts for controlling *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *Colletotrichum musae*

Anthracnose caused by *Colletotrichum musae* (Berk. e Curtis) Arx. as well as Panamá disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* are diseases that have a high impact in banana production worldwide. Considering the bioactive potential present in several Brazilian native plants, research efforts have been made to discover new products of plant origin for controlling plant diseases. The aims of this work were: i) to evaluate the in vitro antifungal potential of hidroalcoholic extracts from leaves of *Z. joazeiro* Mart., *C. yco* and *C. campestris* for controlling *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) and *C. musae*, and ii) to evaluate the effect of the hidroalcoholic extract of *Z. joazeiro* Mart in controlling *Colletotrichum musae* and anthracnose in banana fruits. In the in vitro tests with Foc juazeiro extract diluted to 40% in water reduced in 99% the mycelium growth, and in 96% and 100% the sporulation of microconidia and macroconidia, respectively. Velame extract at the same concentration caused a reduction of 99% in the mycelium growth and 100% in the sporulation of micro and macroconidia, respectively. Icó extract did not show good results. The juazeiro extract in growth media at the concentration of 20% caused a reduction of 98.3% in both mycelium growth and sporulation of *C. musae*. In banana fruits, all concentrations (10; 20; 30 and 40%) of juazeiro extract caused a reduction in the severity of anthracnose. Disease severity in fruits treated with juazeiro extract at 40% was lower than that observed in fruits treated with *Tecto*® SC. There was no effect of the extract in fruit weight loss. Juazeiro leaf extract has antifungal activity against Foc and the potential for controlling anthracnose in banana fruits.

Key words: *Ziziphus joazeiro* Mart.; *Capparis yco*; *Croton campestris*; Panamá disease; anthracnose; banana.

INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores produtores de banana no mundo, com uma produção que supera os 6 milhões de toneladas (IBGE, 2017). No entanto, o valor exportado ainda é inexpressivo, principalmente devido às perdas ocasionadas por problemas fitossanitários, sendo as causadas por fungos responsáveis pelos danos mais severos na produção e de maior frequência, afetando a qualidade do fruto e/ou a produtividade da cultura (GARCIA; COSTA, 2000; SILVEIRA et al., 2005).

Dentre as doenças fúngicas de maior expressão econômica na bananicultura destacam-se a antracnose, causada por *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, de ocorrência em pós-colheita e com ampla distribuição geográfica, e o mal do Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn e Hansen, uma doença endêmica em todas as regiões produtoras de banana no mundo (GARCIA; COSTA, 2000).

De modo geral, o uso de fungicidas sintéticos no controle de doenças fúngicas em plantas ainda é o método mais utilizado (PRASHITH, 2014). Os fungicidas Imazalil e Tiabendazol estão registrados para uso em pós colheita da banana, por meio de imersão ou pulverização dos frutos e do engaço (AGROFIT, 2017). Para o mal do Panamá, o controle químico ainda não está disponível. Neste caso, o uso de cultivares resistentes tem sido a medida de controle mais efetiva (PLOETZ, 2006), no entanto, a pouca aceitação do consumidor por algumas das variedades resistente apresenta-se como um entrave. Em relação à pós-colheita, os problemas com o uso de produtos químicos são: os efeitos tóxicos em organismos não-alvo, incluindo os humanos, além do desenvolvimento de resistência pelo agente causal da doença (GARCIA; COSTA, 2000; SILVEIRA et al., 2005).

Nessa perspectiva, a ação antimicrobiana de extratos vegetais tem sido investigada em diversos patossistemas, e os resultados destas pesquisas têm demonstram que a exploração de extratos botânicos com substâncias bioativas apresenta-se como uma opção para o controle de fungos fitopatogênicos, sendo esta mais aceitável pelo consumidor e com menor risco de contaminação do meio ambiente (SCHWAN-ESTRADA et al. 2000; PRASHITH et al. 2014).

Diversas substâncias presentes nos extratos de plantas da flora nativa brasileira podem tanto ter efeito fungitóxico direto, inibindo o crescimento micelial e a germinação de conídios, quanto promover a ativação de compostos relacionadas à resistência induzida em plantas (STANGARLIN, 2011).

Em virtude da ação de seus princípios ativos, as plantas pertencentes ao bioma Caatinga apresentam um grande potencial na prospecção e desenvolvimento de produtos biológicos no controle de fitopatógenos. Como representantes deste bioma podemos citar *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* (Mart.) Eichler e *Croton campestres* A. St.-Hil.

Pertencente à família Rhamnaceae, a espécie *Ziziphus joazeiro* Mart, conhecida popularmente como Juazeiro, é uma árvore típica da região semiárida da Caatinga do Nordeste brasileiro. Todas as suas partes: caule, casca, folha, fruto e raiz são amplamente utilizadas na medicina popular (LORENZI; MATOS, 2008), na limpeza dos dentes, na fabricação de sabonete, sabão, xampu, tônico capilar e no combate à caspa (MAIA, 2012).

Conhecida como Icó, a espécie vegetal *Capparis yco* (Mart.) Eichler é uma árvore de pequeno porte, cuja resistência à seca permite que a mesma mantenha sua folhagem verde, mesmo em períodos de longa estiagem (SOUZA et al, 1995). Suas sementes são popularmente utilizadas como calmante e anti-inflamatório (GUIMARÃES FILHO, 2008).

Croton campestres A. St.-Hil é uma representante da família Euforbiaceae. Conhecida como Velame, esta espécie é um arbusto comum na região nordeste brasileira, sendo amplamente utilizada na medicina caseira, no tratamento de afecções da pele, no combate ao reumatismo, úlcera do útero, diarreia, artrismo, doenças venéreas, tumores e impinges (CRUZ, 1982).

Considerando a diversidade de espécies vegetais da Caatinga e a existência de estudos precedentes que demonstraram o potencial antimicrobiano de alguns compostos presentes nas plantas desse bioma, o presente estudo teve como objetivos: i) avaliar o potencial fungitóxico de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Z. joazeiro* Mart., *C. yco* e *C. campestres* no controle de *F. oxysporum* f. sp. *ubense* e de *C. musae* in vitro e ii) avaliar o efeito de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Z. joazeiro* Mart., *C. yco* e *C. campestres* no controle do mal do Panamá em mudas de bananeira e da antracnose em frutos de banana.

REVISÃO DE LITERATURA

Extratos de espécies vegetais nativas do bioma Caatinga no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* e *Colletotrichum musae*.

RESUMO

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Extratos de espécies vegetais nativas do bioma Caatinga no controle de
Fusarium oxysporum f. sp. *cubense* e *Colletotrichum musae*.

Apesar de ser um dos maiores produtores mundiais de banana o Brasil não se destaca no mercado de exportação, isto devido, principalmente, a grande incidência de doenças fúngicas que afetam tanto a qualidade do fruto quanto a produtividade da cultura. Dentre as doenças causadas por fungos que mais causam prejuízos na bananicultura destacam-se a antracnose, causada por *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, de ocorrência em pós-colheita, e o mal do Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn e Hansen. De modo geral, o uso de fungicidas sintéticos no controle de doenças fúngicas em plantas ainda é o método mais utilizado, no entanto, tendo em vista os danos que os produtos químicos podem causar ao homem e à natureza torna-se indispensável buscar medidas alternativas de controle de doenças, além disso, o controle químico ainda não está disponível para algumas doenças, como é o caso do mal do Panamá. Nessa perspectiva, a aplicação de produtos à base de extratos de plantas tem sido investigada para o controle desta doença, e diversas pesquisas tem demonstrastrado que os vegetais produzem substâncias biologicamente ativas, que podem influenciar no desenvolvimento de determinados microrganismos. Em virtude da ação de seus princípios ativos, as plantas pertencentes ao bioma Caatinga apresentam um grande potencial na prospecção e desenvolvimento de produtos biológicos no controle de fitopatógenos. Como representantes deste bioma podemos citar *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* (Mart.) Eichler e *Croton campestres* A. St.-Hil.

Palavras-chave: bananicultura; mal do Panamá; antracnose; *Ziziphus joazeiro*; *Capparis yco*; *Croton campestres*.

ABSTRACT

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Caatinga biome plant leaf extracts for controllig of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* and *Colletotrichum musae*.

Despite being one of the largest banana producers in the world, Brazil does not stand out in the export market, mainly due to the high incidence of fungal diseases that affect both the quality of the fruit and the productivity of the crop. Among the diseases caused by fungi that cause the most damage in banana farming are the anthracnose, caused by *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx, which occurs in the post-harvest period, and Panama's disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn and Hansen. In general, the use of synthetic fungicides in the control of fungal diseases in plants is still the most widely used method. However, considering the damage that chemicals can cause to man and nature, it is essential to seek other measures for disease control. In addition, chemical control is not efficient for some diseases, as is the case of Panama's disease. In this perspective, the application of plant extracts to chemicals has been investigated, and several studies show that plants produce biologically active substances that may influence the development of certain microorganisms. Due to the action of its active principles, the plants belonging to the Caatinga biome present great potential in the prospecting and development of biological products in the control of phytopathogens. As representatives of this biome we can mention *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* (Mart.) Eichler and *Croton campestris* A. St.-Hil.

Key words: bananicultura; Panama disease; anthracnose; *Ziziphus joazeiro*; *Capparis yco*; *Croton campestris*.

REVISÃO DE LITERATURA

Cultura da bananeira

A bananeira é uma planta herbácea que se caracteriza por possuir um tronco curto e subterrâneo, denominado rizoma, de onde partem as raízes adventícias e fibrosas. O pseudocaule é formado pela junção das bainhas foliares finalizando na copa da planta, com folhas compridas e largas, e com a nervura central (DANTAS; DANTAS; ALVES; 1997).

A bananeira pertence à classe das Monocotiledôneas, ordem Scitaminales, família Musaceae, sub-família Musoideae e gênero *Musa*. Este gênero, além de abranger o maior número de espécies e incluir as comestíveis, se destaca pela sua ampla distribuição geográfica (DANTAS; SOARES FILHO, 2000). Resultante do cruzamento das espécies selvagens *Musa acuminata* (genoma A) e *Musa albisiana* (genoma B) (DIAS; 2011), a bananeira tem sua origem no continente Asiático e foi disseminada para várias partes do mundo (BORGES et al. 2009; FRANCISCO et al. 2014).

A bananeira é cultivada em mais de 120 países. Nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, a bananicultura apresenta-se como uma das culturas agrícolas mais importantes (FERNANDES et al. 2007). No Brasil, a estimativa de produção de banana em outubro de 2016 atingiu 6,0 milhões de toneladas e, entre as regiões, o destaque maior é para a região Nordeste que contribuiu com a produção de 2.427 toneladas. Esta cultura está presente em todos os estados brasileiros, sendo os estados da Bahia (1.125.000 t), São Paulo (1.017.134 t) e Minas Gerais (767.234 t) os principais produtores (IBGE, 2017).

Existe uma quantidade significativa de variedades de banana no Brasil. No entanto, quando se considera a preferência dos consumidores, produtividade, tolerância às doenças e resistência à seca e ao frio, poucas são as que apresentam potencial para serem utilizadas para fins comerciais (SILVA; CORDEIRO, 2000; BORGES et al. 2009).

Algumas variedades de banana têm sido afetadas por doenças que causam danos à cultura e perdas econômicas significativas, chegando a impedir

o seu plantio em algumas regiões ou países. Dentro deste contexto, os fungos estão entre os principais fitopatógenos que afetam a bananeira, destacando-se tanto pelo número e diversidade de espécies que afetam os bananais, como pelas perdas causadas à cultura, apresentando-se como um fator limitante na produtividade (CORDEIRO et al. 2004).

Dentre as doenças provocadas por fungos encontra-se o mal do Panamá causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Considerada uma das doenças mais destrutivas da bananeira, o mal do Panamá é uma doença endêmica em todas as regiões produtoras de banana no Mundo. No Brasil, a maioria das variedades cultivadas são suscetíveis, o que agrava ainda mais o problema (CORDEIRO et al., 2004).

Características do fruto

A banana é a fruta fresca mais consumida no mundo, apresentando-se como um dos principais agronegócios internacionais. Seu elevado valor nutricional a coloca como um dos alimentos mais completos. Pode ser consumida verde ou madura, crua ou processada. É uma boa fonte energética, constituída de carboidratos, vitaminas (A, B1, B e C), proteínas, sais minerais como potássio, fósforo, cálcio, sódio e magnésio, e possui baixo teor calórico e de gordura (BORGES; SOUZA, 2004).

Presente em todo território nacional, a banana é uma das frutas de maior importância socioeconômica no Brasil, que se classifica como o quarto país em termos de produção de banana no mundo. Embora seja um país exportador de banana, o Brasil tem participação inexpressiva no mercado internacional, sendo quase a totalidade da produção nacional comercializada no mercado interno, o que o torna o primeiro consumidor mundial dessa fruta (SILVA; CORDEIRO, 2000). Esta pequena participação no mercado externo é devida principalmente às perdas de produção e pós-colheita. Dentre os fatores limitantes, inclui-se a característica climatérica e altamente perecível do fruto, que prejudica a sua comercialização em locais mais distantes (PINHEIRO et al. 2007). Além disso, cerca de 40% do fruto produzido é perdido. Outro fator importante, responsável por perdas na produção e comercialização da banana, é atribuído à incidência

de doenças, destacando-se aquelas causadas por fungos (SILVA; CORDEIRO, 2000). A antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum musae* destaca-se como uma das principais doenças de pós-colheita na cultura da banana.

Mal do Panamá

O primeiro relato da doença ocorreu provavelmente por volta de 1874, no sudeste de Queensland, Austrália, atacando a variedade Maçã e os primeiros prejuízos relevantes foram narrados no Panamá, em 1904, sendo esta a provável razão do nome mal do Panamá (CORDEIRO; MATOS, 2003). No Brasil, os primeiros prejuízos foram relatados em 1930, no município de Piracicaba (São Paulo), também sobre a variedade Maçã. Posteriormente, a doença se propagou por todo o território nacional (CORDEIRO; MATOS, 2003).

O agente causal do mal do Panamá é o *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F.Smith) Sn e Hansen (Foc) (COELHO et al. 1998), um fungo de solo que possui alta capacidade de sobrevivência, mesmo na ausência de um hospedeiro, devido à formação de estruturas de resistência denominadas clamidósporos (CORDEIRO; MATOS, 2003). Além da produção de clamidósporos, este fungo produz mais dois tipos de conídios assexuais: os microconídios e os macroconídios, que são estruturas reprodutivas produzidas em condições favoráveis ao crescimento do fungo (AGRIOS, 2005).

Este fitopatógeno penetra no tecido hospedeiro por meio do sistema radicular, principalmente pelas raízes secundárias, coloniza o xilema e o rizoma. Os conídios invadem o xilema do pseudocaulo, comprometendo a translocação da água, e estes posteriormente germinam e continuam sua colonização pelo xilema. Uma hipótese para a causa dos sintomas da doença seria a produção de toxinas pelo patógeno e outra, o impedimento físico ao fluxo de água devido ao bloqueio dos vasos condutores (CORDEIRO E KIMATI, 1997).

São conhecidas quatro raças fisiológicas do patógeno, sendo as raças 1, 2 e 4 patogênicas em bananeira. Uma das características utilizadas para a distinção entre essas raças é referente à variedade nas quais estas são encontradas, uma vez que, a raça 1 é patogênica à variedade Gros Michel, a raça 2 à variedade Bluggoe e a raça 4 é patogênica para as variedades do

subgrupo Cavendish (FERNANDES et al. 2006; DIAS; ABREU; RESENDE, 2014).

A disseminação da doença ocorre, principalmente, através do contato do sistema radicular de plantas saudáveis com conídios do patógeno e a utilização de rizomas infectados na propagação da bananeira promove a introdução do agente causal em áreas livres da doença. Esta pode ainda ser disseminada pelo uso de água contaminada pelo patógeno, de equipamentos contaminados, assim como pelo homem e por animais (FERNANDES et al. 2006; BORGES et al. 2009).

As plantas acometidas pelo mal do Panamá apresentam sintomas internos e externos nas folhas, pecíolo, pseudocaule e rizoma. O sintoma externo característico do mal do Panamá é o amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas, começando pelos bordos do limbo foliar e evoluindo no sentido da nervura principal. Progressivamente ao amarelecimento, ocorre o murchamento das folhas basais, com a quebra do pecíolo na inserção do pseudocaule, dando a aparência de um guarda-chuva fechado. Outro sintoma externo observado com frequência é a rachadura longitudinal das bainhas mais externas no pseudocaule, próximo ao solo, sendo que o tamanho e a profundidade das rachaduras são proporcionais à área afetada no rizoma (CORDEIRO E KIMATI, 1997; PEREIRA E GASPAROTTO, 2005; MATOS; CORDEIRO; HADDAD, 2012). Ao serem realizados cortes transversais ou longitudinais do pseudocaule de plantas em estádios mais avançados da doença, são observados os sintomas internos no sistema vascular da planta. Observa-se uma descoloração no pseudocaule e no rizoma que pode variar desde pontuações pardo-avermelhadas até a formação de anéis concêntricos de coloração marrom-vermelhada a marrom-escura. Esta descoloração ocorre em virtude da oxidação dos compostos fenólicos pelo fitopatógeno. No pseudocaule, a descoloração vascular não ocorre nos vasos do xilema das bainhas externas e das mais internas. Esta ocorre de forma periférica, mantendo assim a região central com uma coloração clara. No rizoma, a descoloração ocorre principalmente nos locais de vascularização densa (CORDEIRO E KIMATI, 1997; PEREIRA E GASPAROTTO, 2005; MATOS; CORDEIRO; HADDAD, 2012).

Como medidas preventivas recomenda-se usar material propagativo sadio, evitar plantios em áreas com histórico de ocorrência da doença, manter a

planta bem nutrida, fazer análise do solo, garantir as condições ideais ao plantio e eliminar mudas que apresentem sintomas do ataque do patógeno (FANCELLI, 2003; FERNANDES et al. 2006).

O controle da doença por produtos químicos não existe. A medida de controle mais eficiente desta doença é a utilização de cultivares resistentes, dentre as quais podem ser citadas as cultivares Nanica, Nanicão, Grande Naine, Thap Maeo, Caipira, Terra e D'Angola, entre outras. Todavia, a introdução de uma nova variedade no mercado é algo preocupante do ponto de vista do produtor, uma vez que existe a necessidade de produzir aquilo que o mercado deseja consumir (CORDEIRO; MATOS, 2003).

Antracnose

Dentre os danos causados por fitopatógenos na pós-colheita da banana, a antracnose é a doença que mais afeta a qualidade dos frutos durante a comercialização e a exportação (MIRSHEKARI et al. 2012). A doença tem como agente causal o fungo *Colletotrichum musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx.. Esta espécie apresenta grande variabilidade quanto à forma e tamanho dos conídios, características culturais, reação a produtos químicos e patogenicidade (CORDEIRO; KIMATI, 1997).

Embora só se manifeste após a colheita, a infecção pode ter início em frutos verdes ainda no campo. Neste caso, os conídios são disseminados pela água da chuva ou de irrigação e, quando depositados sobre frutos imaturos, em presença de água, germinam e formam o apressório no período de quatro horas. A penetração ocorre entre 24 a 72h após a deposição dos conídios e a infecção permanece latente até o início da maturação dos frutos, período em que os sintomas começam a se desenvolver (CORDEIRO; KIMATI, 1997).

O sintoma característico da doença é a formação de lesões escuras e deprimidas, as quais em condições de alta umidade ficam cobertas de corpos de frutificação do fungo, de coloração rosada, que são acérvulos do agente etiológico (GARCIA; COSTA, 2000). A maturação do fruto ocasiona o aumento das lesões que podem coalescer e formar grandes áreas necróticas deprimidas. A parte comestível geralmente só é afetada quando os frutos são expostos a altas temperaturas, ou quando se encontram em avançado estágio de

maturação. A origem das lesões se dá por duas formas distintas: lesões oriundas de infecção latente da casca verde, que permanece dormente até o início da maturação e lesões oriundas de infecções ocorridas após a colheita, decorrentes da invasão do patógeno em ferimentos ocorridos sobre frutos verdes em trânsito (CORDEIRO; MATOS, 2000).

O controle da doença deve começar no campo, com boas práticas culturais. A eliminação de restos florais, foliares e brácteas que atuam como depósito de fungos é a melhor forma de combater o inóculo em sua fonte. É necessário reduzir o contato entre patógeno e hospedeiro, sendo recomendado cobrir o cacho com um saco de polietileno perfurado, antes da emissão das pencas (ZAMBOLIM, et al. 2002; BORGES, et al. 2006). Nas fases de despencamento, lavagem e embalagem devem se ter certos cuidados para evitar ferimentos nos frutos, por estes serem a principal via de penetração do patógeno. Além disso, é importante a calibragem dos frutos, uma vez que os de maior calibre favorecem o aparecimento da doença durante o transporte (CORDEIRO; MATOS, 2000). Em casos mais graves, o controle químico pode ser feito por pulverização ou imersão dos frutos com fungicidas à base de thiabendazol e imazalil, os quais são registrados para utilização no controle da antracnose (BORGES, et al. 2006; AGROFIT, 2017).

Extratos vegetais no controle de fitopatógeno

O controle de doenças de plantas é frequentemente realizado com produtos químicos. No entanto, o uso intensivo e indiscriminado de agroquímicos pode causar sérios problemas ambientais e riscos à saúde humana e animal, além de poder ocasionar o surgimento de isolados de fitopatógenos resistentes aos fungicidas (SCHWAN-ESTRADA, STANGARLIN; CRUZ, 2000; SALES, 2015). Além disso, alguns patógenos não são controlados por produtos químicos, como é o caso do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Tendo em vista os efeitos negativos ocasionados pelo uso de agroquímicos, têm sido desenvolvidas pesquisas em métodos de controle de doenças que utilizam produtos naturais, a exemplo dos extratos vegetais que possuem compostos bioativos que podem ter atividade antimicrobiana e/ou como indutores de resistência às doenças em plantas (STANGARLIN, 2011).

Os extratos botânicos são ricos em metabólitos secundários, com compostos orgânicos capazes de auxiliar na defesa vegetal contra patógenos. Estes compostos desempenham papéis importantes na bioquímica e fisiologia dos vegetais, podendo tanto ter ação fungitóxica como elicitora (GOMES; LIMA, 2014). Pesquisas relatam que os extratos de plantas são fontes naturais de substâncias antimicrobianas (FIORI et al. 2000; PAUL E SHARMA, 2002), e essas substâncias compreendem compostos secundários pertencentes às várias classes de substâncias químicas distintas, como os compostos fenólicos, alcaloides, terpenos, flavonoides, cumarinas, benzenoides, quinonas, xantonas, lactonas, esteroides, dentre outras (DI STASI, 1996; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2000).

Na literatura tem-se verificado o registro da eficiência de extratos vegetais obtidos de diferentes espécies botânicas e de diferentes partes da planta no controle de fitopatógenos. Medeiros et al. (2012) avaliaram as propriedades antimicrobianas da raiz, do caule, das folhas e da vagem de *Senna alata* sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *melonis*. Os extratos de todas as partes mostraram-se eficientes, no entanto os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos com extratos da raiz e da vagem. Segundo os autores, cada parte da planta possui compostos bioativos específicos, por isso extratos oriundos de partes diferentes podem atuar de forma específica para cada tipo de microrganismo. Rodriguez-Maturino et al. (2015) verificaram o efeito antifúngico de extratos de frutos de *Capsicum annum* var. *glabriusculum* em *Alternaria alternata* e *F. oxysporum*. O crescimento micelial de *A. alternata* foi reduzido em 38,46% e a germinação de conídios foi reduzida em 92% em relação ao controle. Para *F. oxysporum*, não houve redução significativa para o crescimento micelial, no entanto para a germinação de conídios, o tratamento com o extrato proporcionou uma redução de 85% em relação ao controle.

Lubaina e Murugan (2013) relataram que o extrato de *Mikania scandens* quando avaliado para o controle de *A. sesame* e na indução de resistência sistêmica de *Sesamum orientale*, teve ação no controle direto do agente patogênico e também proporcionou alterações bioquímicas responsáveis por respostas de defesa da planta. Segundo os autores, a maior vantagem do uso de extratos botânicos é que mesmo havendo declínio do efeito do extrato, os mecanismos de defesa eliciados na planta continuam a operar por longos

períodos. Wang et al. (2016) avaliaram o potencial fungitóxico de extratos de *Momordica charantia* no controle de *F. solani*. A aplicação do extrato ocasionou redução de 50% do crescimento micelial, deformação de células com brotação irregular, perda da integridade da parede celular, bem como a ruptura da membrana celular fúngica. Além disso, foi constatado que o DNA genômico foi gravemente afetado.

Extratos vegetais na pós-colheita

Doenças em pós-colheita reduzem a quantidade e a qualidade de frutos comercializáveis (FORNER et al. 2013) e, em bananas, podem provocar grandes perdas.

Os fungicidas químicos são os meios mais comuns para controlar doenças de pós-colheita da banana. No entanto, o uso indiscriminado destes insumos, principalmente em frutos que têm maior probabilidade de exposição humana direta a produtos químicos, pode ocasionar efeitos adversos para a saúde, tanto dos consumidores quanto dos trabalhadores rurais, toxicidade residual alta e aguda, longo período de degradação e poluição ambiental (BHUTIA, et al. 2016). Além disso, o uso persistente desses fungicidas resulta no surgimento de cepas resistentes de *C. musae* (JINASENA et al., 2011).

Tendo em vista os aspectos negativos acarretados pelo uso de fungicidas sintéticos, são necessárias estratégias para reduzir os prejuízos na fase pós-colheita, que sejam seguros para os consumidores e que possam apresentar menor risco para a saúde humana e para o meio ambiente (BHUTIA, et al. 2016). Dessa forma, a procura por novos agentes antimicrobianos para controlar os agentes patogênicos de pós-colheita, a partir de extratos de plantas, conhecidos por terem um impacto ambiental mínimo e perigo insignificante para consumidores, em comparação com os produtos químicos, vêm ganhando espaço (TRIPATHI; DUBEY, 2004; GATTO et al., 2011; LLONDU, 2011).

As pesquisas científicas desenvolvidas com extratos vegetais têm indicado a sua ação contra agentes microbianos causadores de doença de pós-colheita. Estudos realizados por Pane et al. (2016) demonstraram que extratos foliares brutos de *Capsicum annuum* reduziram a severidade da podridão em tomates cereja (*Solanum lycopersicum* L.), causada pelo fungo *Alternaria*

alternata. Sukorini et al. (2013) propõem o uso de extrato de *Eugenia caryophyllata* sozinho ou em combinação com *Candida utilis* para redução da incidência e severidade do bolor verde causado por *Penicillium digitatum* em citros. Rodríguez et al. (2017) relataram que extratos etanólicos de folhas e ramos de *Flourensia* spp. apresentaram alta eficiência na inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Rhizopus stolonifer*, ambos agentes patogênicos que afetam o tomate em pós-colheita. Compostos isolados de *Conyza canadenses* apresentaram atividade antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp. e *Penicillium digitatum*, em concentrações mínimas inibitórias variando de 32 a 64 µg mL⁻¹ (PORTO et al. 2017). Extratos de *Rosmarinus officinalis* e *Thymus vulgaris*, ambos na concentração de 8%, causaram 100% de inibição no crescimento de *Rhizoctonia Solani* (AL-OTHMAN, 2012).

Ziziphus joazeiro Mart.

Conhecida popularmente por juazeiro, juá-espinho e laranjeira-de-vaqueiro, a espécie arbórea *Ziziphus joazeiro* Mart. pertence à família Rhamnaceae (Figura 1). Esta é uma planta característica de várzeas da região semiárida do Nordeste brasileiro, típica e considerada endêmica da Caatinga, com ocorrência em diversos estados, distribuindo-se do Piauí até o norte de Minas Gerais (LORENZI; MATOS 2008; MAIA, 2012).

Z. joazeiro caracteriza-se por ser uma árvore frondosa, de até 16m de altura, de tronco curto, espinhacente, com copa globosa, que produz sombra em abundância. Possui folhas alternas, simples e ovaladas e as flores são reunidas em inflorescências cimosas, pequenas e de coloração amarelo-esverdeada. Os frutos também são pequenos, amarelos, do tipo drupa, com um caroço grande coberto por uma polpa doce e comestível. Seu amplo e profundo sistema radicular permite retirar água do subsolo para manter-se verde mesmo nos períodos de longa estiagem (LORENZI; MATOS, 2008).

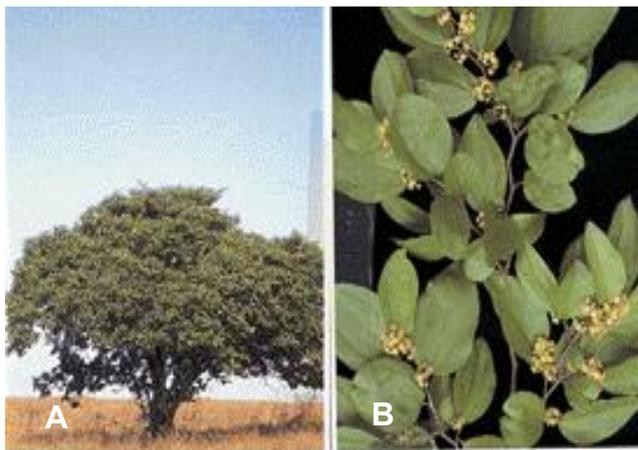


Figura 1. *Ziziphus joazeiro* A) Árvore; B) folhas.
Fonte: LORENZI; MATOS, 2008.

Essa espécie é tradicionalmente utilizada na medicina caseira. Suas folhas e a entrecasca são adstringentes, utilizadas como antitérmico e expectorante, no tratamento da asma, de doenças de pele, do sangue, do estômago e do fígado. Raspas da casca e da raiz são indicadas para o alívio da asma e a infusão das folhas recomendadas para terapia de perturbações estomacais. Também é utilizada na limpeza dos dentes, na fabricação de sabonetes, sabão, xampu, tônico capilar e no combate a caspa. Na veterinária popular é empregada na terapia de danos causados por sarnas piolhos e carrapatos de animais domésticos (MAIA, 2012).

Análises fitoquímicas de *Z. joazeiro* apontam para a presença e isolamento de vários metabólitos secundários. Nas folhas e frutos maduros é citada a presença de saponina, alcaloide, esteroide e triterpenos; de flavonoides e taninos nos frutos verdes (MELO et al. 2012) e saponina do tipo jujubosídeos, estearato de glicerila, triterpenóides ácido betulínico e lupeol, cafeína, um alcaloide, amfibina-D e triterpenos no caule (SOUSA et al. 1991; KATO; ALVARENGA, 1997). A análise química por cromatografia de extratos de folhas de juá revelou a presença de ácido gálico, catequina, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido elágico, epicatequina, rutina, isoquercitrina, quercitrina, quercetina e kaempferol (BRITO, et al. 2015).

A atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir do juazeiro tem sido averiguada. Pesquisas realizadas por Alviano et al. (2008) com extrato aquoso da entrecasca de *Z. joazeiro* apontaram atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *Lactobacillus casei*. Cruz et al. (2007) observaram

uma concentração mínima inibitória (CMI) de 6,5µg/mL desse extrato para *Trichophyton rubrum* e *Candida guilliermondii*.

Croton campestris A. St.-Hil

Pertencente à família Euforbiaceae e conhecida popularmente como velame ou velame do campo, *Croton campestris* (Figura 2) é um arbusto originário do Brasil, amplamente distribuído por diversas regiões, sendo mais comum nas regiões sudeste e nordeste. Esta espécie pode ser encontrada em diferentes tipos de habitat, ocorrendo preferencialmente em vegetações abertas como cerrado, e ocorre também na caatinga, em campos rupestres, em regiões de mata ciliar, em locais de campo limpo, campo sujo e campo denso. É caracterizada por possuir um caule pouco ramificado, inflorescências densas, com muitas flores pistiladas de coloração creme e outras estaminadas de coloração esverdeada, folhas membranáceas e descolores e sementes rugosas. Esta planta floresce e frutifica praticamente durante todo o ano (LIMA, PIRAMAI, 2003; SÁTIRO, ROQUE; 2008).



Figura 2. *Croton campestris*. Fonte: ZAPPI, 2018.

Na medicina popular essa espécie é utilizada no tratamento de afecções da pele, no combate a reumatismo, úlcera do útero, diarreia, artrismo, doenças venéreas, tumores e impinges (CRUZ, 1982).

Algumas substâncias já foram isoladas a partir de extratos de folhas de *C. campestris* a exemplo de taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis; xantonas, chalconas, auronas, flavonóis, flavononas; alcaloides, terpenos (MATIAS, et al.

2010), leucoantocianidinas e catequinas (LAVOR et al. 2014). Santos et al. (2005) relataram a presença de flavonoides O-glicosilados de *C. campestris*: 3-O-β-D-apiofuranosil-(1→2)-galactopiranosil quercetina, 3-O-β-D-galactopiranosil quercetina (hiperina), 3-O-α-L-arabinopiranosil quercetina (guaijaverina) e 3-O-α-L-ramnopiranosil quercetina (quercitrina). Babili et al. (1997) identificaram, a partir de extrato da raiz, três diterpenos inéditos, denominados velamolona, velamona e acetato de velamolona. Alguns estudos demonstraram a atividade antimicrobiana de extratos de velame contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (ALMEIDA et al. 2013) *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (PEREIRA et al. 2011). Resultados de pesquisas demonstram que os produtos obtidos de extratos de folhas de *C. campestris* podem representar uma fonte alternativa de produtos naturais capazes de modificar e interferir com a resistência bacteriana contra alguns antibióticos (LAVOR et al. 2014), evidenciando ser uma promissora fonte de produtos naturais com ação antibacteriana (MATIAS et al. 2010).

Capparis yco (Mart.) Eichler

Típica do sertão nordestino, a espécie vegetal *Capparis yco* (Mart.) Eichler, conhecida popularmente como icó (Figura 3), pertence à família Capparaceae. Esta é uma árvore de pequeno porte que se engalha e forma touceiras. Suas folhas são compridas e estreitas, seus frutos são cápsulas ovóides, pontudas, verdes que possuem de quatro a seis sementes amareladas ligadas uns aos outros longitudinalmente e envoltos pela polpa. As flores são brancas e aromáticas (SOUSA, 1995).

Mesmo nos períodos de longa estiagem, o icozeiro permanece verde, apontando-se como uma alternativa na alimentação de rebanhos. Na medicina popular, suas sementes são usadas como calmante e anti-inflamatório (GUIMARÃES FILHO, 2008).

Espécies do gênero *Capparis* são reconhecidas como uma fonte potencial de nutrientes valiosos e compostos bioquímicos com funções fisiológicas e biológicas, incluindo atividade antibacteriana, antifúngica, hepatoprotetores, anti-helmínticos, antidiabéticos, anti-inflamatórios, anti-cancerosos e anti-hiperlipidémicos (GULL et al. 2015a). Esses efeitos têm sido atribuídos à

presença de metabólitos secundários, tais como os ácidos fenólicos (gálico, vanílico, caféico), flavonoides (rutina, quercetina e kaempferol), catequina, epicatequina, glucosinolatos, alcaloides e fitosteróis, além da presença de açúcares naturais, vitaminas e ácidos orgânicos (AICHI-YOUSFI et al. 2016; ARGENTIERI et al. 2011; GULL et al. 2015a).



Figura 3. *Capparis ycó*. A) Árvore; B) Folhas e fruto. Fonte: CARDOSO, 2016.

Espécies do gênero *Capparis* são reconhecidas como uma fonte potencial de nutrientes valiosos e compostos bioquímicos com funções fisiológicas e biológicas, incluindo atividade antibacteriana, antifúngica, hepatoprotetores, anti-helmínticos, antidiabéticos, anti-inflamatórios, anti-cancerosos e anti-hiperlipidêmicos (GULL et al. 2015a). Esses efeitos têm sido atribuídos à presença de metabólitos secundários, tais como os ácidos fenólicos (gálico, vanílico, caféico), flavonoides (rutina, quercetina e kaempferol), catequina, epicatequina, glucosinolatos, alcaloides e fitosteróis, além da presença de açúcares naturais, vitaminas e ácidos orgânicos (AICHI-YOUSFI et al. 2016; ARGENTIERI et al. 2011; GULL et al. 2015a).

A capacidade antimicrobiana de extratos da parte radicular de *C. grandiflora* tem sido demonstrada contra uma variedade de microrganismos e os estudos revelam que os extratos testados são potencialmente utilizáveis contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. pumillus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger* (SINI et al. 2011). Similarmente, Mahboubi e Mahboubi, (2014) relataram a ação antimicrobiana de extratos de raiz de *C. spinosa* contra *S. aureu*, *A. niger*, *A.*

parasiticus, *A. flavus* e *C. albicans*. Além disso, Mazarei et al. (2016) verificaram que as folhas dessa mesma espécie inibiram o crescimento de *E. coli*, *Shigella dysenteriae* e *Salmonella typhi*, *B. panis* e *S. aureus*. Gull et al. (2015b) testaram extratos de diferentes partes de *C. spinosa* e *C. decídua* e constataram que ambas as espécies reduziram significativamente o crescimento de *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* e *Pasteurella multocida*.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press. 5 ed. 2005. 922p.

AGROFIT, SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 16 de novembro de 2017.

AICHI-YOUSFI, H. et al. Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of six Tunisian species of genus *Capparis* – *Capparaceae*. **Industrial Crops and Products**. V. 92, p.218–226, 2016.

ALMEIDA, T. S. de. et al. Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**. V. 44, p.630–633, 2013.

ALVIANO, W. S. et al. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives of oral biology**. v. 53. p.545–552, 2008.

AL-OTHMAN, M. R. Exploitation of various crude plant extracts against black scurf disease of potato in Saudi Arabia. **American Journal of Potato Research**. v. 89, p. 423-428, 2012.

ARGENTIERI, M. et al. Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. *rupestres*. **Industrial Crops and Products**. V. 36, p.65–69, 2012.

BABILI, F. E. et al. Three furano-diterpenes from the bark of *Croton Campestris*. **Phytochemistry**, Vol. 48, No. 1. p. 165-169, 1998.

BORGES, A. L; SOUZA, L. da S. **O cultivo da bananeira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p.

BORGES A. L. et al. **A cultura da banana**. Embrapa Mandioca e Fruticultura. – 3. ed. rev. e amp. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

BORGES, A. L.; SOUZA, L da S; OLIVEIRA, A. M. G. Banana. In: CRISÓSTOMO, L. A; NAUMOV, A. **Adubando para Alta Produtividade e Qualidade: Fruteiras Tropicais do Brasil**. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, 2009. cap. 2, p. 31-48.

BORGES, A. L. et al. **Sistema de Produção da Bananeira Irrigada**. Embrapa Semiárido. Sistemas de Produção, 4. Versão Eletrônica. Jul/2009. Disponível em:
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananeiraIrrigada/autores.htm>. Acesso em: 04 nov. 2015.

BHUTIA, D. D; ROMEN, Y. Z; SAHA, K. J. Antifungal activity of plant extracts against *Colletotrichum musae*, the post harvest anthracnose pathogen of banana cv. martaman", **Nutrition & Food Science**, Vol. 46, n. 1, p. 2-15, 2016.

BRITO, S. M. O. et al. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC–DAD. **Food Chemistry**, v. 186, p. 185–191, 2015.

COELHO, A. F. da S. et al. **Mal do Panamá ou fusariose da bananeira**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. Nov. 1998. p.1-3.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; MEISSNER FILHO, P. E. Doenças e métodos de controle. In: BORGES, A. L; SOUZA, L.S (Eds.) **O cultivo da bananeira**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 279p.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS A. P. Mal-do-Panamá: Fim da banana? **Cultivar**. 2003. Versão Digital. Disponível em:
<http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=494>. Acesso em: 04 nov. 2015.

CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa spp.*). In: KIMATI, H. (Editor). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 112-136.

CRUZ, G.L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ed. EDEL. 1982.

CRUZ, M. C. S. et al. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **Journal of Ethnopharmacology**. n. 111, p. 409–412, 2007.

DANTAS, A. C. V. L.; DANTAS, J. L. L. ALVES, É. J. Estrutura da planta. In: ALVES, É. J. A (Org.) **A cultura da banana: Aspectos técnicos e agroindustriais**. Brasília: Embrapa-SPI/ Cruz das Almas: Embrapa, 1997. Cap. 3. p. 47-59.

DANTAS, A.C V. L.; SOARES FILHO, W. dos S. Classificação da planta, origem, evolução e distribuição geográfica. In: CORDEIRO, Z. J. M (Org.) **Banana**. Produção: aspectos técnicos. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. Cap. 3. p. 12-16.

DIAS, J. do S. A. A cultura da bananeira. In: DIAS, J. do S. A.; BARRETO, M. C. (Ed.). **Aspectos agronômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá, 2011. 95 p. 1 CD-ROM. Cap. 2. p. 18-21.

DIAS, J do S. A; ABREU, M.S. de; REZENDE, M. L. V. de. Caracterização de isolados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc). **Biota Amazônia Open Journal Sistem**. Macapá, v. 4, n. 4, p. 60-65, 2014.

DI STASI, L.C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In:(Ed.). **Plantas Medicinais: Arte e Ciência – Um Guia de Estudos Multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. p.109-127, 1996.

FRANCISCO, M. S. et al. Efeito das Condições de Manejo nas Características Sensoriais de Banana (*Musa* Spp.) Cv. Pacovan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 2, p. 313-317, 2014.

FERNANDES, C. de F. et al. **Sigatoka-negra em Rondônia**. 1 ed. Rondônia: Embrapa, 2007. (Comunicado técnico, 324).

FERNANDES, C. de F. et al. **Doenças da bananicultura: mal-do-panamá**. 1 ed. Rondônia: Embrapa, 2006. (Circular técnica, 86).

FIORI, A.C. G. et al. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, v. 148, p. 372-376. 2000.

FANCELLI, M. **Cultivo da Banana para o Estado do Amazonas**. Sistema de Produção, 6, Versão eletrônica. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaAmazonas/doencas.htm>.> Acesso em: 04 nov. 2015.

FORNER, C. et al. Controle em pós-colheita de *Penicillium digitatum* em laranja-pera com microrganismos e tratamento térmico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 1, p. 023-031, 2013.

GATTO, M.A. et al. Activity of extracts from wild edible herbs against postharvest fungal diseases of fruits and vegetables. **Postharvest Biology Technology**, v. 61, p. 72-82, 2011.

GARCIA, A.; COSTA, J. N. M. C. **Principais doenças fúngicas da bananeira em Rondônia: sintomatologia e Controle**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 2000. 19p. (EMBRAPA-CPAF Rondônia. Circular Técnica, 53).

GULL, T.; Anwar, F.; Sultana, B.; Alcayde, M.A.C.; Noumane, W. Source of bioactives and high-value components: A review. **Industrial Crops and Products**. V. 67, p. 81–96, 2015.

GULL, T.; Sultana, B.; Bhatti, I.A; Jamil, A. Antibacterial Potential of Capparis spinosa and Capparis decidua Extracts. **International Journal of Agriculture & Biology**. V. 17, n. 4, p.727-733, 2015.

GOMES, A. D.; LIMA, R. A. Identificação de classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos de *solanum acanthodes hook* e seu potencial fungicida sobre *candida albicans in vitro*. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas** - UFSM, Santa Maria. V. 18 n. 2, p.736-74, 2014.

GUIMARÃES FILHO, C. **Núcleo piloto de informação e gestão tecnológica para a agricultura familiar do território do Sisal-Ba**. Embrapa Semi-árido. 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Levantamento Sistemático de produção Agrícola**. v.29 n.9 p.1-79, 2017.

JINASENA, D. et al. Use of chitosan to control anthracnose on “Embul” banana. In: **International Conference on Asia Agriculture and Animal**. IACSIT Press, Singapore, p. 101-107, 2011.

KATO, E. T. M., ALVARENGA, M. A. Estudo químico de *Ziziphus joazeiro* Martius. **Revista de Farmácia e Bioquímica**. Univ. S. Paulo, v. 33, p. 47, 1997.

LAVOR, A. K. L. S. et al. Association between drugs and herbal products: *In vitro* enhancement of the antibiotic activity by fractions from leaves of *Croton campestris* A. (Euphorbiaceae). **European Journal of Integrative Medicine**. v. 6, p. 301-306, 2014.

LIMA, L. R. de; PIRANI, J. R. O Gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) na cadeia do espinhaço, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**. v. 21, n. 2, p. 299-344. 2003.

LORENZI, H; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2008.

LUBAINA, A. S.; MURUGAN. K. Induced systemic resistance with aqueous extract of *Mikania scandens* (L.) Willd. Against *Alternaria sesame* (Kawamura) Mohanty and Behera in *Sesamum orientale* L. **Journal of Crop Science and Biotechnology**. v. 16, n. 4, p. 269- 276, 2013.

LLONDU, E.M. Evaluation of some aqueous plant extracts used in the control of pawpaw fruit (*Carica papaya* L.) rot fungi. **Journal of Applied Biosciences**, v. 37, p. 2419-2424, 2011.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. Fortaleza: Printcolor Gráfica e Editora. 2 ed. 2012.

MAHBOUBI, M; MAHBOUBI, A. Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. **Kerba polonica**. v. 60, n.1, 2014.

MATIAS, E. F. F. et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de *Croton campestris* A., *cimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 8, n. 3, p. 294-298, jul./set. 2010.

MATOS, A. P; CORDEIRO, Z. J. M; HADDAD, F. Fusariose em frutíferas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22, 2012. Bento Gonçalves. **Artigo....** Bento Gonçalves: 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/72892/1/FUSARIOSE-EM-FRUTIFERAS-CON01.pdf>> Acesso em: 4 nov. 2015.

MAZAREI, F.; Jooyandeh, H.; Noshad, M.; Hojjati, M. Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 95, p. 224-231, 2017.

MELO, M. Do S. F. et al. Pesquisa de bioativos com atividade antimicrobiana nos extratos hidroetanólicos do fruto, folha e casca de caule do *Zizyphus joazeiro* mart. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 43-51, 2012.

MEDEIROS, E. V. de. Et al. Extrato etanólico de *Senna alata* no controle de *Fusarium oxysporum*, causador da murcha-de-fusarium do meloeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.16, n.11, p.1166–1170, 2012.

MIRSHEKARI, A. et al. Effect of hot water dip treatment on postharvest anthracnose of banana var. Berangan. **African Journal of Agricultural Research**. v.7, n. 1, p. 6-10, 2012.

PANE, C. et al. Control of *Alternaria* post-harvest infections on cherry tomato fruits by wild pepper phenolic-rich extracts. **Crop Protection**, v. 84, p.81-87, 2016.

PAUL, P.K.; SHARMA, P. D. Azadirachta indica leaf extract induces resistance in barley against leaf stripe disease. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. V. 61, n. 1, p. 3-13, 2002.

PINHEIRO, A. C. M. et al. Amadurecimento de bananas ‘maçã’ submetidas ao 1-metilciclopropeno (1-mcp). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 29, n. 1, p. 1-4, 2007.

PRASHITH; K. T.R. et al. Inhibitory activity of *Polyalthia longifolia*, *Anaphalis lawii* and *Gnidia glauca* against *Colletotrichum capsici* and urinary tract pathogens. **Science, Technology and Arts Research Journal**. V. 3, n.1, p. 26-30 ,2014.

PEREIRA, E. M. R. et al. *In vitro* antimicrobial activity of brazilian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. **Planta Medica**. V. 77, n. 4, p. 401–404, 2011.

PERREIRA, J. C. R; GASPARIOTTO, L. **Contribuição para o reconhecimento de doenças vasculares da bananeira (*Musa spp*)**. 1 ed. Manaus: Embrapa, 2005. (Circular técnica, 25)

PORTO, R. S; RATH, S; QUEIROZ, S. C. N. *Conyza canadensis*: Green extraction method of bioactive compounds and evaluation of their antifungal activity. **Jornal Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 5, p. 913-919, 2017.

RODRIGUEZ-MATURINO, A. et al. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. **Revista Argentina de Microbiología**. V. 44, n. 1, p. 72-77, 2015.

RODRÍGUEZ, D. J. de. et al. Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 499-508, 2017.

SANTOS, P. M. L. dos. et al. Flavonoides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 15, n. 4, p. 321-325, 2005.

SALES, M. D.C. et al. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. P. 26–31, 2015.

SÁTIRO, L. N; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. V. 22, n.1, p. 99-118. 2008.

SILVA, J. R. da; CORDEIRO, Z. J. M.. P. Fitossanidade na exportação de banana. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologias, p. 36-65, 2000.

SILVEIRA, S. da; et al. Doenças fúngicas pós-colheita em frutas tropicais: patogenese e controle. **Revista Caatinga**. v.18, n.4, p. 283-298, 2005.

SINI, J. R. et al. Antimicrobial activity of the dried root powder of *Capparis grandiflora* wall. ex hook. f & thomson. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**. Vol 4, p. 63-64. 2011.

SOUSA, M. P. et. al. **A Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Imprensa Universitária/UFC. 1991. 416 p.

SOUZA, S. I. S; PEIXOTO, M. P; TOLEDO, F. F. de. **Enciclopédia Agrícola Brasileira**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo. 1995.

STANGARLIN, J. R. et al. Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. p. 1033-1042, 2011.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v.30, p.129-137, 2000.

SUKORINI, H. et al. Control of postharvest green mold of citrus fruit with yeasts, medicinal plants, and their combination. **Postharvest Biology and Technology**, v. 79, p. 24–31, 2013.

TRIPATHI, P.; DUBEY, N.K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology Technology**. v. 32, p. 235-245. 2004.

WANG, S. et al. Antifungal activity of *Momordica charantia* seed extracts toward the pathogenic fungus *Fusarium solani* L. **Journal of food and drug analysis**. V. 24, n.4, p. 881-887, 2016.

ZAMBOLIM L. et al. **Controle de doença de planta: frutíferas**. Viçosa, MG. UFV, 2002. v. 2, 938 p.

CAPÍTULO 2

Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* com extratos vegetais.

RESUMO

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* com extratos vegetais.

No Brasil, a bananicultura tem significativa importância econômica e social. Os principais problemas enfrentados pelos produtores estão associados a doenças causadas por fungos. O mal do Panamá, doença causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), constitui-se num dos maiores problemas fitossanitários da cultura e não é controlado com fungicidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fungitóxico *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* (Mart.) Eichler e *Croton campestris* A. St.-Hil sobre o crescimento e esporulação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do Mal do Panamá. Extratos hidroalcoólicos de folhas dessas espécies vegetais foram adicionados ao meio batata dextrose e agar (BDA), ajustando-se as concentrações finais dos extratos para 2,5; 5; 10; 20 e 40%. Discos de micélio de Foc foram transferidos para o centro da placa de Petri e os ensaios foram incubados em BOD a 28±2°C. O crescimento micelial foi avaliado diariamente e a esporulação avaliada no final do período de incubação. O extrato de juazeiro, na concentração de 40%, reduziu em 99% o crescimento micelial, em 96% a esporulação de microconídios e em 100% a esporulação de macroconídios. O extrato de velame na mesma concentração proporcionou redução de 99% no crescimento micelial e 92% e 100% na esporulação de microconídios e macroconídios, respectivamente. O extrato de Icó, apesar de ter atividade antifúngica, não apresentou resultados satisfatórios. Os extratos hidroalcoólicos de *Z. joazeiro* e *C. campestris* apresentam atividade antifúngica contra o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente etiológico do mal do Panamá.

Palavras-chave: *Ziziphus joazeiro* Mart.; *Capparis yco* (Mart.) Eichler; *Croton campestris* A. St.-Hil; Mal do Panamá; bananeira.

ABSTRACT

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* with plant extracts.

In Brazil, the banana fruit crop has a significant social and economic importance. The main problems faced by banana farmers have been associated with high incidence of diseases caused by fungi. Panamá disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) is one of the main fitossanitary problems of this crop, which is not controlled with fungicides. The aim of this work was to study the in vitro antifungal potential of hidroalcoholic extracts from leaves of *Z. joazeiro* Mart., *C. yco* and *C. campestres* on mycelium growth, sporulation and spore germination of *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc), the causal agent of Panama disease. Hydroalcoholic leaf extracts from different plant species were added to potato dextrose agar (PDA) medium with the final concentrations adjusted to 2.5; 5; 10; 20 and 40%. Mycelium plugs of Foc were transferred for the center of Petri plates and the assays were incubated at 28±2°C. Mycelium growth was evaluated daily and sporulation was evaluated at the end of the incubation period. The *Z. Joazeiro* extract at the concentration of 40% reduced in 99% the mycelium growth, in 96% microconidia sporulation and in 100% macroconidia sporulation. The extract of *C. campestres* at the same concentration caused a reduction of 99% in mycelium growth and 92% and 100% in the sporulation of microconidia and macroconidia, respectively. The extract of *C. yco*, although it had antifungal activity, its activity was not satisfactory. The hidroalcoholic extracts of *Z. joazeiro* and *C. campestres* showed antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the causal agent of Panama disease.

Key words: *Ziziphus joazeiro* Mart.; *Capparis yco* (Mart.) Eichler; *Croton campestres* A. St.-Hil; Panama disease; bananeira.

1 INTRODUÇÃO

A bananeira (*Musa* spp.) destaca-se mundialmente como uma das fruteiras mais exploradas, principalmente nos países tropicais, os quais apresentam um clima favorável para o seu cultivo durante praticamente todo o ano. Seu fruto é um dos mais consumidos, produzidos e comercializados do mundo (FERNANDES et al. 2007; DIAS, 2011). No Brasil, a banana é produzida na maioria dos estados, sendo os estados da Bahia e São Paulo os principais produtores (IBGE, 2017).

Durante todo o seu ciclo vegetativo e produtivo, as bananeiras podem ser afetadas por diversos tipos de doenças, fato que representa um entrave para a sua produção (FERNANDES et al. 2007). Dentre as principais doenças que acometem a cultura, o mal do Panamá merece especial atenção. Esta doença é causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, um fungo de solo com grande capacidade de sobrevivência. Os sintomas característicos da doença são amarelecimento e murcha das folhas, seguida de ruptura ou quebra do pseudopécíolo próximo ao pseudocaule. Internamente observa-se uma descoloração pardo-avermelhada dos vasos do xilema de forma periférica no pseudocaule e no rizoma, principalmente nas regiões de vascularização mais densa (PEREIRA E GASPAROTTO, 2005).

Não existem medidas efetivas e registradas de controle químico e a resistência genética se apresenta como a estratégia mais eficaz. Todavia, a inserção de novas cultivares no mercado necessita da boa aceitação por parte do mercado consumidor (CORDEIRO et al., 1993; PLOETZ, 2006).

Diante das dificuldades de supressão do patógeno, a busca de medidas de controle que possam reduzir o inóculo no campo tornam-se relevantes. Nessa perspectiva, o potencial bioativo de extratos vegetais tem sido investigado em diversos patossistemas, visando a exploração do potencial antimicrobiano de diversos compostos presentes nas plantas.

Tendo em vista o potencial de substâncias bioativas presentes em extratos vegetais da flora nativa brasileira, principalmente do bioma Caatinga, no controle de fungos fitopatogênicos, este trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial fungitóxico *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de folhas de *Ziziphus*

joazeiro Mart., *Capparis yco* (Mart.) Eichler e *Croton campestris* A. St.-Hil sobre o desenvolvimento do *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do Mal do Panamá.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Microbiologia Agrícola e de Fitoquímica pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas, Bahia.

2.2 Obtenção do inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

O isolado de Foc, raça 1 (código 0801), utilizado neste trabalho, pertence à coleção de culturas do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas, Bahia.

2.3 Material vegetal

As folhas de *Z. joazeiro*, *C. yco* e *C. campestris* foram coletadas no mês de março de 2016, próximo à BA 411, Km 0,4, no município de Conceição do Coité-Ba (latitude: 11° 33' 41" S e longitude: 39° 16' 58" W).

2.4 Preparo dos extratos vegetais hidroalcoólicos

Para o preparo dos extratos, as folhas foram lavadas em água corrente e secas em estufa de ventilação forçada, a 45 °C, até atingirem peso constante. As folhas secas foram preparadas para obtenção dos extratos pelo processo de maceração, conforme sugerido por Sonaglio et al. (2003). O material vegetal (30g) foi colocado em frascos de Erlenmeyer com capacidade para 2L, submersas com solução de etanol e água destilada (1:1 v/v) e mantidas em

repouso por 72h, a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ \text{C}$), protegido da luz, com agitação ocasional. A operação foi repetida três vezes, utilizando o mesmo material vegetal, renovando-se apenas o líquido extrator. Os extratos líquidos foram filtrados em papel de filtro descartável para café e, em seguida o etanol foi removido em rota evaporador sob pressão reduzida com temperatura de 60°C (Figura 1). A remoção do etanol foi feita para que sua atividade antimicrobiana não influenciasse na ação dos extratos.

Foi utilizado o mesmo procedimento para as três plantas e os extratos obtidos foram armazenados em frascos shots, protegidos da luz e congelados a -20°C , em freezer vertical (Figura 1.D). Momentos antes da instalação dos experimentos, os extratos foram descongelados e filtrados em membranas de nitrocelulose (Millipore) com $0,22 \mu\text{m}$ de porosidade (Figura 1.E).

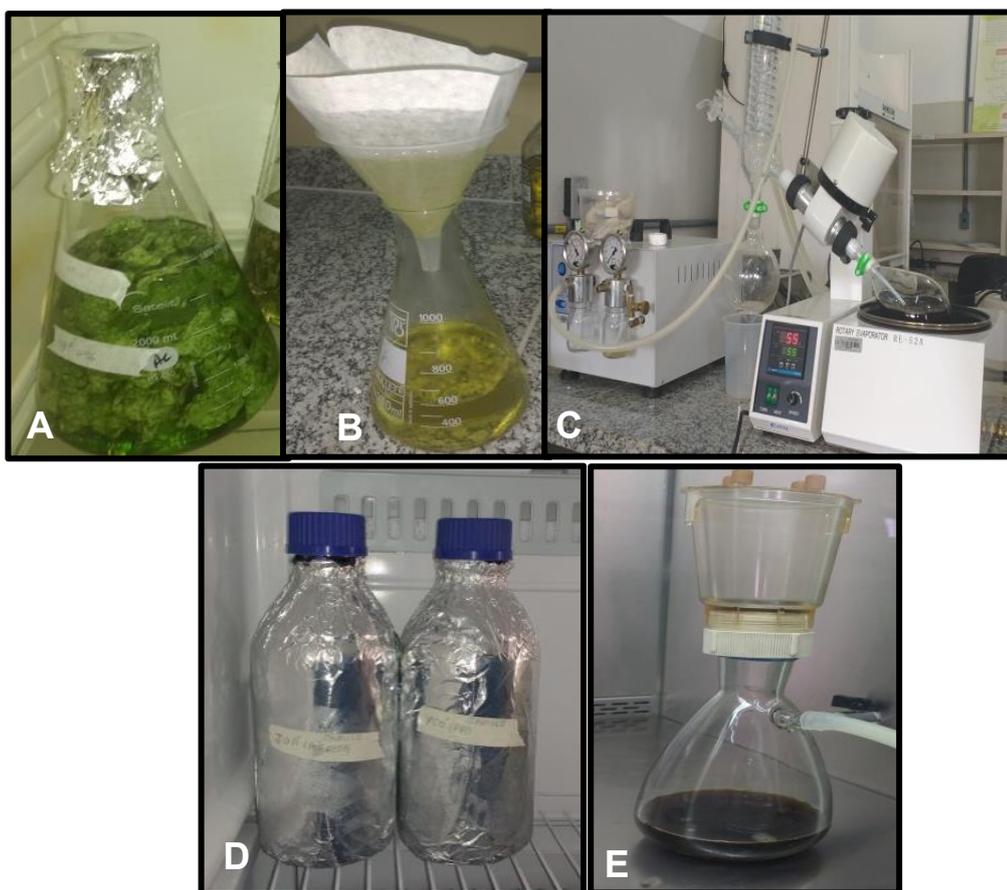


Figura 1. Preparação dos extratos. A) Folhas submersas com solução de etanol e água; B) Extratos filtrados em papel filtro; C) Concentrado em rotaevaporador; D) Armazenados em shots protegidos da luz; E) Filtrado em filtro Millipore.

2.5 Avaliação *in vitro* dos extratos hidroalcoólicos sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

As avaliações foram realizadas por meio da determinação do potencial de inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, em meio de cultura BDA. Os tratamentos foram constituídos dos extratos em diferentes concentrações. Para a obtenção destas concentrações do extrato no meio de cultura, 5, 10, 20, 40 e 80 mL de extrato foram adicionados a 195, 190, 180, 160 e 120 mL de meio BDA fundente (com a temperatura próxima do ponto de solidificação), de modo a obter as concentrações de 2,5; 5; 10; 20 e 40%, respectivamente. O meio foi homogeneizado e adicionou-se 1mL L⁻¹ de Tormicina® (oxitetraciclina 100 mg mL⁻¹). Em seguida, o meio foi agitado manualmente com movimentos rotativos do frasco e foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, esterilizadas. Em câmara de fluxo laminar, após a solidificação dos meios com os extratos vegetais, fez-se a transferência de discos de micélio da borda de culturas de Foc para o centro dessas placas (Figura 2). As culturas de Foc tinham sete dias de cultivo em meio BDA, a temperatura de 28±2 °C. As placas foram vedadas com filme PVC e incubadas em câmara BOD a uma temperatura de 28±2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. Para o tratamento controle, utilizou-se o meio de cultura BDA sem o extrato vegetal.

As culturas foram avaliadas a cada 24h, por meio da medição do diâmetro da colônia em dois sentidos perpendiculares, com um paquímetro (Figura 2.D), até a data em que a colônia do controle atingiu as bordas da placa. Foi calculada a área do crescimento micelial, com a seguinte equação: **$S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$** ; Sendo: S = área da lesão; D1 = diâmetro1; D2 = diâmetro2. Foi calculada também a área abaixo da curva do crescimento micelial (AACCM) utilizando-se a equação proposta por Campbell e Madden (1990): **AACCM: $[\sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot dt_i]/n$** , na qual: y_i e y_{i+1} = valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas; dt_i = intervalo entre as avaliações; n = duração do período de avaliação.

Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, incluindo o controle, e oito repetições, para cada ensaio.

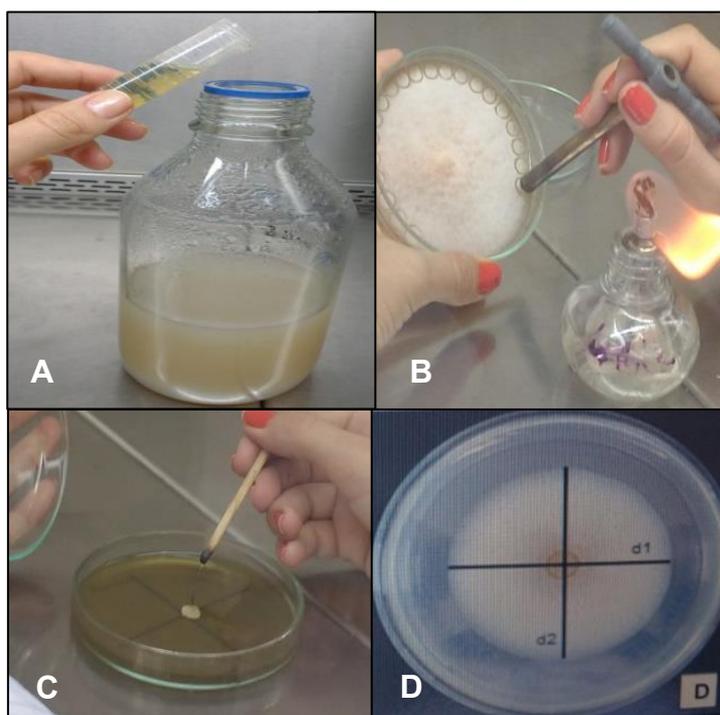


Figura 2. Preparo do teste de crescimento micelial. A) Adição do extrato ao meio de cultura BDA; B) Obtenção dos discos de colônia; C) Transferência dos discos de micélio para placas contendo BDA e extrato; D) Marcação da placa de Petri para avaliação do diâmetro da colônia de Foc.

2.6 Avaliação *in vitro* dos extratos hidroalcoólico sobre a esporulação de *F. oxysporum* f. sp *cupense*

Para a avaliação da esporulação de *F. oxysporum* f. sp *cupense* foram adicionados 20 mL de água destilada esterilizada e 0,5mL de Tween 20[®] às placas contendo as culturas de Foc do ensaio anterior (item 2.5), após cultivo no meio BDA com os extratos vegetais. Em seguida, as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalsky para obtenção da suspensão de conídios. A contagem de conídios dessa suspensão foi feita em câmara de Neubauer, com microscópio de luz (Leica[®] DM750), e a concentração foi calculada com o programa Calibra[®].

2.7 Avaliação *in vitro* dos extratos hidroalcoólico sobre a germinação de conídios de *F. oxysporum* f. sp *cupense*

Para o teste de germinação, foi preparada uma suspensão de conídios. Para isso, foram adicionados 20 mL de água destilada esterilizada e 0,5mL de

Tween 20[®] em placas de Perti contendo culturas de Foc mantidas por sete dias em meio BDA. Em seguida, as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalsky para obtenção da suspensão de conídios. A contagem de conídios dessa suspensão foi feita em câmara de Neubauer, com microscópio de luz (Leica[®] DM750), e a concentração foi calculada para 10⁶ conídios/mL com o programa Calibra[®].

O extrato foi diluído em água destilada esterilizada de modo a obter as mesmas concentrações utilizadas nos teste de crescimento micelial (item 2.5). Cada poço da placa de microtitulação (placas com 96 poços) recebeu 100 µL do meio batata e dextrose (BD), 100 µL de extrato e 50 µL da suspensão. O tratamento controle foi constituído de 100 µL do meio BD, 100 µL de água destilada esterilizada e 50 µL da suspensão. As placas foram incubadas por 24 horas a 28 ±2° C em câmara de crescimento tipo BOD.

Ao final do período de incubação foram adicionados 50 µL de lactofenol azul em todos os tratamentos, para paralisar a germinação de conídios. Em microscópio ótico realizou-se a contagem de 200 conídios em cada poço, sendo registrado o número de conídios germinados e não germinados, considerando-se como conídio germinado aquele cujo tubo germinativo apresentava o comprimento superior ao dobro do diâmetro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições.

2.8 Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em duplicata com intervalo de 30 dias para comprovação dos resultados. Os diâmetros médios das colônias foram analisados por regressão linear, não-linear e múltipla, para selecionar os modelos com os melhores ajustes às curvas de crescimento micelial, com base no coeficiente de determinação (R^2) e no quadrado médio do resíduo (QMR). A significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Fez-se análise de variância e o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para todas as análises foi utilizado o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

2.9 Triagem fitoquímica

Diferentes classes de metabólitos secundários foram avaliadas quanto à presença/ausência no extrato. Foram feitos testes para a presença de flavanóides, tanino esteroides/triterpenóide (JOSHI et al. 2013), saponina (IQBAL et al. 2015), alcaloide (AZEVEDO et al. 2014).

2.9.1 Flavonoides

Foram adicionados no tubo de ensaio 0,5 mL do extrato, 10 gotas do ácido clorídrico concentrado e 0,5 cm de fita de magnésio. O resultado é observado pela reação de Shinoda ou cloreto de cianidina, onde a formação da cor rosa, parda a vermelha, ou marrom indica a presença de flavonoides.

2.9.2 Tanino

Foram adicionados no tubo de ensaio 1,0 mL do extrato, três gotas de solução alcoólica de FeCl_3 . A cor verde indica a presença de galotaninos e a cor marrom indica a presença de pseudotaninos e a cor azul indica a presença de taninos hidrolisáveis.

2.9.3 Saponina

Foram adicionados no tubo de ensaio 2 mg do extrato, 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada, em seguida agitou-se vigorosamente. A formação de espuma persistente e abundante (colarinho), que persiste sobre o aquecimento em banho-maria por 5 minutos, indica a presença de saponinas.

2.9.4 Esteróide/ Triterpenoide

Para a detecção de esteróide /triterpenoide foram usados os testes de Lieberman-Burchard e Salkowski conforme especificado a seguir:

Teste de Lieberman-Burchard: para identificação de triterpenos e esteroides foram utilizados 2mg das frações dos extratos, solubilizados em 2mL de clorofórmio, e em seguida, 1mL de anidrido acético. Agitou-se suavemente e adicionou-se pelas paredes do tubo 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. A camada superior verde indica a presença de esteroides e a formação da cor vermelha indica a presença de triterpenoides ou coloração azul evanescente seguida de verde indica a presença de esteroides e triterpenoides respectivamente.

Teste de Teste Salkowski: foram adicionados no tubo de ensaio 1,0 mL do extrato, três gotas de ácido sulfúrico. A cor vermelha indica a presença de esteroides e formação da cor amarela indica a presença de triterpenoides.

2.9.5 Alcaloide

Para determinação de alcaloides, 2 mg do extrato em tubo de ensaio foram alcalinizados com 15 gotas de hidróxido de sódio a 1% e acrescidos de 2 mL de água e 2 ml de clorofórmio. A fração aquosa foi desprezada e a fração clorofórmica acrescida de quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, e em seguida extraída com 2 mL de água. A fração clorofórmica foi desprezada e os testes realizados com a fração aquosa ácida, acrescentando-se três gotas do reagente de Drangendorff para a verificação da presença de alcaloides. A formação de precipitado laranja ou laranja avermelhado indica a presença de alcaloide. A cor castanha indica a presença de esteroides.

3 RESULTADOS

1.1 Avaliação *in vitro* dos extratos vegetais hidroalcoólicos no crescimento micelial de Foc

Em todos os tratamentos, as colônias de Foc apresentaram diâmetros inferiores ao controle (BDA sem extrato), demonstrando atividade antifúngica em

todos os extratos. Quando aplicados em concentrações mais altas, os extratos promoveram maior inibição do crescimento micelial.

O extrato hidroalcoólico de folhas de juazeiro causou uma redução significativa no crescimento micelial de *Foc*, a partir da menor concentração (2,5%), a qual apresentou crescimento micelial de 40,60 cm², quando comparado com o controle com valor de 47,18 cm² (Figura 3).

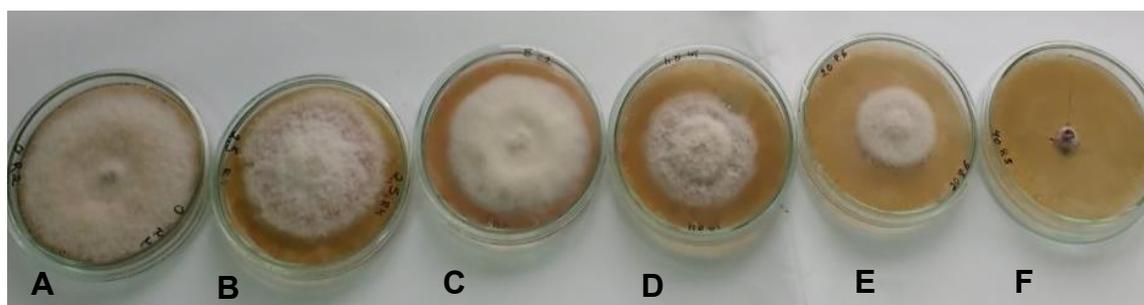


Figura 3. Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* em função do aumento da concentração do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* (A- controle; B – 2,5%; C – 5,0%; D – 10%; E – 20%; F – 40%)

Os melhores resultados ocorreram com o extrato de juazeiro nas concentrações de 20% e 40%, com crescimento micelial de 1,50 cm² e 0,18 cm², o que representa a redução de 97% e 99%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito dos extratos vegetais hidroalcoólicos no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* *in vitro*

Concentrações (%)	Extrato de folhas icó	Extrato de folhas de velame	Extrato de folhas de juazeiro	Crescimento micelial (cm ²)			
0,0	53,06 Aa	49,46 Aab	47,18 Ab				
2,5	51,07 Aa	47,52 Aa	40,60 Bb				
5,0	50,54 Aa	39,80 Bb	33,50 Cc				
10	46,20 Ba	34,05 Cb	21,13 Dc				
20	37,01 Ca	15,09 Db	1,50 Ec				
40	20,73 Da	0,43 Eb	0,18 Eb				

*Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

O extrato de velame também apresentou atividade antifúngica sobre o patógeno (Figura 4). Na concentração de 5% já se obteve redução no crescimento micelial (47,52 cm²). A partir da concentração de 10%, a redução no crescimento (34,05 cm²) teve um aumento significativo, com os menores diâmetros da colônia no tratamento com 20% (15,09 cm²) e 40% (0,43 cm²) de concentração do extrato, com percentuais de redução de 69,45% e 99%, respectivamente (Tabela 1).

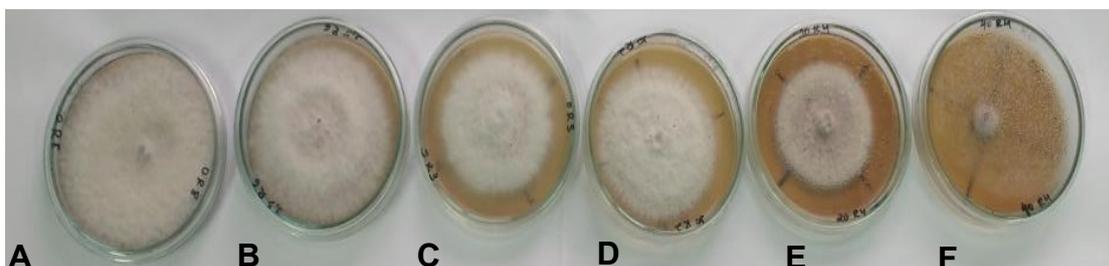


Figura 4. Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* em função do aumento da concentração do extrato hidroalcoólico de folhas de *Croton campestris* (A- controle; B – 2,5%; C – 5,0%; D – 10%; E – 20%; F – 40%)

O extrato de icó, apesar de evidenciar atividade antifúngica, não apresentou resultados satisfatórios. As concentrações de 2,5% (51,07 cm²) e 5% (50,54 cm²) não diferiram do tratamento controle, ao passo que os tratamentos com 10% (46,20 cm²), 20% (37,01 cm²), e 40% (20,73 cm²) promoveram a inibição do crescimento micelial em 12,91%, 30,1% e 60%, respectivamente (Tabela1, Figura 5).

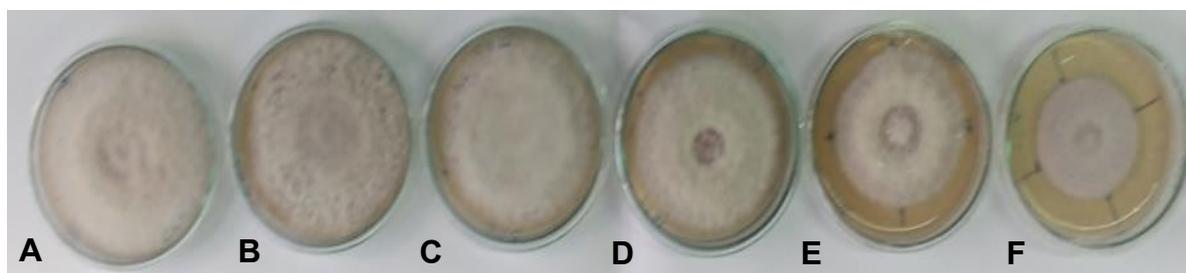


Figura 5. Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* em função do aumento da concentração do extrato hidroalcoólico de folhas de *Capparis yco* (A- controle; B – 2.5%; C – 5.0%; D – 10%; E – 20%; F – 40%).

Na comparação da eficiência dos três extratos vegetais observa-se que os resultados com o extrato de juá foram superiores ao extrato de icó, em todas

as concentrações testadas, ao passo que o extrato de velame foi superior ao de icó, a partir do tratamento a 5% de concentração. Os tratamentos com o extrato de velame foram inferiores ao extrato de juazeiro, desde a menor concentração (2,5%). No entanto, na concentração mais alta (40%), ambos os extratos tiveram o mesmo comportamento em relação à redução do crescimento micelial (Tabela 1).

A área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) indica que todos os extratos promoveram a inibição do crescimento micelial, em relação ao tratamento controle, sendo o extrato hidroalcoólico de folhas de joazeiro o mais eficiente em relação aos demais. Os extratos de juazeiro e velame foram superiores ao extrato de icó, em todas as concentrações testadas, e o de juazeiro foi superior ao velame nas concentrações de 10% e 20% (Tabela 2).

Tabela 2. Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubeense* em meio batata dextrose ágar (BDA) com extratos hidroalcoólicos

Concentrações (%)	Extrato de folhas de icó	Extrato de folhas de velame	Extrato de folhas de juazeiro
	AACCM		
0,0	186,58 Aa	157,01 Ab	185,43 Aa
2,5	171,57 Ba	149,19 Ab	148,88 Bb
5,0	169,45 Ba	122,45 Bb	123,23 Cb
10	144,58 Ca	98,46 Cb	69,44 Dc
20	113,70 Da	41,05 Db	22,64 Ec
40	56,53 Ea	0,94 Eb	1,29 Fb

*Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

1.2 Avaliação *in vitro* da esporulação de *Foc* crescido em meio BDA com extratos vegetais hidroalcoólicos

A produção de microconídios de *Foc* foi afetada pelo extrato de Icó, apenas nas concentrações mais altas (20% e 40%), com esporulação média de $12,8 \times 10^6$ e $14,0 \times 10^6$ conídios/mL respectivamente. Quanto à esporulação de macroconídios, não houve redução em nenhum dos tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3. Produção de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* *in vitro*, no meio BDA com extratos hidroalcoólicos.

CONCENTRAÇÕES (%)	ICÓ	CROTON	JUÁ
	MICROCONÍDIOS (10^6)		
0	31,00 Aa	22,30 Aa	17,10 Aa
2,5	27,70 Aa	20,00 Aa	10,10 Aa
5	24,00 Aa	22,70 Aa	7,20 Bb
10	23,70 Aa	26,30 Aa	4,83 Bb
20	12,80 Ba	3,90 Bb	4,37 Bb
40	14,00 Ba	0,28 Cc	0,60 Cb
CONCENTRAÇÕES (%)	ICÓ	CROTON	JUÁ
	MACROCONÍDIOS (10^5)		
0	15,10 Aa	26,80 Aa	35,0 Aa
2,5	25,10 Aa	0,75 Aa	2,70 Aa
5	2,60 Aa	1,87 Ab	1,77 Aa
10	5,33 Aa	0,93 Aab	0,17 Bb
20	2,80 Aa	0,08 Bb	0,25 Ba
40	2,17 Aa	0,00 Bb	0,00 Cb

*Médias seguidas de letras iguais minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Com o extrato de velame, a esporulação tanto de microconídios quanto de macroconídios não diferiu do controle, para as concentrações mais baixas.

Os tratamentos com 20% e 40% apresentaram esporulação de microconídios de $3,90 \times 10^6$ e $0,28 \times 10^6$ conídios/mL respectivamente, o que corresponde a uma redução de 82% e 92%. Na produção de macroconídios, o extrato na concentração de 20% causou a redução de 82%, com esporulação de $0,25 \times 10^6$ conídios/mL. Na concentração mais alta (40%) não ocorreu esporulação (Tabela 3).

O extrato de juazeiro promoveu redução da produção de microconídios a partir da concentração de 5% ($7,20 \times 10^6$ conídios/mL). A maior taxa de inibição (96%) foi obtida para a concentração de 40%, com média de $0,60 \times 10^6$ conídio/mL. Em relação aos macroconídios, o extrato nas concentrações de 10% e 20% causou redução, em comparação com o tratamento controle, com produção de $0,17 \times 10^6$ e $0,25 \times 10^6$ conídios/mL, correspondendo a 99,5% e 99,9% de redução, respectivamente. Não houve esporulação no tratamento com 40% de extrato (Tabela 3).

1.3 Avaliação *in vitro* dos extratos vegetais hidroalcoólicos na germinação de conídios de Foc

O extrato hidroalcoólico de *Z. joazeiro*, na concentração de 20% proporcionou a maior redução (41,8%) na germinação de conídios de Foc (Figura 6). No tratamento com 40% de extrato, a redução foi de 32,1%. Os tratamentos de 2,5%; 5% e 10% de concentração reduziram a germinação em 8%; 15,3% e 27,3%, respectivamente.

Os resultados com extrato de velame na germinação de conídios foram inferiores aos observados com o extrato de juazeiro. Os maiores percentuais de redução (23%) ocorreram nos tratamentos com 40% e 20% de extrato. O tratamento com 10% causou redução na germinação em 14,4%. As menores taxas foram observadas nos tratamentos com as concentrações de 2,5% e 5% do extrato, com reduções de 4,1% e 7,9%, respectivamente.

O extrato de icó não apresentou resultados satisfatórios. Na concentração mais alta (40%) a percentagem de redução foi de 13%. O tratamento com 20% de concentração causou 6,5% de inibição da germinação, ao passo que com 10% a redução foi de 3,2%. As menores taxas de germinação ocorreram nos tratamentos com 2,5 (0,8%) e 5% (1,6%) de extrato.

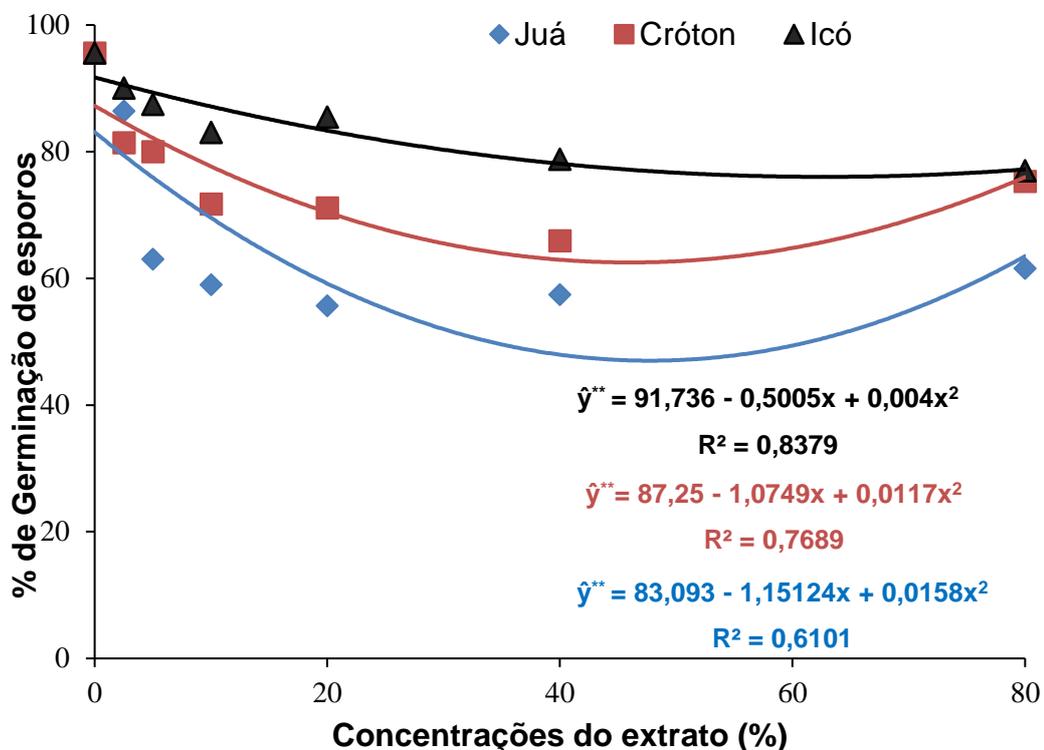


Figura 6. Avaliação *in vitro* dos extratos vegetais hidroalcoólicos na germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

1.4 Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica indicou a presença de grupos de compostos químicos provenientes do metabolismo secundário das plantas (Tabela 4). No extrato de folhas de juazeiro foram encontradas saponinas, pseudotanimos, esteroides e alcaloides. No extrato de folhas de icó, os testes indicaram a presença de pseudotanimos e tripterpenos. No extrato de velame apenas a presença de pseudotanimos foi detectada (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização fitoquímica dos extratos de folhas de icó, velame e juá.

Classe de compostos	Extrato de Icó	Extrato velame	de	Extrato juazeiro	de
Flavonoides	-	-		-	
Pseudotanimos	+	+		+	
Esteroides	-	-		+	
Saponinas	-	-		+	
Alcaloides	-	-		+	
Triptterpeno	+	-		-	

(-) Ausente

(+) Presente

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, a atividade antifúngica de extratos hidroalcoólicos de três espécies de plantas do bioma Caatinga foi avaliada para o controle de *Foc in vitro*. Os extratos hidroalcoólicos de folhas de *Z. juazeiro*, *C. campestris* e *C. yco* promoveram redução no crescimento micelial de *Foc*, variando com as suas concentrações. As melhores taxa de redução foram obtidas com o extrato de *Z. juazeiro*. Esta atividade pode ser explicada pela presença de saponinas, pseudotanimos, esteróides e alcaloides no extrato. Estes compostos são conhecidos por apresentar atividade biológica (SILVA et al. 2016) e podem atuar de várias formas sobre as células microbianas, interferindo na membrana, na ligação de proteínas, inibição da síntese de proteínas, inibição enzimas e ruptura de estruturas da membrana (COWAN, 1999; BOZDOGAN; APPELBAUM, 2004).

A classe de pseudotanimos foi comum aos três extratos, no entanto sugere-se que a influência no desenvolvimento do microrganismo não foi devida a esse metabólito, uma vez que o extrato de icó não apresentou um bom potencial de inibição. Além disso, por ser um método qualitativo, a triagem fitoquímica não identifica os compostos majoritários.

Rodríguez et al. (2015), ao investigar a atividade biológica de *Rhus muelleri* sob *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, atribuiu a atividade antifúngica à presença de produtos pertencentes ao grupo de compostos

alcoólicos e dos esteróides. Roşca-Casian et al. (2017) identificaram a presença de alcaloides, terpenoides, saponinas e taninos em extratos de *Hedera helix*. Segundo os autores além de identificar a composição química do extrato é necessário quantificar as substâncias bioativas.

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode variar de acordo com a estrutura ou com o estágio de desenvolvimento do patógeno. Enquanto alguns compostos agem sobre o crescimento micelial, outros afetam a germinação de conídios (PIZANA et al. 2010; TALIBI, et al. 2012). Os resultados do presente estudo demonstram que o crescimento micelial e a esporulação de *Foc* são mais afetados pelos extratos do que a germinação de conídios.

A análise fitoquímica qualitativa mostrou metabólitos que apresentam atividade biológica, como saponinas, pseudotaninos, esteróide, alcaloides e tripterpenos. Estes compostos frequentemente promovem atividades biológicas importantes (SCHÄFER; WINK, 2009), sendo conhecidos entre os principais compostos bioativos com potencial antimicrobiano (EDEOGA et al. 2017).

Algumas diferenças na composição química foram observadas entre as diferentes espécies de plantas. Os pseudotaninos foram encontrados em todos os extratos. Terpenos foram identificados apenas no extrato de icó e alcaloides, esteróides e saponinas no extrato de juá. Sabe-se que o tipo, a atividade e a quantidade dos compostos químicos presentes nos tecidos das plantas são comumente influenciados pela espécie botânica utilizada, pelo local de origem, pelos fatores bióticos e abióticos (GANJEWALA et al. 2009), pela idade, pela parte da planta estudada e do solvente utilizado, pelo procedimento de extração, preparação, acondicionamento e manutenção dos produtos (BILAL et al. 2017; ROŞCA-CASIAN et al. 2017). Portanto é necessário ter todas as informações possíveis referentes ao estado da planta, assim como do ambiente em que ela está inserida e de todos os procedimentos utilizados para a obtenção dos extratos.

Amplamente distribuídas entre as espécies vegetais, as saponinas representam uma das famílias mais importantes e diversas entre os produtos derivados das plantas. Estes compostos possuem uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo antimicrobiana (SPARG et al. 2004; MOSES et al. 2014). Pesquisas realizadas por Yang et al. (2006) demonstraram que a

atividade antifúngica deste produto está relacionada ao número e a estrutura das unidades de monossacarídeos em suas cadeias de açúcar.

Os alcaloides são descritos como substâncias com significativo potencial biológico (HU et al 2014). Este grupo é diversamente distribuído, ocorre em cerca de 300 famílias de plantas e pode incidir em qualquer parte da planta (CORDELL et al. 2001). Estudos realizados por Chakraborty e Brantner (1999) demonstraram ação antimicrobiana da fração de alcaloides extraído de extratos da casca do caule de *Holarrhena pubescens* contra *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Streptococcus faecalis*.

Os terpenos são hidrocarbonetos composto por unidade de isopreno. Compostos pertencentes a este grupo apresentam uma série de atividades biológicas (HAQUE et al. 2016). Dados relatados na literatura demonstraram que células de *Saccharomyces cerevisiae* ao serem tratadas com terpenos tiveram a integridade de sua mitocôndria afetada, resultando na morte celular. Estudos realizados por Ighachane et al. (2017) evidenciaram a natureza antifúngica de terpenos, com a inibição do crescimento micelial e esporulação de *F. oxysporum* f. sp. *albedinis*, *F. oxysporum* f. sp. *canariensis* e *Verticillium dahliae*. Pontin et al. (2015) também observaram atividade antifúngica de terpenos biosintetizados por plantas de *Allium sativum* infectados com *Sclerotium cepivorum*, com inibição do crescimento micelial e redução na produção de esclerócios. Estes autores sugerem que um dos mecanismos de ação antifúngica de terpenos é a alteração da integridade da membrana celular do fungo.

Subhisha e Subramoniam (2005) relataram a atividade antifúngica de extratos de *Pallavicinia lyellii* contra *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *F. oxysporum* e *Candida albicans*, indicando que o esteróide como princípio ativo causou a inibição da germinação de conídios e do crescimento micelial. Os autores sugeriram que sendo um composto lipofílico, provavelmente o esteróide teria atuado intracelularmente. Dados semelhantes foram reportados por Bahi et al (2014) com extratos de *Cassia alata* no controle de *C. albicans*.

Alguns autores asseguram que a atividade antifúngica de alguns metabólitos secundários causa a destruição das estruturas da membrana celular de fungos fitopatogênicos, provocando danos irreversíveis ao septo celular, exsudação e coagulação de materiais de interiores celulares e são capazes de inibir a atividades de catalase e peroxidase (ALEKSIC; KNEZEVIC, 2014; YANG

et al. 2017). Segundo Parvu et al (2013) ao tratar *Botrytis tulipae* com extrato de *Chelidonium majus*, as hifas apresentaram precipitação do citoplasma e destruição de organelas e núcleos que causaram perda de viabilidade e capacidade de germinação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos de folhas de *Z. juazeiro* e *C. campestris* apresentam bom potencial para o controle de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, em condições in vitro. O extrato de folhas de *C. yco* possui baixa atividade antifúngica contra *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

Os extratos de folhas de *Z. juazeiro* e *C. campestris* e *C. yco* possuem metabólitos secundários de diferentes grupos químicos (flavonoides, pseudotaninos, esteroides, saponina, alcaloide e tripterpenos).

REFERÊNCIAS

ALEKSIC, V; KNEZEVIC, P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. **Microbiological Research**, v.169, p. 240-254, 2014.

AZEVEDO, L.F.P.; FARIA, T.S.A.; PESSANHA, F.F; ARAUJO, M.F.; LEMOS, G.C.S. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.2, p.209-215, 2014.

BILAL, M. et al. Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103. p. 554-574, 2017.

BAHI, M et al. Bioassay on *n*-Hexane Extract of Leaves *Cassia alata* against *Candida albicans*. **Journal Natural**, v. 14, No. 1, 5-10, 2014.

BOZDOGAN B, APPELBAUM P.C. Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 23, p. 113-119, 2004.

COWAN. M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12. p.564-582, 1999.

CORDEIRO, Z. J. et al. Avaliação de resistência ao mal do Panamá em híbridos tetraploides de bananeira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.4, p.478-483, 1993.

CORDELL, G. A. et al. The potential of alkaloids in drug Discovery. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CHAKRABORTY, A. BRANTNER, A. H. Antibacterial steroid alkaloids from the stem bark of *Holarrhena pubescens*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, p. 339-344, 1999.

DIAS, J. do S. A. A cultura da bananeira. In: DIAS, J. do S. A.; BARRETO, M. C. (Ed.). **Aspectos agronômicos, fitopatológicos e socioeconômicos da**

sigatoka-negra na cultura da bananeira no Estado do Amapá. Macapá: Embrapa Amapá, 2011. 95 p. 1 CD-ROM. Cap. 2. p. 18-21.

EDEOGA, H.O. et al. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 7 p. 685-688, 2005.

FERNANDES, C. de F. et al. **Sigatoka-negra em Rondônia.** 1 ed. Rondônia: Embrapa, 2007. (Comunicado técnico, 324).

FERREIRA, D.F. Sisvar versão 5.3. **Sistemas de análises de variância para dados balanceados:** programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 2011.

GANJEWALA, D. et al. Biochemical compositions and antibacterial activities of *Lantana camara* plants with yellow, lavender, red and white flowers. **EurAsian Journal of BioSciences**, n.3, p.69-77, 2009.

HU, J. et al. Alkaloids from *Toddalia asiatica* and their cytotoxic, antimicrobial and antifungal activities. **Food Chemistry**. v. 148, p. 437-444. 2014.

HAQUEA, E. et al. Terpenoids with antifungal activity trigger mitochondrial dysfunction in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiology**, v.85, p. 436-443, 2016.

IQBAL, E. et al. Phytochemical creening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam, **Journal of King Saud University Science**, 27, p.224–232, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. **Levantamento Sistemático de produção Agrícola**, Rio de Janeiro, v.29 n.9 p.1-79, 2017.

IGHACHANE, H. et al. Catalytic Synthesis and antifungal activity of new polychlorinated natural terpenes. **Advances in Materials Science and Engineering**. V. 2017, artigo n. 2784303, 2017.

JOSHI, A. et al. Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.5, n.7, p.80-87, 2013.

MOSES, T. et al. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 49, p. 439-462, 2014.

PONTIN, M. et al. *Allium sativum* produces terpenes with fungistatic properties in response to infection with *Sclerotium cepivorum*. **Phytochemistry**, v. 115, p. 152-160, 2015.

PEREIRA, J. C. R.; GASPARIOTTO, L. **Contribuição para o reconhecimento de doenças vasculares da bananeira (*Musa spp.*)**. 1 ed. Manaus: Embrapa, 2005. (Circular técnica, 25).

PIZANA, C.G. et al. Evaluation of the fungicidal activity of leaves powder and extract of fifteen mexican plants *Fusarium oxysporum* f. sp. *gadioli* (Massey) Snyder and Hanser. **Plant Pathology Journal**, v.9, p. 1-9, 2010.

PLOETZ, R. C. *Fusarium* wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**, v. 96, No. 6, p. 653-656, 2006.

PARVU, M. et al. Chemical composition of celandine (*chelidonium majus* L.) Extract and its effects on *Botrytis tulipae* (lib.) Lind fungus and the tulip *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, v. 21, p. 414-426, 2013.

RODRÍGUEZ, J. de. et al, Antifungal activity in vitro of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 150-158, 2015.

ROȘCA-CASIAN, O. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Hedera helix* leaf ethanolic extract. **Acta Biologica Hungarica**, v. 68, p.196-207, 2017.

SILVA, C. M. A. da. et al. Antimicrobial activity of several Brazilian medicinal plants against phytopathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n 17, p. 578-583, 2016.

SONAGLIO, D. et al. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p.289-326.

SUBHISHA, S; SUBRAMONIAM, A. Antifungal Activities of a Steroid from *Pallavicinia lyellii*, a Liverwort. **Tropical Botanic Garden and Research Institute**, India. 2005.

SCHÄFER, H; WINK, M. Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: Progress in alkaloid biosynthesis. **Biotechnology Journal**, v. 4, p. 1684–1703, 2009.

SPARG, S. G. et al. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 219-243, 2004.

TALIBI, I. et al. Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. **Crop Protection**, v. 35, p. 41-46, 2012.

YANG, Y. et al. Tea polyphenol is a potential antifungal agent for the control of obligate biotrophic fungus in plants. **Journal of Phytopathology**, v. 165, p. 547-553, 2017.

YANG, C. et al. Antifungal Activity of C-27 Steroidal Saponins Antifungal Activity of C-27 Steroidal Saponins. **Antimicrobial Agents Chemother**, v. 50, p. 1710–1714, 2006.

CAPÍTULO 3

Controle de antracnose da banana com extrato de *Ziziphus joazeiro*.

RESUMO

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Controle de antracnose da banana com extrato de *Ziziphus joazeiro*.

A antracnose, causada por *Colletotrichum musae* (Berk. e Curtis) Arx., é uma das doenças que causam significativas perdas econômicas na cultura da banana. Os objetivos deste trabalho foram: i) avaliar os efeitos do extrato hidroalcoólico de folhas de juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart) sobre o crescimento micelial, esporulação e a germinação de conídios de *Colletotrichum musae* e ii) avaliar a eficiência do extrato no controle da antracnose em bananas. Na etapa *in vitro* foram testadas concentrações do extrato no desenvolvimento de *C. musae*. Nos testes *in vivo* foram realizados dois experimentos em bananas “Prata”. No primeiro, os frutos desinfestados foram imersos no extrato por 5 minutos e, após secarem em temperatura ambiente, foram feitos três orifícios na região equatorial do fruto, onde foram inoculados 30 µL da suspensão de conídios de *C. musae*. No segundo experimento, os frutos foram imersos na suspensão de conídios, incubados em câmara úmida por 24h e foram imersos no extrato. Em ambos os experimentos, os frutos foram distribuídos em bandejas e incubados em câmara do tipo BOD a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Os tratamentos *in vitro* foram constituídos dos extratos nas concentrações de 2,5; 5; 10 e 20% e nos testes *in vivo* foram avaliadas as concentrações de 10; 20; 30 e 40%. O extrato diluído a 20% causou 98,33% de inibição do crescimento micelial, 98,33% de redução da esporulação e 51,89% de inibição da germinação de conídios. No primeiro teste *in vivo*, o diâmetro das lesões nos tratados com o extrato foi inferior ao controle em água e igual aos frutos tratados com Tecto® SC. O extrato reduziu a incidência da doença e não influenciou na perda de massa dos frutos. No segundo teste, o extrato causou redução na severidade da antracnose, em todas as concentrações. O menor percentual de severidade (5.7%) foi constatado no tratamento com o extrato diluído a 40%. O extrato de *Z. joazeiro* apresenta atividade antifúngica contra *C. musa* e eficiência no controle da antracnose da banana.

Palavras-chave: *Musa spp*; controle alternativo; juazeiro.

ABSTRACT

SANTOS, J. R. dos, JESUS, F. N, OLIVEIRA, T. A. S, SOARES, A. C. F.
Control of anthracnose in banana fruits with *Ziziphus joazeiro* leaf extract.

Anthracnose caused by *Colletotrichum musae* (Berk. e Curtis) Arx. causes significant economic losses to the banana crop. This study aimed at: i) evaluating the effect of the hidroalcoholic extract of juazeiro (*Ziziphus joazeiro* Mart) on mycelium growth, sporulation and spore germination of *Colletotrichum musae* and ii) its efficiency in controlling anthracnose in banana fruits. The in vitro tests were conducted to evaluate different concentrations of the extract on mycelium growth; sporulation and spore germination of *C. musae*. Two experiments were performed with banana fruits of the variety "Prata". In the first experiment, the fruits were first disinfested and immersed in the extract for 5 min. After being dried at room temperature, three wounds were made in the equatorial region of the fruit and they were inoculated with 30 µL of a spore suspension of *C. musae* (10⁶ conidia/mL). In the second experiment, fruits were immersed in the spore suspension, maintained in a humid growth chamber for 24h and immersed in the plant extract. In both tests, the fruits were distributed in plastic trays and incubated at 25±2°C. The in vitro treatments were constituted by the extract concentrations at 2.5; 5; 10 and 20% and for the tests with banana fruits, the concentrations of 10; 20; 30 and 40% were tested. The extract diluted to 20% caused 98.3% inhibition of mycelium growth, 98.3% reduction in sporulation, and 51,9% inhibition of spore germination. In the first test, fruit lesion diameter for the treatments with the extracts was smaller than the control treatment in water and similar to the treatment with Tecto® SC. The extract reduced disease incidence and did not affect fruit weight loss. For the second test, fruit immersion in the extract caused a reduction in anthracnose severity for all extract concentrations. A lower disease severity (5.7%) was observed for the treatment with the extract diluted to 40%, the highest tested concentration. *Z. joazeiro* leaf extract has antifungal activity against *C. musa* and is efficient for controlling banana anthracnose.

Key words: *Musa spp*; controle alternativo; juazeiro.

1 INTRODUÇÃO

A banana (*Musa* spp.) é uma das frutas mais consumidas, produzidas e comercializadas no mundo. É explorada na maioria dos países tropicais, sendo que em muitos deles, apresenta-se como uma importante fonte de renda e geração de emprego, contribuindo, dessa forma, para o desenvolvimento das regiões envolvidas em sua produção (BORGES et al. 2009; FIORAVANÇO, 2003). O Brasil possui uma posição de destaque na bananicultura mundial, no entanto seu volume de exportação ainda é pequeno, principalmente devido à ocorrência de doenças fúngica (VIANA et al. 2012).

Dentre as doenças mais importantes da cultura, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum musae* (Berk. e Curtis) Arx. O patógeno pode infectar os frutos verdes, ainda no campo, no entanto os sintomas só se manifestam após a sua maturação. Com o progresso da doença as lesões aumentam de tamanho, podendo coalescer e formar grandes áreas necrosadas, tornando a aparência do fruto indesejável para o consumo, inviabilizando a exportação (CORDEIRO; KIMATI, 1997; CORDEIRO; MATOS, 2000; VIANA et al. 2012).

O controle químico é o método mais utilizado para o controle de doenças pós-colheita. Todavia, as legislações de alguns países importadores que impedem a comercialização de frutos tratados com determinados fungicidas, assim como a possibilidade de surgimentos de isolados resistentes do patógeno e problemas de efeitos residuais (BORGES, et al. 2006; SILVA; CORDEIRO, 2000) tem levado à procura de métodos alternativos de controle, tais como o uso de produtos de origem biológica, como extratos vegetais.

Nessa perspectiva, o potencial bioativo de extratos vegetais tem sido alvo de estudos com o objetivo de detectar substâncias antimicrobianas. Pesquisas demonstram o potencial de produtos de origem vegetal no controle da antracnose em frutos, como *Melaphis chinensis* (KUO et al. 2015), *Punica granatum* L. (PANGALLO et al. 2017) e *Eucalyptus* spp. (ESPAÑA et al. 2017).

Ziziphus joazeiro Mart, é uma espécie nativa da Caatinga, com grande utilidade econômica e importância ecológica. Esta planta é bastante utilizada na medicina popular como expectorante, no tratamento de bronquites e de úlceras

gástricase, devido à presença de saponina, é também amplamente utilizada na produção de produtos para higiene como xampus, sabão e produtos para higiene bucal (LORENZI; MATOS, 2008; MAIA, 2012).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito antifúngico do extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. joazeiro* no desenvolvimento de *C. musae* e na intensidade da antracnose em frutos de banana submetidos ao tratamento com o extrato.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Microbiologia Agrícola e de Fitoquímica pertencentes ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em Cruz das Almas, Bahia.

2.2 Obtenção do inóculo de *Colletotrichum musae*

O isolado de *C. muse* (CMUSAE) utilizado encontra-se em processo de depósito na Coleção de Culturas de Microrganismos da Bahia (CCMB) da Universidade Estadual de Feira de Santana.

2.3 Material vegetal

As folhas de *Z. joazeiro* foram coletadas no mês março de 2016, próximo à BA 411, Km 0,4 no município de Conceição do Coité-Ba (latitude: 11° 33' 41" S e longitude: 39° 16' 58" W).

2.4 Preparo do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro*

Para o preparo do extrato, as folhas foram lavadas em água corrente e secas em estufa de ventilação forçada, a 45 °C, até atingirem peso constante.

As folhas secas foram preparadas para obtenção dos extratos pelo processo de maceração, conforme sugerido por Sonaglio et al. (2003). As folhas (30g) foram colocadas em frascos de Erlenmeyer com capacidade para 2L, com solução de etanol e água (1:1 v/v) e a mistura foi mantida em repouso por 72h, a temperatura ambiente ($28 \pm 2^\circ \text{C}$), protegida da luz e com agitação ocasional. A operação foi repetida três vezes, utilizando o mesmo material vegetal, renovando-se apenas o líquido extrator. O extrato foi filtrado em filtro de papel descartável para café e, em seguida o etanol foi removido em rota evaporador sob pressão reduzida com temperatura de 60°C . A remoção do etanol foi feita para que sua atividade antimicrobiana não influenciasse na ação dos extratos.

Os extratos obtidos foram armazenados em frascos, protegidos da luz e congelados até o momento de sua utilização. No momento da instalação dos experimentos, os extratos foram descongelados e filtrados em membranas de nitrocelulose (Millipore) com $0,22 \mu\text{m}$ de porosidade.

2.5 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Ziziphus joazeiro* sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*

Avaliou-se o potencial de inibição do crescimento micelial de *C. musae* em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Os tratamentos foram constituídos do extrato de folhas de *Z. joazeiro* em diferentes concentrações. Para a obtenção de diferentes concentrações, 5, 10, 20 e 40 mL de extrato foram adicionados a 195, 190, 180 e 160 mL do meio BDA fundente, respectivamente, completando-se para 200 mL de meio de cultura, de forma a obter as concentrações finais de 2,5; 5; 10 e 20% de extrato no meio. Para tal, no preparo do meio de cultura BDA, o volume de água adicionado foi equivalente ao volume final do meio menos o volume de extrato a ser adicionado ao referido meio de cultura. Quando o meio apresentava a temperatura próxima ao ponto de solidificação, foi acrescentado 1 mL L^{-1} de Tormicina[®] (oxitetraciclina 100 mg mL^{-1}) e este foi agitado manualmente com movimentos rotativos e foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação e o arrefecimento do meio, fez-se a transferência de discos de micélio da borda de culturas de *C.*

musae para o centro das placas de Petri com o meio de cultura. As culturas de *C. musae* utilizadas como inóculo foram preparadas em BDA a temperatura de 25 ± 2 , por 7 dias. As placas foram vedadas com filme de PVC e incubadas em câmara BOD a uma temperatura de 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. O tratamento controle foi constituído de meio BDA sem extrato.

As culturas foram avaliadas a cada 24h, por meio da medição do diâmetro da colônia com um paquímetro, até a colônia do tratamento controle atingir as bordas da placa. Foi calculada a área do crescimento micelial, obtido pela fórmula: $S = (\pi \times D1 \times D2) / 4$; Sendo: S = área da lesão; D1 = diâmetro1; D2 = diâmetro2. Foi calculada também a área abaixo da curva do crescimento micelial (AACCM) utilizando-se a equação proposta por Campbell e Madden (1990): **AACCM: $[\sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot dt_i]/n$** , na qual: y_i e y_{i+1} = valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas; dt_i = intervalo entre as avaliações; n = duração do período de avaliação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, incluindo o controle, e oito repetições.

2.6 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Ziziphus joazeiro* sobre a esporulação de *Colletotrichum musae*

Para a avaliação da esporulação, foram adicionados 20 mL de água destilada e esterilizada e 0,5mL de Tween 20[®] às placas contendo as culturas de *C. musae* do ensaio anterior (item 2.5). Em seguida, as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalsky para obtenção da suspensão de conídios. A contagem de conídios dessa suspensão foi feita em câmara de Neubauer, com microscópio de luz (Leica[®] DM750) e a concentração foi calculada a partir do programa Calibra[®].

2.7 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Ziziphus joazeiro* sobre a germinação de conídios de *Colletotrichum musae*

Para o teste de germinação, foi preparada uma suspensão de conídios. Para isso, foram adicionados 20 mL de água destilada e esterilizada e 0,5mL de Tween 20[®] em placas de Petri contendo culturas de *C. musae* mantidas por 7

dias em meio BDA. Em seguida, as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalsky para obtenção da suspensão de conídios. A contagem de conídios dessa suspensão foi feita em câmara de Neubauer, com microscópio de luz (Leica® DM750), e a concentração foi calculada para 10^5 conídios/mL, com o programa Calibra®.

O extrato foi diluído em água destilada esterilizada de modo a obter as mesmas concentrações utilizadas nos testes de crescimento micelial (item 2.5). Cada poço da placa de microtitulação (placas com 96 poços), recebeu 100 μ L do meio batata e dextrose (BD), 100 μ L do extrato vegetal e 50 μ L da suspensão de conídios. O tratamento controle foi constituído de 100 μ L do meio BD, 100 μ L de água destilada esterilizada e 50 μ L da suspensão. As placas foram incubadas por 24 horas a $25 \pm 2^\circ$ C em câmara de crescimento tipo BOD.

Ao final do período de incubação foram adicionados 50 μ L de lactofenol azul em todos os tratamentos, para paralisar a germinação de conídios. Em microscópio ótico realizou-se a contagem de 200 conídios em cada poço, sendo registrado o número de conídios germinados e não germinados, considerando-se como conídio germinado aquele cujo tubo germinativo apresentava o comprimento superior ao dobro do diâmetro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e oito repetições.

2.8 Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em duplicata, com intervalo de 30 dias para comprovação dos resultados. Os diâmetros médios das colônias para todos os tratamentos foram submetidos à análise de regressão linear, não-linear e múltipla, para selecionar os modelos com os melhores ajustes às curvas de crescimento micelial, com base no coeficiente de determinação (R^2) e no quadrado médio do resíduo (QMR). A significância das regressões foi verificada pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. Fez-se a análise de variância e o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para todas as análises foi utilizado o programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

2.9 Avaliação de extrato hidroalcoólico de *Ziziphus joazeiro* no controle da antracnose da banana

2.9.1 Material vegetal

Frutos de banana da cultivar Prata foram colhidos em uma plantação comercial na cidade de Cruz das Almas, BA, no estágio pré-climático, com coloração de casca 1 (totalmente verde), segundo a Escala de Maturação (Figura 1) de Von Loesecke (CEAGESP, 2015). Foram selecionados frutos sadios e uniformes quanto ao tamanho e coloração.



Figura 1. Escala de Maturação de Von Loesecke (CEAGESP, 2015)

As pencas foram subdivididas em buquês de três e de dois frutos, sendo estes lavados com detergente neutro e enxaguados em água corrente para retirada do látex. Os frutos foram desinfestados superficialmente por imersão em uma solução de hipoclorito de sódio a 1% e em seguida com álcool 70%, ambos durante 3 minutos, e foram lavados com água destilada e esterilizada e colocados na bancada para secagem a temperatura ambiente.

2.9.2 Tratamento dos frutos e inoculação

As concentrações do extrato foram determinadas com base nos resultados da etapa anterior (testes *in vitro*), sendo selecionadas as concentrações que causaram acima de 75% de inibição do crescimento micelial e 80% de inibição da esporulação.

2.9.2.1 Experimento I

As bananas, no estágio de maturação 2, foram imersas no extrato durante 2 minutos e deixadas para secar a temperatura ambiente. Posteriormente foram feitos três ferimentos em cada fruto, com 2 mm de profundidade, com uma agulha de seringa descartável de 10 mL. Em cada ferimento foram colocados 30 μ L da suspensão de conídios de *C. musae*, cuja concentração foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada para 10^6 conídios/mL. Os buquês de frutos foram dispostos separadamente em bandejas plásticas desinfestadas, de forma a não encostarem uns nos outros (Figura 2) e incubados em câmara de germinação tipo BOD, sob temperatura de 25 ± 1 °C e 12h de luz.

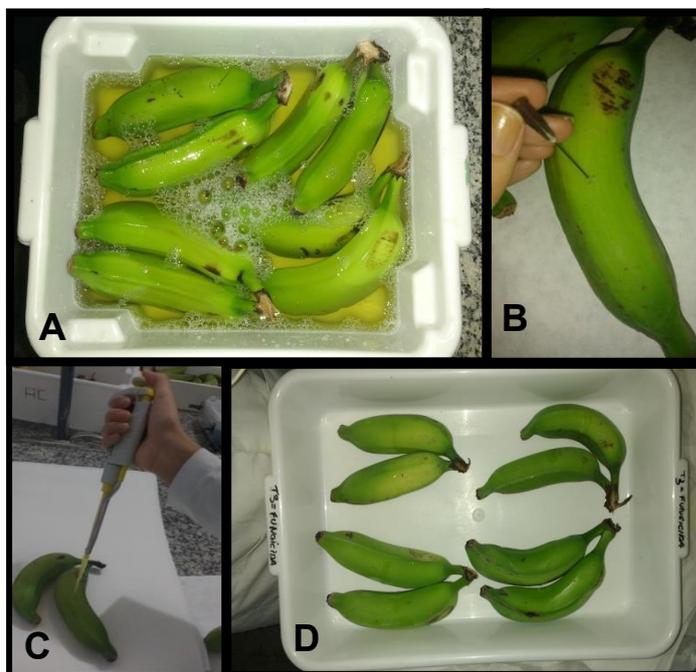


Figura 2. Montagem do experimento. A) Frutos mergulhados no extrato; B) Perfuração dos frutos com com uma agulha de seringa; C) inoculação; D) frutos distribuídos em bandejas de plástico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos correspondentes à concentrações do extrato (10; 20; 30 e 40%) e quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um buquê de dois frutos. Os controles foram: 1) frutos inoculados e tratados apenas com água e 2) frutos inoculados e tratados com Tecto® SC (Tiabendazol), de acordo com a dosagem recomendada pelo fabricante (41 mL/100 L de água).

2.9.2.1.1 Avaliações dos frutos

As avaliações tiveram início 5 dias após a inoculação e perduraram por mais 7 dias.

2.9.2.1.2 Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. joazeiro* no diâmetro de lesões de antracnose em frutos de banana da variedade Prata

Os diâmetros da lesão foram mensurados em dois sentidos diametralmente opostos, com um paquímetro. A área foi determinada com a seguinte equação: $S = (\pi \times D1 \times D2)/4$, sendo: S = área da colônia; D1= diâmetro 1 e D2 = diâmetro 2

Com os dados das áreas de lesão de cada avaliação foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) com a equação: $AACPD = \{S [(y_i + y_{i+1})/2].(t_{i+1} - t_i)\}$, na qual: y_i e y_{i+1} : valores de incidência observados em duas avaliações consecutivas; $t_{i+1} - t_i$: intervalo entre avaliações.

2.9.2.1.3 Perda de massa nos frutos de banana

A perda de massa fresca dos frutos foi determinada por meio da diferença entre a massa inicial dos buquês e aquela obtida ao final do experimento. Foi utilizada a balança Bel Engineering® para a pesagem dos frutos.

2.9.2.1.4 Incidência da doença

A incidência da doença foi calculada como a percentagem de frutos com sintomas da doença em relação ao número total de frutos em cada tratamento,

com base na seguinte equação: $I = (NFL/NTF) \times 100$, sendo: I= Incidência da doença; NFL= Número de frutos com lesão e NTF: Número total de frutos.

2.9.2.2 Experimento II

As bananas no estágio de maturação 3 foram imersas por 3 minutos em uma bandeja contendo 3L de suspensão de conídios de *C. musae*, cuja concentração foi determinada em câmara de Neubauer e ajustada para 10^6 conídios/mL. Depois de secagem a temperatura ambiente, os buquês de frutos foram dispostos separadamente em bandejas plásticas desinfestadas, de forma a não encostarem uns nos outros (Figura 3). As bandejas foram cobertas com um plástico e foram incubadas por 24h em câmara de germinação tipo BOD, sob temperatura de 25 ± 1 °C e 12h de luz. Após este período, as bananas foram imersas nos extratos durante 5 minutos, deixadas para secar a temperatura ambiente e foram novamente incubadas nas bandejas.

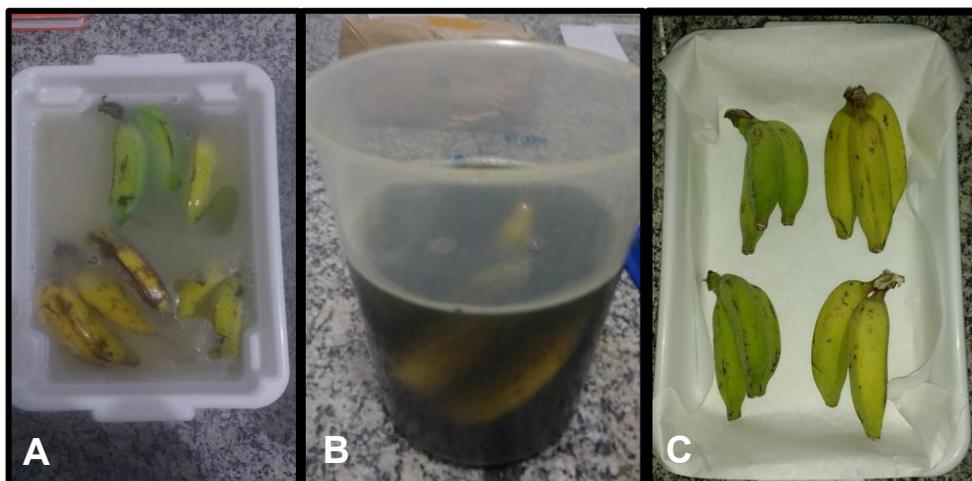


Figura 3. Montagem do experimento II. A) Frutos imersos na suspensão de *C. musae*; B) Frutos imersos no extrato; C) e dispostos em bandejas plásticas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro concentrações do extrato (10; 20; 30 e 40%) e quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um buquê de três frutos. Os controles foram: 1) frutos inoculados e tratados apenas com água e 2) frutos inoculados e tratados com Tecto® SC (Tiabendazol), de acordo com a dosagem recomendada pelo fabricante (41 mL/100 L de água).

2.9.2.2.1 Severidade da doença

A severidade da doença representa a percentagem da área da casca dos frutos com sintomas da doença. Foi utilizada a escala diagramática específica para antracnose em bananas (Figura 4), variando de 0% a 64% de área lesionada/fruto (MORAES et al. 2008).

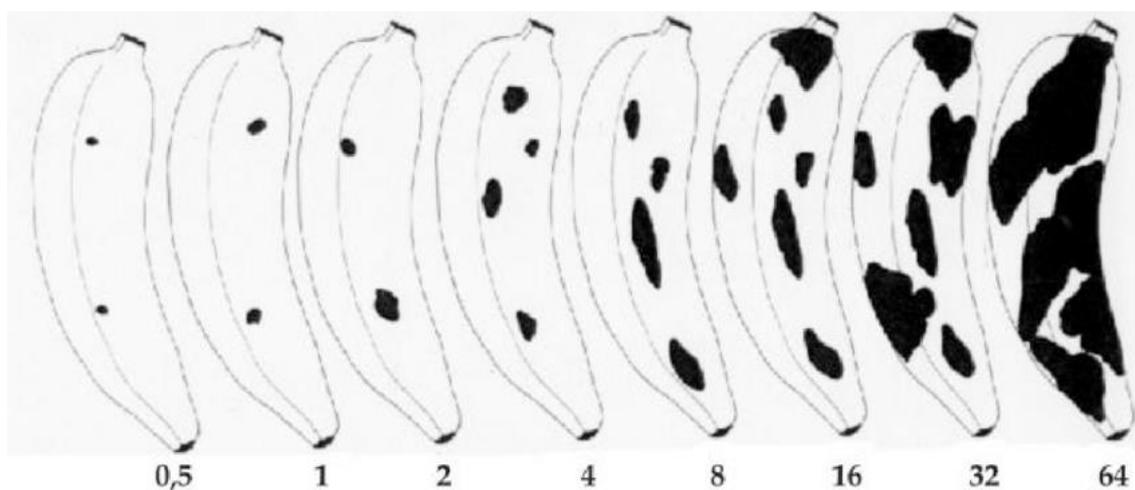


Figura 4- Escala diagramática para avaliar a severidade de podridões em frutos de banana. Os valores correspondem à percentagem de área lesionada/fruto. FONTE: MORAES et al. 2008

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* sob o crescimento micelial de *C. musae*

O extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. joazeiro* apresentou atividade antifúngica *in vitro* contra *C. musae*. O crescimento micelial do patógeno foi reduzido em função da concentração do extrato. Os tratamentos com 2,5% e 5% de extrato apresentaram o menor efeito inibitório, ambos com área de 26cm² de colônia, enquanto o controle apresentou 37,76cm², o que representa uma redução de 31% no crescimento micelial. Os efeitos inibitórios mais elevados foram obtidos com o extrato diluído para 10% (9,32cm²) e 20% (0,4 cm²), com

redução de 75,3% e 98,3% do crescimento micelial, respectivamente (Figuras 5 e 6).

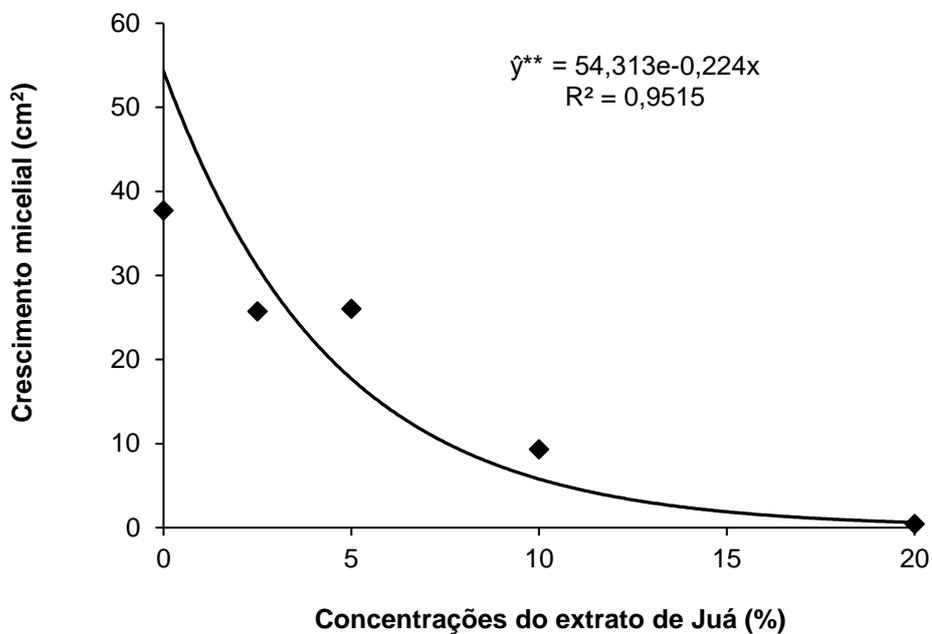


Figura 5. Avaliação *in vitro* do efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*

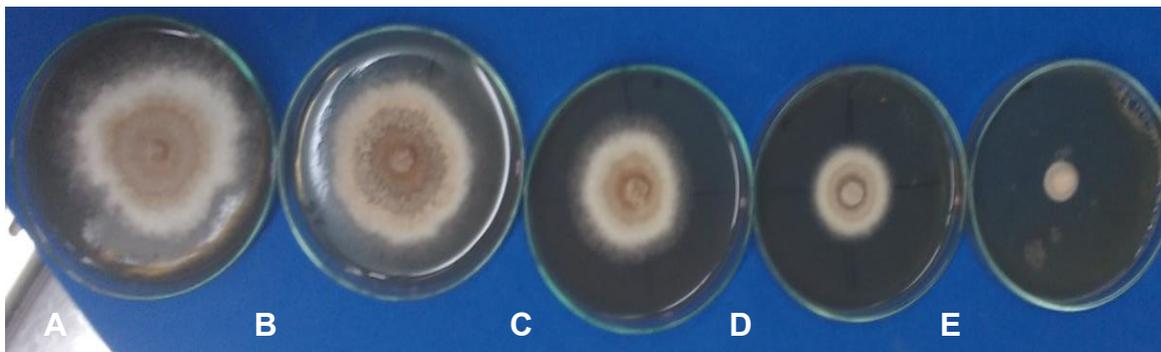


Figura 6. Inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum musae* em função do aumento da concentração do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro*. (A- Controle; B- 2,5%; C- 5%; D-10%; E-20%.

3.2 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* sobre a esporulação de *C. musae*

Houve influência das diferentes concentrações do extrato de *Z. joazeiro* sobre a esporulação de *C. musae*. O tratamento com o extrato diluído a 2,5%

apresentou uma esporulação média de $7,27 \times 10^6$ conídios/mL, enquanto o controle apresentou $7,77 \times 10^6$ conídios/mL, o que representa uma redução de 6,4%, a menor observada entre os tratamentos. No tratamento com o extrato a 5% foi observada uma esporulação média de $5,87 \times 10^6$ conídios/mL, correspondendo a uma redução de 24,4%. O extrato a 10% causou redução de 80,69%, com esporulação de $1,5 \times 10^6$ conídios/mL, enquanto na presença de 20% de extrato o percentual de redução chegou a 98,3% ($0,13 \times 10^6$) (Figura 7). Os resultados demonstram que a esporulação do patógeno foi reduzida em função das concentrações do extrato.

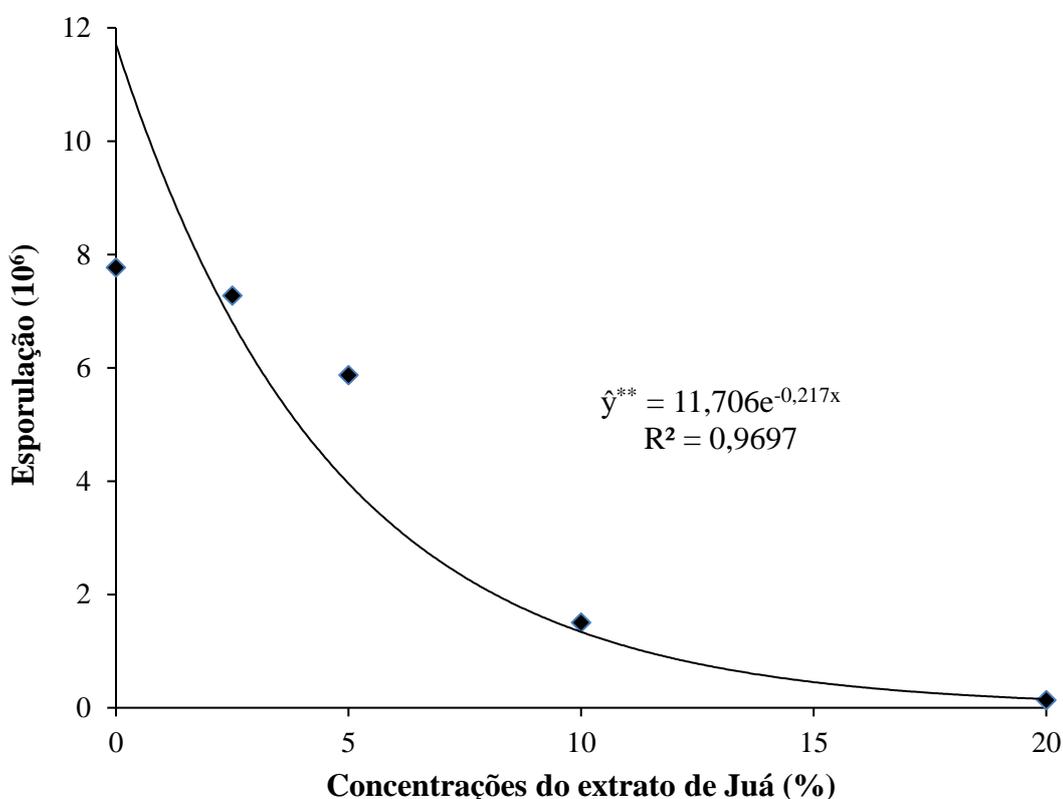


Figura 7. Avaliação *in vitro* do efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* na esporulação de *C. musae*

3.3 Avaliação *in vitro* do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* sobre a germinação de conídios de *C. musae*

Referente ao efeito do extrato hidroalcoólico de *Z. joazeiro* na germinação de conídios de *C. musae* (Figura 8), observa-se que o extrato na concentração

de 10% proporcionou a maior redução na germinação de conídios (54,5%). No tratamento com 20% de extrato, a redução foi de 51,9%. Os tratamentos de 2,5% e 5% de concentração reduziram a germinação em 14,8% e 28,8%, respectivamente.

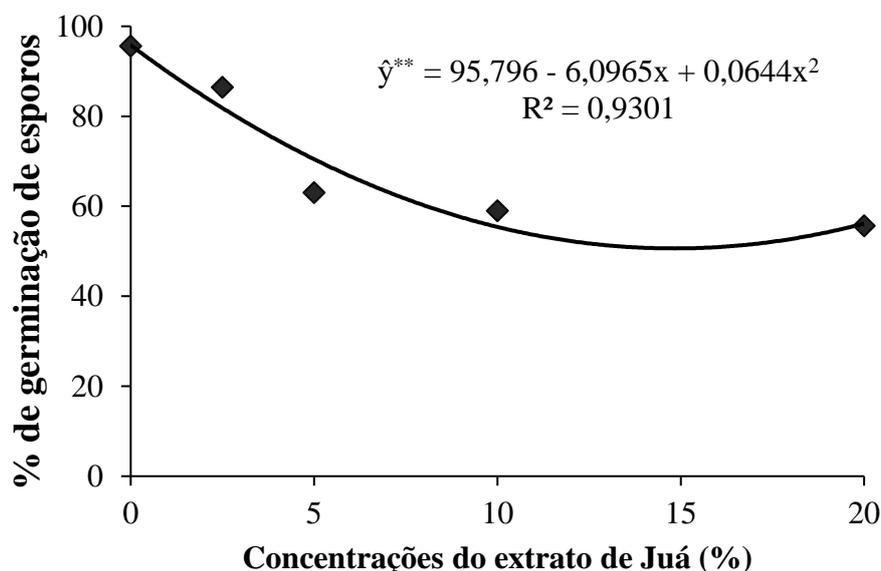


Figura 8. Avaliação *in vitro* do efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* na germinação de conídios de *C. musae*

3.4 Avaliação de extrato hidroalcoólico de *Ziziphus joazeiro* no controle da antracnose da banana

3.4.1 Experimento I

3.4.1.1 Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. joazeiro* no diâmetro de lesões de antracnose em frutos de banana da variedade “Prata”.

O efeito do extrato de *Z. joazeiro* no diâmetro das lesões da antracnose em frutos de banana estão apresentados na Tabela 1. As análises foram iniciadas cinco dias após a inoculação, período em que os primeiros sintomas da doença surgiram. Neste período, todos os tratamentos apresentaram resultados sem diferença estatística. A partir da segunda avaliação (sexto dia após inoculação), todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas em

relação ao tratamento controle, no qual os frutos de banana receberam apenas água (Figura 9).

Tabela 1. Média do diâmetro (cm²) das lesões causadas por *Colletotricum musae* em frutos de banana da variedade Prata tratados com extratos hidroalcoólico de folhas *Ziziphus joazeiro*

Tratamentos	Diâmetro da lesão (médias) ¹						
	5º d.a.i. ²	6º d.a.i. ²	7º d.a.i. ²	8º d.a.i. ²	9º d.a.i. ²	10º d.a.i. ²	11º d.a.i. ²
Água	0,25a	0,88a	1,80a	3,68a	5,11a	6,62a	8,78a
Fungicida	0,0a	0,00b	0,15b	0,35b	0,68b	1,31b	2,42bc
Extrato 10%	0,2a	0,33ab	0,38b	1,04b	1,68b	2,57b	4,81ab
Extrato 20%	0,0a	0,12b	0,28b	0,49b	1,09b	1,45b	2,32bc
Extrato 30%	0,0a	0,17b	0,59b	0,90b	1,22b	1,86b	2,75bc
Extrato 40%	0,0a	0,15b	0,32b	0,49b	0,89b	1,45b	1,74c
CV	259,53	170,39	101,80	89,65	78,63	78,70	64,72

Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey.

¹Os valores representam médias dos diâmetros da lesões de cinco repetições.

²d.a.i.- dia após inoculação.

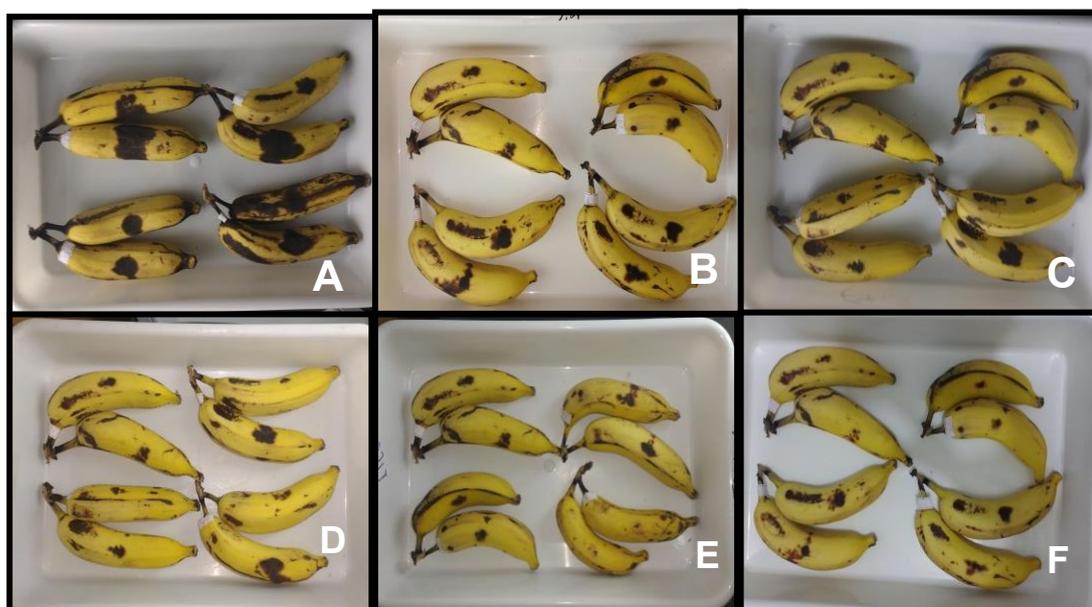


Figura 9. Frutos com sintomas de antracnose ao 7º d.a.i. A) Controle-água; B) Extrato 10%; C) Extrato 20%; D) Extrato 30%; E) Extrato 40%; F) Controle-fungicida.

3.4.1.2 Perda de massa nos frutos de banana

Não foi observada a perda de massa nos frutos de banana, em todos os tratamentos (Tabela 2). No dia da instalação do experimento, os buquês apresentavam peso médio de 266,36 g e, 12 dias após a inoculação, o peso médio do fruto foi reduzido para 213,35 g, uma perda de 19,89%.

Tabela 2. Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro* na perda de peso de bananas com antracnose

Tratamento	Massa do fruto (g) ¹	Massa perdida (g) ¹
Água	231,5	51,9 a
Fungicida	239,0	48,3 a
Extrato 10%	283,6	52,2 a
Extrato 20%	300,4	53,0 a
Extrato 30%	270,9	47,8 a
Extrato 40%	272,4	48,6 a
CV		11,82

*Médias seguidas de letras iguais minúsculas na coluna não diferem pelo teste de Tukey.

¹Os valores representam médias de quatro repetições.

3.4.1.3 Incidência da doença

As avaliações tiveram início cinco dias após a instalação do experimento, período em que apareceram os primeiros sintomas da doença e perdurou por quatro dias, tempo em que os frutos do tratamento controle atingiram um avançado estágio de decaimento.

Na primeira avaliação, cinco dias após inoculação (d.a.i), o tratamento controle no qual os frutos receberam água, apresentou 50% de frutos com sintomas da antracnose e o tratamento com 10% de extrato apresentou 37,5% de frutos com sintomas. A doença ainda não tinha se manifestado nos demais tratamentos (Tabela 3).

No 6º d.a.i, a incidência da antracnose avançou rapidamente nos frutos, em todos os tratamentos, exceto no controle com a aplicação de fungicida que

ainda não apresentava nenhum fruto com sintomas. O controle com água apresentou um percentual de 87% de frutos com lesões de antracnose e o tratamento com 10% de extrato apresentou 50% de incidência da doença. Para o extrato diluído a 30%, a incidência foi de 37,5%, seguidos dos tratamentos de 20% e 40%, ambos com 25% de frutos com lesões (Tabela 3).

Os frutos tratados com o extrato nas concentrações de 30% e 40% apresentaram a mais baixa incidência da doença na última avaliação aos 7 d.a.i, ambos com 50% de incidência. O controle em água atingiu 100% de incidência e os demais tratamentos 62,5% de incidência (Tabela 3).

Tabela 3. Incidência de antracnose em frutos de banana Prata tratados com extrato hidroalcoólico de folhas de *Ziziphus joazeiro*, aos 5, 6, e 7 dias após a inoculação

Tratamentos	Incidência (%)		
	5º d.a.i ¹	6º d.a.i ¹	7º d.a.i ¹
Água	50,0	87,0	100
Fungicida	0	0	62,5
Extrato 10%	37,5	50,0	62,5
Extrato 20%	0	25,0	62,5
Extrato 30%	0	37,5	50,0
Extrato 40%	0	25,0	50,0

Os valores representam médias de quatro repetições.

¹ d.a.i.- dia após a inoculação.

3.4.2 Experimento II

3.4.2.1 Severidade da doença

Todos os tratamentos diferiram significativamente do controle tratado com água, demonstrando que a imersão dos frutos no extrato de folhas de *Z. joazeiro* reduziu a severidade da antracnose em todas as concentrações testadas (Tabela 4).

Após 48h da inoculação dos frutos, a menor severidade da doença foi constatada no tratamento com 40% de extrato, apresentando média de 2,2% de área lesionada. Os tratamentos com 20 e 30% de extrato apresentaram o mesmo

percentual de área lesionada (8%), seguidos dos tratamentos controle com fungicida e do extrato a 10% de concentração, exibindo 10% e 17% de área lesionada, respectivamente. No tratamento controle com água, os frutos apresentaram 32% de área lesionada, a maior entre todos os tratamentos (Tabela 4).

A severidade da antracnose 72h após a inoculação foi semelhante à observada na avaliação anterior. Os frutos tratados com água (tratamento controle) diferiram significativamente dos demais frutos tratados com o extrato ou o fungicida, apresentando 50% de área lesionada. O extrato com 40% de concentração continuou sendo o mais eficaz na redução da severidade, com frutos apresentando uma média de 4% de área lesionada. Os frutos tratados com o extrato nas concentrações de 20% e 30%, assim como aqueles tratados com fungicida, não apresentaram diferença significativa entre si. A percentagem de área lesionada nos frutos do tratamento com 10% de extrato foi de 23%, inferior apenas ao tratamento controle, com água (Tabela 4).

Tabela 4. Severidade de antracnose causada por *Colletotricum musea* em frutos de banana Prata tratados com extrato de folhas de *Ziziphus joazeiro*

Tratamentos	Severidade ¹		
	48 horas ²	72 horas ²	96 horas ²
Água	32e	50d	64d
Fungicida	10c	14b	21b
Extrato 10%	17d	23c	34c
Extrato 20%	8b	16b	18b
Extrato 30%	8b	16b	18b
Extrato 40%	2,2a	4.0a	5.7a
CV	15,57	14,68	14,3

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na coluna, diferem pelo teste de Tukey.

¹Severidade de antracnose em frutos de banana calculada com a escala de MORAES et al. (2008).

²Horas após a inoculação dos frutos com *C. musea*.

O desenvolvimento da antracnose aumentou ao longo do tempo e os frutos do tratamento controle com água atingiram 64% de área lesionada, no período de 96h após a inoculação (Figura 10). Semelhante à avaliação anterior, o menor percentual de severidade foi obtido no tratamento com o extrato a 40%.

Os tratamentos com o extrato a 20% e 30% e o controle com o fungicida não diferiram significativamente entre si, e os frutos do tratamento com 10% de extrato apresentaram média de 34% de área lesionada.

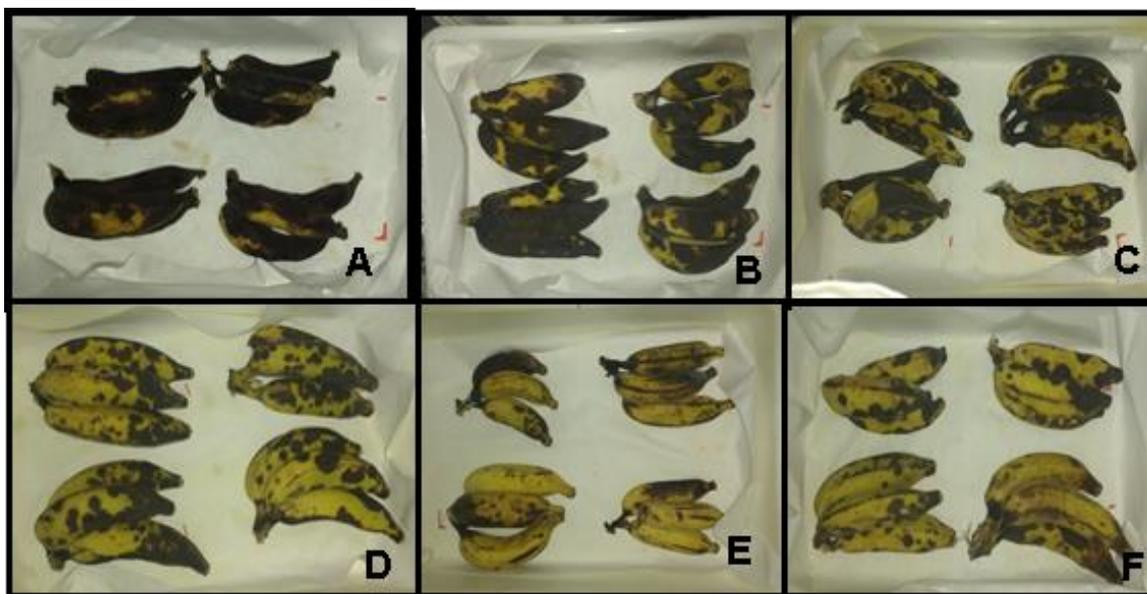


Figura 10. Severidade da antracnose em frutos de banana 96h após a inoculação. A) Frutos tratados com água; B) Extrato 10%; C) Extrato 20%; D) Extrato 30%; E) Extrato 40%; F) Fungicida.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo, o extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. juazeiro* exibiu atividade antifúngica contra *C. musae*. Após a exposição do patógeno ao extrato foi observado um efeito linear do aumento das concentrações na redução do crescimento micelial, esporulação e germinação de conídios de *C. musae*. Celoto et al. (2011) avaliaram extratos de *Momordica charantia* em diferentes concentrações contra *C. musae* e observaram que o aumento das concentrações ocasionou maior inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios. Segundo os autores a taxa de inibição *in vitro* está diretamente correlacionada com a concentração do extrato.

As análises fitoquímicas indicaram a presença de compostos provenientes do metabolismo secundário do juazeiro, como pseudotaninos, esteróides, saponinas e alcaloides. O resultado positivo para pseudotaninos e

alcaloides difere de resultados obtidos por Brito et al. (2015) que, com métodos semelhantes constataram a presença de saponina, esteróide, triterpenos, taninos, polifenóis e flavonoides. Essa discrepância pode ser explicada pela diferença que existe na procedência do material utilizado na produção do extrato. Fatores bióticos e abióticos que atuam na fisiologia e bioquímica da planta exercem forte influência na atividade e quantidade dos compostos químicos presentes nos tecidos dos vegetais (GANJEWALA, et al. 2012; BILAL et al. 2017; ROŞCA-CASIAN et al. 2017).

A infecção tecidual ocasionada por microrganismos em frutos aumenta a taxa respiratória, a difusão de gases e estimula a senescência, fatores que causam maiores perdas de massa da matéria fresca (NEGREIROS et al. 2013). No presente estudo não foi observada diferença significativa na perda de massa dos frutos devido ao tratamento com o extrato. Bazie et al. (2014) avaliaram o efeito integrado de extratos de plantas e água quente no controle da antracnose da banana e não observaram influência dos tratamentos na perda de peso.

Os períodos mais longos para o aparecimento dos sintomas foram observados nos frutos tratados com fungicida. Os tratamentos com extrato nas concentrações de 20, 30 e 40% atrasaram o aparecimento dos sintomas em 1 dia, em relação ao controle em água. Negreiros et al (2013) observaram redução de 86,67% e 53,34%, de incidência de antracnose em frutos de banana tratados com óleo de alho e óleo de pimenta-longa e explicam que o atraso no aparecimentos dos sintomas da doença é um aspecto favorável à comercialização, pois aumenta o tempo de vida de prateleira dos frutos.

Os resultados obtidos nos testes *in vitro* foram mais eficientes do que os observados nos testes com o fruto. Lopez et al. (2006) também observaram uma discrepância nos dados obtidos *in vivo* e *in vitro* e os autores sugerem que a incongruência pode ser atribuída aos diferentes meios e condições em que os experimentos são realizados. Guimarães (2016) sugere que ao testar produtos de origem vegetal em frutos é necessário duplicar as concentrações testadas *in vitro*, pois se tratando de um organismo vivo não é possível controlar todas as características, fator que pode influenciar nos resultados.

Ao comparar os dados dos experimentos com frutos de banana observa-se que os melhores resultados em relação à intensidade da antracnose foram observados no experimento II, quando o extrato foi aplicado 24h após a

inoculação, sugerindo que o extrato possui ação curativa. Celoto et al. (2011) compararam o diâmetro médio das lesões de antracnose em frutos de banana tratados com extratos de *M. charantia* antes e depois da inoculação e constataram que a aplicação dos tratamentos antes da inoculação proporcionaram os maiores efeitos na redução das sintomas da antracnose, indicando que o extrato utilizado possui ação protetora. Sarkhosh et al. (2017) ao tratar frutos de abacate (*Persea americana* Mill) com óleo essencial de *Mentha piperita*, *Satureja khuzistanica*, *Thymus daenensis*, *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Lavandula angustifolia* após a inoculação, observaram a redução do diâmetro médio das lesões causadas por *C. gloeosporioides* e o aumento da vida útil do fruto.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato hidroalcoólico de folhas *Z. juazeiro* Mart apresenta atividade antifúngica contra *C. musae*, *in vitro*, podendo ser explorada como uma opção no controle da antracnose em frutos de banana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista o potencial bioativo e biotecnológico de plantas nativas do Brasil e de geração de renda para os produtores rurais no Bioma Catinga, com a sua exploração racional, foram estudadas as espécies *Ziziphus joazeiro* Mart., *Capparis yco* e *Croton campestris* para o controle da antracnose pós-colheita causada por *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx e a murcha de *Fusarium*, também conhecida como mal do Panamá causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F. Smith) Sn e Hansene. Avaliou-se o efeito fungitóxico de extratos hidroalcoólicos dessas plantas.

Foi demonstrado que os extratos de folhas de *Z. juazeiro* e *C. campestris* apresentam potencial para o controle de *F. oxysporum*, em condições in vitro, com a redução de até 99% do crescimento micelial, em 96% a esporulação de microconídios e em 100% a esporulação de macroconídios. O extrato de velame na mesma concentração proporcionou redução de 99% no crescimento micelial e 92% e 100% na esporulação de microconídios e macroconídios, respectivamente. Ainda se faz necessário conduzir os estudos em plantas de bananeira. No presente estudo os ensaios em casa de vegetação com mudas de bananeira não foram bem-sucedidos devido a problemas com o inoculo de *Fusarium*.

Nos testes com *C. musae*, observou-se o efeito fungitoxico sobre o crescimento micelial, esporulação e a germinação de conídios e a eficiência do extrato hidroalcoólico de folhas de *Z. juazeiro* no controle da antracnose em bananas. Nos frutos de banana avaliou-se apenas o extrato de *Z. juazeiro* por ter sido o mais eficiente nos testes in vitro. Observou-se o controle, com redução na incidência e severidade da antracnose e sem perda de massa dos frutos. O extrato diluído a 40% proporcionou o menor percentual de severidade da doença (5,7%). Os frutos não tratados apresentaram severidade de 64%. O extrato de *Z. joazeiro* apresenta atividade antifúngica contra *C. musa* e eficiência no controle da antracnose da banana, podendo este ser explorado no controle da antracnose pós-colheita na cultura da banana e para o mal do Panamá, com benefícios a saúde humana e ao ambiente, por não ser toxico.

REFERÊNCIAS

BAZIE, S. et al. Integrated management of postharvest banana anthracnose (*Colletotrichum musae*) through plant extracts and hot water treatment. **Crop Protection**, v. 66, p. 14-18. 2014.

BILAL, M. et al. Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103. P. 554-574. 2017.

BORGES, A. L.; SOUZA, L da S; OLIVEIRA, A. M. G. Banana. In: CRISÓSTOMO, L. A; NAUMOV, A. **Adubando para Alta Produtividade e Qualidade: Fruteiras Tropicais do Brasil**. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, 2009. cap. 2, p. 31-48.

BORGES A. L. et al. **A cultura da banana**. Embrapa Mandioca e Fruticultura. 3. ed. rev. e amp. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

BRITO, S. M. O. et al. Analysis of bioactivities and chemical composition of *Ziziphus joazeiro* Mart. using HPLC–DAD. **Food Chemistry**, v. 186, p. 185–191, 2015.

CEAGESP. Normas de Classificação. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br/wp-content/uploads/2015/07/banana.pdf>>. Acesso em: 21 de outubro 2017.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P. Doenças fúngicas e bacterianas. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologias, p. 36-65, 2000.

CORDEIRO, Z. J. M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H. (Editor). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 112-136

CELOTO, M.I.B. et al. Antifungal activity of *Momordica charantia* L. extracts against *Colletotrichum musae*, **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v. 13, n. 3, p. 337–341, 2011.

ESPAÑA, M. D. et al, Eucalyptus leaf byproduct inhibits the anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 793–797, 2017.

FERREIRA, D.F. Sisvar versão 5.3. **Sistemas de análises de variância para dados balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras, MG, Universidade Federal de Lavras. 2011.

FIORAVANÇO, J. C. **Mercado mundial da banana**: produção, comércio e participação brasileira. *Informações Econômicas*, SP, v.33, n.10, out. 2003.

GANJEWALA, D. et al. Biochemical compositions and antibacterial activities of *Lantana camara* plants with yellow, lavender, red and white flowers. **EurAsian Journal of BioSciences**, v.3, p.69-77, 2009.

GUIMARÃES, J. E. M. **Produtos naturais no controle da antracnose e na qualidade pós-colheita de mangas ‘Palmer’**. 2016. 123 p. Jaboticabal. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016.

KUO, Ping Chung *et al*, Analysis of antifungal components in the galls of *Melaphis chinensis* and their effects on control of anthracnose disease of chinese cabbage caused by *Colletotrichum higginsianum*, **Journal of Chemistry**, v. 2015, artigo n. 850103, 2017.

LOPÉZ, A. et al. Evaluación de extractos vegetales para manejo de hongos patógenos en banano y fresa almacenados, **Acta Agronómica**, v. 55, n. 4, p. 39–44, 2006.

LORENZI, H; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil**: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 2008.

MAIA, G. N. **Caatinga**: árvores e arbustos e suas utilidades. Fortaleza: Printcolor Gráfica e Editora. 2 ed. 2012.

MORAES, W.S. et al. Quimioterapia de banana ‘Prata anã’ no controle de podridões pós-colheita. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.79-84, 2008.

NEGREIROS, R., J.; *et al*, Controle Da Antracnose Na Pós-Colheita De Bananas- “Prata” Com Produtos Alternativos, **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 51–58, 2013.

PANGALLO, S. *et al*. Evaluation of a pomegranate peel extract as an alternative means to control olive anthracnose. **Journal of Phytopathology**, v. 107, n. 12, p. 1462-1467, 2017.

ROȘCA-CASIAN, O. *et al*. Chemical composition and antifungal activity of *Hedera helix* leaf ethanolic extract. **Acta Biologica Hungarica**, v.68, p. 196-207, 2017.

SARKHOSH, A. *et al*. Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p. 16–22, 2017.

SILVA, J. R. da; CORDEIRO, Z. J. M. P. Fitossanidade na exportação de banana. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana Fitossanidade**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologias, p. 36-65, 2000.

SONAGLIO, D. *et al* Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2003. p.289-326.

VIANA, F. M. P. Inibição *in vitro* de *Colletotrichum musae*, agente da antracnose da banana, por meio de agentes vegetais, biológicos e químicos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 31-48. 2012.